



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS

**PROPIEDADES DE SUPERFICIE DE CASEINATOS EN  
MEDIO ACUOSO**

TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA

M. en C. DULCE MARIA ABASCAL GONZALEZ



TUTOR: JESUS GRACIA FADRIQUE AÑO: 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.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A CONACyT por el apoyo económico brindado

A DGAPA por el apoyo económico obtenido  
a través de los proyectos PAPIIT IN-100808 , IN-103108

Andrés, gracias por tu apoyo incondicional en este largo  
proyecto porque a pesar de todas las adversidades,  
ahora es realidad.

Quiero agradecer muy en especial a mis papás,  
por su ayuda cuando me hacían falta manos.

Jesús, muchas gracias por los conocimientos transmitidos  
pero sobre todo por la paciencia.

Para mis dos grandes tesoros, Lucca y Hanna,  
son mi fuente de inspiración, mi fortaleza y motivación  
para ser una mejor persona

## **Jurado asignado**

Presidente	Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter
Vocal	Dra. Laura Patricia Martínez Padilla
Vocal	Dr. Alberto Tecante Coronel
Vocal	Dra. Silvia del Socorro Pérez Casas
Secretario	Dr. Héctor Domínguez Castro

Candidata al grado M. en C. Dulce María Abascal González

Asesor Dr. Jesús Gracia Fadrique

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de superficies. Departamento de Fisicoquímica  
Facultad de Química, Ciudad Universitaria

Participación en Congresos:

*7th World Surfactants Congress, CESIO 2008. Paris, Francia*  
Poster: *Transient foaminess behavior from surface tension data*

# ÍNDICE

## *Resumen*

## Abstract

INTRODUCCIÓN.....	1
1. CASEINATOS.....	3
1.1. Origen y definición de caseinatos.....	3
1.2. Funcionalidad.....	5
1.2.1. Solubilidad y viscosidad.....	6
1.2.2. Caseinatos en emulsiones.....	7
1.2.3. Espumas.....	9
2. TERMODINÁMICA DE SUPERFICIES.....	10
2.1. Ecuación de adsorción de Gibbs.....	10
2.2. Potencial químico.....	11
2.2.1. Potencial químico de superficie.....	11
2.2.2. Potencial químico del seno de la disolución.....	12
2.3. Evaluación termodinámica de la concentración micelar crítica.....	15
2.3.1. Ecuación de adsorción de Gibbs.....	18
2.3.2. Isoterma de Langmuir.....	19
2.3.3. Ecuación de estado en la superficie de Volmer.....	21
2.4. Teoría de emulsiones y espumas.....	22
2.4.1. Teoría de emulsiones.....	22
2.4.1.1. Tensión superficial.....	23
2.4.1.2. Tensión superficial dinámica.....	23
2.4.1.3. Tensión interfacial líquido-líquido.....	24
2.4.1.4. HLB y teoría de momentos.....	25
2.4.1.5. Emulsiones por inversión de fases.....	27
2.4.1.6. Estabilidad de emulsiones.....	28
2.4.1.7. Curvatura.....	29
2.4.2. Espumabilidad en equilibrio solución-superficie.....	30
2.4.2.1. Espumabilidad a partir de tensión superficial.....	32

2.4.2.2.	Espumabilidad y ecuación de estado superficial.....	38
3.	PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	43
3.1.	Materiales.....	43
3.2.	Análisis elemental.....	43
3.3.	Tensión superficial. Anillo de Du Nouy.....	44
3.4.	Tensión superficial dinámica.....	45
3.5.	Formación de espuma.....	47
3.6.	Viscosidad Intrínseca.....	48
3.7.	Formación de emulsiones aceite en agua.....	49
4.	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	51
4.1.	Comportamiento en la superficie.....	51
4.1.1.	Tensión superficial.....	51
4.1.2.	Tensión superficial dinámica.....	54
4.1.3.	Formación de espuma.....	57
4.2.	Comportamiento a dilución infinita.....	59
4.3.	Formación de emulsiones aceite en agua.....	61
	CONCLUSIONES.....	68
	REFERENCIAS.....	70

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Micela de caseína.....	4
Figura 2.1. Convención simétrica para coeficiente de actividad.....	12
Figura 2.2. Ecuación de estado para la superficie de Volmer.....	15
Figura 2.3. Propiedades físicas de soluciones de dodecil sulfato de sodio a 25° C.....	17
Figura 2.4. Evaluación de cmc de nonil fenol + 6 OE por la ecuación de adsorción de Gibbs.....	19
Figura 2.5. Evaluación de cmc de nonil fenol + 6 OE por la isoterma de Langmuir.....	20
Figura 2.6. Evaluación de cmc de nonil fenol + 6 OE por la ecuación de Volmer.....	21
Figura 2.7. Efecto de la expansión y contracción de una superficie en la concentración de superficie.....	24
Figura 2.8. Analogía de (a) un sistema de fuerzas y (b) del sistema HLB.....	27
Figura 2.9. Efecto de la fracción volumétrica en la viscosidad en la formación de emulsiones por inversión de fases.....	28
Figura 2.10. Composición de una columna de espuma con un incremento progresivo de la concentración de superficie ( $\Gamma$ ) y de solución ( $x$ ).....	31
Figura 2.11. Regiones en el comportamiento de la presión superficial para los sistemas (a) NF6 + agua y (b) propanol + agua.....	33
Figura 2.12. Espumabilidad del sistema 2-butoxietanol + agua a 4° C.....	35
Figura 2.13. Efecto de $\beta$ en la elasticidad.....	41
Figura 2.14. Efecto de $\beta$ en la elasticidad integrada, $E$ .....	42
Figura 3.1. Equipo para determinar tensión superficial.....	44
Figura 3.2. Tensiómetro KSV de gota pendiente.....	45
Figura 3.3. Geometría de una gota pendiente.....	47
Figura 3.4. Columna para formación de espuma.....	48



Figura 3.5. Equipo de agitación para formación de emulsiones y propela de aspas planas.....	50
Figura 4.1. (a) Tensión superficial y (b) presión superficial a 20°C de (■) caseinato de calcio y (●) caseinato de sodio.....	52
Figura 4.2. Representación de Volmer (Ec. 22) para caseinato de calcio.....	53
Figura 4.3. Representación de Volmer (Ec. 22) para caseinato de sodio.....	53
Figura 4.4. Tensión superficial dinámica de (■) caseinato de calcio y (●) caseinato de sodio en la concentración crítica ( $w=0.01$ ).....	54
Figura 4.5. Tensión superficial al equilibrio de caseinato de calcio en la concentración crítica ( $w=0.01$ ) por la ecuación de Ward y Tordai .....	55
Figura 4.6. Tiempo de equilibrio para caseinato de sodio en la concentración crítica ( $w=0.01$ ).....	57
Figura 4.7. Espumabilidad de (■) caseinato de calcio y (●) caseinato de sodio.....	58
Figura 4.8. Curva de viscosidad intrínseca para caseinato de calcio a 30°C.....	59
Figura 4.9. Curva de viscosidad intrínseca para caseinato de sodio a 30°C.....	60
Figura 4.10. Curva de viscosidad intrínseca para lecitina de soya a 30°C.....	63
Figura 4.11. Representación esquemática de las regiones de fosfatidilcolina y orientación molecular en la superficie.....	64
Figura 4.12. Tensión superficial a 20°C de lecitina de soya.....	64
Figura 4.13. Representación de Volmer para lecitina de soya.....	65
Figura 4.14. Distribución de tamaño de partícula para emulsiones aceite en agua, formadas con lecitina de soya y (a) caseinato de calcio y (b) caseinato de sodio.....	66

## LISTA DE NOMENCLATURA

$x$	Fracción mol
$w$	Fracción peso
$x_{cc}$	Concentración crítica en fracción mol
$w_{cc}$	Concentración crítica en fracción peso
$x_{cmc}$	Concentración micelar crítica en fracción peso
$A$	Area por mol de soluto en la superficie ( $m^2/mol$ )
$R$	Constante universal de los gases ( $J/mol K$ )
$T$	Temperatura absoluta (K)
$Z_m$	Factor de compresibilidad bidimensional máximo
$\sigma$	Tensión superficial (mN/m)
$\pi$	Presión superficial (mN/m)
$\pi_m$	Presión superficial máxima (condiciones de saturación)
$\pi^0$	Presión superficial de referencia ( $\pi^0 = \sigma_1 - \sigma_2$ )
$\pi^*$	Presión superficial reducida
$\Gamma$	Concentración superficial ( $mol/m^2$ )
$\Gamma_s$	Concentración superficial en región de saturación
$\mu^b$	Potencial químico para el seno de la disolución
$\mu^s$	Potencial químico para la superficie
$\gamma$	Coefficiente de actividad
$\gamma^\infty$	Coefficiente de actividad a dilución infinita
$\theta$	Cobertura superficial
$\beta$	Coefficiente de distribución seno-superficie

## RESUMEN

Las proteínas son comúnmente utilizadas como ingredientes funcionales en la industria de alimentos. En particular, las proteínas de la leche presentan propiedades deseables por su calidad nutricional, estabilidad y en especial por su actividad superficial. En este trabajo se evaluaron las propiedades de superficie de caseinatos de calcio y de sodio como tensión superficial, tensión superficial dinámica; fueron comparadas entre sí y se relacionaron con el comportamiento de viscosidad intrínseca, la capacidad de formar espuma y de emulsificación. Los resultados de tensión superficial fueron similares pero se observaron diferencias en la capacidad de formación de espuma. Los caseinatos mostraron una actividad superficial moderada, disminuyendo la tensión superficial del agua hasta 40 mN/m. Los datos de presión superficial en función de la composición fueron analizados utilizando una ecuación de estado superficial de la que se obtuvo una concentración crítica de 0.1% (p/v) para ambos caseinatos y un área superficial molecular de 307 Å<sup>2</sup>/molécula y 236 Å<sup>2</sup>/molécula para el caseinato de calcio y sodio respectivamente. La tensión superficial dinámica de los caseinatos fue evaluada y comparada en la concentración crítica; el caseinato de calcio presentó mayores tiempos para alcanzar el equilibrio que el de sodio. Las espumas formadas por los caseinatos fueron de tipo transitorio con un volumen máximo de espuma cerca de la concentración crítica y después decae; los caseinatos de sodio presentaron mejores propiedades espumantes que los caseinatos de calcio. Debido a que la difusión de los caseinatos a la interfase depende del volumen hidrodinámico y del peso molecular de la proteína, se llevaron a cabo pruebas de viscosidad intrínseca; los resultados mostraron una proteína alargada lo que permite su difusión a la superficie. Se formaron emulsiones aceite en agua (20% p/p) con la técnica de inversión de fases, sin embargo cuando se utilizaron los caseinatos (1-4 % p/p) como único emulsificante, la emulsión resultó inestable explicado por su moderada actividad superficial y el tamaño de la proteína, comparado con otras moléculas tensoactivas como ésteres de sorbitán y sus derivados polietoxilados.

## ABSTRACT

Proteins are commonly used as functional ingredients in the food industry. Milk proteins, in particular, show desirable properties due to its nutritional value, stability and most of all, its surface activity. This work presents the calcium and sodium caseinate surface behavior, such as surface tension and dynamic surface tension. The results were compared and related to intrinsic viscosity behavior, foaming and emulsifying properties. The surface tension behavior of sodium and calcium caseinates was similar but the foaming properties differed. Caseinates presented moderate surface activity lowering the surface tension of water to 40 mN/m. The surface pressure vs. composition data were analyzed using a new surface equation of state and obtained 0.1% (w/v) critical concentration for both caseinates and a molecular surface area of 307 Å<sup>2</sup>/molecule and 236 Å<sup>2</sup>/molecule for calcium and sodium caseinates respectively. Caseinates were evaluated at the critical concentration by means of dynamic surface tension to compare their behavior; calcium caseinate took longer time to reach equilibrium conditions. Their foam behavior was transient type with maximum foamability around the critical concentration; sodium caseinate presented better foaming properties than calcium caseinate. Since diffusion to the interface depends on the hydrodynamic volume and molecular weight, the intrinsic viscosity behavior in water was evaluated; results showed an elongated protein, conformation that facilitates its diffusion to the surface. Oil in water emulsions (20% w/w) were formed by means on phase inversion technique; however, when caseinates (1-4% w/w) were the only emulsifier, emulsions resulted unstable explained by its moderate surface activity and the protein size, which results larger when compared to traditionally used surfactants such as sorbitan esters and its polyethoxylated derivatives.

## INTRODUCCIÓN

El conocimiento básico de las propiedades superficiales de cualquier molécula con propiedades anfifílicas debe constituir el punto de partida para su correcto aprovechamiento en distintas aplicaciones o destinos. Las propiedades de superficie y del seno de la disolución de un anfifilo de alto peso molecular (tensoactivo) permiten interpretar la capacidad de formar espumas y emulsificar aceite; de aquí la necesidad de conocer las características del tensoactivo en solución y en superficie para su aplicación potencial en sistemas dispersos. En la industria de alimentos, las proteínas lácteas son comúnmente utilizadas por su valor nutrimental y sobre todo por su funcionalidad. Los caseinatos constituyen la fracción de las proteínas que precipitan en medio ácido o hidrólisis enzimática. Estas proteínas poseen actividad superficial y a pesar de ser muy utilizadas en emulsiones y espumas la información acerca de las propiedades superficiales es escasa. Los caseinatos comprenden una mezcla de cuatro fracciones proteicas con distintas características, las dos más abundantes son aquellas con propiedades superficiales; lo que hace que el estudio de los caseinatos se centre en el estudio de la fracción con mayor actividad superficial; la caseína  $\beta$ . No obstante, es posible obtener una visión conjunta de las propiedades de los caseinatos y el conocimiento de las propiedades superficiales es fundamental para comprender la funcionalidad y hacer uso eficaz de los caseinatos. Éste se logra mediante una ecuación de estado superficial de reciente desarrollo. El punto de partida lo constituye el potencial químico para la superficie contenido en la ecuación de estado superficial de Volmer que se acopla con la ecuación de adsorción de Gibbs. Así también, el potencial químico para el seno de la disolución se presenta bajo la convención simétrica en régimen diluido; característica fundamental de un tensoactivo en disolución que muestra condiciones de equilibrio con la región superficial prácticamente saturada en las vecindades de la concentración micelar crítica. La igualdad de estos potenciales conduce a una nueva ecuación de estado cuyos parámetros constitutivos, no

empíricos, contienen el coeficiente de compresibilidad bidimensional y la concentración micelar crítica. Al ser los caseinatos una mezcla compleja con un peso molecular variable, el uso de fracción peso es requisito indispensable. El tratamiento de la ecuación de estado obtenida demuestra que el área superficial es independiente del sistema de unidades empleado en la medición de la concentración. Con la información obtenida, se somete a comprobación la hipótesis que la conformación en solución y las propiedades de superficie de los caseinatos son característicos de cada uno y son responsables de la capacidad de formación de espuma y de emulsificación. El estudio de las propiedades de la espuma permite establecer un vínculo entre el comportamiento de la tensión superficial, la composición y a su vez con la estabilidad de una emulsión. El comportamiento que se observa en una espuma es una amplificación de la estructura de la interfase ya que el área presente es varios órdenes de magnitud mayor. La concentración de mayor estabilidad de una espuma sería la equivalente para obtener la mayor estabilidad en una emulsión.

El objetivo del trabajo es estudiar el comportamiento de la tensión superficial de caseinatos de calcio y sodio en función de la concentración para obtener las propiedades de superficie, evaluar la conformación en solución a dilución infinita y establecer la relación que mantiene con las propiedades espumantes y la contribución a la estabilidad de emulsiones aceite en agua.

# CAPITULO 1

## CASEINATOS

### 1.1. Definición y origen de los caseinatos

Las caseínas son un grupo de proteínas que compone la mayor fracción proteica de la leche y constituyen aproximadamente el 80% del total de proteína. Son separadas de la leche por precipitación ácida o por acción enzimática (Mulhivill y Ennis, 2003). La precipitación ácida se lleva a cabo a pH 4.6 donde las caseínas precipitan y las proteínas del suero se mantienen solubles. La caseína ácida se puede disolver nuevamente por adición de álcali, ya sea hidróxido de sodio o de calcio, para obtener como resultado los correspondientes caseinatos de sodio o calcio. Por adición de la enzima renina a la leche, se hidroliza la  $\kappa$ -caseína, se obtiene para- $\kappa$ -caseína y en una segunda etapa, las micelas de caseína alteradas, coagulan por la presencia de calcio a temperaturas superiores a 20°C. Este tipo de caseína tiene un alto contenido de minerales, en particular fosfato de calcio coloidal, calcio y fósforo.

La fracción de caseína se compone de cuatro proteínas principales: caseínas  $\alpha_s$  ( $\alpha_{s1}$  y  $\alpha_{s2}$ ),  $\beta$ ,  $\kappa$  y  $\gamma$  en una razón molar de 4:1:4:1.6 respectivamente. Aunque las caseínas  $\gamma$  provienen de la hidrólisis de la caseína  $\beta$  por la enzima plasmina. En la leche, las fracciones de caseína se encuentran formando partículas coloidales de 150 nm (promedio) en un complejo conocido como micela de caseína (Fox y Brodkorb, 2008). La estructura de la micela consiste de subunidades de las fracciones de caseína sensibles al calcio ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$  y  $\beta$ ) unidas por fosfato de calcio coloidal y estabilizadas por una capa externa de  $\kappa$ -caseína que se proyecta hacia afuera de la micela proporcionando estabilidad estérica (Figura 1.1). Las fracciones de caseína  $\alpha_{s1}$  y  $\beta$ , son las más abundantes y representan el 75% del total de la caseína en la leche (Swaisgood, 2003). Ambas fracciones tienden a adsorberse en la superficie. La sensibilidad que estas

fracciones tienen ante el calcio se debe a la presencia de residuos de fosfoserina, intrínsecamente vinculados a los mecanismos de estabilidad en emulsiones (Cassiano y Arêas, 2003). La preponderancia de los residuos prolina y la completa ausencia de residuos de cisteína, significa que ambas proteínas adoptan configuraciones flexibles y desordenadas en solución (Dickinson y Sujata, 2001; O'Connell y Fox, 1999). El componente más hidrófobo se encuentra en la caseína  $\beta$  y está formado por un gran bloque de residuos hidrofóbicos (48-209), de forma que en la región N-terminal de la cadena polipeptídica hay residuos polares, hidrofílicos y cinco grupos fosfato. La extensa región hidrófoba de la caseína  $\beta$  se adsorbe a la interfase mientras que la región hidrofílica se proyecta como un segmento hacia la fase acuosa. En un ámbito de concentración entre  $10^{-2}$  y  $10^{-1}$  % (w/w), esta molécula se asocia formando micelas casi esféricas (Dickinson y Sujata 2001; Darewicks et al., 2000, Dauphas et al. 2005). La cadena polipeptídica de la caseína  $\alpha_{s1}$  es más corta que la caseína  $\beta$  y la distribución de las regiones hidrofóbicas es más azarosa. En ambos extremos de la molécula están presentes las regiones hidrofóbicas, al adsorberse forma contornos y trenes en la superficie.

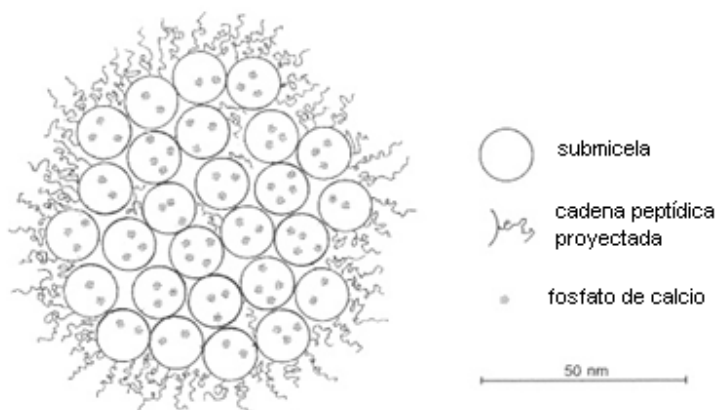


Figura 1.1. Micela de caseína (Walstra, 1999)

La caseína  $\alpha_{s2}$  es una proteína altamente fosforilada, contiene dos residuos de cisteína (formando un puente disulfuro y sin grupos carbohidrato (Walstra, 1999). La caseína  $\kappa$  difiere de las otras; no tiene residuos fosfoserina



característicos de las caseínas sensibles al calcio, el dominio polar de la caseína  $\kappa$  contiene residuos seril y treonil que frecuentemente están glicosilados. Los carbohidratos se encuentran esterificados a una de las treoninas y tienen galactosamina, galactosa y uno o dos ácidos N-acetilneuramínicos (Walstra, 1999). Contiene dos residuos de cisteína que pueden formar enlaces disulfuro intermoleculares. Por esta razón, la caseína  $\kappa$  presente en la leche forma oligómeros de 5 a 11 unidades.

La estructura secundaria de las fracciones de caseína ha sido estudiada por dicroísmo circular y espectroscopía infrarroja ya que la caseína no se ha podido cristalizar. Pese a la hipótesis de que la caseína es una proteína con muy poca estructura secundaria, conserva cierto orden en cada una de sus fracciones (Swaisgood, 1993). En general, se considera a la caseína como una estructura dinámica, tipo intermediario en desnaturalización (molten globule) con una significativa cantidad de estructura abierta pero bien definida (Farrell et al. 2002). También se ha propuesto que la caseína es reomórfica. Con esto se intenta explicar que la caseína no presente endotermas durante el calentamiento; la caseína contiene porciones de estructuras termoestables (Paulsson y Dejmek, 1990; Fox, 1989) y en perfiles calorimétricos no se obtiene ninguna señal hasta 100°C. La configuración al azar de las cadenas de la molécula corresponde a la de una proteína desnaturalizada dada por el elevado número de residuos prolina que impide la formación de estructuras ordenadas.

## **1.2. Funcionalidad**

La funcionalidad de una proteína denota cualquier propiedad fisicoquímica que afecta el procesamiento y comportamiento de las proteínas en sistemas alimentarios (Kinsella, 1976). Las propiedades funcionales típicas son solubilidad, capacidad de retención de agua, gelificación, emulsificación y propiedades espumantes. Estas propiedades surgen de las interacciones entre las proteínas y otros materiales como lípidos, aire, otras proteínas, polisacáridos, materiales iónicos y agua (Dalgleish, 1997).

Los caseinatos son muy utilizados en la industria alimentaria como agentes emulsionantes y estabilizantes (Dickinson, 1999a). Existen diferencias considerables entre las propiedades emulsionantes del caseinato de sodio y el caseinato de calcio (Srinivasan, Singh y Munro, 2003). Incluso, se ha encontrado que los caseinatos tienen diferentes estabilidades aún cuando hayan sido obtenidos de un mismo proceso (Dalglish y Law, 1988). Esto impacta, como consecuencia, las propiedades funcionales y su empleo como materias primas (Lynch y Mulhivill, 1997). Las fracciones  $\alpha_{s2}$  y  $\kappa$  de la caseína, que contienen enlaces disulfuro, se ven afectadas durante el proceso de secado. Durante la obtención del caseinato de sodio, las proteínas son expuestas a condiciones alcalinas y altas temperaturas, que promueven reacciones sulfhidrilo/disulfuro; los enlaces disulfuro inter e intramoleculares pueden afectar la estructura y funcionalidad del caseinato. Esta modificación de los grupos sulfhidrilo de las caseínas  $\alpha_{s2}$  y  $\kappa$ , en diferente medida, contribuye a que existan diferencias en la viscosidad de diferentes lotes de caseinatos (Lynch y Mulhivill, 1997). El análisis fractal de caseinatos muestra que el método de secado de los caseinatos afecta su estructura, principalmente el tamaño y forma de las partículas (Dziuba et. al. 1999).

### **1.2.1. Solubilidad y viscosidad**

Aunque no se puede definir estrictamente como solubilidad de proteínas, los caseinatos se dispersan fácilmente en agua. En concentraciones menores de 12% presentan un comportamiento newtoniano, es decir sin cambios en la viscosidad a diferentes velocidades de corte (Konstance y Strange, 1991). La adición de iones monovalentes provoca un incremento exponencial en la viscosidad. Mientras que la adición de iones divalentes, como calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) provoca un incremento en la viscosidad hasta una concentración crítica (cerca de 0.9 M) y posteriormente disminuye. El primer caso se explica por la competencia por el agua de solvatación, mientras que en el caso de iones divalentes, provocan un efecto asociativo en la caseinatos y forman agregados o micelas (Carr, Munro y Campanella, 2002). Cambios en el pH también inducen cambios en la solubilidad.

Los caseinatos presentan un mínimo en las vecindades del punto isoeléctrico, en el intervalo de 3.5 a 4 y un máximo en solubilidad entre 6.5 y 8 (Jahanival et al., 2000).

### **1.2.2. Caseinatos en emulsiones**

Los caseinatos son ingredientes frecuentemente utilizados en la formulación de emulsiones, tanto por sus propiedades emulsificantes como por su estabilidad térmica. Se han realizado diversos estudios en torno a sus propiedades como emulsionantes y los factores que afectan su estabilidad. De manera general, pueden distinguirse, concentración de proteína, fuerza iónica, temperatura, adición de etanol y co-tensoactivos.

En el intervalo de 0.1 a 7.5% de caseinato, el área superficial cubierta del glóbulo de grasa, incrementa con la concentración de proteína sin afectar la distribución de tamaño de partícula (Britten y Giroux, 1993; Ye, Srinivasan y Singh, 2000; Agboola y Dalgleish, 1995; Srinivasan, Singh y Munro, 1996). Este incremento en el área superficial se ha explicado como un efecto de multicapas.

La sensibilidad de las emulsiones formuladas con caseinatos a cambios en la fuerza iónica, particularmente iones sodio y calcio, se debe principalmente a la presencia de residuos fosfoseril aniónicos en las caseínas  $\alpha_{s1}$  y  $\beta$ . En emulsiones con caseinato de calcio, la adición de cloruro de calcio en concentraciones de 2 a 18 mM, provoca la formación de agregados (Agboola y Dalgleish, 1995; Srinivasan, Singh y Munro, 1996). Sin embargo, cuando se añade cloruro de calcio (5-8 mM) previo a la homogeneización (6-4% caseinato de sodio), hay un incremento en la estabilidad de la emulsión (Dickinson y Golding, 1998a; Dickinson, Radford y Golding, 2003). La adición de cloruro de sodio, tiene efectos positivos en la estabilidad de las emulsiones formadas, tanto con caseinato de calcio, como de sodio ya que incrementa el área superficial cubierta, mejora la estabilidad al cremado, disminuye la turbidez y se obtienen partículas de menor tamaño (Srinivasan, Singh y Munro, 2000; Ye, Srinivasan y Singh, 2000). La adición de cloruro de sodio a la solución de caseinatos previo a la

homogeneización causa que la caseína  $\alpha_{s1}$  forme dímeros, tetrámeros, hexámeros y otros, que subsecuentemente se adsorben e incrementan la concentración de caseína  $\alpha_{s1}$  en la interfase. Un aumento en la fuerza iónica puede reducir la repulsión electrostática entre la película adsorbida y las moléculas que llegan a la superficie, incrementando así la rapidez de adsorción y consecuentemente la cantidad de moléculas adsorbidas en la superficie.

Los tratamientos térmicos, especialmente si son del tipo de la esterilización, favorecen la estabilidad de emulsiones formuladas con caseinatos. Srinivasan et al. (2002 y 2003) demostraron que un tratamiento térmico de 15 minutos a 121 °C antes de formar la emulsión, incrementa el área superficial, mejora la estabilidad frente al cremado y se presenta un cambio en las proporciones de las caseínas que se encuentran en la superficie. El tratamiento térmico provoca la formación de nuevos péptidos y productos de degradación, así como polimerización de moléculas de caseína. Estos productos formados, se adsorben eficazmente durante el proceso de emulsificación.

La estabilidad de la leche al adicionar cantidades significativas de etanol, es un indicativo de calidad de la leche. En proteínas globulares, la adición de etanol desestabiliza la estructura secundaria afectando interacciones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas. La combinación de caseinatos de sodio con etanol es muy utilizada en la elaboración de cremas de licor. Una dispersión de caseinato de sodio al 3% es estable hasta el 30% de etanol (v/v) y con la adición de cloruro de sodio, hasta 53% (O'Kennedy, Cribbin y Kelly, 2001). Sin embargo, durante el almacenamiento hay un incremento en la viscosidad de estos productos y formación de geles (Lynch y Mulhivill, 1997; Dickinson y Golding, 1998b) comúnmente denominado tapón del cuello de la botella.

La presencia de tensoactivos con frecuencia tiene como efecto el desplazamiento o competencia por la superficie (Euston et al., 1995; Dickinson y Ritzoulis, 2000). Por ejemplo, la combinación de caseinato de sodio y polioxietileno monolaurato de sorbitán (Tween 20) en una emulsión aceite en agua causa cremado y floculación (Dickinson, Ritzoulis y Povey, 1999b). Es común encontrar

formulaciones que contengan, además de caseinatos, lecitina (fosfatidilcolina). Sin embargo, también hay desplazamiento de la caseína de la superficie por la presencia de di-oleil fosfatidilcolina (Fang y Dalgleish, 1996).

### **1.2.3. Espumas**

Hay poca información acerca de la estabilidad de espumas formadas a partir de caseinatos. Sin embargo, es más abundante cuando se trata de la caseína  $\beta$ . La capacidad de formación de espuma de la caseína  $\beta$  aumenta con la concentración en solución mientras que en el caso de caseinatos de sodio, depende de la rapidez de difusión hacia la interfase aire-agua (Carrera-Sánchez y Rodríguez-Patiño, 2005). La estabilidad de la espuma formada con caseinato se relaciona con la presión superficial en el equilibrio pero también con la concentración; mayor estabilidad a mayor concentración.

## CAPITULO 2

### TERMODINÁMICA DE SUPERFICIES

#### 2.1. Ecuación de adsorción de Gibbs

La tensión superficial es el resultado de las fuerzas de van der Waals que actúan en una molécula en la superficie de un líquido a diferencia de las fuerzas que actúan en el seno del líquido. En un sistema de dos o más componentes, las moléculas en el seno del líquido están sometidas a fuerzas isotrópicas equivalentes con otras moléculas vecinas mientras que las moléculas en la superficie son atraídas hacia el interior. El efecto es que la energía libre del sistema se mantiene en un mínimo. De esta acumulación surge el concepto de concentración de superficie, definido por Gibbs como el exceso de la concentración de superficie, que corresponde a la concentración de las especies adsorbidas en la superficie, expresado en unidades de concentración por unidad de área (Rosen, 2004). La ecuación de adsorción de Gibbs es la ecuación fundamental que rige muchos de los procesos de adsorción en sus diferentes modalidades. Sea la ecuación de Gibbs-Duhem para la región superficial:

$$S^s dT - V^s dP + Ad\sigma + \sum n_i^s d\mu_i = 0 \quad (1)$$

donde el superíndice  $s$  indica propiedades en la región superficial;  $S^s$  es la entropía en la superficie,  $V^s$  es el volumen en la superficie,  $P$  la presión,  $T$  es la temperatura absoluta,  $A$  es el área superficial,  $\sigma$  es la tensión superficial,  $n_i^s$  el número de moles de la especie  $i$  en la superficie y  $\mu_i$  es el potencial químico de cada componente. La ecuación (1) fue modificada, primero en condición isotérmica y bajo la primera convención de Gibbs que indica que el volumen de la superficie es cero (Gibbs, 1928); e incorporando la concentración de superficie  $\Gamma = n/A$ ; la ecuación de adsorción de Gibbs para un sistema binario, donde el subíndice 1 indica al disolvente y 2 el soluto:

$$d\pi = \Gamma_1 d\mu_1 + \Gamma_2 d\mu_2 \quad (2)$$

donde  $\pi$  es la presión superficial ( $\pi = \sigma_o - \sigma$ ;  $\sigma_o$  es la tensión superficial del componente puro y  $\sigma$  la tensión superficial de la disolución),  $\Gamma_1$  y  $\Gamma_2$  son las

concentraciones de superficie de cada uno de los componentes. La ecuación de Gibbs-Duhem para el seno de la disolución a temperatura y presión constantes:

$$x_1 d\mu_1 + x_2 d\mu_2 = 0 \quad (3)$$

Donde  $x_1$  y  $x_2$  son las fracciones mol de los componentes. De la ecuación (2), la ecuación de adsorción de Gibbs se expresa en función del componente 2 (soluto):

$$d\pi = \Gamma_2 d\mu_2 - \Gamma_1 \frac{x_2}{x_1} d\mu_2 \quad (4)$$

Los tensoactivos generalmente se encuentran en régimen diluido cuando  $x_2 \rightarrow 0$   $0 \leq x \leq x_{cmc}$ ; a partir de este momento se eliminan los subíndices y se obtiene la ecuación de adsorción de Gibbs (1928):

$$\Gamma = \frac{d\pi}{d\mu} \quad (5)$$

## 2.2. Potencial químico

### 2.2.1. Potencial químico de superficie

Si se cuenta con una ecuación de estado superficial, es posible mediante la ecuación de adsorción de Gibbs (Ec 5) obtener el potencial químico correspondiente para la superficie. Sea el caso de la ecuación de gas ideal bidimensional (Ec 6):

$$\pi A = RT \quad (6)$$

donde A es el área molecular, R es la constante universal de los gases, T la temperatura absoluta; el potencial químico ideal para la superficie se obtiene a partir de las Ecs. 5 y 6:

$$\mu^s = \mu_0^s + RT \ln \pi^* \quad (7)$$

La ecuación (7) contiene el estado de referencia  $\pi^0$  en la presión superficial reducida  $\pi^* = \pi / \pi^0$ , donde  $\pi^0 = \sigma_1 - \sigma_2$  es la presión de saturación de referencia que es la diferencia en tensión superficial de los componentes puros y el potencial químico de referencia para la superficie  $\mu_0^s$ .

### 2.2.2. Potencial químico del seno de la disolución

Continuemos con la descripción en el seno de la disolución; en las vecindades de la concentración micelar crítica la superficie está prácticamente saturada mientras que el seno de la disolución se encuentra en régimen diluido. La correcta definición del potencial químico en el seno de la disolución requiere del coeficiente de actividad ( $\gamma$ ) que describe el balance de los efectos hidrófobos e hidrófilos de una molécula de tensoactivo; mide las interacciones soluto-disolvente. Al normalizar cada componente, el coeficiente de actividad  $\gamma_i \rightarrow 1$  cuando  $x_i \rightarrow 1$  (Figura 2.1.); tal que la convención simétrica de normalización resulta como:

$$\begin{aligned} \gamma_i &\rightarrow 1; & x_i &\rightarrow 1 \\ \gamma_i &\rightarrow \gamma_i^\infty; & x_i &\rightarrow 0 \end{aligned} \quad (8)$$

El potencial químico para el seno de la disolución en el régimen a dilución infinita se expresa como:

$$\mu_{x \rightarrow 0}^b = \mu_0^b + RT \ln \gamma^\infty \quad (9)$$

donde el superíndice  $b$  (*bulk*, en inglés) indica seno de la disolución.

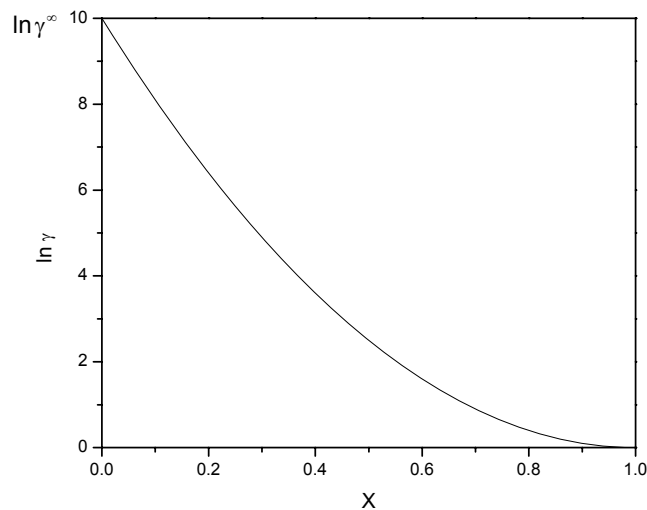


Figura 2.1. Convención simétrica para el coeficiente de actividad



Es necesario seleccionar los mismos estados de referencia de forma que los potenciales químicos estándar de superficie y del seno de la disolución sean iguales,  $\pi^*=1$  y  $x=1$ , de forma que:

$$\mu_0^s + RT \ln \pi^* = \mu_0^b + RT \ln \gamma^\infty \quad (10)$$

Y obtener el coeficiente de actividad a dilución infinita:

$$\gamma^\infty = \left( \frac{\pi^*}{x} \right)_{x \rightarrow 0} \quad (11)$$

La Ec. (11) resulta insuficiente para la correcta descripción y cálculo de los coeficientes de actividad y muestra la no idealidad de las superficies y de aquí el requisito de emplear ecuaciones no ideales (Gracia-Fadrique, 1999). Para la determinación de coeficientes de actividad de tensoactivos de alto peso molecular Viades-Trejo y Gracia-Fadrique (2008) proponen una ecuación de estado superficial no ideal, requisitos que se encuentran en la ecuación de estado para la superficie propuesta por Volmer análoga a la ecuación de Van de Waals en dos dimensiones sin el término atractivo:

$$\pi(A - A_0) = RT \quad (12)$$

donde  $A$  es el área molecular y  $A_0$  conserva las desviaciones de la idealidad. La ecuación anterior puede expresarse en términos de  $\Gamma$  ( $A^{-1}$ ):

$$\frac{1}{\Gamma} = \frac{RT}{\pi} + \frac{1}{\Gamma_s} \quad (13)$$

Al sustituir  $\Gamma$  de Volmer en la ecuación de adsorción de Gibbs (Ec. 5) se obtiene el potencial químico correspondiente de la superficie:

$$d\mu^s = \frac{d\pi}{\Gamma} = RT d \ln \pi + \frac{d\pi}{\Gamma_s} \quad (14)$$

Bajo los mismos estados de referencia para la superficie y para el seno de la disolución ( $\mu^{0b} = \mu^{0s}$ ;  $\pi(x=1) = \pi^0$ ) de forma que después de integrar la ecuación (14) se obtiene:

$$\mu^s = \mu^{0s} + RT \ln \frac{\pi}{\pi^0} + \frac{\pi - \pi^0}{\Gamma_s} \quad (15)$$

El cociente  $\pi / \pi^0$  corresponde a la presión reducida  $\pi^*$ :

$$\mu^s = \mu^{0s} + RT \ln \pi^* + \frac{\pi^0}{\Gamma_s} (\pi^* - 1) \quad (16)$$

En condiciones de equilibrio el potencial químico en el seno de la disolución (Ec. 9) es idéntico al de la superficie (Ec. 16):

$$\ln \left( \frac{\pi^*}{x} \right) = \frac{\pi^0}{\Gamma_s RT} (1 - \pi^*) + \ln \gamma^\infty \quad (17)$$

Cuando la concentración de tensoactivo es igual a la concentración micelar crítica la presión superficial se mantiene constante y  $\pi^* = 1$ ; entonces el coeficiente de actividad a dilución infinita (Ec. 17) corresponde al inverso de la concentración micelar crítica ( $\gamma^\infty = x_{cmc}^{-1}$ ):

$$\ln \left( \frac{\pi^*}{x} \right) = z_m (1 - \pi^*) - \ln x_{cmc} \quad (18)$$

donde  $z_m$  es el factor de compresibilidad bidimensional máximo ( $z_m = \pi_m / \Gamma_s RT$ ).

La ecuación integral de Volmer (Ec. 18) en función de la composición se cumple en el régimen a dilución infinita ( $x \leq x_{cmc}$ ). A partir de datos experimentales representados como  $\ln(\pi^*/x)$  vs  $1 - \pi^*$  se obtiene una región lineal, cuya pendiente corresponde al factor de compresibilidad (Figura 2.2.) que contiene a su vez la concentración de saturación o su recíproco, el área molecular. La concentración micelar crítica se obtiene de la ordenada al origen.

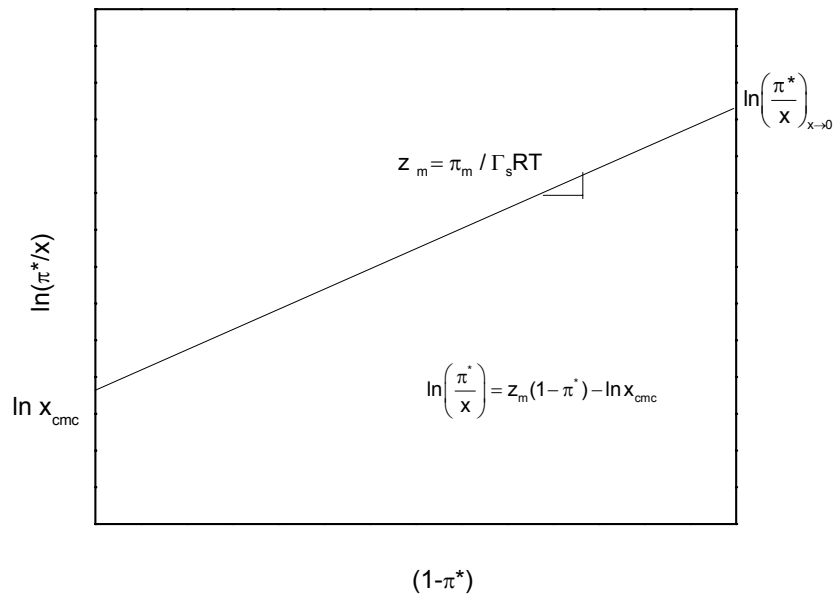


Figura. 2.2. Ecuación de estado para la superficie de Volmer (Viades-Trejo y Gracia-Fadrique, 2008)

Para el caso de tensoactivos o anfífilos de alto peso molecular constituidos por mezclas complejas donde la determinación del peso molecular resulta polidisperso, es obligado el uso de la fracción en peso para la descripción de la actividad superficial:

$$x_2 = \frac{n_2}{n_1 + n_2}; \quad n_i = \frac{w_i}{M_i} \quad (19)$$

donde el subíndice 1 se refiere al disolvente (agua) y el subíndice 2 al soluto;  $n_i = w_i/M_i$  donde  $w_i$  es la fracción en peso y  $M_i$  es la masa molecular. En condiciones de dilución infinita:  $x_2 \rightarrow 0$ ,  $w_2 \rightarrow 0$  y  $w_1 \rightarrow 1$ :

$$\ln x_2 = \ln w_2 + \ln \frac{M_1}{M_2} \quad (20)$$

al sustituir fracción mol por fracción peso en la ecuación integral de Volmer y eliminar el subíndice 2:

$$\ln \pi^* - \ln w - \ln \frac{M_1}{M_2} = z_m(1 - \pi^*) - \ln w_{cmc} - \ln \frac{M_1}{M_2} \quad (21)$$

$$\ln\left(\frac{\pi^*}{w}\right) = z_m(1 - \pi^*) - \ln w_{cmc} \quad (22)$$

Al comparar las Ecs. 18 y 22 se observa que la  $z_m$  que corresponde a la pendiente, es la misma e independiente del sistema de unidades empleado en la medición de la concentración. Este tratamiento permite la obtención de la concentración máxima de saturación, la concentración micelar crítica y la estructura de la superficie.

### **2.3. Evaluación termodinámica de la concentración micelar crítica**

La concentración micelar crítica (cmc) es uno de los parámetros más importantes y característicos de un tensoactivo, además de constituir uno de los elementos básicos para el desarrollo de nuevas tecnologías. La cmc está asociada con cambios en ciertas propiedades físicas (Figura 2.3) como el incremento en la presión osmótica, la turbidez aumenta notablemente indicando la presencia de un proceso asociativo; la tensión superficial se mantiene casi constante y la conductividad decae (Shaw, 1992). Mc Bain y Salomon (1918) propusieron que este comportamiento se debía a la presencia de agregados organizados o micelas y la concentración a partir de la cual se observan los cambios en las propiedades físicas es la cmc. La cmc, su estructura y número de agregación, pertenecen a los parámetros termodinámicos de un tensoactivo en solución. Estas variables se encuentran acopladas a la concentración máxima de superficie y a la presión superficial extrema que un tensoactivo presenta en condiciones isotérmicas. Con el cambio de temperatura, el conjunto de estos parámetros muestra variaciones importantes; el caso de los tensoactivos no iónicos etoxilados es uno de los más sensibles a cambios de temperatura, donde su aumento induce un mayor número de agregación.

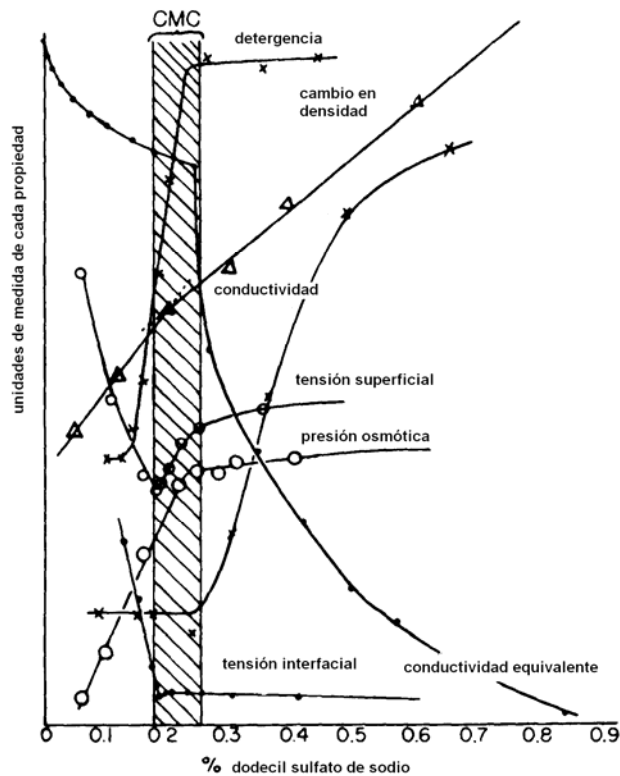


Figura 2.3. Propiedades físicas de soluciones de dodecil sulfato de sodio a 25°C (Preston, 1948).

El comportamiento de la tensión superficial frente a la concentración es uno de los métodos más tradicionales y completos para la determinación de la cmc (Rosen, 2004), ya que las condiciones a la frontera en la cmc se presentan de manera simultánea:

$$x \rightarrow x_{\text{cmc}}; \quad \pi \rightarrow \pi_s; \quad \Gamma \rightarrow \Gamma_s; \quad \theta \rightarrow 1$$

Donde  $\theta$  es la cobertura superficial. La región lineal en coordenadas  $\pi$  vs  $\ln x$  y su intersección con la presión de saturación es el procedimiento habitual y de mayor uso para determinar la cmc lo que resulta en un método gráfico de baja calidad e incertidumbre considerable. Para lograr una mejora substantiva a este procedimiento, se muestran tres diferentes métodos fundados en propiedades termodinámicas que permiten aumentar notablemente la calidad de información termodinámica sobre el comportamiento de la cmc: vía la ecuación de adsorción

de Gibbs, la isoterma de Langmuir y la ecuación de estado superficial propuesta por Volmer. Para ello, se utilizó el sistema nonil fenol + 6 moles de óxido de etileno, en la región lineal (Ortega et al., 2000) y se compararon los resultados de cmc por los tres métodos.

### 2.3.1. Ecuación de adsorción de Gibbs

La ecuación de adsorción de Gibbs se puede expresar como:

$$\frac{d\pi}{d\ln x} = \Gamma_s RT \quad (23)$$

En las vecindades de la concentración micelar crítica, la concentración de superficie es máxima o de saturación y la derivada de  $\pi$  vs  $\ln x$  alcanza el valor máximo en un régimen lineal:

$$x \rightarrow x_{cmc}; \Gamma \rightarrow \Gamma_s \quad \left. \frac{d\pi}{d\ln x} \right|_{\max} = \Gamma_s RT \quad (24)$$

reagrupando términos e integrando:

$$\int_{\pi}^{\pi_s} d\pi = \Gamma_s RT \int_x^{x_{cmc}} \ln x \quad (25)$$

se obtiene una ecuación lineal:

$$\pi = (\pi_s - \Gamma_s RT \ln x_{cmc}) + \Gamma_s RT \ln x \quad (26)$$

con pendiente  $\Gamma_s RT$  y la ordenada al origen  $\pi_s - \Gamma_s RT \ln x_{cmc}$ , que contiene la cmc. Sin embargo, la Ec. 26 es válida únicamente al tomar la porción lineal de los datos representados como  $\pi$  vs  $\ln x$  (Novelo-Torres y Gracia-Fadrique, 2005). En la Figura 2.4 se muestra el caso del nonil fenol + 6 OE en la región lineal (Ortega et al., 2000). Este es un ejemplo donde además de cmc se obtiene información adicional como la concentración de saturación de superficie,  $\Gamma_s$  y con ello el área molecular ( $A=1/\Gamma_s$ ).

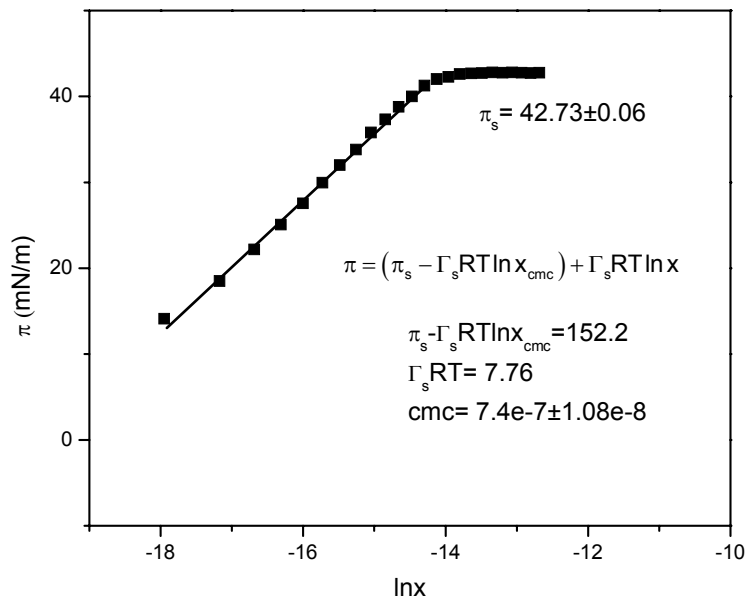


Figura. 2.4. Evaluación de cmc de nonil fenol + 6 OE por la ecuación de adsorción de Gibbs

### 2.3.2. Isoterma de Langmuir

El segundo método utilizado para obtener la cmc es a partir de la isoterma de Langmuir (1917):

$$\theta = \frac{\beta x}{1 + \beta x} \quad (27)$$

que acoplada con la ecuación de adsorción de Gibbs (Ec. 23) en términos de  $\theta$ , donde:

$$\theta = \frac{\Gamma}{\Gamma_s} \quad (28)$$

adquiere la forma:

$$\theta = \frac{x}{\Gamma_s RT} \left( \frac{d\pi}{dx} \right) \quad (29)$$

Al igualar la isoterma de Langmuir (Ec. 27) con la Ec. 29 (Gracia-Fadrique, 1999):

$$\frac{x}{\Gamma_s RT} \left( \frac{d\pi}{dx} \right) = \frac{\beta x}{1 + \beta x} \quad (30)$$

reacomodando términos e integrando:

$$\int_{\pi}^{\pi_s} d\pi = \Gamma_s RT \int_0^x d\ln(1 + \beta x) \quad (31)$$

se obtiene la ecuación de estado superficial derivada de la isoterma de Langmuir:

$$\pi = \Gamma_s RT \ln(1 + \beta x) \quad (32)$$

De la isoterma de Langmuir (Ec. 27):

$$1 + \beta x = \frac{\beta x}{\theta} \quad (33)$$

que al sustituir en la Ec. 32 se obtiene la relación:

$$\pi = \Gamma_s RT [\ln \beta x - \ln \theta] \quad (34)$$

en la región de saturación  $\theta \rightarrow 1$ ;  $x \rightarrow x_{cmc}$ ;  $\pi \rightarrow \pi_s$  y la Ec. 34 se reduce a:

$$\pi_s = \Gamma_s RT \ln \beta x_{cmc} \quad (35)$$

En la Figura 2.5 se muestran los datos de nonil fenol + 6 OE bajo el tratamiento de la isoterma de Langmuir (Ec. 35). En este caso se toman los datos antes de la cmc y del ajuste se obtienen  $\Gamma_s RT$  y  $\beta$  que representa el factor hidrofóbico.

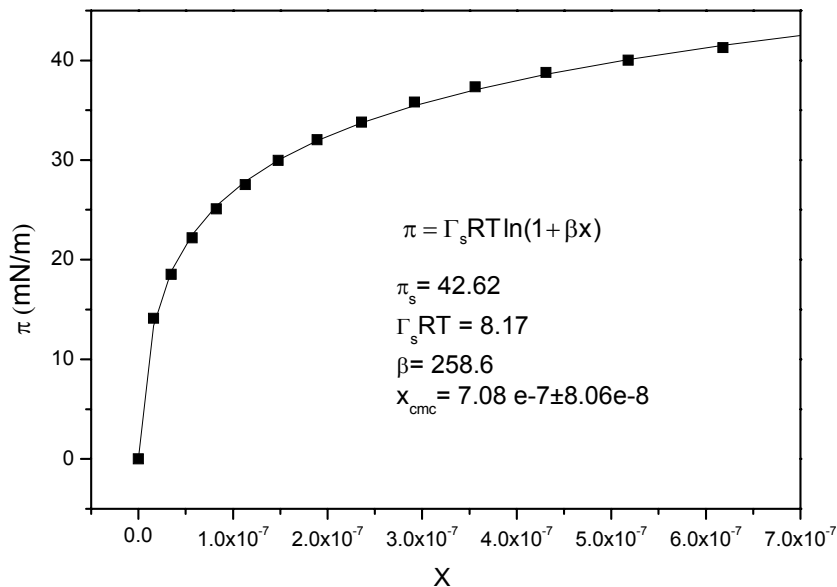


Figura. 2.5. Evaluación de cmc de nonil fenol + 6 OE por la isoterma de Langmuir



### 2.3.3. Ecuación de estado superficial de Volmer

En este tercer método para el cálculo de la cmc, el desarrollo se presentó en la sección anterior (2.2.2). De los tres métodos este último es más confiable porque el uso de una relación como  $\pi^*/x$  permite el uso y selección de datos de buena calidad experimental (Figura 2.6). Además de la cmc, se obtiene el factor de compresibilidad bidimensional a saturación ( $z_m = \pi_m / \Gamma_s RT$ ) que contiene la concentración de saturación de superficie y el coeficiente de actividad a dilución infinita,  $\gamma^\infty = x_{cmc}^{-1}$ .

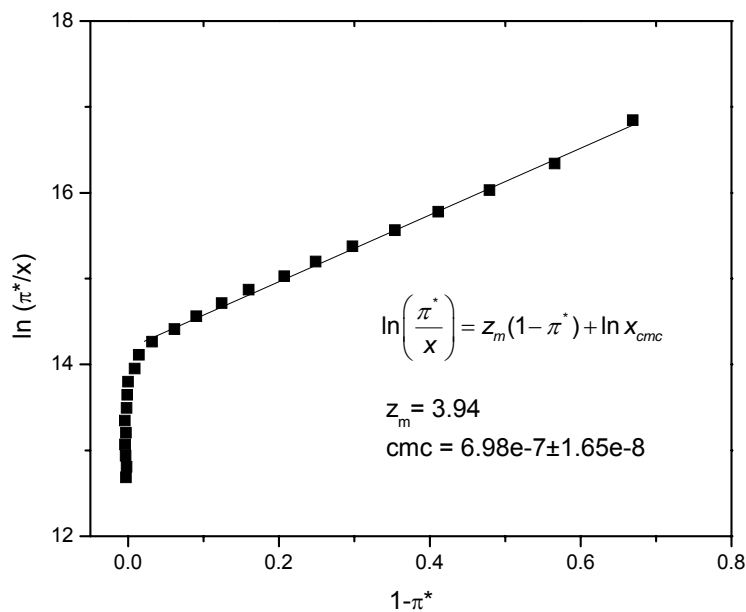


Figura. 2.6. Evaluación de cmc de nonil fenol + 6 OE por la ecuación de Volmer

Los métodos de Gibbs y de Volmer presentan menor desviación, aunque por el método de Volmer se obtiene mayor información (Tabla 2.1) y la calidad de los datos empleados es mejor, tampoco requiere una preselección de los mismos, es decir, la selección de la región lineal como en el caso de Gibbs. En el tratamiento por Langmuir se seleccionan los datos hasta la cmc y por tanto una preselección de la cmc.

Tabla 2.1. Comparativo de los tres métodos para la obtención de cmc para nonil fenol + 6 OE

Método	CMC (fracción mol)	Z <sub>m</sub>
Ec. Adsorción Gibbs	$7.4 \times 10^{-7} \pm 1.08 \times 10^{-8}$	$5.5 \pm 0.1$
Langmuir	$7.08 \times 10^{-7} \pm 8.06 \times 10^{-8}$	$5.2 \pm 0.08$
Volmer	$6.98 \times 10^{-7} \pm 1.65 \times 10^{-8}$	$3.9 \pm 0.07$

## 2.4. Teoría de emulsiones y espumas

Las emulsiones y las espumas son sistemas dispersos que consisten generalmente de dos fases inmiscibles; son sistemas termodinámicamente inestables aunque la presencia de sustancias anfífilas aumenta la estabilidad. Las emulsiones y espumas se encuentran íntimamente relacionados a pesar de ser de diferente naturaleza; en una espuma, los efectos interfaciales se magnifican y el comportamiento de la elasticidad vs. concentración del anfífilo constituye el preámbulo que conecta ambos sistemas. Como una primera propuesta, en la sección 2.4.2, se incluye un trabajo original derivado de esta investigación que contiene la descripción de espumabilidad (o *foamability* que se define como el volumen de espuma producido por un volumen de tensoactivo a una determinada concentración) donde se muestra que bajo condiciones de equilibrio entre la superficie y el seno del líquido, es posible describir cualitativa y cuantitativamente la espumabilidad de una molécula anfífilica o tensoactivo.

### 2.4.1. Teoría de emulsiones

Una emulsión es un sistema heterogéneo, que consiste al menos de un líquido inmiscible íntimamente disperso en otro en forma de gotas, cuyo diámetro en general, excede a 0.1  $\mu\text{m}$ . Estos sistemas poseen una estabilidad mínima, que

puede ser acentuada por agentes tensoactivos o por sólidos finamente divididos (Becher, 1966). La fase presente en forma de gotas finamente divididas, es la fase dispersa o discontinua, mientras que la matriz o la fase en la que estas gotas están dispersas, es la fase continua. El tipo de emulsión depende de cuál es la fase continua y cuál, la dispersa. Las emulsiones aceite en agua (o/w, por sus sigla en inglés) son aquellas en las que el aceite es la fase dispersa, por ejemplo, la leche o la mayonesa. Si el agua es la fase dispersa, entonces son emulsiones agua en aceite (w/o), como la mantequilla. Dado que en la formación de emulsiones hay un incremento de la superficie interfacial es necesario discutir las propiedades de las superficies e interfases.

#### **2.4.1.1. Tensión superficial**

En el seno del líquido existen fuerzas atractivas entre las moléculas que previenen que migren al estado vapor. Sin embargo, las moléculas en la superficie, al no estar completamente rodeadas por otras moléculas de líquido, están sujetas a una fuerza atractiva que las dirige hacia el seno del líquido. Entre más pequeña la superficie, menor es esta energía. Dado que la condición de mínima superficie, conduce a una menor energía, la superficie de un líquido tiende a contraerse. La tensión superficial ( $\sigma$ ) se define como el trabajo necesario para incrementar la superficie un centímetro cuadrado:

$$\sigma = \frac{w\Delta d}{2} \quad (36)$$

Las unidades de tensión superficial comúnmente utilizadas son mN/m y dinas/cm.

#### **2.4.1.2. Tensión superficial dinámica**

La tensión superficial en el equilibrio de una solución de tensoactivo no se alcanza sino una vez transcurrido un tiempo determinado. Es necesario que las moléculas del tensoactivo migren a la superficie y se adsorban, adoptando una orientación propia. La tensión superficial de una interfase recién formada es igual a la del solvente puro y disminuye conforme el tiempo hasta un valor al equilibrio. El tiempo que toma alcanzar este equilibrio puede ser desde segundos hasta

horas, dependiendo de la concentración y tipo de tensoactivo. La migración del tensoactivo a la superficie resulta del gradiente de concentración entre el seno del líquido y la superficie recién formada.

Para una solución de tensoactivo en equilibrio, la concentración interfacial en equilibrio, está dada por  $\Gamma_{eq}$  (Figura 2.7). Sin embargo, la adsorción es un fenómeno dinámico donde el flujo por adsorción es igual al flujo por desorción de moléculas hacia la superficie.

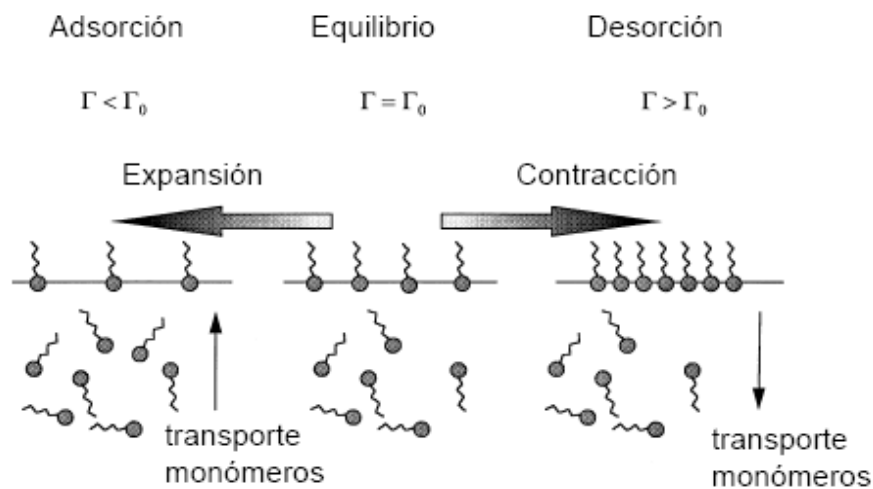


Figura 2.7. Efecto de la expansión y contracción de una superficie en la concentración de superficie (Eastoe y Dalton, 2000)

En un sistema binario, cuando una superficie se expande, ya sea al crear una gota o al formar una burbuja de aire, se crea un gradiente de concentración y la velocidad de adsorción es mayor que la de desorción. Así, con el objetivo de alcanzar el equilibrio, las moléculas migran del seno de la disolución, hacia la interfase.

### 2.4.1.3. Tensión interfacial líquido-líquido

Cuando dos líquidos inmiscibles se ponen en contacto, se crea una nueva interfase. Las fuerza atractivas presentes en este tipo de interfases son distintas al caso de una interfase simple debido a que hay cierta interacción de Van der Waals en las moléculas de la superficie del segundo líquido. Esta atracción es de un

orden de magnitud distinto al de las moléculas en el seno de la disolución. El trabajo de adhesión es el resultado de las fuerzas atractivas presentes entre las moléculas de diferente naturaleza mientras que el trabajo de cohesión entre moléculas de la misma naturaleza.

$$W_{\text{Adh}} = \sigma_{L_2V} + \sigma_{L_1V} - \sigma_{L_1L_2} \quad (37)$$

$$W_{\text{Coh}} = 2\sigma \quad (38)$$

Donde V= vapor, L<sub>1</sub>=líquido (agua) y L<sub>2</sub>= líquido (aceite)

Un líquido en contacto con un sustrato se expande y desplaza otro fluido como aire en una superficie. Para que la extensión ocurra de manera espontánea, la energía libre del sistema debe disminuir durante el proceso (Rosen, 2004). El coeficiente de extensión es la diferencia entre el trabajo de adhesión y el de cohesión.

$$S_{L/S} = W_A - W_C = \sigma_{L_2V} - \sigma_{L_1L_2} - \sigma_{L_1V} \quad (39)$$

Si el trabajo de  $W_A > W_C$ , el coeficiente de extensión es mayor que cero lo que implica que un líquido se extiende sobre el otro formando una película delgada. Cuando  $W_A < W_C$  no hay extensión de un líquido sobre el otro lo que afecta la estabilidad de la emulsión. Cuando una capa delgada de un líquido L<sub>1</sub> se extiende sobre otra de un líquido L<sub>2</sub> como sustrato, el valor de S puede obtenerse directamente midiendo las tensiones superficiales de los líquidos y la tensión interfacial entre ellos. Eventualmente las fases se saturan una con la otra en las vecindades de la interfase y el coeficiente de extensión al equilibrio al equilibrio será de las tensiones de las fases mutuamente saturadas.

#### **2.4.1.4. HLB y teoría de momentos**

El balance hidrófilo–lipófilo (HLB) es un sistema de clasificación y selección de tensoactivos propuesto por Griffin (1979), basado en la afinidad de los grupos polares y no polares de la molécula, en una escala arbitraria de cero a veinte, que califica el balance hidrófilo-lipófilo del tensoactivo. Un tensoactivo que es lipófilo tiene asignado un valor menor a nueve y un tensoactivo hidrófilo tiene un valor de HLB mayor a once. El HLB está relacionado con su solubilidad, así un valor bajo

de HLB indica que es soluble en aceite y uno alto, que es soluble en agua. Los valores de HLB de un gran número de tensoactivos comerciales pueden consultarse directamente con los proveedores. Para la formación de emulsiones, la selección del HLB del tensoactivo dependerá del tipo de emulsión y de la naturaleza de los componentes. En la literatura se reportan los valores de HLB requerido (HLBR), que es un valor puntual obtenido experimentalmente por pruebas de emulsificación de aceites de diferente naturaleza y una serie de tensoactivos con HLB conocido. Por ejemplo, para una emulsión aceite en agua, para aceite de maíz o de soya, el HLBR es 6.0 (Griffin, 1979). Sin embargo, es conocido que la mezcla de tensoactivos es una mejor alternativa en el proceso de emulsificación. La teoría de momentos (García-Macías, 1998) es una herramienta que permite reducir tiempos y seleccionar adecuadamente la mezcla de tensoactivos. Esta teoría está basada en la analogía existente entre un sistema de fuerzas y los momentos estadísticos y con la escala de HLB.

El primer momento central surge en relación de distribución en un sistema de fuerzas donde la media aritmética es análoga al centro de gravedad del sistema (Figura 2.8). Donde  $F_i$  son las fuerzas,  $X_i$  los componentes y  $\bar{X}$  es la media aritmética. La analogía a un sistema HLB se muestra en la Figura 2.8 (b) donde las fuerzas se intercambian por la fracción en peso de cada tensoactivo. El primer momento central indica que la proporción óptima de tensoactivos es 50% de cada uno.

El segundo momento central hace analogía a la varianza; a la dispersión en que las fuerzas, o HLB están distribuidas. Por ejemplo, si el HLBR es 10, la mejor selección de tensoactivos corresponde a 5 y 15 porque la diferencia entre ambos es igual a la magnitud del HLBR.

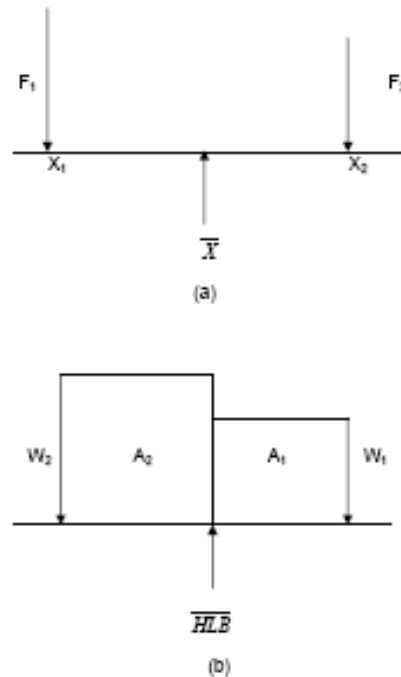


Figura 2.8. Analogía de (a) un sistema de fuerzas y (b) del sistema HLB

#### 2.4.1.5. Emulsiones por inversión de fases

Se pueden obtener emulsiones aceite en agua en aceite, por adición directa o por la técnica de inversión de fases. La técnica de inversión de fases consiste en adicionar la fase continua a la fase dispersa hasta que esta última se sature y se invierta; por ejemplo si se inicia con una emulsión aceite en agua después de invertir es una emulsión agua en aceite.

Las emulsiones se pueden invertir de acuerdo con las condiciones de emulsificación, según el orden de adición de las fases y el flujo con el que se adicionen, la naturaleza de los tensoactivos, la fracción volumétrica de la fase continua y la temperatura del proceso de emulsificación. La teoría de inversión de fases diseñada por Ostwald (Lieberman et al., 1996) supone que una emulsión se invierte de agua-aceite a aceite-agua o viceversa cuando la fracción volumétrica de la fase continua es mayor a 0.74. Esta teoría se fundamenta en la consideración que las gotas de la fase dispersa son esferas perfectas de diámetro uniforme. En la Figura 2.9. se muestra el aumento en la viscosidad debido al

incremento de la fracción volumétrica, hasta el punto en que la viscosidad diverge y posteriormente disminuye nuevamente la viscosidad en la emulsión. En este punto se presenta la inversión de fases.

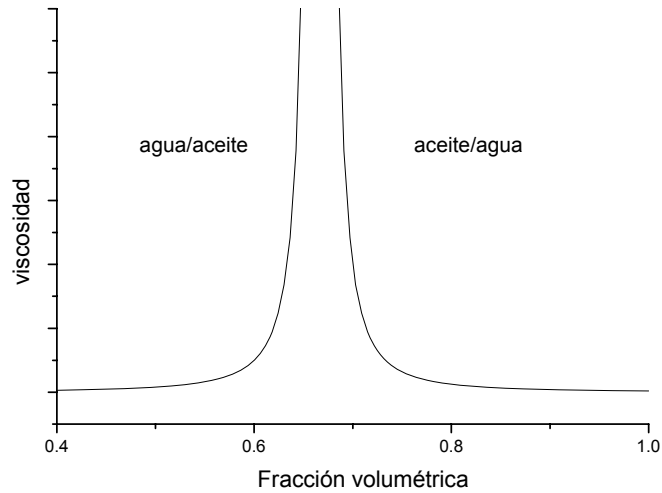


Figura 2.9. Efecto de la fracción volumétrica en la viscosidad en la formación de emulsiones por inversión de fases

#### **2.4.1.6. Estabilidad de emulsiones**

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables. Por lo tanto, la intención de formular emulsiones estables, se limita al control de procesos de inestabilidad como coalescencia, floculación, cremado. Las gotas de la fase dispersa en la emulsión, se encuentran en movimiento continuo y colisionan continuamente entre sí. Después de cada colisión, las gotas pueden separarse nuevamente (emulsión estable) o bien, formar agregados sin perder su identidad (floculación) o pueden unirse formando una gota más grande (coalescencia). Una vez floculadas o coalescidas, las gotas migran a la superficie o pueden sedimentar. La velocidad con la que este proceso está regido por la ecuación de Stokes:

$$u = \frac{2gr^2(d_1 - d_2)}{9\eta_2} \quad (40)$$



donde  $u$ , es la velocidad de sedimentación,  $g$  es la aceleración de la gravedad,  $r$  es el radio de la gota,  $d_1$  es la densidad de la fase dispersa y  $d_2$ , la densidad de la fase continua y  $\eta$ , la viscosidad del líquido. Coalescencia y floculación pueden ser prevenidas por dos mecanismos. El primero se logra si existe una barrera energética entre ellas y la otra es disminuyendo el movimiento de las gotas por incremento de la viscosidad. El aumento de la viscosidad de la fase continua proporciona estabilidad cinética, sin embargo esta contribución es pequeña.

#### 2.4.1.7. Curvatura

Las gotas dispersas sea de un líquido en otro como una emulsión o de vapor en un líquido como una espuma, existen dada la diferencia de presiones interna y externa y a la tensión superficial del líquido. Cuando la superficie se expande o se contrae, actúan el trabajo volumétrico y el de superficie. La relación existente entre curvatura, tensión superficial y la diferencia de presiones entre dos fases está dada por la ecuación de Young-Laplace y puede construirse a partir de la ecuación de la energía libre de Helmholtz (Ec. 41):

$$dF = -SdT - P^\alpha dV^\alpha - P^\beta dV^\beta + \sigma dA + \sum \mu_i^\alpha dn_i^\alpha + \sum \mu_i^\beta dn_i^\beta + \sum \mu_i^s dn_i^s \quad (41)$$

donde  $S$  es la entropía total,  $\sigma$  es la tensión superficial,  $A$  es el área superficial,  $\mu_i$  y  $n_i$  son los potenciales químicos y la concentración de los componentes,  $\alpha$  y  $\beta$  son las fases volumétricas en las regiones cóncavas y convexas; el súper índice  $s$  denota superficie. Para una superficie curva a temperatura constante, una expansión presenta un cambio en el área. Si la rapidez de expansión es mayor que la rapidez de difusión, se asume que la composición local es constante ( $dn_i = 0$ ) y entonces, al integrar la Ec. (41) el cambio en la energía de Helmholtz es:

$$dF = \sigma dA - P^\alpha dV^\alpha - P^\beta dV^\beta \quad (42)$$

Al equilibrio  $dF$  es igual a cero y para una esfera, la Ec. (42) proporciona la ecuación de Young-Laplace:

$$\Delta P = \frac{2\sigma}{R} \quad (43)$$

donde  $\Delta P = P^\alpha - P^\beta$ ; la diferencia de presiones interna y externa,  $\sigma$  es la tensión superficial y  $R$  es el radio de la esfera. Dado que tanto en una emulsión como en

una espuma, las fases dispersas se encuentran en forma de gotas esféricas, la ecuación de Young-Laplace es fundamental en el estudio de su estabilidad. Los cambios en tensión superficial y en el radio de curvatura afectan la presión en la burbuja. La coalescencia es el resultado de la formación de gotas de mayor tamaño a partir del contacto de gotas pequeñas con otras de mayor tamaño lo que provoca que se formen gotas de mayor tamaño; al formarse gotas más grandes, la diferencia de presión tiende a cero. De aquí la importancia en la distribución de tamaño de gotas; entre más pequeñas las gotas y más homogénea su distribución, mejor será su estabilidad.

#### **2.4.2. Espumabilidad bajo equilibrio solución-superficie**

Una espuma es una dispersión de un gas en un volumen relativamente pequeño de líquido (Ross, 1984) y puede ser formada al introducir gas o vapor con un flujo controlado a través de un vidrio poroso a una solución con tensoactivo; la espuma también puede formarse al proyectar un determinado volumen de la solución de tensoactivo desde una altura conocida a un tubo donde se mide la altura de la espuma formada (Bhakta y Ruckenstein, 1997). Una columna de espuma consiste de un conjunto de burbujas esféricas en el seno del líquido. Conforme las burbujas ascienden adquieren una forma tetrahédrica (Tamura, Kaneko y Ohyama, 1995) similar a un panal de abejas (Figura 2.10.). Las burbujas se encuentran separadas unas de otras por una delgada película denominada lamela. A lo largo de la columna hay un gradiente de concentración de superficie ( $\Gamma_n$ ) y solución ( $x_n$ ); este conjunto de etapas es la manifestación de espumabilidad definida como el volumen de espuma producido por un volumen de tensoactivo a una determinada concentración (Tamura, Kaneko y Ohyama, 1995; Malysa y Lunkenheimer, 2007). La espumabilidad depende de la composición, temperatura y de la estructura química del tensoactivo empleado. Otra propiedad de las espumas concierne a la estabilidad respecto al tiempo (Hédreul y Frens, 2001); los tensoactivos de cadena larga forman espumas permanentes que duran de diez minutos hasta algunas horas debido a que tocan regiones en composición que

consisten de cristales líquidos e incrementan la viscoelasticidad de la película impartiendo estabilidad. Las espumas transitorias duran algunos segundos o cuando se conserva el flujo de gas; se observan en soluciones de moléculas de bajo peso molecular como alcoholes, ácidos grasos y glico-éteres (Schick y Beyer, 1963). Las espumas formadas a partir de estas soluciones muestran un máximo en una concentración característica (Pugh, 1996; Tuinier et al., 1996); para espumas permanentes corresponde a la concentración micelar crítica.

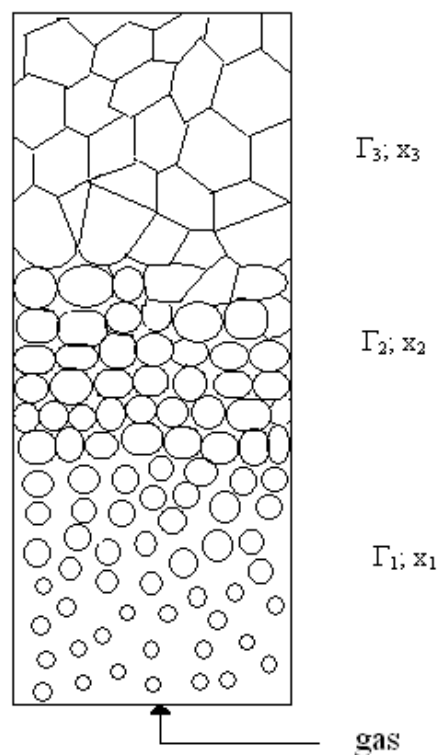


Figura 2.10. Composición de una columna de espuma con un incremento progresivo de la concentración de superficie ( $\Gamma$ ) y de solución ( $x$ )

El trabajo necesario para producir una espuma es proporcional con la tensión superficial multiplicada por el cambio de área, tal que el comportamiento de la tensión superficial en mezclas binarias y multicomponente constituye una herramienta útil para evaluar las propiedades de la espuma (Rosen, 2004). De acuerdo a esta definición, Rosen (2004) señala que entre menor sea la tensión

superficial mayor será el volumen de espuma bajo el mismo trabajo mecánico, sin embargo, la formación de espuma es una función de la rapidez de decremento de la tensión superficial (Tamura, Kaneko y Ohyama, 1995; Hédreul y Frens, 2001; Malysa y Lunkenheimer, 2007), que en el caso de espumas transitorias depende de la concentración, presentando la mayor persistencia en la concentración micelar crítica (Pugh, 1996; Rusanov, Krotov y Nekrasov, 2004).

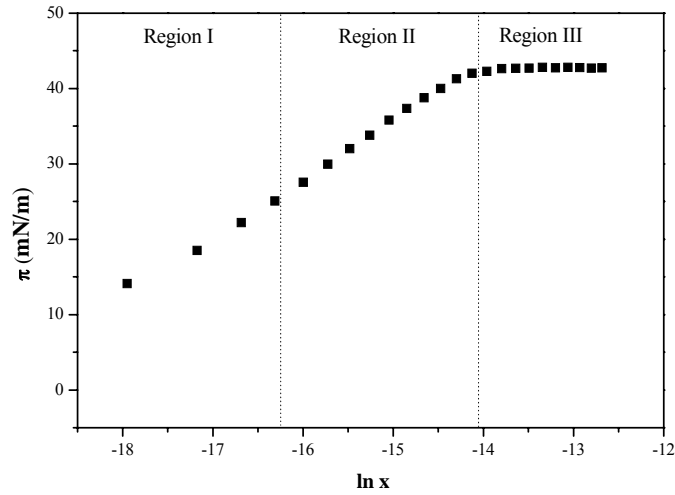
#### **2.4.2.1. Espumabilidad a partir de tensión superficial**

La espumabilidad se define como la cantidad de espuma producida a una concentración específica de un anfifilo en solución (Tuinier et al., 1995; Malysa y Lunkenheimer, 2007). La espumabilidad puede medirse en una columna de vidrio con un vidrio poroso en el fondo a través del cual se introduce gas con un flujo controlado; un volumen conocido del anfifilo en solución se vierte en la columna y la espuma se forma por el burbujeo del aire en la solución. Se registra el mayor volumen de espuma formado. La espumabilidad es consecuencia del gradiente de presión superficial de un tensoactivo en solución (Malysa y Lunkenheimer, 2007) por lo que se presenta una descripción general de la presión superficial en función de la concentración. El comportamiento más común de un tensoactivo en solución se caracteriza por un aumento en la presión superficial con la concentración hasta una concentración crítica ( $x_{cc}$ )<sup>1</sup>; comportamiento que se representa en este trabajo en tres regiones; la primera a dilución infinita donde hay un aumento no lineal de la presión superficial. A mayor concentración, en la segunda región, la curvatura comienza a desaparecer hasta alcanzar una concentración crítica, después de la cual, en la tercera región, la presión superficial permanece casi constante. La representación de las tres regiones se muestra en las Figura 2.11. para los sistemas (a) n-propanol + agua a 25 °C (Gracia et al., 1986) y (b) nonil-fenol con seis moles de óxido de etileno (Ortega et al., 2000). Es importante mencionar que

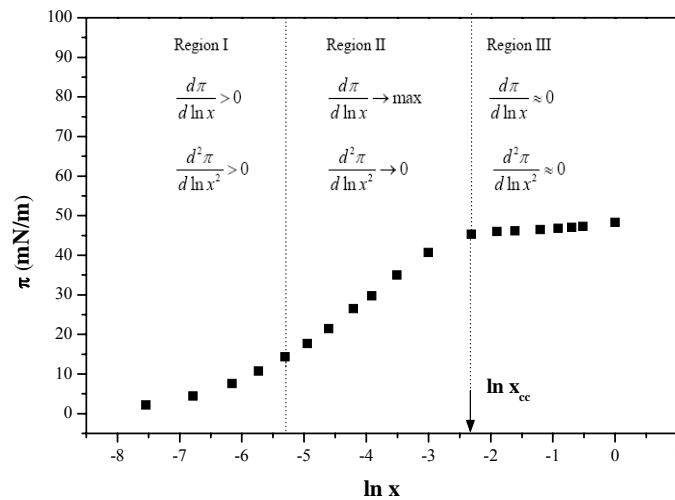
---

<sup>1</sup> Concentración crítica es la concentración donde se presenta un cambio súbito de la presión superficial en función de la concentración. Es la concentración donde inician las atracciones intermoleculares. Para tensoactivos de cadena larga, corresponde a la concentración micelar crítica.

para el caso de tensoactivos de cadena larga, la concentración crítica corresponde a la concentración micelar crítica.



(a)



(b)

Figura 2.11. Regiones de comportamiento de la presión superficial para los sistemas (a) NF6 + agua (Ortega et al., 2000) y (b) propanol + agua (Strey et al., 1999).

Los primeros reportes del comportamiento de espumas para sistemas binarios representados al interior de diagramas de fase fueron presentados por

Ross y Nishioka (1984). Los diagramas contienen líneas isafroicas (de raíz griega *Αφροδίτη* o *aphros*, espuma) mostrando un aumento en espumabilidad cerca de un punto crítico. La espumabilidad de espumas transitorias aumenta con un aumento en la concentración del tensoactivo hasta las vecindades de la concentración crítica donde la espumabilidad alcanza un valor máximo (Elizalde, Gracia y Costas, 1988; Rosen, 2004; Rusanov, Krotov y Nekrasov, 2004) adquiriendo una forma de “torre Eiffel” (Figura 2.12.).

Trabajos previos del comportamiento de espumas de fenol + agua (Gracia et al., 1986) y 2-butoxietanol + agua (Elizalde, Gracia y Costas, 1988) muestran este tipo de comportamiento. Alcoholes de cadena corta como el etanol, butanol, hexanol y octanol (Rosen, 2004) también forman espumas transitorias. La máxima espumabilidad se obtiene a una concentración donde se genera el mejor gradiente de tensión superficial (Varadaj et al., 1990; Malysa y Lunkenheimer, 2007). El comportamiento de la espumabilidad es consecuencia del comportamiento de la presión superficial vs. logaritmo de la concentración como se mostró en la Figura 2.11 y presenta tres regiones (Figura 2.12.). La región I está descrita por una tenue curva de pendiente positiva donde la espumabilidad aumenta con la concentración hasta un punto en el que se vuelve lineal. La segunda región está caracterizada por la pérdida de curvatura; se presenta un incremento exponencial en la formación de espuma en las vecindades de la concentración crítica y la espumabilidad diverge. En la región III, después de la concentración crítica, la espumabilidad disminuye en forma similar a la región I dando una forma general de “torre Eiffel” (Figura 2.12.). Las espumas permanentes presentan un comportamiento de espumabilidad vs concentración descrito por un aumento en la espumabilidad hasta la concentración micelar crítica; a partir de este punto, en la región III, la espumabilidad se mantiene casi constante debido a un factor de estabilidad por aumento en la viscosidad (Scheludko, 1996). En la columna de espuma se presenta un proceso de rectificación de la espuma y en los estratos superiores, la concentración de solución y superficie es mayor (Figura 2.10.) con una composición tal que se

alcanzan regiones de cristales líquidos (Ross y Nishioka, 1984) que forman una capa estabilizante (Tuinier et al., 1996).

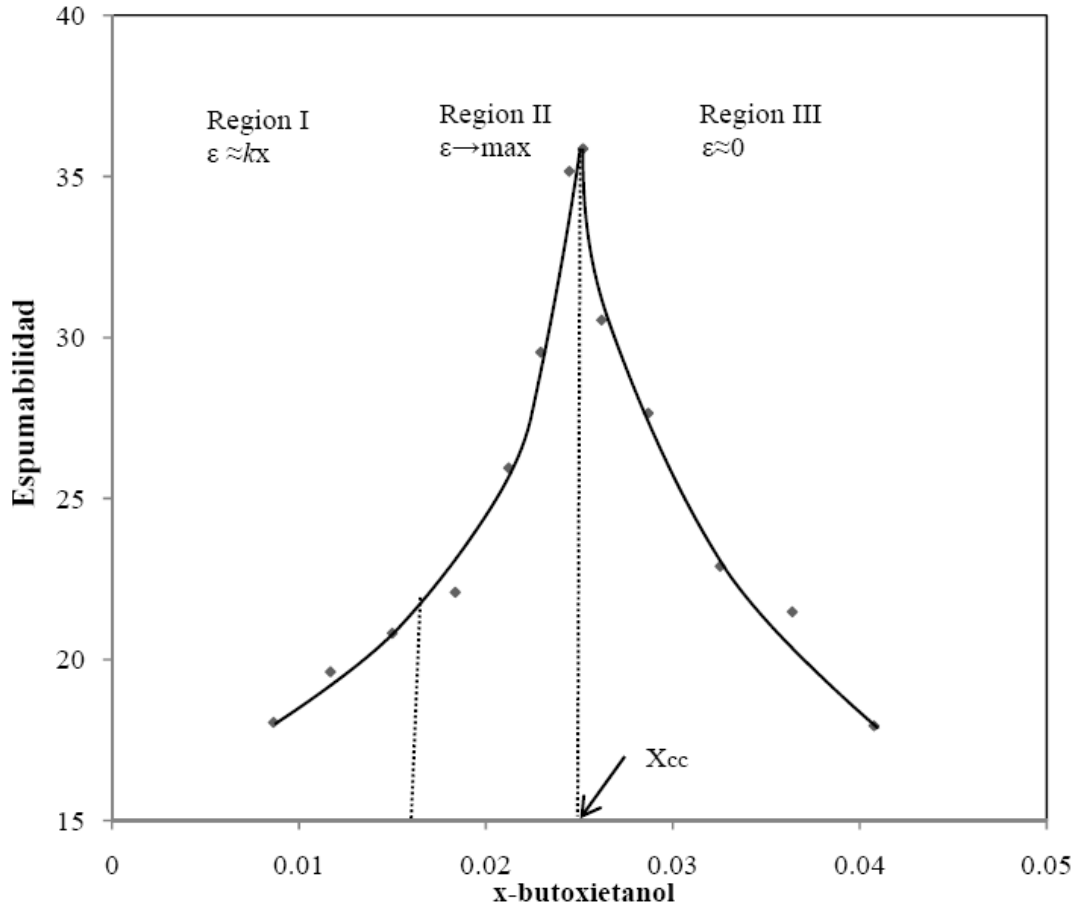


Figura 2.12. Espumabilidad del sistema 2-butoxietanol + agua a 4°C (Elizalde, Gracia y Costas, 1988)

La predicción de las propiedades de la espuma se ha reportado con modelos de crecimiento y drenado de la espuma por variaciones en los flujos de gas (Djabbarah y Wasan, 1985), comparando la velocidad del aire con la succión capilar (Neethling, Lee y Grassia, 2005) así como el efecto de la formación de espuma en la geometría (Grassia et al., 2006); y el comportamiento del drenado, coalescencia y colapso de espumas (Bahkta y Ruckenstein, 1997). Aquí se presenta de manera simple y concisa una descripción de la espumabilidad – transitoria y permanente- relacionada con el módulo de elasticidad de Gibbs

basado en condiciones de equilibrio local entre la solución lamelar y la concentración de superficie.

El módulo de elasticidad de Gibbs se define como el cambio en tensión superficial ( $\sigma$ ) vs. el logaritmo del área asociada ( $A$ ):

$$\varepsilon = 2 \frac{d\sigma}{d \ln A} \quad (44)$$

Es una propiedad que mide la variación en tensión superficial bajo un cambio en el área macroscópica, por contracción o expansión. Cuando una región de la película se expande, aumenta el área superficial y como consecuencia, la concentración de tensoactivo en la interfase disminuye y la tensión superficial en esa área, aumenta hasta que se alcanza el equilibrio (Ward y Tordai, 1946, Eastoe y Dalton, 2000). Una espuma estable es aquella cuya película posee una tensión superficial capaz de soportar variaciones locales del área (Malysa y Lunkenheimer, 2007). Sólo las películas formadas de soluciones de tensoactivos presentan este tipo de comportamiento y espuman. Los líquidos puros no pueden espumar debido a que no presentan variaciones en tensión superficial con el cambio de área.

Es equivalente el uso de presión superficial en lugar de tensión superficial, además el área asociada  $A$  se intercambia por el área específica  $\Omega$  ( $\Omega = 1/\Gamma$ ) que puede expresarse como la fracción de espacios ocupados  $\theta$ , donde  $\theta = \Gamma/\Gamma_s$ , y  $\Gamma$  es la concentración máxima de superficie. El módulo de elasticidad de Gibbs (Ec. 44) puede expresarse entonces como:

$$\varepsilon = 2 \frac{d\pi}{d \ln \theta} \quad (45)$$

En términos de la concentración de la solución como la derivada correspondiente respecto del logaritmo de la concentración:

$$\varepsilon = 2\theta \frac{d\pi / d \ln x}{d\theta / d \ln x} \quad (46)$$

La ecuación de adsorción de Gibbs asumiendo potencial químico ideal (Ec. 29) es:

$$\theta = \frac{1}{\Gamma_s RT} \left( \frac{d\pi}{d \ln x} \right)_T \quad (47)$$



Utilizando las Ecs. 46 y 47, el módulo de elasticidad de Gibbs se expresa en términos de la primera y segunda derivada de la presión superficial y el logaritmo de la concentración en solución:

$$\varepsilon = 2 \frac{(d\pi / d\ln x)^2}{(d^2\pi / d\ln x^2)} \quad (48)$$

La elasticidad en función de  $d\pi / d\ln x$  permite establecer una relación directa de la ecuación de adsorción de Gibbs (Ec. 47) e involucra el uso de la concentración de solución al equilibrio tal que, este modelo excluye cualquier efecto cinético como adsorción o difusión del componente en la interfase gas-líquido, así como el efecto Marangoni. La información contenida en la Ec. 48 constituye una herramienta esencial para describir la estabilidad de la espuma bajo el principio de equilibrio local entre la solución lamelar y la concentración de superficie. La composición y la presión superficial se obtienen experimentalmente; información que permite predecir la elasticidad, entendida como espumabilidad.

Las tres regiones que describen el comportamiento de la presión superficial en función del logaritmo de la concentración, mantienen relación con el comportamiento de la espumabilidad y presentan las mismas regiones. La primera región (Figura 2.12.) está descrita por un continuo aumento de la espumabilidad conforme aumenta la concentración de solución ( $\ln x$ ) y en relación con la ecuación de adsorción de Gibbs (primera derivada) hay un aumento en la concentración de superficie  $\Gamma$ :

$$\frac{d\pi}{d\ln x} > 0 \quad \frac{d\pi^2}{d\ln x^2} > 0 \quad (49)$$

En la región II, la primera derivada tiende a un máximo, lo mismo que  $\Gamma$  tiende a  $\Gamma_{\max}$  y la segunda derivada tiende a cero, así que de acuerdo con la Ec. 48, la elasticidad diverge:

$$\left. \frac{d\pi}{d\ln x} \right|_{x \rightarrow x_{cc}} \rightarrow \max \quad \frac{d^2\pi}{d\ln x^2} \rightarrow 0 \quad (50)$$

Después de la concentración crítica, la presión superficial se mantiene prácticamente constante y  $\Gamma$  corresponde a la concentración de superficie de

saturación; por lo tanto, la elasticidad disminuye y tiende a cero para espumas transitorias:

$$\frac{d\pi}{d\ln x} \rightarrow \max \quad \frac{d^2\pi}{d\ln x^2} \approx 0 \quad (51)$$

En algunos casos, e.g. alcoholes como butanol, hexanol y octanol, la espumabilidad desaparece cuando se alcanza el límite de solubilidad (Tuinier et al., 1996). Los resultados de trabajos previos de 2-butoxietanol (Elizalde, Gracia y Costas, 1988) presentan un comportamiento de la espuma como ya se describió (Figura 2.12.).

#### **2.4.2.2. Espumabilidad y ecuación de estado superficial**

La descripción cualitativa anterior puede traducirse a través de ecuaciones de estado que permitan el uso directo de la Ec. 45 donde la presión superficial se expresa en función de  $\theta$ . La ecuación de Frumkin es el caso más simple de ecuación de estado superficial no ideal que relaciona  $\pi$  vs.  $\theta$  y describe de forma satisfactoria, las primeras dos regiones de espumabilidad (Figura 2.12.):

$$\pi = -\Gamma_s RT \ln(1-\theta) \quad (52)$$

Cuando la ecuación de Frumkin se incorpora en la Ec. 45, el módulo de elasticidad resultante describe la espumabilidad para las regiones I y II; a concentraciones bajas ( $\theta \ll 1$ ), la elasticidad se comporta linealmente y cuando  $\theta \rightarrow 1$ , la elasticidad diverge:

$$\varepsilon = 2\Gamma_s RT \frac{\theta}{1-\theta} \quad (53)$$

Esta es una forma simple de explicar el comportamiento de la espuma en la región diluida, por debajo de la concentración crítica, debido a que la ecuación de Frumkin está definida para  $\theta < 1$ ; ecuación que sólo predice el aumento de la espumabilidad pero no el máximo ni tampoco el descenso de espumabilidad. Para ampliar el panorama de espumabilidad en las vecindades de la concentración crítica, la isoterma de adsorción de Gibbs (Ec. 47) resulta especialmente adecuada.

En la concentración crítica, la concentración de superficie ( $\Gamma$ ) corresponde a condiciones de saturación y la ecuación adquiere su valor máximo.

$$\left. \frac{d\pi}{d \ln x} \right|_{\max} = \Gamma_s RT \quad (54)$$

Como la Ec. 54 corresponde a la primera derivada en el numerador de la Ec. 48, la segunda derivada tiende a cero y por tanto la elasticidad diverge.

Se ha enfatizado la contribución del espesor de la película a la estabilidad de la espuma (Scheludko, 1996; Rusanov, Krotov y Nekrasov, 2004; Neethling, Lee y Grassia, 2005; Grassia et al., 2006), sin embargo, no es necesario para la descripción de espumabilidad bajo el modelo propuesto, debido a que el uso de la ecuación de estado superficial de BET (Ec. 55) (Brunauer, Emmetand y Teller, 1938, Gracia-Fadrique, 1999) es capaz de describir la espumabilidad, e.g. elasticidad, en todo el ámbito de concentración, considera la formación de multicapas e incluye el parámetro hidrofóbico  $\beta$ :

$$\theta = \frac{\beta x}{(1-x)(1-x+\beta x)} \quad (55)$$

A través de la ecuación de adsorción de Gibbs y la ecuación de estado de superficie se obtiene la ecuación de estado superficial Langmuir-BET (Gracia-Fadrique, 1999):

$$\pi = \Gamma_s RT \ln \left[ 1 + \beta \left( \frac{x}{1-x} \right) \right] \quad (56)$$

El uso de esta ecuación en el módulo de elasticidad de Gibbs que contiene la concentración crítica, considera la formación de multicapas, tal como lamelas e incluye el parámetro hidrofóbico. Cuando las Ecs. 55 y 56 son incorporadas en el módulo de elasticidad de Gibbs como se expresa en la Ec. 46, entonces

$$\varepsilon = 2\Gamma_s RT \frac{\theta}{1-\theta + 2\frac{x}{1-x}} \quad (57)$$

También puede expresarse en función de  $x$  (Gracia et al., 1990) usando la Ec. 55:

$$\varepsilon = 2\Gamma_s RT \frac{\beta x}{1-x^2 + \beta x^2} \quad (58)$$

Con un máximo en:

$$x = \frac{1}{(\beta - 1)^{1/2}} \quad (59)$$

El parámetro  $\beta$  que representa el coeficiente de distribución entre la solución y la superficie; para el sistema binario propanol + agua (Strey et al., 1999)  $\beta \approx 380$  (298, 15 K) y 1514 para 2-butoxietanol + agua (Elizalde, Gracia y Costas, 1988) (273, 15 K). El efecto que tiene la magnitud de  $\beta$  en espumas transitorias se presenta en la Figura 2.13. Sin embargo, para el caso de tensoactivos de cadena larga en donde se presenta el proceso de micelización,  $\beta$  puede expresarse como el inverso de la concentración micelar crítica (Gracia-Fadrique, 1999). Normalmente  $\beta$  presenta valores del orden de  $10^4$ - $10^7$ , como el NF6 con una  $\beta$  de  $25(10^7)$  (Ortega et al., 2000):

$$\beta = \left[ \frac{1 - x_{cmc}}{x_{cmc}} \right]^2 \approx x_{cmc}^{-2} \quad (60)$$

La Ec. 56 permite que  $\theta \equiv 1$  y describe cuantitativamente la espumabilidad para todo el ámbito en composición. En condiciones de saturación, la Ec. 56 se reduce a:

$$\varepsilon = \frac{\Gamma_s RT}{x_{cmc}} \quad (61)$$

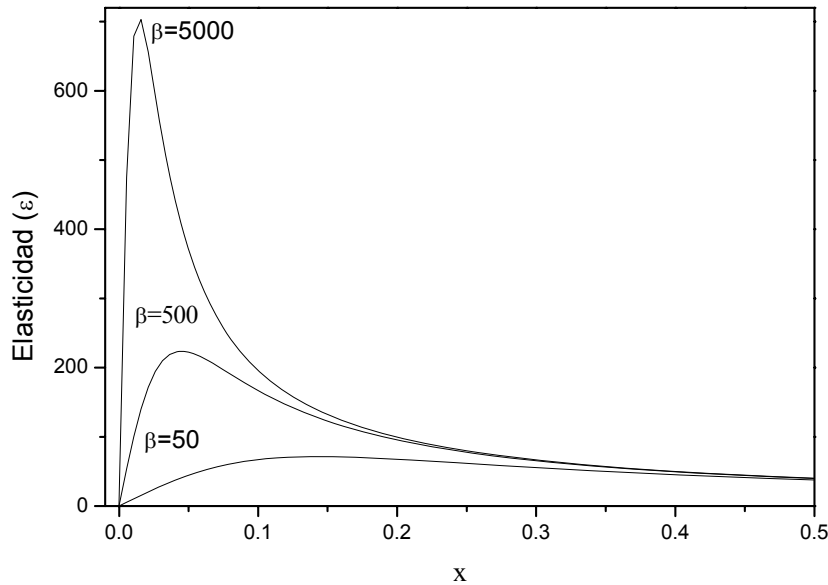


Figura 2.13. Efecto de  $\beta$  en la elasticidad ( $\epsilon$ )

Para espumas permanentes, un valor bajo en concentración micelar crítica se traduce en un mejor agente espumante. De acuerdo con Milton Rosen (2004), un tensoactivo de cadena larga con una baja concentración micelar crítica presenta mejor espumabilidad. A lo largo de la columna de espuma (Figura 2.10.), las espumas permanentes presentan un gradiente de concentración atribuido al proceso de rectificación de la espuma ( $\Gamma_1 < \Gamma_2 < \Gamma_3$  and  $x_1 < x_2 < x_3$ ) tal que una expresión adecuada para la elasticidad requiere una integración de todas las etapas presentes en la columna de espuma (Ec. 57; con la consideración que  $\beta \approx \beta - 1$ ); el módulo de elasticidad integral  $E$  es calculado como:

$$E = \int_0^x \epsilon dx \quad (62)$$

$$E = \Gamma_s RT \ln(1 + \beta x^2) \quad (63)$$

Una vez más  $\beta$  tiene una influencia importante en el comportamiento de la espuma, en particular en la elasticidad integrada ( $E$ ), representada en la Figura 2.14. Tal como se observa experimentalmente, para tensoactivos de cadena larga,

la Ec. 63 describe un aumento en la espumabilidad hasta la concentración micelar crítica, a partir de la cual la altura de la espuma se mantiene prácticamente constante.

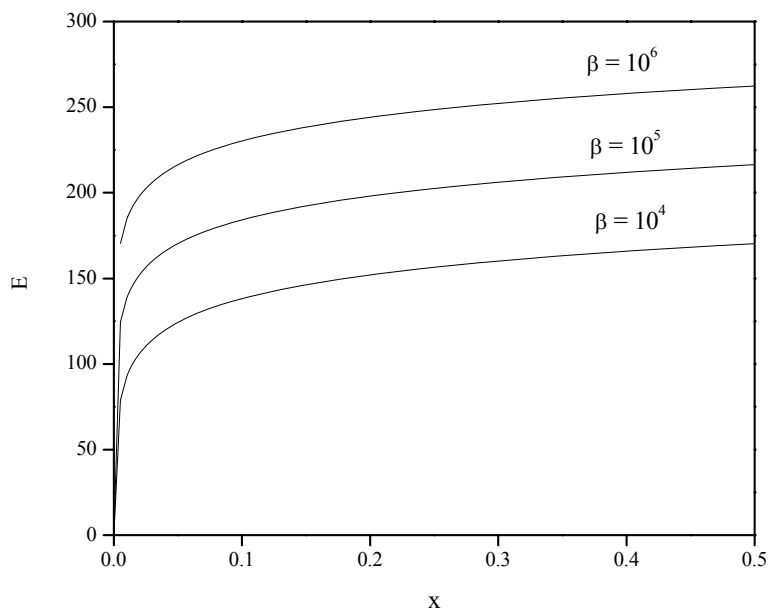


Figura 2.14. Efecto de  $\beta$  en la elasticidad integrada,  $E$

## CAPITULO 3

### PROTOCOLO EXPERIMENTAL

#### 3.1. Materiales

Los caseinatos de calcio (lote 52220) y sodio (lote 61001) empleados en este trabajo se obtuvieron de Lactoprot (Alemania, GmbH). El agua desionizada y doble destilada, se sometió a pruebas de tensión superficial y se obtuvo un valor de  $72 \pm 2$  mN/m. Para la formación de emulsiones se utilizó aceite de canola (Capullo, México) y se evaluó el efecto de diferentes tensoactivos como esteres de sorbitán (Span): monolaurato de sorbitán, monoestearato de sorbitán y monoleato de sorbitán (Croda México); derivados polietoxilados (Tween): monolaurato de sorbitán (20 moles de óxido de etileno), monoestearato de sorbitán (20 y 4 moles de óxido de etileno) y monoleato de sorbitán (20 moles de óxido de etileno) (Croda México); sorbitol y glicerol (Droguería Cosmopolita, México); hexaoleato de sorbitán (20 moles de óxido de etileno); mezcla comercial Tween 80 y monoglicéridos (Tandem 552) y lecitina de soya (Ultralec F. ADM Specialty Food Ingredients, USA).

#### 3.2. Análisis elemental

El contenido de proteína se determinó por análisis elemental (Analizador Elemental Fisons EA 1108), y el de calcio y sodio por absorción atómica (Varian Spectra 220). Ambas pruebas se llevaron a cabo en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI). La composición se muestra en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1.** Composición de caseinato de calcio y sodio

	<b>Caseinato de calcio</b>	<b>Caseinato de sodio</b>
Proteína <sup>1</sup> (%)	85.5	86.1
Calcio (ppm)	8691	1430
Sodio (ppm)	8295	14921

1. Se utilizó un factor de 6.28

### 3.3. Tensión superficial. Anillo de Du Nouy

Se dispuso un equipo para determinar la tensión superficial mediante una balanza (Adventurer Ohaus, Pine Brook, NJ) que tiene instalado un gancho por debajo de donde cuelga el anillo de Du Nouy (CSC Scientific Co. Inc., USA). Las muestras de caseinato se colocaron en cajas Petri y se mantuvieron en reposo por 18 h para permitir la adsorción y formación de la superficie. La muestra se colocó sobre una plataforma con elevador eléctrico (Orbisphere Labs., Neuchatel/Geneva, Switzerland) que tiene un sistema automatizado que permite que el movimiento de la plataforma se lleve a cabo a una velocidad controlada (Figura 3.1). Una vez que el anillo está en contacto con la superficie de la muestra

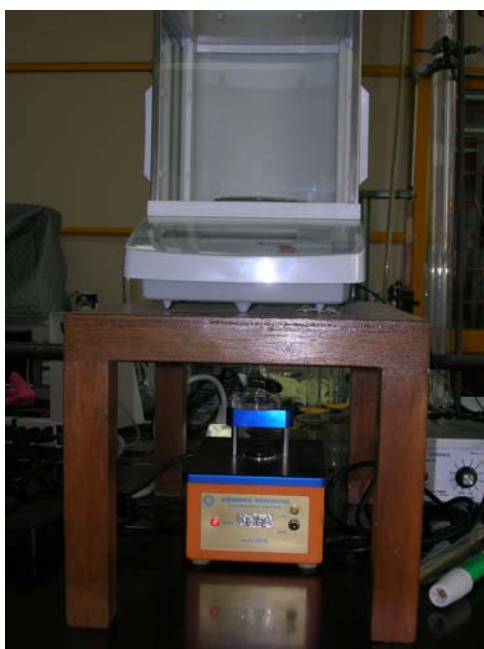


Figura 3.1. Equipo para determinar tensión superficial

se activa el elevador y se determina la masa máxima de muestra levantada por el anillo. La tensión superficial absoluta se obtuvo mediante la ecuación propuesta por Harkins y Jordan (1930) que contiene un factor de corrección que depende del volumen del líquido desprendido y las dimensiones del anillo:

$$\sigma = \frac{Mg}{4\pi R} \times F \quad (64)$$



Donde  $M$  es la masa levantada por el anillo,  $g$  es la aceleración de la gravedad (en Ciudad Universitaria es  $9.779416 \text{ m/s}^2$ ),  $R$  es el radio del anillo y  $F$  es un factor para ajustar las dimensiones del anillo y se obtiene de evaluar los valores de  $R^3/V$  (donde  $V$  es el volumen máximo jalado por el anillo) y  $R/r$  (donde  $r$  es el radio del alambre del anillo). Se registraron los datos de tensión superficial ( $\sigma$ ) y presión superficial ( $\pi = \sigma_0 - \sigma$ ; donde  $\sigma_0$  es la tensión superficial de disolvente puro, agua) en función de la fracción peso.

### 3.4. Tensión Superficial Dinámica

La tensión superficial dinámica de dispersiones de caseinato fue determinada por el método de gota pendiente. Para lograr el objetivo se utilizó un tensiómetro KSV CAM 200 (KSV Instruments LTD, Helsinki, Finland) ajustado a una video cámara con un dispositivo CCD con óptica telecéntrica y una fuente de luz LED monocromática estroboscópica. Las imágenes son grabadas por la cámara a intervalos de tiempo especificados en el programa (Figura 3.2). Los cálculos de tensión superficial son efectuados por el programa mediante el ajuste no lineal de la ecuación de Young-Laplace.

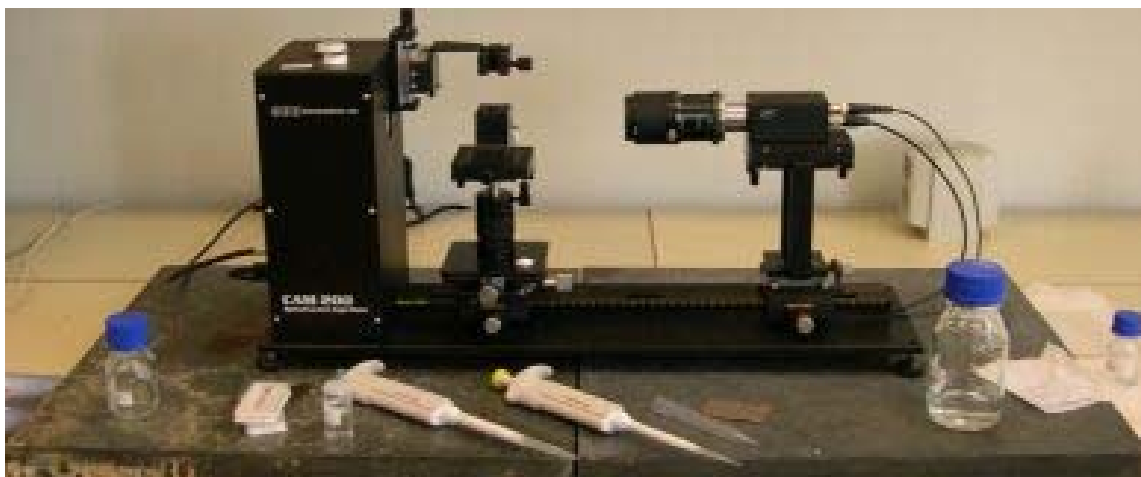


Figura 3.2. Tensiómetro KSV de gota pendiente

La ecuación de Young-Laplace para superficies curvas no esféricas requiere, para su correcta descripción, de dos radios de curvatura:

$$\Delta P = \sigma \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (65)$$

La forma de una gota que cuelga de un capilar (Figura 3.3), está determinada por un balance de fuerzas que incluye la tensión superficial del líquido bajo estudio. Bajo campos externos, como el de la gravedad, la ecuación de Young-Laplace requiere de un término adicional:

$$\Delta P = \frac{2\sigma}{R} + \Delta\rho g y \quad (66)$$

donde  $\sigma$  es tensión superficial,  $\Delta\rho$  es la diferencia de densidades entre los fluidos en la interfase,  $g$  es la aceleración de la gravedad,  $y$  es la altura hidrostática, y  $R$  es el radio de curvatura en el ápice de la gota. El primer término a la derecha de la ecuación, corresponde a la condición esférica mientras que el segundo término es la contribución a la deformación de la gota dada por la influencia de la presión hidrostática y la gravedad. Al sustituir la Ec. 65 en la Ec. 66, después de dividir ambos términos entre  $\sigma$  y normalizar en términos de  $R$  y de  $y$ , se obtiene:

$$\frac{1}{R_1^*} + \frac{1}{R_2^*} = 2 + \frac{\Delta\rho g R^2}{\sigma} y^* \quad (67)$$

Donde  $R_i^* = R_i / R$  y  $y^* = y/R$ . De la Ec. 67 se obtiene el factor forma  $\beta$ , expresado como:

$$\beta = \frac{\Delta\rho g R^2}{\sigma} \quad (68)$$

Dado que la curvatura de la gota cambia punto a punto, es necesario expresar la Ec. 67 en su forma diferencial:

$$\left( \frac{y'}{(1+y'^2)^{3/2}} + \frac{y'}{X(1+y'^2)^{1/2}} \right) = 2 + \beta y^* \quad (69)$$

Tomando la geometría de la gota (Figura 3.3) y el ángulo  $\phi$  que se forma a partir de la tangente y un punto cualquiera de la curva, se obtienen las ecuaciones

adimensionales 70-72 a partir de las cuales también se puede obtener  $\beta$  y de aquí la tensión superficial o interfacial.

$$dx / ds = \cos \phi \quad (70)$$

$$dy / ds = \text{sen} \phi \quad (71)$$

$$d\phi / ds + \text{sen} \phi / x = 2 + \beta y \quad (72)$$

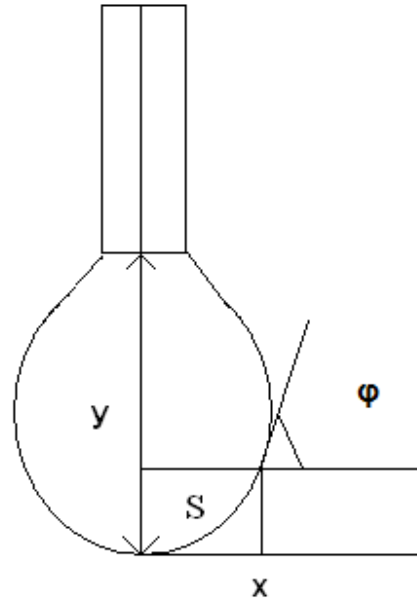


Figura 3.3. Geometría de una gota pendiente

El tensiómetro KSV contiene el programa que lleva a cabo aproximaciones iterativas para resolver la ecuación de Young-Laplace y obtener  $\beta$ . Al conocer la densidad de los dos fluidos que están en contacto, se obtiene la tensión superficial de una gota pendiente.

### 3.5. Formación de espuma

La formación de espuma se obtuvo como espumabilidad que consiste en obtener el volumen máximo de espuma formado a partir de una concentración conocida de caseinato en agua bajo un flujo de aire constante. Se prepararon dispersiones de caseinato de calcio y sodio en concentraciones de 0.05% a 2.5% (p/v). Las espumas se formaron en una columna de vidrio con capacidad de 1000 mL (Figura 3.4). La columna tiene adaptado en el fondo un disco de vidrio poroso a través del cual se inyecta aire con un flujo controlado (0.1-0.3 L/min). Una muestra de 100 mL se vertió en la columna cuidadosamente para no formar

espuma y con la intención de mojar las paredes de vidrio. Se registró el volumen máximo de espuma formado bajo las condiciones descritas.



Figura 3.4. Columna para formación de espuma

### 3.6. Viscosidad intrínseca

Las mediciones de viscosidad cinemática de las disoluciones de caseinatos se llevaron a cabo de acuerdo a los métodos de prueba ASTM # D445-86 y ASTM #D446-85. Las disoluciones se filtraron previamente con papel Whatman #1. La viscosidad de las muestras se determinó dentro de un baño de recirculación de agua con temperatura controlada a  $30 \pm 0.2^\circ\text{C}$  con un viscosímetro de Ubbelohde (constante 0.003318 cSt/s). Las muestras se cronometraron por quintuplicado con una diferencia máxima entre lecturas de 0.1 segundos. Se obtuvo la viscosidad relativa ( $\eta_{rel} = \eta/\eta_0$ , donde  $\eta_0$  es la viscosidad del agua), y la específica ( $\eta_{sp} = \eta/\eta_0 - 1$ ). La viscosidad intrínseca se obtuvo a partir del ajuste de los datos de viscosidad relativa vs. concentración con un polinomio de segundo grado.

### **3.7. Formación de emulsiones aceite en agua**

Las emulsiones aceite en agua se formaron mediante la técnica de inversión de fases con un equipo de agitación simple (Lightnin, LabMaster BK223116) y una propela de aspas planas (Figura 3.5.). El equipo de agitación se controla a través de un programa (Mixer-Connect) en el que se indica la velocidad de agitación, tiempo, temperatura, y donde se evalúan los cambios en torque. Para formar una emulsión aceite en agua, se inicia con la fase oleosa como la fase continua y se agrega la fase acuosa con un flujo controlado hasta lograr la inversión. Se prepararon más de 200 emulsiones a temperatura ambiente ( $23 \pm 2$  °C) tomando en cuenta concentraciones de tensoactivo en base oleosa de 10,15, 20, 30 y 40%. Las velocidades de agitación seleccionadas fueron 300, 350, 400, 500, 600, 700, 800 y 1000 rpm con un flujo de adición de fase acuosa de 10 mL/min. La concentración final de aceite fue 20% (p/p). Se evaluaron tres niveles de concentración de caseinatos en la fase acuosa 1, 2.5 y 5% (p/p) y por cada tensoactivo evaluado, se preparó una emulsión sin caseinatos. Para prevenir el crecimiento de hongos y levaduras, se adicionó 0.1% de benzoato de sodio. Las emulsiones se colocaron en probetas de 100 mL con tapa y se registró el volumen de crema conforme el tiempo según fuese el caso.

Las emulsiones recién formadas se evaluaron por distribución de tamaño de partícula con un equipo de dispersión luminosa (Malvern Nanosizer, Malvern Instruments).



Figura 3.5. Equipo de agitación para formación de emulsiones y propela de aspas planas.

## CAPITULO 4

### RESULTADOS Y ANÁLISIS

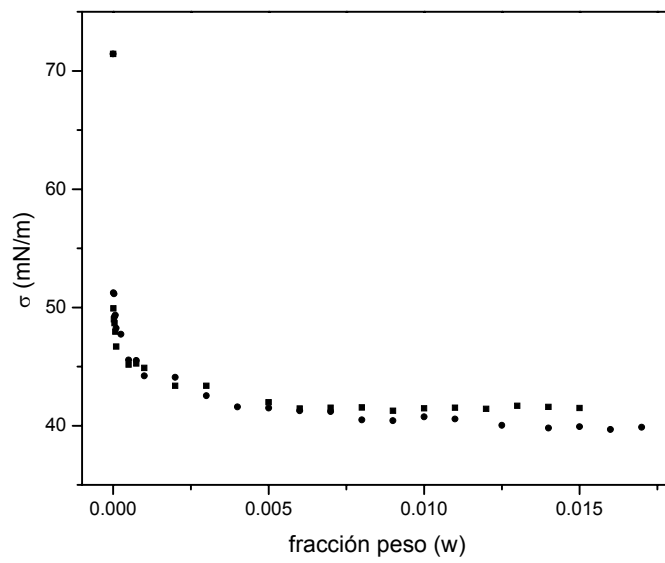
#### 4.1. Comportamiento en la superficie

##### 4.1.1. Tensión superficial

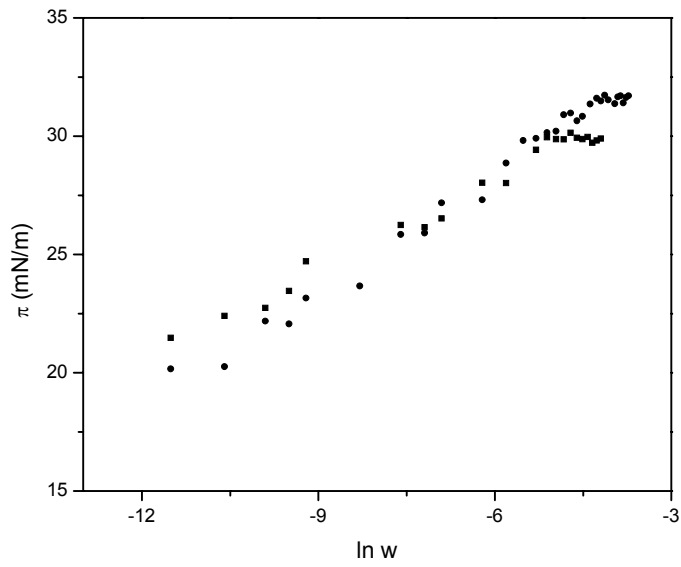
Los caseinatos disminuyen moderadamente la tensión superficial del agua, de 72 mN/m a 41.5 mN/m en el caso de caseinato de calcio y 38.8 mN/m para caseinato de sodio (Figura 4.1) y presentan propiedades superficiales similares. A partir de la ecuación de Volmer (Ec. 22) se calculó la concentración crítica y se obtuvo un valor de  $w_{cc}=0.01\pm 0.001$  para caseinato de calcio (Figura 4.2) y  $w_{cc}=0.016\pm 0.001$  para caseinato de sodio (Figura 4.3); los datos se muestran en la Tabla 4.1. El factor de compresibilidad bidimensional,  $z_m$  fue mayor para el caseinato de calcio y como consecuencia lo fue también el área molecular; caseinato de calcio tiene un área en la superficie de  $A=307\pm 10 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  y caseinato de sodio de  $A=236\pm 5 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$ . En términos comparativos, el área superficial obtenida es aproximadamente cinco veces más grande que la lecitina (Viades-Trejo, Amigo y Gracia-Fadrique, 2006). Se esperaba que los caseinatos posean la misma secuencia de aminoácidos, sin embargo, las regiones de fosfoserina poseen afinidad al calcio y esta propiedad puede impartir a la molécula del caseinato de calcio una conformación ligeramente distinta que se ve reflejada en un área molecular en la superficie mayor que la del caseinato de sodio.

Tabla 4.1. Propiedades de superficie de caseinatos

	<b>Caseinato de calcio</b>	<b>Caseinato de sodio</b>
Concentración crítica (w)	0.010±0.001	0.016±0.001
$z_m$	22.5±0.7	17.6±0.4
Area molecular ( $\text{\AA}^2/\text{molécula}$ )	307±10	236±5
$\sigma_t$ (mN/m)	44.2±0.08	43.2±0.23



(a)



(b)

Figura 4.1. (a) Tensión superficial y (b) presión superficial a 20°C de (■) caseinato de calcio y (●) caseinato de sodio



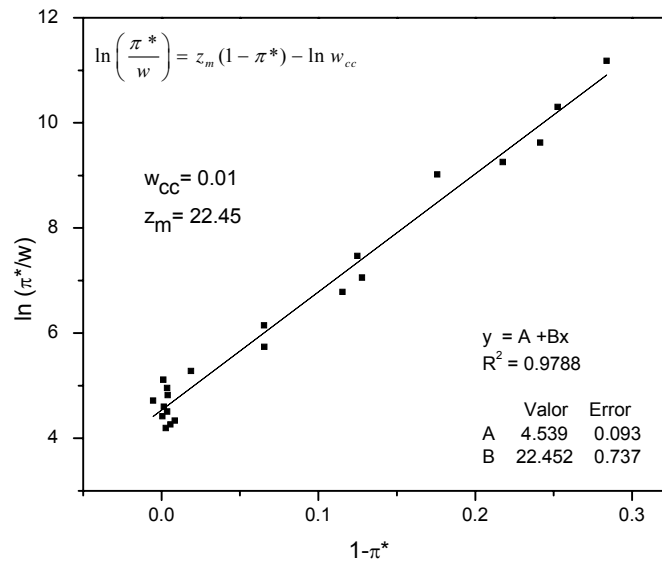


Figura 4.2. Representación de Volmer-Gibbs (Ec. 22) (Viades-Trejo y Gracia Fadrique, 2008) para caseinato de calcio

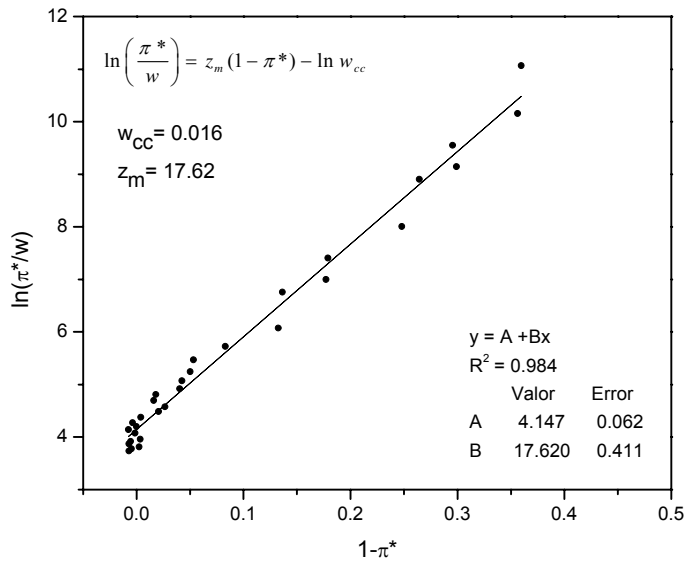


Figura 4.3. Representación de Volmer (Ec. 22) (Viades-Trejo y Gracia-Fadrique, 2008) para caseinato de sodio

#### 4.1.2. Tensión superficial dinámica

Para establecer posibles diferencias en la tensión superficial dinámica y en la dinámica de adsorción se determinó la tensión superficial por el método de la gota pendiente en la concentración crítica ( $w=0.01$ ). Las curvas de tensión superficial vs. tiempo (Figura 4.4) de ambos caseinatos fueron similares.

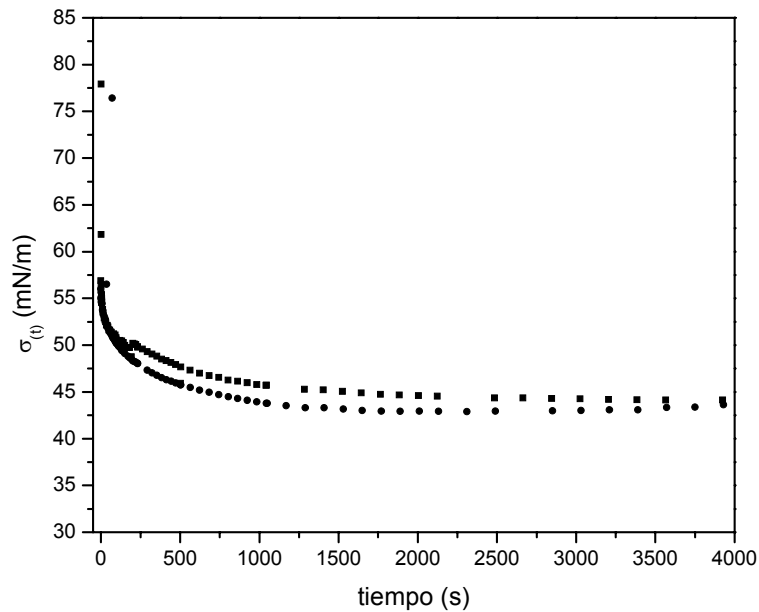


Figura. 4.4. Tensión superficial dinámica de (■) caseinato de calcio y (●) caseinato de sodio en la concentración crítica ( $w=0.01$ )

La tensión superficial al equilibrio ( $\sigma_{eq}$ ) se obtuvo de la ecuación de Ward y Tordai (Ec. 73) con la aproximación a tiempos largos, cuando  $t \rightarrow \infty$  (Eastoe y Dalton, 2000):

$$\sigma_{t \rightarrow \infty} = \sigma_{eq} + \frac{nRT\Gamma_{eq}^2}{c} \sqrt{\frac{\Pi}{4Dt}} \quad (\text{Ec. 73})$$

donde  $\sigma$  es la tensión superficial,  $\sigma_{eq}$  es la tensión superficial al equilibrio,  $n=1$  para tensoactivos no iónicos y  $n=2$  para tensoactivos iónicos,  $R$  es la constante universal de los gases,  $T$  es la temperatura de trabajo,  $c$  es la concentración en el seno de la disolución,  $\Pi$  es 3.1416,  $D$  es el coeficiente de difusión del anfifilo y  $t$  el

tiempo. Los resultados para caseinato de calcio se muestran en la Figura 4.5 con una  $\sigma_{eq} = 42 \pm 0.06$  mN/m y para caseinato de sodio  $\sigma_{eq} = 40 \pm 0.08$  mN/m.

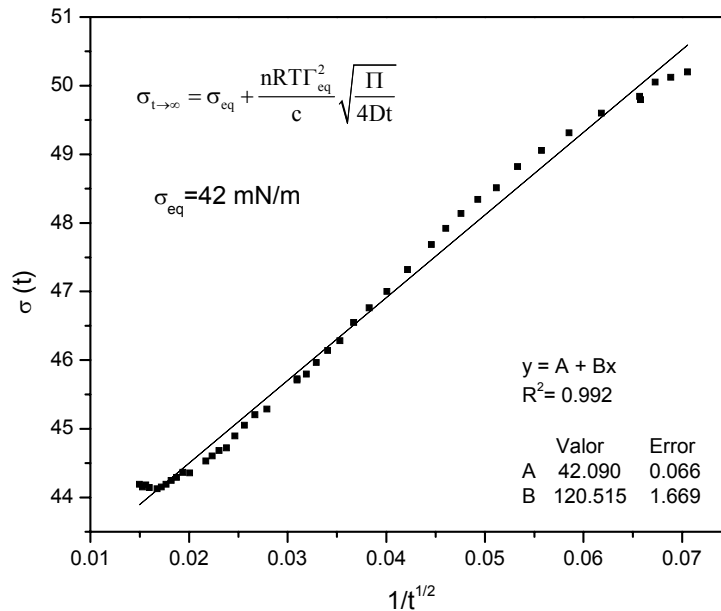


Figura 4.5. Tensión superficial al equilibrio de caseinato de calcio en la concentración crítica ( $w=0.01$ ) por la ecuación de Ward y Tordai (Eastoe y Dalton, 2000)

Al observar el comportamiento de  $\pi$  vs  $\ln t$  (Figura 4.6) se advierte que la topología y trayectoria es semejante al comportamiento típicamente observado para anfifilos en coordenadas  $\pi$  vs  $\ln x$ ; en ambos casos el incremento en la presión superficial corresponde a la manifestación macroscópica del arribo de moléculas de proteína hacia la superficie. En condiciones de equilibrio, las ecuaciones de adsorción de Gibbs (Ecs. 23 y 74) proporcionan la concentración de superficie y la concentración máxima de superficie respectivamente; las ecuaciones correspondientes bajo condiciones dinámicas (Ecs. 75 y 76) proporcionan las concentraciones de superficie dinámicas y de equilibrio:

$$\frac{d\pi}{d\ln x} = \Gamma RT \quad (\text{Ec. 23})$$

En condiciones de saturación, cerca de la concentración crítica:

$$\frac{d\pi}{d\ln x} = \Gamma_s RT \quad (\text{Ec. 74})$$

Donde  $\Gamma_s \rightarrow \Gamma_{\max}$ . Como una función del tiempo se expresa:

$$\frac{d\pi(t)}{d\ln t} = \Gamma(t) RT \quad (\text{Ec. 75})$$

Cuando  $t \rightarrow \infty$ , la concentración de superficie en función del tiempo  $\Gamma(t)$  tiende al equilibrio  $\Gamma_{\text{eq}}$ :

$$\left. \frac{d\pi(t)}{d\ln t} \right|_{t \rightarrow \infty} = \Gamma_{\text{eq}} RT \quad (\text{Ec. 76})$$

Con este análisis sí se observaron diferencias entre los caseinatos; el tiempo para alcanzar el equilibrio obtenido para caseinato de calcio es 2500 s y 1900 s para caseinato de sodio (Figura 4.6). Con la idea de comparar los resultados obtenidos por la ecuación de Ward y Tordai y los del método propuesto (Ec. 76), se obtuvieron las tensiones superficiales al equilibrio para caseinato de calcio,  $\sigma_{\text{eq}} = 44.2 \pm 0.02$  mN/m y caseinato de sodio,  $\sigma_{\text{eq}} = 43 \pm 0.03$  mN/m. Los resultados son similares a los obtenidos mediante la ecuación de Ward y Tordai (Ec. 73) y apoyan la hipótesis de mecanismo difusional, es decir, asume que el monómero se difunde del seno de la disolución a la sub-superficie y después se adsorbe directamente a la interfase.

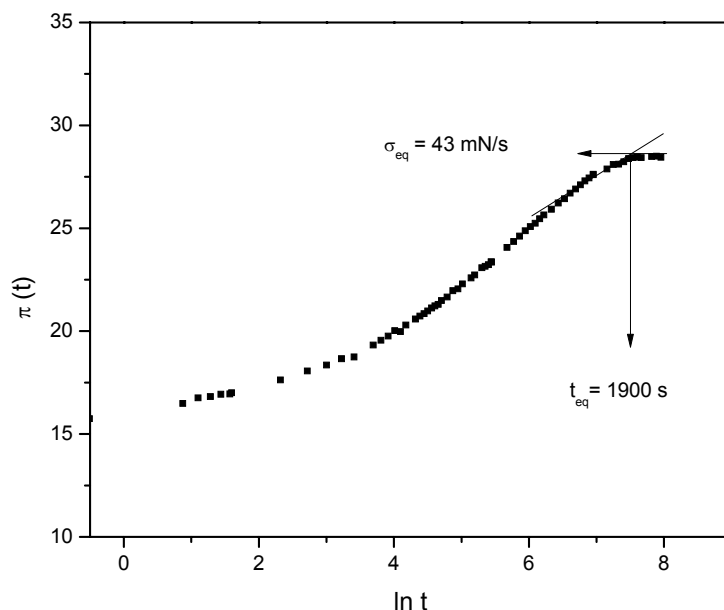


Figura 4.6. Tiempo de equilibrio para caseinato de sodio en la concentración crítica ( $w=0.01$ )

#### 4.1.3. Formación de espuma

El volumen máximo de espuma (espumabilidad) de los caseinatos aumentó con la concentración hasta alcanzar un máximo (Figura 4.7), que coincide con la concentración crítica y después disminuyó en forma similar (Elizalde, Gracia y Costas, 1988; Rosen, 2004) situación observada en espumas de tipo transitorio, es decir, la espuma permanece mientras el flujo de gas esté presente. El volumen máximo de espuma del caseinato de calcio es pobre y las burbujas colapsan a pocos segundos de haberse formado y casi en su totalidad al interrumpir el flujo de gas. Por el otro lado, el caseinato de sodio presentó mejores características de espuma con un volumen máximo de espuma cerca de la concentración crítica tal como se espera para espumas transitorias (Elizalde et al. 1988; Rosen, 2004). La concentración de caseinato de sodio donde se obtuvo el volumen máximo de espuma coincide con lo reportado por Carrera-Sánchez y Rodríguez-Patiño (2005).

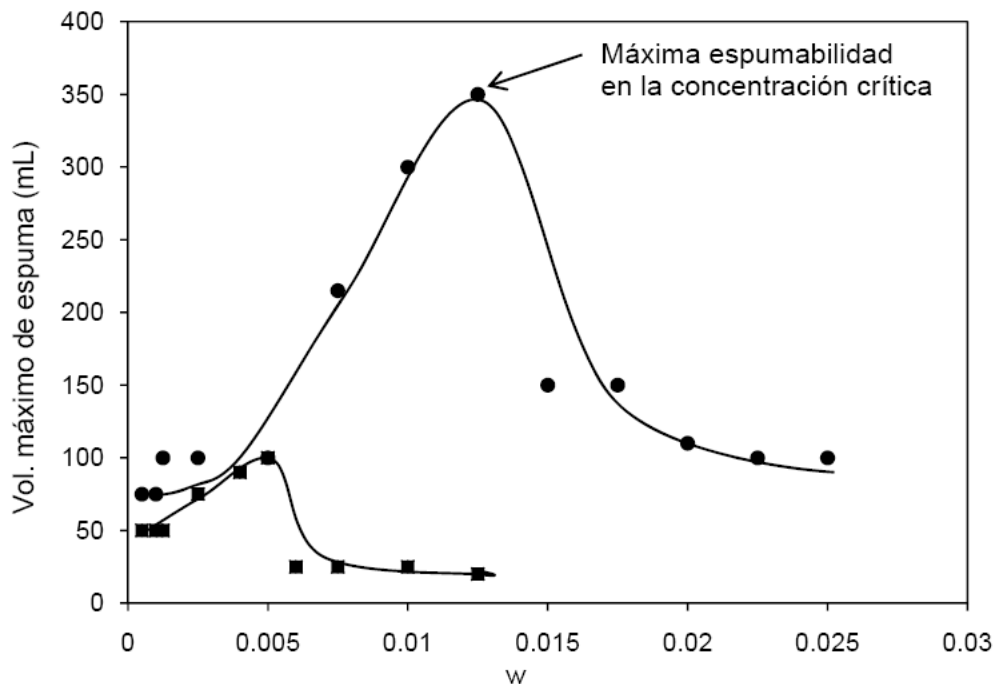


Figura 4.7. Espumabilidad de (■) caseinato de calcio y (●) caseinato de sodio. La baja espumabilidad del caseinato de calcio guarda relación su limitada solubilidad (Carr, Southward y Creamer, 2003; Pitkowsky, Durand y Nicolai, 2008) patrocinada con el proceso de rectificación que ocurre a lo largo de la columna de espuma que puede causar que el caseinato de calcio alcance una región de dos fases y entonces colapse (Ross y Nishioka, 1975). Además, los resultados obtenidos de la tensión superficial dinámica mostraron que caseinato de calcio requiere tiempos más largos para alcanzar el equilibrio; la formación de espuma amplifica las características de una sola superficie y es un proceso dinámico que requiere que las moléculas de proteína se adsorban rápidamente a las superficies recién creadas en la espuma (Pandey, Bagwe y Shah, 2003) y depende de la rapidez de difusión del caseinato a la interfase (Carrera-Sánchez y Rodríguez-Patiño, 2005). Esta evidencia la poca capacidad que tiene el caseinato de calcio para restablecer la concentración de superficie una vez creada baja provocando que la espuma colapse.

## 4.2. Comportamiento a dilución infinita

El comportamiento reológico de las proteínas es el resultado de interacciones complejas debido a diversas variables tales como tamaño, forma, interacciones proteína-disolvente, volumen hidrodinámico y flexibilidad molecular en estado hidratado. La viscosidad intrínseca contiene información acerca del volumen hidrodinámico de una molécula en agua (Monkos, 2004). La conformación de una proteína en solución determina en gran medida la subsecuente adsorción a la superficie. Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 4.8. y 4.9; la viscosidad intrínseca para caseinato de calcio es de  $1.4 \pm 0.012 \text{ cm}^3/\text{g}$  y  $1.25 \pm 0.027 \text{ cm}^3/\text{g}$  para caseinato de sodio.

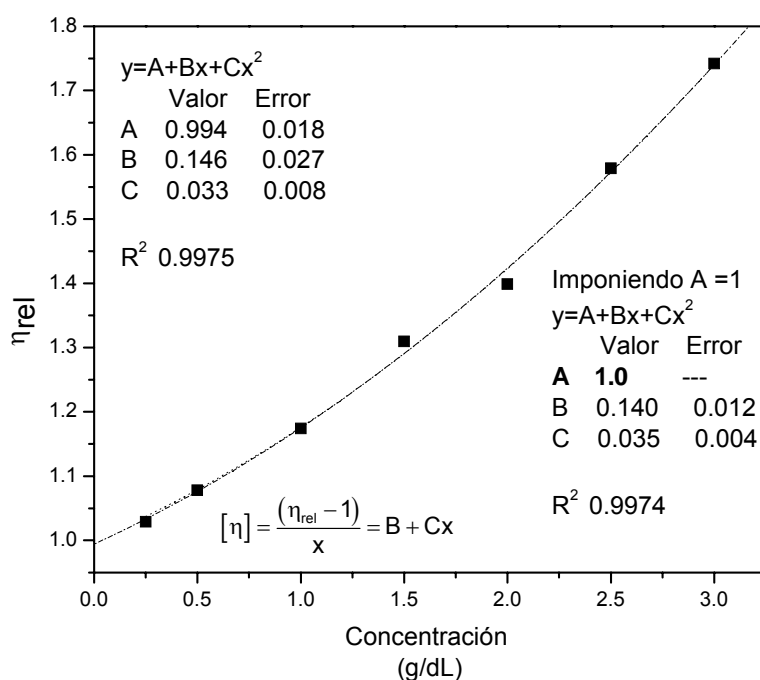


Figura 4.8. Curva de viscosidad intrínseca para caseinato de calcio a 30°C

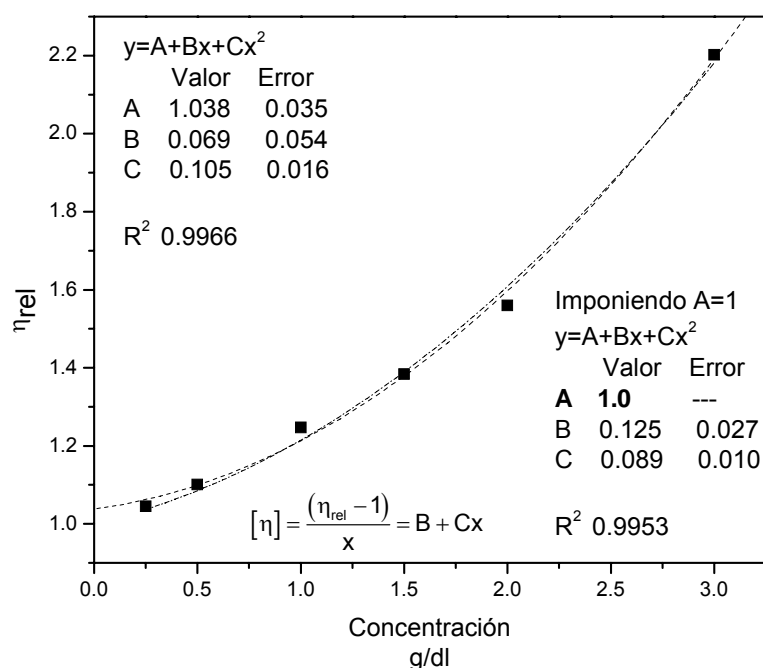


Figura 4.9. Curva de viscosidad intrínseca para caseinato de sodio a 30°C

Los resultados coinciden con lo reportado previamente por Schmidt y Payens (1972) para caseína  $\beta$  de  $[\eta]=1.35$ . Sin embargo, los caseinatos presentaron un valor bajo cuando se compara con proteínas globulares como  $\beta$ -lactoglobulina, proteína láctea del suero, que a pH 7 es un dímero y presenta una viscosidad intrínseca de  $[\eta]=3.84$  (Abascal, 1999). Esta información proporciona la conformación de los caseinatos y es un indicativo de las propiedades en solución de los caseinatos en el régimen a dilución infinita, es una situación que se presenta cuando la superficie comienza a saturarse y la concentración del seno de la disolución tiende a cero. Los caseinatos son moléculas flexibles y es probable que adopten una forma alargada tipo bastón y al asumir que no se encuentra bajo efectos rotacionales y que se orienta hacia el flujo se explican los valores bajos de viscosidad. Esta hipótesis coincide con resultados obtenidos de estudios de dispersión láser multi-ángulo y de cromatografía de exclusión de tamaño que sugieren que las moléculas de caseinato de sodio son alargadas y no esféricas (Lucey et al., 2000).



### 4.3. Formación de emulsiones aceite en agua

Existe información abundante acerca de la contribución de los caseinatos a la estabilidad de emulsiones aceite en agua, formadas con homogeneizadores de alta presión. Sin embargo, es de interés la formación de emulsiones con la técnica de inversión de fases, que consiste en iniciar con la fase oleosa como fase continua y adicionar la fase acuosa a un cierto flujo hasta saturar la emulsión que inicialmente es de agua en aceite e invertir a una emulsión aceite en agua. Sin embargo, con esta técnica y bajo ninguna de las condiciones evaluadas (alrededor de 60) se obtuvieron emulsiones estables cuando el caseinato (calcio o sodio) actúa como emulsificante. Por esta razón se iniciaron pruebas utilizando cotensoactivos con HLB requerido de seis que es el recomendado para una emulsión aceite en agua con aceite de canola (Griffin, 1979); en la práctica se observó que un HLB cercano a 10 presenta mejor estabilidad. Ha sido reportado ya en la literatura el efecto competitivo que existe entre tensoactivos de masa molecular baja y proteínas (Dickinson, Ritzoulis y Povey, 1999b y Fang y Dalgleish, 1996). No obstante que las condiciones de formación de la emulsión son de baja energía, se intentó compensar la formulación con la adición de cotensoactivos. Tomando estas consideraciones se seleccionaron tensoactivos con uso aprobado en alimentos y se formaron emulsiones aceite en agua (20% p/p), se colocaron en probetas y se determinó visualmente si había segregación de las fases o no, reportándolas como estables o inestables (Tabla 4.2). La mayoría de las formulaciones evaluadas resultaron en emulsiones inestables; algunas segregaron en dos fases al terminar la agitación, otras fueron estables por algunas horas, ninguna más de dos días. Sólo dos formulaciones fueron estables a temperatura ambiente. La primera, con 5% (p/p) de la mezcla (50:50) de monooleato de sorbitán: monoesterato de sorbitán (4 moles de óxido de etileno); esta formulación permaneció estable hasta por 60 días cuando la emulsión no contenía caseinatos, con 1% de caseinatos, permaneció estable por 45 días, con 2.5 y 5% segregó a partir de 15 días. Sin embargo, no se logró reproducibilidad al no tener disponibles lotes más recientes del monoesterato de sorbitán (4OE).

Tabla 4.2. Efecto de la adición de tensoactivos en la estabilidad de emulsiones aceite en agua (20% p/p) con caseinatos

Tensoactivos evaluados	HLB	Estabilidad de la emulsión
Hexaoleato de sorbitán (20 OE*)	10.6	Inestable
Mezcla comercial de monoestearato de sorbitán (20 OE*) y mono y diglicéridos	8.1	Inestable
Monooleato de sorbitán: monoestearato de sorbitán (20 OE*). Mezcla 50:50	9.6	Inestable
Monooleato de sorbitán: monoesterarato de sorbitán (4 OE*). Mezcla 50:50	6.95	<b>Estable</b>
Monooleato de sorbitán: monooleato de sorbitán (20 OE*). Mezcla 50:50	9.65	Inestable
Monooleato de sorbitán: monooleato de sorbitán (20 OE*). Mezcla 75:25	12.3	Inestable
Glicerol		Inestable
Sorbitol		Inestable
Lecitina de soya		<b>Estable</b>

\*OE moles de oxido de etileno

Las emulsiones más estables se obtuvieron utilizando lecitina de soya, aditivo clasificado por FDA como GRAS (de las siglas en inglés “generalmente reconocido como seguro”) ya que es totalmente biodegradada y metabolizada dado que forma parte integral de las membranas biológicas. La lecitina es referida comúnmente como fosfatidilcolina (componente principal de la lecitina), es aislada de la yema del huevo y de los frijoles de soya. Para ampliar el conocimiento de sus propiedades en disolución y de superficie, la lecitina de soya se caracterizó con mediciones de viscosidad capilar y tensión superficial. La viscosidad intrínseca de la lecitina de soya en agua es de  $0.607 \pm 0.032 \text{ cm}^3/\text{g}$  (Figura 4.10). Este valor bajo sugiere que las moléculas adoptan una conformación alargada o de bastón (Figura 4.11).

El comportamiento de tensión superficial en función de la composición se evaluó con el método del anillo de Du Nouy (Figura 4.12). De acuerdo al modelo de Volmer (Figura 4.13) se observa que la lecitina disminuye la tensión superficial del agua a bajas concentraciones; la concentración micelar crítica obtenida fue  $2.3 \times 10^{-4} \pm 4 \times 10^{-5}$  (p/p) y el área molecular de  $67.87 \pm 5.2 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$  que están de acuerdo con datos publicados en la literatura (Martinez-Landeira et al., 2002). Este valor indica que proyecta la parte hidrofóbica fuera del líquido (Figura 4.11).

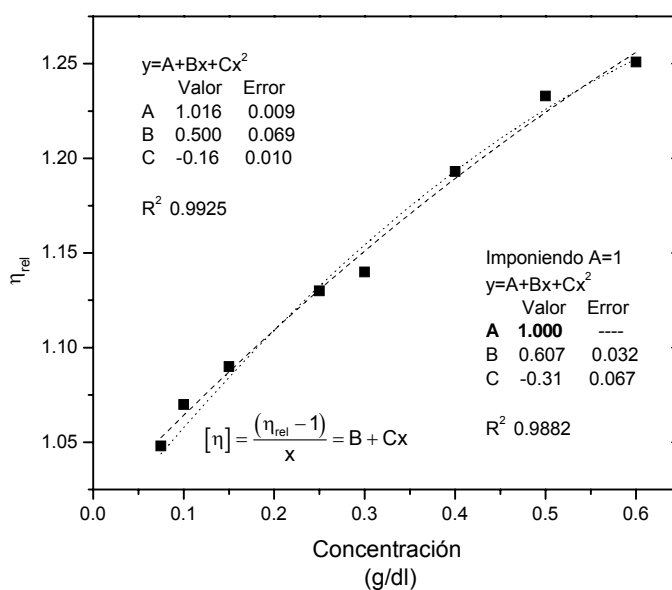


Figura 4.10. Curva de viscosidad intrínseca para lecitina de soja a 30°C

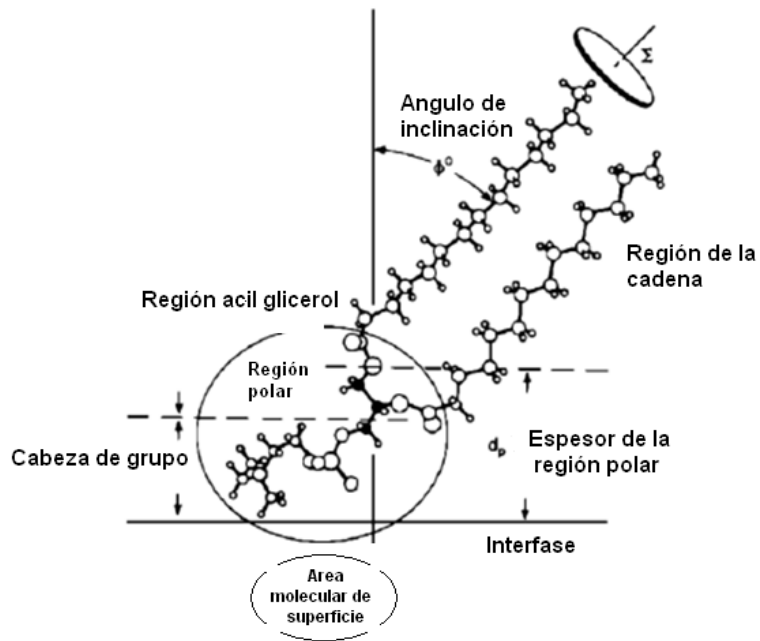


Figura 4.11. Representación esquemática de las regiones de fosfatidilcolina y orientación molecular en la superficie (Gennis, 1989)

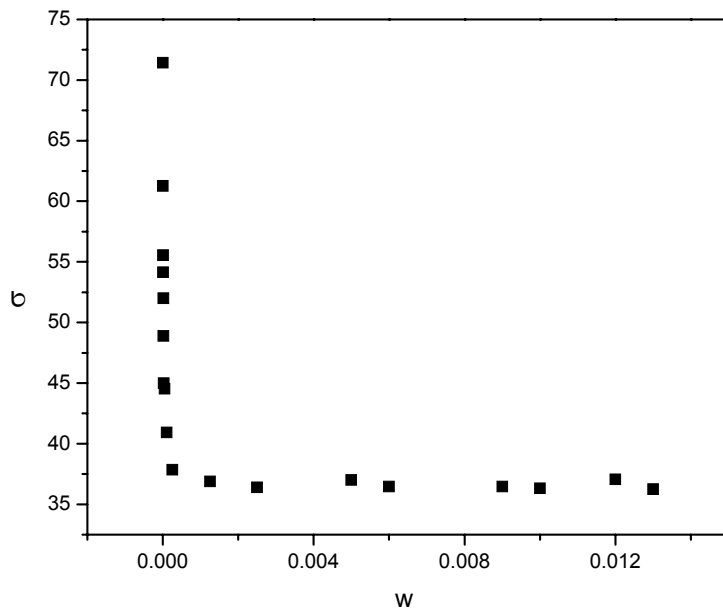


Figura 4.12. Tensión superficial a 20°C de lecitina de soya

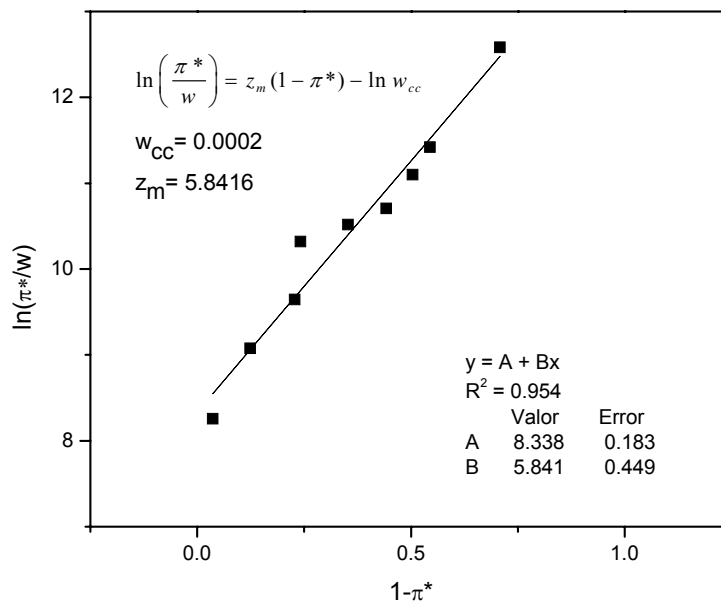
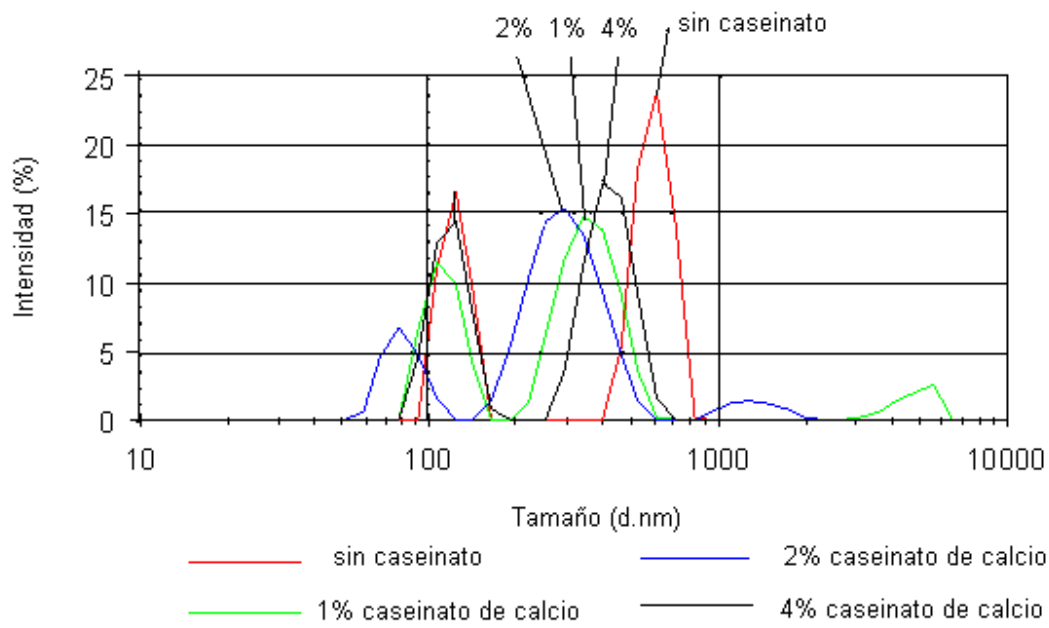
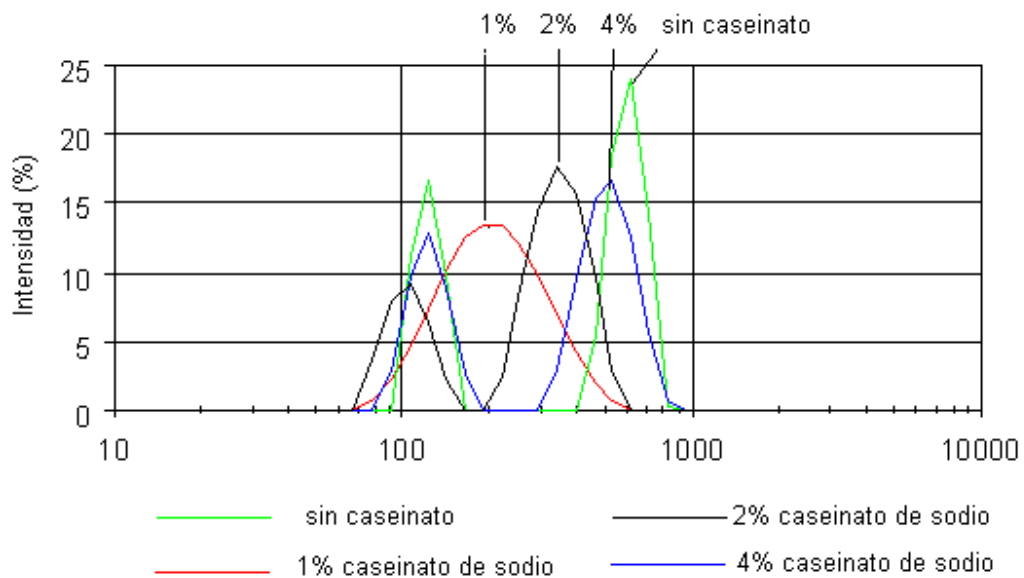


Figura 4.13. Representación de Volmer-Gibbs (Ec.. 22) (Viades-Trejo y Gracia-Fadrique, 2008) para lecitina de soya

Una vez caracterizada la lecitina, se preparó un lote de emulsiones por inversión de fases usando 20% (p/p) de lecitina de soya en base oleosa (4% en base al 100% de la composición) y caseinato de calcio y de sodio (1, 2 y 4% en base acuosa). Las condiciones de agitación fueron 800 rpm y un flujo de adición de la fase acuosa de 10 mL/min. Las emulsiones ya formadas se dividieron en dos partes y una parte se sometió a homogeneización por 10 minutos utilizando un Ultra-Turrax con una velocidad de 6,000 rpm. Las emulsiones se mantuvieron en probetas de 100 mL y la estabilidad se evaluó visualmente como cremado y por distribución de tamaño de partícula utilizando un equipo de dispersión luminosa (Malvern Nanosizer). En la Figura 4.14 se muestran las curvas de distribución de tamaño de partícula de las emulsiones recién formadas. Se observa una distribución bimodal con un pico alrededor de 210 nm y otro cercano a 350 nm, en proporciones muy similares. La adición de caseinatos modifica la emulsión y favorece tamaños de partícula menores pero aun bimodal.



(a)



(b)

Figura. 4.14. Distribución de tamaño de partícula para emulsiones aceite en agua formadas con lecitina de soya y (a) caseinato de calcio y (b) caseinato de sodio. La homogeneización no fue favorable y modificó la distribución de tamaño de partícula a mayores tamaños. Al comparar las curvas de distribución de tamaño de

partícula, a cada concentración de caseinato (calcio vs. sodio), se observa un comportamiento similar. Las emulsiones permanecieron estables a temperatura ambiente por un periodo de diez días. Se observó que las emulsiones con 1% de caseinato permanecieron estables por cinco días más. Sin embargo, la concentración de lecitina empleada es elevada, en algunos casos es incluso mayor que la de los caseinatos; es muy probable que exista una adsorción competitiva por la superficie. Los resultados del comportamiento de tensión superficial de los caseinatos muestran que no son tensoactivos tan eficientes como lo son moléculas de menor peso molecular. En general, las proteínas no presentan tensiones interfaciales suficientemente bajas como para que el efecto Gibbs-Marangoni tenga efecto durante la emulsificación. Como consecuencia el tamaño de gota que se obtiene en agitadores de alta velocidad es mayor a  $1 \mu\text{m}$ . Sin embargo, se pueden obtener menores tamaños de gota por una emulsificación más intensa con homogeneizadores de alta presión (Walstra, 1993). Los procesos de alta presión que utilizan boquillas capilares permiten igualar la diferencia de presiones extremas requeridas para cumplir con la ecuación de Young-Laplace (Ec. 43) en el caso esférico y su dependencia con el tamaño de partícula; presiones extremas de proceso permiten invertir esta diferencia de presión en la formación de partículas con una diferencia de presión equivalente.

## CONCLUSIONES

El comportamiento de la tensión superficial de los caseinatos de calcio y sodio en relación con la composición se analizó con una ecuación de estado superficial que permitió evaluar la concentración crítica y la concentración máxima de superficie. El coeficiente de compresibilidad presentó diferencias que se tradujeron en áreas superficiales diferentes; el caseinato de calcio presentó un área mayor. La tensión superficial dinámica de los caseinatos mostró diferencias en el proceso de adsorción; los valores en la concentración crítica, fueron analizados por dos métodos, la ecuación de Ward y Tordai a tiempos largos y un nuevo método propuesto, derivado de la ecuación de adsorción de Gibbs en la región saturada. Los valores de tensión superficial al equilibrio coinciden y apoyan la hipótesis del mecanismo de difusión controlante. Los tiempos de equilibrio son distintos para cada caseinato; el de calcio es mayor que el de sodio. El comportamiento de la espuma es del tipo transitorio para ambos caseinatos, el volumen de espuma aumenta con la concentración, de acuerdo con lo publicado por Carrera-Sánchez y Rodríguez-Patiño (2005). El caseinato de sodio presenta mayor volumen de espuma que el de calcio y el volumen máximo de espuma se encuentra cerca de la concentración crítica. Sin embargo el caseinato de calcio mostró una formación pobre de espuma debido a que tiene menor solubilidad que el caseinato de sodio, y que se acentuó por el proceso de rectificación a lo largo de la columna de espuma; los largos tiempos de equilibrio observados por tensión superficial dinámica tienen como consecuencia una baja capacidad para restablecer la concentración de superficie, limitando la adsorción a las superficies recién creadas durante la formación de espuma.

A pesar de ser una mezcla de proteínas se obtuvieron resultados satisfactorios de las pruebas de viscosidad intrínseca nuevamente con similitudes entre ambos caseinatos. Los valores bajos de viscosidad y los datos reportados en la literatura (Lucey et al., 2000) apoyan la hipótesis que la conformación en agua es de una proteína alongada. La flexibilidad que tienen los caseinatos, la distribución de regiones hidrófobas e hidrófilas y la conformación que presentan en



agua permiten que estas proteínas se adsorban en la superficie y actúen como tensoactivos.

Las propiedades de los caseinatos como agentes emulsionantes están ampliamente reportadas en la literatura como emulsiones formadas con homogenizadores de alta presión (Agboola, y Dalgleish 1995; Britten y Giroux, 1993; Dickinson y Golding, 1998a y b, Dickinson, 1999, Dickinson y Ritzoulis, 2000, Dickinson, Radford y Golding, 2003; Euston et al., 1995; Srinivasan, Singh y Munro, 1996, 2000, 2002 y 2003; Ye, Srinivasan y Singh, 2000). Sin embargo se quiso evaluar la formación de emulsiones con una técnica que requiriera una menor inversión de energía y resultara en emulsiones con tamaños de gota equivalentes a los de una microemulsión, es decir, menor a  $0.1\mu\text{m}$ . La técnica evaluada fue inversión de fases, sin embargo no se logró emulsificar el aceite bajo ninguna de las condiciones evaluadas. El uso de tensoactivos de menor peso molecular como monooleato de sorbitán y monoesterato de sorbitán (4 moles de óxido de etileno), proporcionó emulsiones estables, no así su mezcla con caseinatos. La lecitina de soya fue una de las alternativas que resultó en emulsiones con mejor estabilidad aunque sólo por diez días. Es decir, los caseinatos no son moléculas capaces de abatir la tensión interfacial con la misma eficacia con que lo hacen moléculas de menor masa molecular como la lecitina. Cuando se encuentran en mezcla, se presenta un efecto competitivo entre las moléculas con actividad superficial lo que resulta en emulsiones inestables. El tamaño de la proteína y su relativa baja capacidad como tensoactivo son factores que hacen a los caseinatos candidatos inadecuados para emulsificar aceite con la técnica de inversión de fases.

## REFERENCIAS

- Abascal, D. Using ternary phase diagrams to characterize the solution behavior of  $\beta$ -lactoglobulin. MSc.Thesis (1999). University of Guelph. Ontario. Canada.
- Agboola, S.O., Dalgleish, D.G. Calcium-induced destabilization of oil-in-water emulsions stabilized by caseinate or by  $\beta$ -lactoglobulin. *Journal of Food Science*, 60 (1995) 399-404.
- ASTM D 445-86. 1988 Annual book of ASTM standards, Section 5 – Petroleum products, lubricants and fossil fuels. 05.01.
- ASTM D 445-85. 1988 Annual book of ASTM standards, Section 5 – Petroleum products, lubricants and fossil fuels. 05.01.
- Bhakta, A., Ruckenstein, E. Decay of standing foams, drainage, coalescence and collapse. *Advances in Colloid and Interface Science*, 70 (1997) 1-124.
- Becher, P. *Emulsions: theory and practice*. R. E. Krieger. (1966) Malabar Florida.
- Britten, M., Giroux, H.J. Interfacial properties of milk protein-stabilized emulsions influenced by protein concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41 (1993) 1187-1191.
- Brunauer, S., Emmetand, P. H., Teller, E. T. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, 60 (1938) 309-319
- Carr, A. J., Munro, P. A., Campanella, O. H. Effect of added monovalent or divalent cations on the rheology of sodium caseinate solutions. *International Dairy Journal*, 12 (2002) 487-492.
- Carr, A.J., Southward, C.R., Creamer, L.K. Protein hydration and viscosity of dairy fluids. In "Advanced Dairy Chemistry" Vol. 1. 3<sup>rd</sup> ed. Part B. P.F. Fox, McSweeney, P.L.H. editors. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York (2003).
- Carrera-Sánchez, S., Rodríguez-Patiño, J.M. Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocolloids*. 19 (2005) 407-416.

- Cassiano, M.M., Arêas, J.A.G. Dependence of the interfacial behavior of  $\beta$ -casein on phosphoserine residues. *Journal of Dairy Science*, 86 (2003) 3876-3880.
- Dalgleish, D., Law, A. J. R. Sodium caseinates – composition and properties of different preparations. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 41 (1988) 1-4.
- Dalgleish, D.G. The effects of milk protein on the functionality of milk products. In “Milk Composition, Production and Biotechnology”. Welch, R.A.S., Burns, D.J.W., Davis, S.R., Popay, A.I., Prosser, C.G. eds. CAB International. London (1997).
- Darewicz, M., Dziuba, J., Caessens, P. W., J. R., Gruppen, H. Dephosphorylation-induced structural changes in  $\beta$ -casein and its amphiphilic fragment in relation to emulsion properties. *Biochimie*, 82 (2000) 191-195.
- Dauphas, S., Mouhous- Riou, N., Metro, B., Mackie, A. R., Wilde, P. J., Antone, M., Riaublanc, A. The supramolecular organization of  $\beta$ -casein: effect on interfacial properties. *Food Hydrocolloids*. 3 (19) (2005) 387-393.
- Dickinson, E., Golding, M. Influence of calcium ions on creaming and rheology of emulsions containing sodium caseinate. *Colloids and Surfaces A*, 144 (1998a) 167-177.
- Dickinson, E., Golding, M. Influence of alcohol on stability of oil-in-water emulsions containing sodium caseinate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 197 (1998b) 133-141.
- Dickinson, E. Caseins in emulsions: interfacial properties and interactions. *International Dairy Journal*, 9 (1999a) 305-312.
- Dickinson, E., Ritzoulis, C., Povey, M. J. W. Stability of emulsion containing both sodium caseinate and Tween 20. *Journal of Colloid and Interface Science* (1999 b) 466-473.
- Dickinson, E., Ritzoulis, C., Creaming and rheology of oil-in-water emulsions containing sodium dodecyl sulfate and sodium caseinate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 224 (2000) 148-154.

- Dickinson, E., Sujata, K. Aggregation in a concentrated model protein system: a mesoscopic simulation of  $\beta$ -casein self-assembly. *Food Hydrocolloids* 15 (2001) 107-115.
- Dickinson, E., Radford, S. J., Golding, M. Stability and rheology of emulsions containing sodium caseinate: combined effects of ionic calcium and non-ionic surfactant. *Food Hydrocolloids* (2003) 211-220.
- Djabbarah, N.F., Wasan, D.T. Foam stability: the effect of surface rheological properties on the lamella rupture. *American Institute of Chemical Engineers Journal*, 31 (1985) 1041-1043.
- Dziuba, J., Babuchowski, A., Smoczynsky, M., Smietana, Z. Fractal analysis of caseinate structure. *International Dairy Journal*, 9 (1999) 287-292.
- Eastoe, J., Dalton, J. S. Dynamic surface tension and adsorption mechanisms of surfactants at the air-water interface. *Advances in Colloid and Interface Science*, 85 (2000) 103-144.
- Elizalde, F., Gracia, J., Costas, M. Effect of aggregates in bulk and surface properties. Surface tension, foam stability, and heat capacities for 2-butoxy ethanol + water. *Journal of Physical Chemistry*, 92 (1988) 3565-3568.
- Euston, S. E., Singh, H., Munro, P.A., Dalgleish, D. Competitive adsorption between sodium caseinate and oil-soluble surfactants in oil-in-water emulsions. *Journal of Food Science*, 60 (1995) 1124-1131.
- Fang, Y., Dalgleish, D. Competitive adsorption between dioleoylphosphatidylcholine and sodium caseinate on oil-water interfaces. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 44 (1996) 59-64.
- Farell Jr, H.M., Qi, P.X., Brown, E.M., Cooke, P.H., Tunick, M.H., Wickham, E.D., Unruh, J.J. Molten globule structures in milk proteins: implications for potential new structure. *Journal of Dairy Science*, 85 (2002) 459-471.
- Fox, P.F. The milk protein system. In "Developments in Dairy Chemistry-4". Fox, P.F. ed. Elsevier Applied Science. New York (1989).
- Fox, P.F., Brodkorb, A. The casein micelle: historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, 18 (2008) 677-684.

- García-Macías, Y., Análisis experimental de la teoría de momentos en la selección óptima de emulsificantes. Tesis Licenciatura (1998). Fac. Química. UNAM
- Gennis, R.B. Biomembranes: molecular structure and function. Springer Verlag. New York. (1989).
- Gibbs, J. W. The collected works of J. W. Gibbs. Longmans, Green, London, 1928. Vol I.
- Gracia-Fadrique, J. Transiciones de mojado y espumas transitorias Tesis. Doctorado en Ciencias Químicas (1990). Fac. Química. UNAM.
- Gracia-Fadrique, J. Langmuir-BET surface equation of state in fluid-fluid interfaces. Langmuir 15 (1999), 3279-3282.
- Gracia- Fadrique., J. Brocos, P., Amigo, A. Activity coefficients at infinite dilution from surface tension data. Langmuir. 12 (2002) 3604-3608.
- Gracia, J., Guerrero, C., Llañes, J. G., Robledo, A. Transient foaminess, aggregate formation, and wetting behavior in water-phenol mixtures. Journal of Physical Chemistry, 90 (1986) 1350-1353.
- Grassia, P., Neethling, S.J., Cervantes, C., Lee, H.Y. The growth, drainage and bursting of foams. Colloids and Surfaces A, 274 (2006) 274, 110-124.
- Griffin, W.C. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology (1979) 3<sup>rd</sup>. edition.
- Harkins, W.D., Jordan, H. F. A method for the determination of surface and interfacial tension from the maximum pull on a ring. Journal of the American Chemical Society, 52 (1930) 1751-1772.
- Hédreul, C., Frens, G. Foam stability. Colloids and Surfaces A, 186 (2001) 73-82.
- Jahaniaval, F., Kakuda, Y., Abraham, V., Marcone, M.F. Soluble protein fractions from pH and heat treated sodium caseinate: physicochemical and functional properties. Food Research International, 33 (2000) 637-647.
- Kinsella, J.E. Functional Properties of Proteins in Foods. A survey. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 7 (1976) 219-280.
- Konstance, R.P., Strange, E.D. Solubility and viscous properties of caseins and caseinates. Journal of Food Science, 56 (1991) 556-559.

- Langmuir, I. (1917). *Journal of the American Chemical Society*, 39, 1848.
- Lieberman, A., H., Rieger, M. M., Banker, G.S. *Pharmaceutical dosage forms – disperse systems*. Marcel Dekker. N.Y. (1996)
- Lucey, J. A., Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P. A. Characterization of commercial and experimental sodium caseinate by multiangle laser light scattering and size-exclusion chromatography. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48 (2000) 1610-1616.
- Lynch, A.G., Mulhivill, D.M. Effect of sodium caseinate on the stability of cream liqueours. *International Journal of Dairy Technology*, 50 (1997) 1- 7.
- Malysa, K., Lunkenheimer, K. Foams under dynamic conditions. *Current Opinion in Colloid Interface Science*, (2007) doi: 10.1016/j.cocis.2007.11.008.
- Martínez-Landeira, P., Ruso, M. Juan, Prieto, G., Sarmiento, F. Surface tensions, critical micelle concentrations, and standard free energies of micellization of C<sub>8</sub>-lecithin at different pHs and electrolyte concentrations. *Journal of Chemical Engineering Data*, 47 (2002) 1017-1021
- Mc Bain, J. W., Salomon, C.S. Colloidal electrolytes soap solutions and their constitution. *Transactions of the Faraday Society*, 9, 99 (1918). 426-460.
- Monkos, K. On the hydrodynamics and temperature dependence of the solution conformation of human serum albumin from viscometry approach. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1700 (2004) 27-34.
- Mulhivill, D.M., Ennis, M.P. Functional milk proteins: production and utilization. In “Advanced Dairy Chemistry” Vol. 1. 3<sup>rd</sup> ed. Part B. P.F. Fox, McSweeney, P.L.H. editors. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York (2003).
- Neethling, S., Lee, H.T., Grassia, P. The growth, drainage and breakdown of foams. *Colloids and Surfaces A*, 263 (2005) 184-196.
- Novelo-Torres, M., Gracia-Fadrique, J. Concentración micelar crítica mediante la ecuación de adsorción de Gibbs. *Educación Química*. 16 (2005) 1, 63-67.
- O’Connell, J.E., Fox, P.F. Heat-induced changes in the calcium sensitivity of caseins. *International Dairy Journal*, 9 (1999) 839-847.
- O’Kennedy, B.T., Cribbin, M., Kelly, P.M. Stability of sodium caseinate to ethanol. *Milchwissenschaft* 56 (2001) 680-684.

- Ortega, A., Coronado, M., Torreblanca, O., Gracia, J. Memorias XV Congreso Nacional de Termodinámica (2000) 40-43.
- Paulsson, M., Dejmek, P. Thermal denaturation of whey proteins in mixtures with caseins studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Dairy Science*, 73 (1990) 590-600.
- Pandey, S., Bagwe, R.P., Shah, D.O. Effect of counterions and surface and foaming properties of dodecyl sulfate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 267 (2003) 160-166.
- Pitkowsky, A., Durand, D., Nicolai, T. Structure and dynamical mechanical properties of suspensions of sodium caseinate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 326 (2008), 96-102.
- Pugh, R. J. Foaming, foam films, antifoaming and defoaming. *Advances in Colloids and Interface Science*, 64 (1996) 67-142.
- Preston, W.C. *Journal of Physics and Colloid Chemistry*, 52, (1948) 84.
- Rosen, M. *Surfactants and interfacial phenomena*. 3rd. ed.; John Wiley & Sons: New Jersey (2004).
- Ross, S., Nishioka, G. Foaminess of binary and ternary solutions. *Journal of Physical Chemistry*, 78 (1975) 1561-1565.
- Ross, S. *Encyclopedia of Chemical Technology*. 3rd. ed.; Kirk, R. E. and Othmer, D. F. Eds.; John Wiley: New York (1984).
- Rusanov, A. I., Krotov, V.V., Nekrasov, A. G. Extremes of some foam properties and elasticity of thin films near the critical micelle concentration. *Langmuir* 20 (2004) 1511-1516.
- Shaw, D.J. *Introduction to colloid and surface chemistry*. Butterworth-Heinemann. 4<sup>th</sup> edition. Oxford (1992).
- Scheludko, A. *Colloid Chemistry*. Elsevier. Amsterdam (1996).
- Schick, M.J., Beyer, E.A. Foaming properties of nonionic detergents. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, (1963) 66-69.
- Schmidt, D.G, Payens, T.A.J. Evaluation of positive and negative contributions to the second virial coefficient of some milk proteins. *Journal of Colloid and Interface Science*, 39 (1972) 655-662.

- Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P.A. Sodium caseinate-stabilized emulsions: factors affecting coverage and composition of surface proteins. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 44 (1996) 3807-3811.
- Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P.A. The effect of sodium chloride on the formation and stability of sodium caseinate emulsions. *Food Hydrocolloids* 14 (2000) 497-507.
- Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P.A. Formation and stability of sodium caseinate emulsions: influence of retorting (121°C for 15 min) before or after emulsification. *Food Hydrocolloids* 16 (2002) 153-160.
- Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P.A. Influence of retorting (121°C for 15 min), before or after emulsification, on the properties of calcium caseinate oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 80 (2003) 61-69.
- Strey, R., Viisanen, Y., Aratono, M., Kratochvil, J.P., Yin, Q., Friberg, S. E. On the necessity of using activities in the Gibbs equation. *Journal of Physical Chemistry B*, 103 (1999) 9112-9116.
- Swaigood, H. E. Symposium: genetic perspectives on milk proteins: comparative studies and nomenclature. *Journal of Dairy Science*, 76 (1993) 3054-306.
- Swaissgood, H.E. Chemistry of the caseins. In "Advanced Dairy Chemistry" Vol. 1. 3<sup>rd</sup>. ed. Part A. P.F. Fox, McSweeney, P.L.H. editors. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York (2003).
- Tamura, T., Kaneko, Y., Ohyama, M. Dynamic surface tension and foaming properties of aqueous polyoxyethylene n-dodecyl ether solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 173 (1995) 493-499.
- Tuinier, R., Bisperink, C. G. J., Van der Berg, C., Prins, A. Transient foaming behavior of aqueous alcohol solutions as related to their dilatational surface properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 179 (1996) 327-334.
- Varadaj, R., Bock, J., Valint Jr., P., Zushma, S., Brons, N. Relationship between fundamental interfacial properties and foaming in linear and branched sulfate, ethoxysulfate and ethoxylate surfactants. *Journal of Colloid and Interface Science*, 140 (1990) 31-34

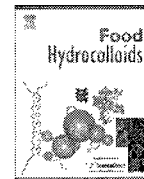


- Viades-Trejo, J. Amigo, A., Gracia-Fadrique, J. Activity coefficients at infinite dilution for surfactants. *Fluid Phase Equilibria*, 250 (2006) 158-164.
- Viades-Trejo, J., Gracia-Fadrique, J. A new surface equation of state Hydrophobic-hydrophilic contributions to the activity coefficient. *Fluid Phase Equilibria*, 264 (2008) 12-17.
- Walstra, P. Principles of emulsion formation. *Chemical Engineering Science*, 48 (1993) 2, 333-349.
- Walstra, P. Casein sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal*, 9 (1999) 189-192.
- Ward, A. F. H., Tordai, L. Time-dependence of boundary tensions of solutions. I. The role of diffusion in time-effects. *Journal of Chemical Physics*, 14 (1946) 453-461.
- Ye. A., Srinivasan, M., Singh, H. Influence of NaCl addition on the properties of emulsions formed with commercial calcium caseinate. *Food Chemistry*, 69 (2000) 237-244.



Contents lists available at ScienceDirect

## Food Hydrocolloids

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodhyd](http://www.elsevier.com/locate/foodhyd)

# Surface tension and foam stability of commercial calcium and sodium caseinates

Dulce M. Abascal, Jesús Gracia-Fadrique\*

Facultad de Química, Departamento de Fisicoquímica, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. 04510, Mexico

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 20 October 2008

Accepted 26 February 2009

#### Keywords:

Caseinates

Surface tension

Dynamic surface tension

Surface equation of state

Surface concentration

### ABSTRACT

The static and dynamic surface tension of sodium and calcium caseinates was compared with their foam behavior. The surface tension behavior of sodium and calcium caseinates was similar but the foaming properties differed. Caseinates presented moderate surface activity lowering the surface tension of water to 40 mN/m. The surface pressure vs. composition data were analyzed using a new surface equation of state and obtained 0.1% (w/v) critical concentration and the molecular surface area; in the case of calcium caseinate was larger compared to sodium caseinate. Caseinates were evaluated at the critical concentration by means of dynamic surface tension to compare their behavior; calcium caseinate took longer time to reach equilibrium conditions. Their foam behavior was transient type with maximum foamability around the critical concentration; sodium caseinate presented better foaming properties than calcium caseinate.

© 2009 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Proteins are commonly used as food ingredients for emulsions and foams and have a complex behavior that requires knowledge of the relation between surface properties and the foaming and emulsifying behavior. Foam is a coarse dispersion of gas in a relatively small amount of liquid while an emulsion consists of an immiscible liquid intimately dispersed in another as droplets. These colloidal dispersions are thermodynamically unstable and their characteristics depend on the surface active components.

Due to their amphiphilic nature, proteins act as polymeric surfactants with multiple anchoring sites (Carrera Sánchez, Rodríguez Niño, Caro, & Rodríguez Patiño, 2005). However, to be suitable surfactants, proteins should have the ability to diffuse and adsorb to the interface; the ability to unfold and reorient at the interface and once there, be capable to interact with the adjacent molecules and form a viscoelastic film (Eastoe & Dalton, 2000; Murray & Ettalaie, 2004; Rodríguez Niño, Carrera Sánchez, Ruiz-Henestrosa, & Rodríguez Patiño, 2005). Proteins orient themselves with the some of their hydrophobic groups towards the non-polar phase (or air) decreasing the interfacial tension and contributing to the stability of the emulsion or foam (Zayas, 1997). The diffusion to the interface depends on the protein, their conformation state in the solution and their hydrodynamic radius; thus their molecular weight

(Rodríguez Niño et al., 2005). Milk proteins are excellent foaming and emulsifying agents commonly used in food colloids. Caseinates are the water-soluble form of casein and consist of a mixture of four individual fractions, the  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  and  $\kappa$  caseins. Their functionality is basically governed by the most abundant fractions, the  $\beta$  and  $\alpha_{s1}$  caseins which, in turn are the surface active fractions of the caseins (Rodríguez Niño, Carrera Sánchez, & Rodríguez Patiño, 1999). The hydrophobic region of  $\beta$ -casein adsorbs to the interface while the hydrophilic region projects towards the aqueous phase as a tail. At a certain concentration ( $10^{-2}$ – $10^{-1}$ % w/w) the molecule self-associates into spherical micelles (Darewicz, Dziuba, Caessens, & Gruppen, 2000; Dauphas et al., 2005; Dickinson & Sujata, 2001). The surface pressure vs. area ( $\pi$ -A) isotherms show at low surface pressure a  $\beta$ -casein conformation with all amino acid segments at the surface but at higher surface pressure, the amino acid segments are extended into the underlying aqueous solutions and adopt the conformation of loops and trains (Rodríguez Niño et al., 2005) with an increasing foamability behavior of  $\beta$ -casein with concentration. However, the foaming characteristics of sodium caseinate depend on the rate of diffusion to the air-water interface (Carrera Sánchez & Rodríguez Patiño, 2005). Small and flexible proteins rapidly diffuse to the surface and show higher foaming capacities (Bos, Dunnwind, & van Vliet, 2003). Considering that caseinates consist of a mixture of proteins, the aim of this work was to obtain fundamental information about surface properties of calcium and sodium caseinates and be able to understand their functional properties as foaming behavior.

\* Corresponding author. Tel.: +52 55 5622 3525; fax: +52 55 5616 2010.  
E-mail address: [jgraciaf@servidor.unam.mx](mailto:jgraciaf@servidor.unam.mx) (J. Gracia-Fadrique).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

Sodium and calcium caseinates were provided by Lactoprot (Deutschland, GmbH). Caseinate dispersions were prepared using distilled and deionized water and had a pH of  $7.0 \pm 0.5$  in all cases. Elemental analysis (Elemental Analyzer Fisons EA 1108) showed a protein content of 85.53% and 86.09% for calcium and sodium caseinates respectively (using a 6.28 factor).

### 2.2. Surface tension behavior

Caseinates in water samples were prepared and let stand at least 8 h at room temperature ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ) in a Petri dish to allow proper equilibrium. Ring method was chosen to evaluate surface tension. The equipment was assembled using a balance (Adventurer, Ohaus, Pine Brook, NJ) with a hook underneath to hang the DuNouy platinum ring (CSC Scientific Co. Inc., USA) with 5.992 cm mean circumference and  $R/r = 53.6$ . Samples were placed on a platform with a speed-controlled elevator (Orbisphere Labs., Neuchatel/Geneva, Switzerland). The sample was elevated until contact was made between the sample's surface and the ring. The platform was then descended and the maximum weight pulled by the ring was registered. Surface tension was determined using the equation

$$\sigma = \frac{Mg}{4\pi R} \times F \quad (1)$$

where  $M$  is the maximum weight pulled,  $g$  is the local gravity ( $977.94 \text{ cm/s}^2$ ),  $R$  is the ring radius and  $F$  is a correction factor to adjust differences derived from the ring dimensions ( $R^3/V$ ; where  $V$  is the maximum volume pulled by the ring) and were obtained from tables (Harkins & Jordan, 1930). Surface tension (and surface pressure,  $\pi = \sigma_0 - \sigma$ ; where  $\sigma_0$  is the solvent surface tension) vs. weight fraction data were recorded.

Dynamic surface tension was evaluated using a KSV CAM 200 pendant drop tensiometer fitted with a CCD video camera with telecentric optics, a frame grabber and a strobed monochromatic LED light source. Solutions were prepared in distilled and deionized water and filtered. Drop images were taken with the CCD camera at programmed time intervals. The CAM 200 software calculated the surface tension values by curve fitting to the Young–Laplace equation. All measurements were performed in triplicate.

#### 2.2.1. Surface properties

The change in surface tension (or surface pressure) vs. composition was evaluated with a new surface equation of state (Viades-Trejo & Gracia-Fadrique, 2008) obtained from the equality of the Volmer's surface chemical potential and the bulk chemical potential at the diluted region under the symmetric activity coefficients convention.

$$\ln\left(\frac{\pi^*}{x}\right) = z_m(1 - \pi^*) - \ln x_{cc} \quad (2)$$

where  $\pi^*$  is the reduced surface pressure ( $\pi^* = \pi/\pi_m$ ;  $\pi_m$  is the maximum surface pressure or the surface pressure at saturation conditions),  $x$  is the bulk composition (molar fraction),  $z_m$  is the surface compressibility factor at saturation conditions; i.e. at the maximum surface pressure when it remains constant and where the critical concentration  $x_{cc}$  is obtained.

$$z_m = \frac{\pi_m}{\Gamma_m RT} \quad (3)$$

where  $\Gamma_m$  is the maximum surface concentration and is equal to the reciprocal of the molecular area,  $A$  ( $\Gamma_m^{-1} = A$ );  $R$  is the universal gas constant and  $T$  is the absolute temperature. If the behavior of  $\ln(\pi^*/x)$  vs.  $1 - \pi^*$  is lineal, then the surface equation of state (Eq. (2)) allows the determination of the critical concentration from the intercept.

The critical concentration is analogous to the critical micelle concentration where a sudden change of physical properties are observed, such as surface tension, osmotic pressure, conductivity, light dispersion, solubility and foam stability. However, casein micelles are not true micelles in the physicochemical sense (Fox & Brodtkorb, 2008), though caseinate shows coexistence of sub-micellar species with a small amount of supra-molecular assemblies (Farrer & Lips, 1999).

Concentration expressed as molar fraction

$$x_2 = \frac{n_2}{n_1 + n_2}; n_i = \frac{w_i}{M_i} \quad (4)$$

where sub-index 1 refers to the solvent (water) and 2 refers to the solute (caseinate);  $w_i$  is the weight mass fraction and  $M_i$  is the molecular mass. However, the molecular mass of the caseinates was uncertain and the concentration was expressed as weight fraction. In a diluted media like surface active molecules or proteins, until the critical concentration:  $x_2 \rightarrow 0$ ,  $w_2 \rightarrow 0$  and  $w_1 \rightarrow 1$ :

$$\ln x_2 = \ln w_2 + \ln \frac{M_1}{M_2} \quad (5)$$

This equation is then introduced in Eq. (2) to express it as a function of weight fraction; sub-index 2 was eliminated from weight fraction to simplify the equation.

$$\ln \pi^* - \ln w - \ln \frac{M_1}{M_2} = z_m(1 - \pi^*) - \ln w_{cc} - \ln \frac{M_1}{M_2} \quad (6)$$

$$\ln\left(\frac{\pi^*}{w}\right) = z_m(1 - \pi^*) - \ln w_{cc} \quad (7)$$

It is demonstrated that the slope of the fundamental Eq. (2) containing the compressibility factor, the basic thermodynamic information and the molecular conformation at the surface, is the same as the one obtained from Eq. (7). The equation has the shape of a line with a positive slope represented by  $z_m$  and the intercept provides the critical concentration.

Foam was produced using a glass column of 1000 ml fitted at the bottom with a porous glass disk (Fig. 1). A 170 ml sample of the caseinates dispersions was carefully poured into the column and foam was produced at a constant temperature of  $20^\circ\text{C}$ , by passing air through the porous glass (pore diameter  $0.2 \mu\text{m}$ ) at a controlled flux of  $0.1 \text{ L/min}$  until the maximum foam height was reached. Caseinates concentration ranged between 0.05 and 2.0% (w/v). Results were expressed as foamability or the volume or the maximum foam volume produced by a volume of caseinate in solution.

## 3. Results

Caseinates have the ability to lower the surface tension of water moderately (Fig. 2) from  $72 \text{ mN/m}$  for pure water (distilled and deionized) to  $41.5 \text{ mN/m}$  for calcium caseinate (CaCN) and  $38.8 \text{ mN/m}$  for sodium caseinate (NaCN). Surface tension behavior vs. composition (Fig. 2) was quite similar for both kinds of caseinates with a calculated critical concentration (from Eq. (7)) of  $w_{cc} = 0.010 \pm 0.001$  for CaCN and  $w_{cc} = 0.016 \pm 0.001$  for NaCN

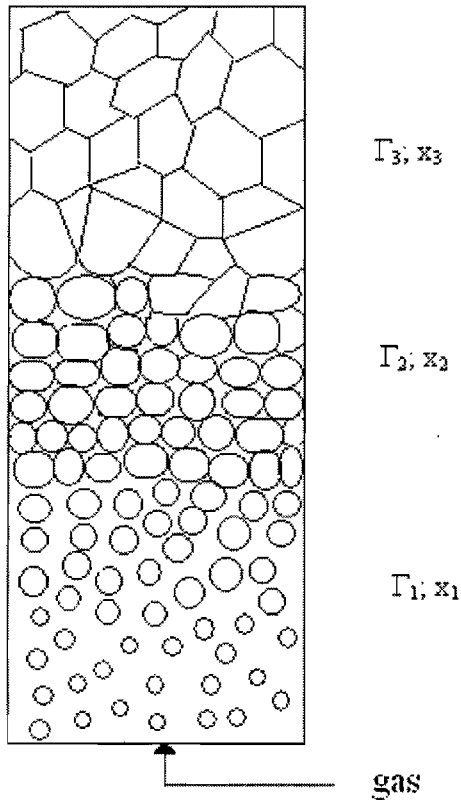


Fig. 1. Composition of a foam column with increasing surface ( $\Gamma$ ) and bulk ( $x$ ) concentrations where  $\Gamma_1 < \Gamma_2 < \Gamma_3$  and  $x_1 < x_2 < x_3$ .

(Fig. 3). To get more information for possible differences, both caseinates were studied by dynamic surface tension using the pendant drop technique at the critical concentration obtained by surface tension. Results showed similar behavior (Fig. 4) and equilibrium surface tension ( $\sigma_{eq}$ ) was obtained from the Ward and Tordai equation (Eq. (8)) using the long-time approximation when  $t \rightarrow \infty$  (Eastoe & Dalton, 2000)

$$\sigma_{t \rightarrow \infty} = \sigma_{eq} + \frac{nRT\Gamma_{eq}^2}{c} \sqrt{\frac{\Sigma}{4Dt}} \quad (8)$$

where  $\sigma$  is the dynamic surface tension,  $\sigma_{eq}$  is the equilibrium surface tension,  $n = 1$  for non ionic surfactants and  $n = 2$  for ionic surfactants,  $R$  is the universal gas constant,  $\Sigma$  is 3.1416,  $T$  is the absolute temperature,  $c$  is the bulk surfactant concentration,  $D$  is the amphiphile diffusion coefficient and  $t$  is the time. Results for CaCN are represented in Fig. 5 with  $\sigma_{eq} = 42 \pm 0.06$  and for NaCN  $\sigma_{eq} = 40 \pm 0.08$ . The  $\pi$  vs.  $\ln t$  behavior (Fig. 6) is analogous to the typical equilibrium amphiphile's behavior represented in  $\pi$  vs.  $\ln x$  coordinates; in both cases the surface pressure increase corresponds to the macroscopic manifestation of the arrival of protein molecules to the surface. In equilibrium conditions, the Gibbs adsorption equations (Eqs. 9 and 10) provide the surface and maximum surface concentration respectively; the corresponding dynamic equations (Eqs. 11 and 12) provide the dynamic and equilibrium surface concentration.

$$\frac{d\pi}{d \ln x} = \Gamma RT \quad (9)$$

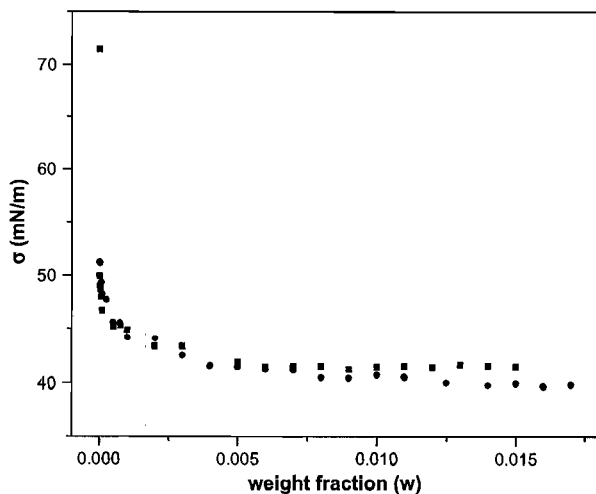


Fig. 2. Surface tension at 20 °C of (■) calcium caseinate and (●) sodium caseinate.

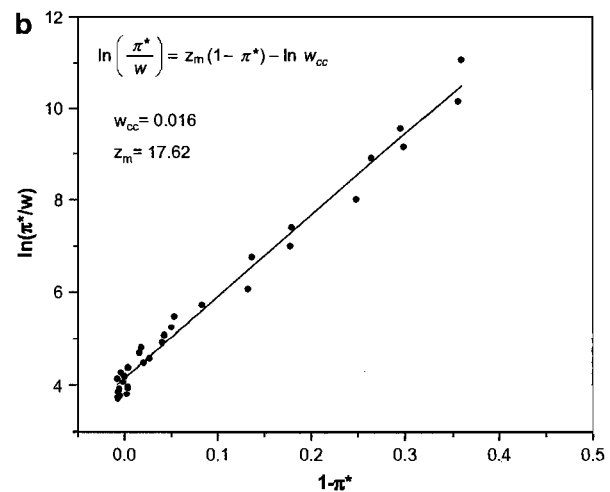
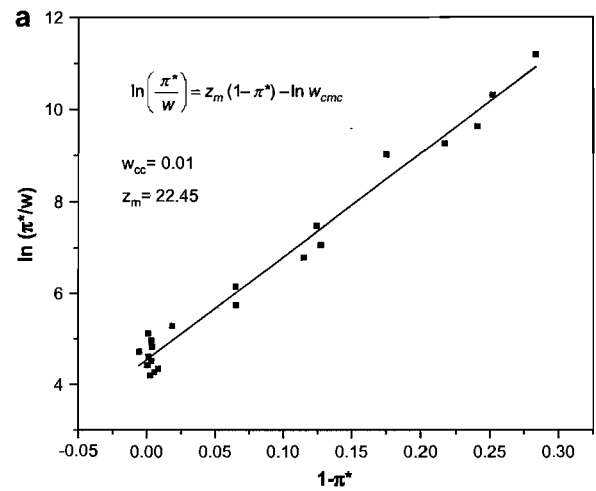


Fig. 3. Volmer's representation for (a) calcium caseinate and (b) sodium caseinate.

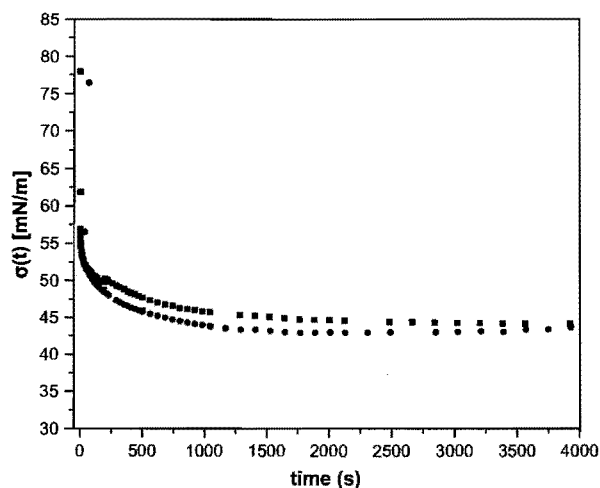


Fig. 4. Dynamic surface tension of (■) calcium caseinate and (●) sodium caseinate.

At saturation conditions, near the critical concentration

$$\left. \frac{d\pi}{d \ln x} \right|_{x \rightarrow x_{cr}} = \Gamma_s RT \quad (10)$$

Where  $\Gamma_s \rightarrow \Gamma_{max}$ . In the dynamic surface tension it can be expressed as

$$\frac{d\pi(t)}{d \ln t} = \Gamma(t) RT \quad (11)$$

At longer time, when  $t \rightarrow \infty$

$$\left. \frac{d\pi(t)}{d \ln t} \right|_{t \rightarrow \infty} = \Gamma_{eq} RT \quad (12)$$

The equilibrium time obtained for CaCN was 2500 s and 1900 s for NaCN (Fig. 6); for comparison purposes, the equilibrium surface tension was also obtained from this method, for CaCN,  $\sigma_{eq} = 44.2 \pm 0.02$  and for NaCN,  $\sigma_{eq} = 43 \pm 0.03$ . Even though both caseinates share some characteristics of their surface behavior (Table 1), the time to reach equilibrium, at the critical

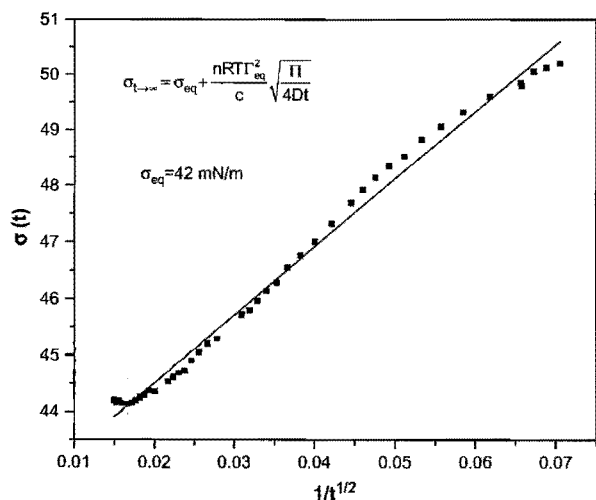


Fig. 5. Equilibrium surface tension for CaCN at the critical concentration ( $w=0.01$ ) from Ward and Tordai equation (Eastoe & Dalton, 2000).

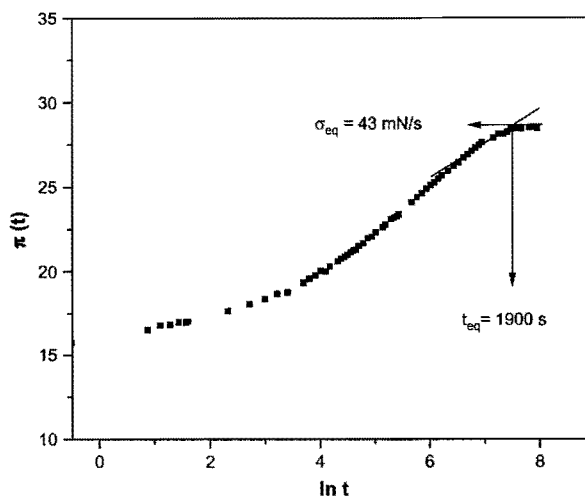


Fig. 6. Equilibrium time for NaCN at critical concentration ( $w=0.01$ ).

concentration, was larger for CaCN, as well as the compressibility factor ( $z_m$ ) and consequently the surface molecular area, CaCN has a molecular area,  $A=306.83 \text{ \AA}^2/\text{molecule}$  and NaCN with  $A=235.86 \text{ \AA}^2/\text{molecule}$ .

Caseinates form transient foams (Fig. 7), meaning that the foam is present as long as the gas flux is present, and depended on protein concentration (Carrera Sánchez & Rodríguez Patiño, 2005). Calcium caseinate showed lower foamability with bubbles breaking up as soon as the gas flux was interrupted. On the other hand NaCN showed better foamability with a maximum that coincides with the critical concentration, just as predicted for transient foams (Elizalde, Gracia, & Costas, 1988; Rosen, 2004).

#### 4. Discussion

Although surface properties for both kinds of caseinates were similar, foaming behavior presented differences. The foaming behavior for NaCN increased with concentration (Carrera Sánchez & Rodríguez Patiño, 2005) with a maximum around the critical concentration and then decreased; an expected behavior for transient foams (Elizalde et al., 1988; Rosen, 2004 and Ross & Nishioka, 1976). Furthermore, Gibbs elasticity modulus (Rosen, 2004) is closely related to foamability and is expressed as:

$$E = 2 \frac{d\sigma}{d \ln A} \quad (13)$$

Surface pressure can be used instead of surface tension and the associated area  $A$  changed for specific area  $\Omega$  ( $\Omega = 1/\Gamma$ ; where  $\Gamma$  is the excess surface concentration) that can be expressed as the surface coverage  $\theta$ , where  $\theta = \Gamma/\Gamma_s$ , and  $\Gamma_s$  is the maximum surface concentration. Gibbs elasticity (Eq. (13)) is then expressed as:

Table 1  
Surface properties of calcium and sodium caseinates

	CaCN	NaCN
Critical concentration (weight fraction)	$0.010 \pm 0.001$	$0.016 \pm 0.001$
$z_m$	$22.45 \pm 0.73$	$17.62 \pm 0.41$
Molecular area ( $\text{\AA}^2/\text{molecule}$ )	$306.83 \pm 10.07$	$235.86 \pm 5.51$
$\sigma_c$ (mN/m) at critical concentration	$42 \pm 0.06$	$40 \pm 0.08$
$t_{eq}$ (s) at critical concentration	2500	1900

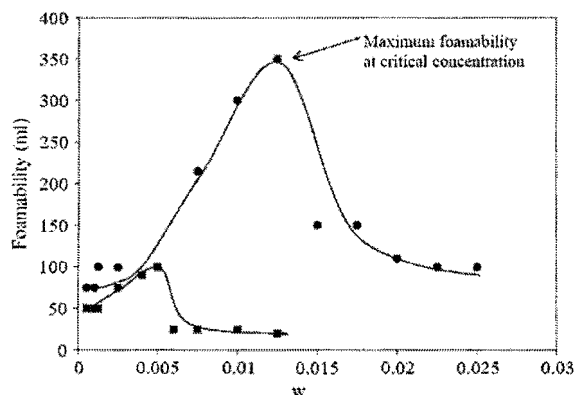


Fig. 7. Foamability of (■) calcium caseinate and (●) sodium caseinate at 20 °C.

$$\varepsilon = 2 \frac{d\pi}{d \ln \theta} \quad (14)$$

when concentration approaches to the critical concentration

$$x \rightarrow x_{cc}; \theta \rightarrow 1; \frac{d\pi}{d \ln \theta} \rightarrow \max \quad (15)$$

the bulk concentration  $x$  is related to the surface concentration  $\theta$  and the foam goes to a maximum; beyond the critical concentration, the surface coverage is completed and the surface pressure remains constant

$$x > x_{cc}; \theta = 1; \frac{d\pi}{d \ln \theta} \rightarrow \text{zero} \quad (16)$$

thus Gibbs elasticity modulus goes to zero and the foam decays. The NaCN concentration where the maximum foam volume was obtained agrees with the concentration reported by Carrera Sánchez and Rodríguez Patiño (2005). However CaCN presented poor foaming behavior explained by the rectification process occurring along the foam column (Fig. 1) which may cause the CaCN to reach a two phase region and collapsing the foam (Ross, 1984). In fact, for many years adsorption bubble separation process has been employed as a separation technology (Karger & DeVivo, 1968) because foam concentrates the surface active components at the higher stages of the column. At certain height in the foam column, due to its lower solubility (Pitkowsky, Durand, & Nicolai, 2008), the CaCN reached a two phase region and the foam collapsed. Along to the rectification process, dynamic surface tension results at the critical concentration showed CaCN took longer time to reach equilibrium; foam formation amplifies the characteristics of a single surface and is a dynamic process requiring protein molecules to rapidly adsorb to the newly created interfaces in the foam (Pandey, Bagwe, & Shah, 2003) so is related to the rate of diffusion of caseinate to the interface (Carrera Sánchez & Rodríguez Patiño, 2005). This evidence showed CaCN has a poor foamability because the lower solubility at higher stages in the column during the rectification process and the longer equilibrium time caused a lower capability to re-establish the surface concentration once a new one is created causing the foam film to break up.

## 5. Conclusions

The surface properties of CaCN and NaCN were evaluated and results showed similarities; the equilibrium surface tension vs. composition behavior and the critical concentration were almost identical; however dynamic surface tension showed the time to reach equilibrium, at the critical concentration for CaCN took longer and

has a larger molecular surface area. The dynamic surface tension was analyzed by two methods, the Ward and Tordai equation (long-time approximation) and a new method proposed from the maximum derivative of surface pressure vs. logarithm of time. The equilibrium surface tensions obtained quite agree and support the hypothesis of diffusion controlled mechanism; assuming the monomer diffuses from the bulk to the subsurface and then directly adsorbs into the interface. Caseinates showed transient foam behavior with maximum foamability around the critical concentration; NaCN presented better foaming properties compared to CaCN which had poor foaming behavior explained by the rectification process occurring along the foam column causing CaCN to reach a two phase region and a lower capability to re-establish the surface concentration limiting the adsorption to the newly created surfaces.

## Acknowledgments

The project was partially supported by UNAM DGAPA, projects PAPIIT IN-100808-3 and IN-103108.

## References

- Bos, M. A., Dunnewind, B., & van Vliet, T. (2003). Foams and surface rheological properties of  $\beta$ -casein, gliadin and glycine. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31, 95–105.
- Carrera Sánchez, C., Rodríguez Niño, M. R., Caro, A. L., & Rodríguez Patiño, J. M. (2005). Biopolymers and emulsifiers at the air–water interface. Implications in food colloid formulations. *Journal of Food Engineering*, 67, 225–234.
- Carrera Sánchez, C., & Rodríguez Patiño, J. M. (2005). Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocolloids*, 19, 407–416.
- Darewicz, M., Dziuba, J., Caessens, P. W., & Gruppen, H. (2000). Dephosphorylation-induced structural changes in  $\beta$ -casein and its amphiphilic fragment in relation to emulsion properties. *Biochimie*, 82, 191–195.
- Dauphas, S., Mouhous-Riou, N., Metro, B., Mackie, A. R., Wilde, P. J., Antone, M., et al. (2005). The supramolecular organization of  $\beta$ -casein: effect on interfacial properties. *Food Hydrocolloids*, 3(19), 387–393.
- Dickinson, E., & Sujata, K. (2001). Aggregation in a concentrated model protein system: a mesoscopic simulation of  $\beta$ -casein self-assembly. *Food Hydrocolloids*, 15, 107–115.
- Eastoe, J., & Dalton, J. S. (2000). Dynamic surface tension and adsorption mechanisms of surfactants at the air–water interface. *Advances in Colloid and Interface Science*, 85, 103–144.
- Elizalde, F., Gracia, J., & Costas, M. (1988). Effect of aggregates in bulk and surface properties. Surface tension, foam stability and heat capacities for 2-butoxyethanol + water. *Journal of Physical Chemistry*, 92, 3565–3568.
- Farrer, D., & Lips, A. (1999). On the self-assembly of sodium caseinate. *International Dairy Journal*, 9, 3–6.
- Fox, P. F., & Brodtkorb, A. (2008). The casein micelle: historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, 18, 677–684.
- Harkins, W. D., & Jordan, H. F. (1930). A method for the determination of surface tension from the maximum pull on a ring. *Journal of the American Chemical Society*, 52, 1751–1772.
- Karger, B. L., & DeVivo, D. G. (1968). General survey of adsorptive bubble separation processes. *Separation Science*, 3(5), 393–424.
- Murray, B. S., & Ettalaie, R. (2004). Foam stability: proteins and nanoparticles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 9(5), 314–320.
- Pandey, S., Bagwe, R. P., & Shah, D. O. (2003). Effect of counterions on surface and foaming properties of dodecyl sulfate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 267, 160–166.
- Pitkowsky, A., Durand, D., & Nicolai, T. (2008). Structure and dynamical mechanical properties of suspensions of sodium caseinate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 326, 96–102.
- Rodríguez Niño, M. R., Carrera Sánchez, C., & Rodríguez Patiño, J. M. (1999). Interfacial characteristics of  $\beta$ -casein spread films at the air–water interface. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 12, 161–173.
- Rodríguez Niño, M. R., Carrera Sánchez, S., Ruiz-Henestrosa, V. P., & Rodríguez Patiño, J. M. (2005). Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocolloids*, 19, 417–428.
- Rosen, M. (2004). *Surfactants and interfacial phenomena* (3rd ed.). New Jersey: John Wiley & Sons.
- Ross, S. (1984). In R. E. Kirk, & D. F. Othmer (Eds.), *Encyclopedia of chemical technology* (3rd ed.). New York: John Wiley.
- Ross, S., & Nishioka, G. (1976). Foaming behavior of partially immiscible liquids as related to their phase diagrams. In R. J. Akers (Ed.), *Foams*. London: Academic Press.
- Viades-Trejo, J., & Gracia-Fadrique, J. (2008). A new surface equation of state hydrophobic–hydrophilic contributions to the activity coefficient. *Fluid Phase Equilibria*, 264, 12–17.
- Zayas, J. F. (1997). *Functionality of proteins in food*. Berlin: Springer-Verlag.