



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

**“Estudio de la capacidad
emulsificante y estabilizante del quitosán
en la mezcla quitosán-ácido oléico y
quitosán-ácido oléico-surfactante”.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:
BARRADAS OLVERA GEORGINA

ASESORAS:
**DRA. SUSANA PATRICIA MIRANDA
CASTRO**
**IA. MIRIAM EDITH FUENTES
ROMERO**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. MEX.

2010



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.

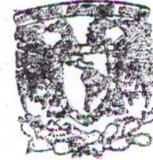


UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

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

"Estudio de la capacidad emulsificante y estabilizante
del quitosán en la mezcla quitosán-ácido oléico y
quitosán-ácido oléico-surfactante".

que presenta la pasante: Georgina Barradas Oliviera
con número de cuenta: 40503316-2 para obtener el título de :
Ingeniera en alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en
el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 8 de Abril de 2010.

PRESIDENTE Dra. Susana Patricia Miranda Castro

VOCAL IBO Saturnino Maya Ramírez

SECRETARIO Dra. Carolina Moreno Ramos

PRIMER SUPLENTE IA: Patricia Muñoz Aguilar

SEGUNDO SUPLENTE Dra. María Guadalupe Sosa Herrera

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser mi segunda casa durante el tiempo que curse mi carrera, ¡mil gracias!

A mi directora de tesis la Dra. Susana Patricia Miranda Castro, por todo el apoyo, enseñanzas y sobre todo por creer en mi, ¡gracias!

A todas las facilidades prestadas para la realización de esta tesis del laboratorio de Biotecnología y Lapryfal de la FES-C UNAM, así como a sus laboratoristas.

A mis sinodales:

IBQ Saturnino Maya Ramírez

Dra. Carolina Moreno Ramos

IA. Patricia Muñoz Aguilar

Dra. María Guadalupe Sosa Herrera

A todos y cada uno de mis profesores de la facultad, porque de todos aprendí algo y tome siempre lo bueno, gracias por el apoyo a mi tesis al profesor Fco. Javier López Martínez.

A Héctor Miguel Espinoza Morán †, por enseñarme el valor de la amistad y a luchar siempre.

A Ana Elvira Ramos Casas, a quien en parte debo estar aquí ahora.

Siempre hay algo que aprender, siempre hay a quien admirar, gracias a todas y cada una de las personas a las que admiró, porque de ellas surgió mi interés por siempre aprender algo nuevo y llegar a ser lo que hasta ahora he logrado y seguir en la batalla por superarme.

DEDICATORIA

A mis padres

Juan Barradas González y María Flena Olvera Albino

No podría pagarles ni en un millón de años la mitad de lo que gracias a ustedes soy, ni podría expresarles todo el orgullo que me causan, son lo más importante en mi vida y agradezco todo lo que han luchado y sufrido por mí.

Les dedico todo mi esfuerzo puesto en este trabajo, por ser mí más grande aliciente para luchar día a día y por ser grandes guerreros. Con admiración, respeto y amor.

A mi familia

Consuelo, Pilar, Beatriz, Julio, Isabel, Carlos, Tania, Evelyn, Samantha y todos los pequeños mounstritos (ahí entras Lalo).

Porque mi éxito como estudiante y futuro profesional también lo sientan como suyo y sigamos compartiendo triunfos y fracasos.

A la familia Medel Barradas

Por confiar en mí y apoyarme en todo momento.

A Alberto Saavedra Jasso

Por todo el apoyo, comprensión y sobre todo paciencia.

Por cuidarme cuando enferme, abrazarme cuando lloré, levantarme cuando caí, escucharme cuando lo necesite, por ser parte de mi familia.....Te amo.

*Y un día por fin pudo abrir sus ojos y
vio por vez primera sus alas, por fin
comprendió que podía volar y viajar
hasta donde su corazón y su alma
quisieran llegar.....Gina*

INDICE

Resumen.....	6
Introducción.....	7
CAPITULO I ANTECEDENTES	
1.-Fenómenos de superficie e interfase	
1.1. Introducción.....	9
1.2. Fundamentos.....	9
2.-Emulsiones	
2.1. Generalidades.....	13
2.2. Propiedades fisicoquímicas de las emulsiones.....	15
2.3. Formación de emulsiones	21
2.4. Agentes estabilizantes	23
2.5. Anfífilos, surfactantes y tensoactivos.....	23
2.5.1. Clasificación de los tensoactivos.....	24
2.6. Emulsionantes alimentarios	26
2.6.1. Surfactantes alimentarios	27
2.7. Fenómenos de inestabilidad de las emulsiones.....	28
2.7.1. Partículas de interfase.....	31
2.7.2. Doble capa eléctrica.....	31
2.7.3. Adsorción en la interfase.....	32
2.7.4. Separación gravitacional.....	33
2.7.5. Métodos de control de separación gravitacional.....	34
3.-Qitosán	
3.1. Generalidades del qitosán.....	36
3.1.1. Propiedades físicas	37
3.1.2. Propiedades funcionales.....	38
3.2. Aplicaciones del qitosán	39
3.3. Aspectos económicos.....	41
3.4. Propiedades del qitosán como emulsificante.....	42
4.-Evaluación física de las emulsiones	
4.1. Microscopia óptica	44

4.1.1. El microscopio	44
4.1.2. La grasa en los alimentos.....	44
4.2. Determinación de la estabilidad de la emulsión	45
5.-Evaluación reológica de las emulsiones	
5.1. Teoría de la reología de los fluidos	47
CAPITULO II OBJETIVOS	
Hipótesis general	50
Objetivo general	51
Objetivo particular 1	51
Objetivo particular 2	51
Objetivo particular 3	51
CAPITULO III METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	
Cuadro metodológico.....	51
1. Materiales.....	52
2. Métodos.....	52
2.1. Actividades preliminares.....	52
2.2. Preparación de muestras.....	61
2.3. Caracterización fisicoquímica.....	62
2.4. Caracterización reológica.....	64
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
Actividades preliminares	65
Objetivo 1 Emulsión quitosán-ácido oléico.....	66
Objetivo 2 Emulsión agua-ácido oléico-lecitina	74
Objetivo 3 Emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina.....	85
Discusión	95
Conclusiones	101
Referencias	103
Índice de figuras	
Figura 1. Esquema de las fuerzas de interacción entre moléculas	11
Figura 2. Estabilización de emulsiones.....	14
Figura 3. Floculación.....	30

Figura 4. Inestabilidad dominante en diferente tamaño y concentración.....	30
Figura 5. Representación esquemática de la doble capa eléctrica.....	32
Figura 6. Reducción de la tensión superficial mediante un emulsionante.....	32
Figura 7. Orientación de las moléculas de un emulsionante	33
Figura 8. Estructura química de la quitina y quitosán.....	37
Figura 9. Comportamiento de flujo de fluidos	48
Figura 10. Tubo de Ostwald	53
Figura 11. Montaje experimental peso molecular.....	54
Figura 12. Montaje experimental viscosímetro.....	55
Figura 13. Titulación ácido-base.....	58
Figura 14. Gráfico pH vs vol. NaOH	58
Figura 15. Montaje experimental ajuste de pH.....	60
Figura 16. Separación de fases de una emulsión.....	63
Figura 17. Emulsión quitosán/ácido oléico pH 3 [1%].....	69
Figura 18. Emulsión quitosán/ ácido oléico pH 3 [2%].....	70
Figura 19. Emulsión quitosán/ ácido oléico pH 5 [1%].....	70
Figura 20. Emulsión quitosán/ ácido oléico pH 5 [2%].....	71
Figura 21. Emulsión agua/ ácido oléico /lecitina pH 3 [1%]	78
Figura 22. Emulsión agua/ ácido oléico /lecitina pH 3 [2%].....	78
Figura 23. Emulsión agua/ ácido oléico /lecitina pH 5 [1%]	79
Figura 24. Emulsión agua/ ácido oléico /lecitina pH 5 [2%].....	79
Figura 25. Emulsión quitosán/ ácido oléico /lecitina pH 3 [1%].....	89
Figura 26. Emulsión quitosán/ ácido oléico /lecitina pH 3 [2%]	89
Figura 27. Emulsión quitosán/ ácido oléico /lecitina pH 5 [1%]	90
Figura 28. Emulsión quitosán/ ácido oléico /lecitina pH 5 [2%]	90

Índice de gráficos

Gráfico 1. Tamaño de partícula emulsión quitosán –ácido oléico.....	68
Gráfico 2. Curva de flujo emulsión quitosán –ácido oléico.....	72
Gráfico 3. Curva de viscosidad emulsión quitosán –ácido oléico.....	73
Gráfico 4. Tamaño de partícula emulsión agua-ácido oléico-lecitina.....	76
Gráfico 5. Tamaño de partícula comparativo emulsión Q/AO y A/AO/L.....	77

Gráfico 6. Curva de flujo emulsión agua-ácido oléico-lecitina.....	82
Gráfico 7. Curva de viscosidad emulsión agua-ácido oléico-lecitina.....	84
Gráfico 8. Curva comparativa de viscosidad emulsión Q/AO y A/AO/L.....	85
Gráfico 9. Tamaño de partícula emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina.....	88
Gráfico 10. Curva de flujo emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina.....	93
Gráfico 11. Curva de viscosidad emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina	94
Gráfico 12. % de aceite separado global.....	96
Gráfico 13. Comparativo de viscosidades aparentes.	99

Índice de tablas

Tabla 1. Fuerzas coloidales importantes para la estabilidad de una emulsión.....	10
Tabla 2. Influencia de la tensión superficial del agua y de los aceites vegetales.....	13
Tabla 3. Efecto del tamaño de las gotitas sobre el aspecto de la emulsión.....	18
Tabla 4. Características generales de la lecitina de soya.....	28
Tabla 5. Modelos reológicos.....	49
Tabla 6. Sistemas acuosos.....	61
Tabla 7. Emulsiones o/w.....	62
Tabla 8. Observaciones emulsión quitosán-ác.oléico.....	66
Tabla 9. Viscosidad emulsión quitosán –ácido oléico.....	73
Tabla 10.Observaciones emulsión agua-ác.oléico-lecitina.....	74
Tabla 11. Parámetros reológicos emulsión agua-ácido oléico-lecitina.....	80
Tabla 12. Viscosidad emulsión agua-ácido oléico-lecitina.....	83
Tabla 13. Observaciones emulsión quitosán-ác.oléico-lecitina.....	86
Tabla 14. Parámetros reológicos emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina.....	91
Tabla 15. Viscosidad emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina.....	94
Tabla 16. Tabla comparativa tamaño de partícula.....	97
Tabla 17. Viscosidad aparente emulsiones experimentales.....	98

RESUMEN

En el presente trabajo se estudiaron propiedades fisicoquímicas (estabilidad y tamaño de partícula) y reológicas (viscosidad, índice de consistencia e índice de comportamiento al flujo) de las mezclas de quitosán-ácido oléico y quitosán-ácido oléico-surfactante en emulsión con 10 y 20% de aceite de cártamo. Con la finalidad de estudiar las propiedades estabilizantes y emulsificantes del quitosán y su comparación con un surfactante (lecitina de soya).

Estos sistemas se estudiaron bajo diversas condiciones: modificando el pH del sistema acuoso de la emulsión (3 y 5) cercano a las condiciones de pH de emulsiones tales como mayonesas (pH entre 2.5 y 3.5 (Hart,1991)) y aderezos (pH ≤ 4 (Badui, 2006)); variando la concentración del quitosán y la lecitina de soya (1 y 2%) y finalmente modificando la concentración del aceite contenido en la emulsión (10 y 20%), a razón de analizar dos emulsiones con diferente viscosidad para acercarnos a la consistencia tanto de las mayonesas (menor fluidez), como de un aderezo prácticamente líquido.

Dentro de las pruebas físicas realizadas se encuentran la centrifugación de las emulsiones experimentales, con la que se evaluó su estabilidad; y la observación al microscopio de luz polarizada para medir el tamaño de la partícula.

Las pruebas reológicas realizadas se basaron en propiedades de flujo de la emulsión tales como la medición de los parámetros n (índice de comportamiento al flujo), k (índice de consistencia) y viscosidad, en el reómetro Physica LS100. En las emulsiones elaboradas con quitosán y aceite de cártamo, se hizo evidente la formación de una emulsión debido a su aspecto blanco lechoso así como un olor similar al de los aderezos, mientras que en las emulsiones elaboradas a base de agua-aceite de cártamo-lecitina de soya el aspecto físico de la emulsión fue blanco lechoso, espumoso y fluido, finalmente al elaborar emulsiones con quitosán-aceite de cártamo y lecitina de soya el sinergismo entre lecitina y quitosán fue evidente dado que la emulsión obtenida fue mucho menos fluida que las primeras dos y su aspecto físico más homogéneo.

INTRODUCCIÓN

La actividad industrial de los productos de la pesca, especialmente de crustáceos y cefalópodos, genera en la actualidad una gran cantidad de residuos que suponen un grave problema del medio ambiente.

Este grave problema ha estimulado a una gran actividad investigadora centrada en la determinación de los posibles usos de estos deshechos.

Como resultado de estas investigaciones, actualmente el quitosán se usa con éxito en campos tan diversos como el farmacéutico, médico y la industria alimentaria, entre otros.

El quitosán tiene múltiples aplicaciones en alimentos para el consumo humano, como agente espesante, estabilizante, espumante, emulsificante, quelante, humectante, por lo que se utiliza como mejorador de la textura (Majeti & Ravi, 2000). Los trabajos llevados a cabo hasta la fecha muestran un futuro prometedor, aunque todavía es necesaria una amplia investigación que garantice la calidad microbiológica, físico-química y sensorial de los alimentos con quitosán.

Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la capacidad emulsificante y estabilizante del quitosán mediante pruebas fisicoquímicas con las cuales podamos cuantificar la estabilidad y el tamaño de partícula de la emulsión y pruebas reológicas que nos hablen del comportamiento del fluido formado por la emulsión, y poder determinar si el quitosán puede participar en la formación y estabilización de una emulsión, ya que las emulsiones aceite en agua tiene una amplia aplicación dentro de la industria alimentaria tal es el caso de una enorme gama de aderezos y mayonesas presentes en la vida cotidiana del consumidor, las cuales podremos en un futuro cercano realizar con productos más saludables y con mayores beneficios, como lo es el quitosán.

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

El quitosán en estudio promoverá la formación de una emulsión estable y se analizará su correlación al adicionar lecitina de soya.

CAPITULO I

ANTECEDENTES

1.-FENÓMENOS DE SUPERFICIE Y DE INTERFASE

1.1 INTRODUCCIÓN

Los sistemas alimenticios se dividen en dos grupos principales: tejidos comestibles intactos y dispersiones alimenticias.

Los alimentos que solo han sido cortados son ejemplo de tejidos intactos; por dispersión alimenticia se entiende un sistema formado por una o más fases dispersas o discontinuas en una fase continua. En la mayoría de los casos, la fase continua es el agua o un aceite comestible.

Las dispersiones se clasifican en función del tamaño o del estado físico de las partículas. Las coloidales contienen partículas cuyo tamaño oscila entre 1nm y 0.5 μm y en las groseras son mayores a 0.5 μm . Son, por tanto, sistemas bifásicos o polifásicos y están sujetos a las leyes de los sistemas dispersos (Fennema, 1985).

En general es válido decir que los sistemas dispersos están constituidos por dos o más fases, de las cuales al menos una se presenta en forma dispersa y se encuentra rodeada por una fase continua.

Entre las fases, que se diferencian por su estado de agregación, de energía o por su composición química, existen superficies interfaciales o de separación de fases. Las propiedades de los sistemas dispersos se determinan en función de la cantidad y tipo de fases y de sus interacciones (Tscheuschner, 2001).

1.2. -FUNDAMENTOS

Las características de la superficie o de la interfase guardan relación con la formación, propiedades físicas y estabilidad de las dispersiones alimenticias.

El límite entre un líquido y un gas suele denominarse como “superficie”, mientras que en otras combinaciones de fases, la unión se llama “interfase”.

Las moléculas de la superficie o de la interfase no están totalmente rodeadas por otras del mismo tipo y estado físico y en estas condiciones la fuerza de atracción reticular para cada molécula se dirige hacia el interior de la fase en que

se encuentra. La atracción interna tiende a reducir el número de moléculas de la superficie o interfase y, en consecuencia, se reduce al mínimo la superficie o área entre las fases. Las fuerzas que originan reducción de la superficie o del área entre las fases se denominan, respectivamente, tensión superficial y tensión de interfase.

Estas tensiones, γ , σ , se expresan en dinas por cm. (dinas/cm.), a temperatura, presión y concentración constantes (Fennema, 1985).

Las fuerzas más comúnmente observadas en la superficie de las emulsiones son las de: Van der Waals, electrostática doble-capa, polímero-inducido, hirofóbicas y fuerzas de hidratación. Las características de esas fuerzas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Fuerzas coloidales importantes para la estabilidad de una emulsión

TIPO DE FUERZA	CARÁCTER	ORIGEN	INFLUENCIADO POR
Van Der Waals	Atracción	Permanente y fluctuación de dipolos	Índice de refracción Constante di electrolítica
Electrostática	Repulsión	Carga de superficie	Poder iónico pH
Estérica	Repulsión	Adsorción de polímeros	Cobertura polimérica Solubilidad polimérica
Depleción	Atracción	No adsorción de polímeros	Peso molecular Polidispersabilidad del polímero
Poli electrolítica	Repulsión y/o atracción	Adsorción de poli electrolitos	Poder iónico Cobertura polimérica
Hidrofóbica	Atracción	Afinidad agua-agua	Propiedades como solvente/surfactante/hidrofobicidad
Hidratación	Repulsión	Deshidratación de gpos polares	Emulsificación grupos principales

(Larsson, 1997)

En el límite entre las fases, hay un exceso de energía libre que se expresa en términos de Joules por metro cuadrado (J/m^2). Una interfase fluida es deformable y la energía libre interfacial se manifiesta, en este caso, como una tensión interfacial bidimensional, que se expresa en Newtons por metro (N/m) (Fennema, 2000).

Las fuerzas no compensadas ejercidas por las moléculas o partículas en la superficie interfacial son denominadas energía libre interfacial (Figura1)

La clase e intensidad de las interacciones intermoleculares determinan el valor numérico de la energía interfacial libre específica (tensión interfacial).

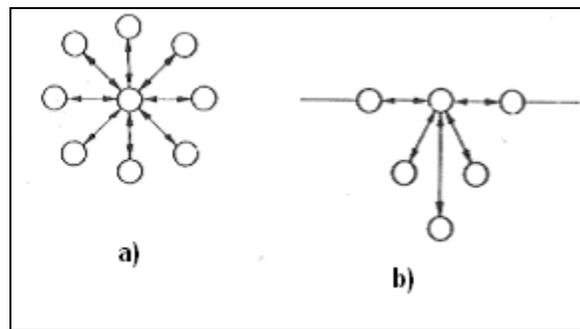


Figura 1. Esquema de las fuerzas de interacción entre moléculas. a) En el interior de la fase, b) en el límite de la fase (Tscheuschner, 2001).

La tensión interfacial actúa en la dirección de la interfase y se opone al crecimiento de ésta (Fennema, 2000).

Las atracciones intramoleculares, responsables de las tensiones superficiales y de interfase del líquido, incluyen a los enlaces puentes de hidrógeno y a las fuerzas de dispersión de London.

En los compuestos polares, tales como el agua, ambas fuerzas son importantes, mientras que en los líquidos no polares, como los triglicéridos, sólo son activas las fuerzas de dispersión de London (Fennema, 1985).

La energía de interacción en la interfase entre dos líquidos no miscibles entre sí (ej. Aceite y agua) es (ec. 1):

$$V = V_{AA} + V_{BB} - 2V_{AB} \dots \dots \dots (1)$$

Al incrementar la temperatura de una fase líquida aumenta la energía cinética de las moléculas y disminuyen las fuerzas de atracción entre ellas. Así pues, la tensión superficial de un líquido disminuye cuando aumenta la temperatura. Cuando ésta se incrementa, se alcanza finalmente un valor crítico, al cual la tensión superficial es teóricamente cero (Fennema, 1985).

Y la separación entre fases desaparece. Una ecuación empírica de RAMSAY y SHIELD expresa esta relación:

$$\sigma \left(\frac{MX}{\rho} \right)^{2/3} = K (T_k - T - 6) \dots \dots \dots (2)$$

Donde: M masa molecular relativa del líquido; X grado de asociación del líquido; ρ densidad del líquido; T_k temperatura crítica; σ tensión interfacial (Tscheuschner, 2001).

Uno de los métodos más usuales para medir las tensiones de superficie y de interfase de un líquido requiere el uso de un tensiómetro de Du Noüy que, en esencia, consiste en una balanza de torsión con un anillo de platino suspendido del brazo (Fennema, 1985).

1.3 TENSIONES SUPERFICIALES Y DE INTERFASE DE LÍQUIDOS Puros

La tensión superficial es una consecuencia del desequilibrio de fuerzas sobre las moléculas situadas en una superficie. Si se considera un sistema aire-agua, las moléculas de agua situadas en la interfase son muy diferentes a las situadas

dentro de la masa de la disolución, experimentando distintos efectos de las fuerzas intermoleculares. Las moléculas tienden a moverse hacia el interior de la masa acuosa, puesto que una molécula de agua en esta posición tiene una energía potencial menor que en la interfase. Esta fuerza que impulsa a la molécula de agua situada en la superficie a moverse hacia el interior se denomina tensión superficial (Wong, 1995).

El agua y los aceites triglicéridos comestibles, los alimentos líquidos más importantes, presentan para la tensión superficial valores marcadamente distintos, entre 0° y 80 °C (tabla 2).

Tabla 2. Influencia de la temperatura en la tensión superficial del agua y de los aceites vegetales

Temperatura (°C)	TENSION SUPERFICIAL (dinas/cm)			
	Agua	Aceite de algodón	Aceite de coco	Aceite de oliva
0	72.6	-	-	-
20	78.8	35.4	33.4	3.3
30	71.2	-	-	-
50	67.9	-	-	-
80	62.6	31.3	28.4	-
100	68.9	-	-	-
130	-	27.5	24.9	-

(Fennema, 1985)

La tensión de interfase entre el aceite comestible y el agua tiene gran importancia para la formación y estabilidad de muchas emulsiones alimenticias (Fennema, 1985).

2.-EMULSIONES

2.1. GENERALIDADES

Una emulsión en un sistema bifásico que consiste en dos líquidos inmiscibles en que uno de ellos se encuentra distribuido como glóbulos definidos en el interior de otro. La mayor parte de las emulsiones alimentarias son una mezcla de agua y aceite. En una emulsión de aceite en agua (O/W) se encuentran glóbulos de aceite dispersas en una fase acuosa. En una emulsión de agua en aceite (W/O) se encuentran glóbulos de agua en la fase oleica (Lewis, 1993).

En la mayoría de los alimentos, los diámetros de los glóbulos suelen tener un orden entre 0.1 y 100 μm (Dickinson & Stainsby, 1982).

Las emulsiones por su tamaño de partícula se dividen en:

Emulsiones groseras: 1- 5 μm

Ultra emulsiones: 10-50 nm, estables ante fenómenos de segregación (Tscheuschner, 2001).

La mayor parte de las emulsiones alimenticias son una mezcla de agua y aceite (Larsson, 1997).

Las emulsiones alimenticias pueden poseer, además de las dos fases líquidas, partículas sólidas (por ejemplo, fragmentos de proteínas coaguladas) y burbujas de gas (Fennema, 1985).

De forma parecida a las suspensiones, las emulsiones son inestables frente a la segregación y agregación.

La estabilización por medio de sustancias tensioactivas y sustancias sólidas dispersas tiene lugar por adsorción y mediante el descenso de la tensión interfacial figura 2, (Tscheuschner, 2001).

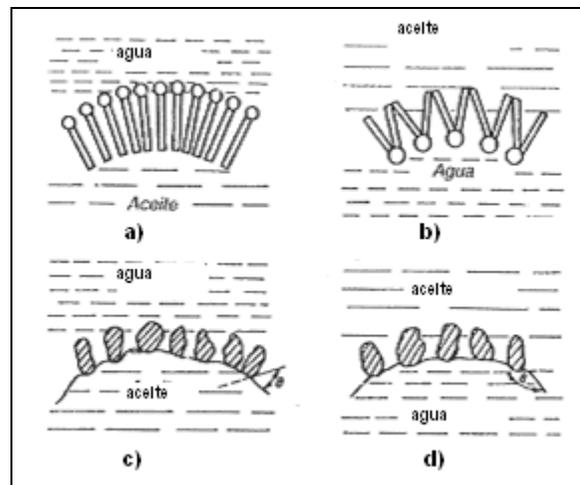


Figura 2. Estabilización de emulsiones

- a) y b) por medio de emulsionantes; c) y d) por medio de sustancias sólidas en dispersión fina, con la humectación preferente adoptada (Tscheuschner, 2001).

Características funcionales de las emulsiones alimenticias

La aceptación por el público de emulsiones alimenticias depende de características tales como aspecto (color, opacidad), textura (viscosidad, plasticidad, untuosidad) y gusto (Fennema, 1985).

Otros factores que señalan las ventajas de las emulsiones son:

- 1.- Permiten incorporar aromatizantes, colorantes o vitaminas como componentes de la fase oleosa dispersa en una emulsión O/A.
- 2.- Se consigue la opacidad de un fluido dispersado en la fase continua (glóbulos cuyo diámetro este comprendido entre 0.05 -1 μm).
- 3.- Se logra alto grado de plasticidad incrementando la concentración del líquido dispersado a aproximadamente a 60% o superior (ej. mayonesa).
- 4.- Es posible introducir el aceite en un sistema sin comunicar sensación oleosa (ej. mayonesa), (Fennema, 1985).

2.2. PROPIEDADES FISICOCUÍMICAS DE LAS EMULSIONES

1.-Tamaño de la partícula

Muchas de las propiedades más importantes de las emulsiones alimenticias, como la vida media, apariencia, textura y sabor vienen determinadas por el tamaño de las partículas que contienen (Dickinson y col., 1992).

♠ Distribución de los glóbulos según su tamaño

Los distintos tamaños que se pueden encontrar en una emulsión no suelen ser uniformes, por lo que en todos los casos en los que existe una distribución estadística amplia la emulsión se denomina “polidispersa”, en contra posición a emulsiones “monodispersas” que son aquellas que tienen un tamaño uniforme

de glóbulo. Una emulsión estable corresponde generalmente con una distribución de tamaños poco dispersa y con un máximo situado en diámetros pequeños (Mita y col., 1973; Dickinson, 1989).

La distribución, según el tamaño, de los glóbulos de la mayoría de las emulsiones alimenticias es gaussiana, es decir aquellas con amplia distribución de tamaño de partícula. El intervalo del tamaño de los glóbulos depende del tipo y de la concentración del emulsionante, del tratamiento mecánico como la molturación y la homogeneización coloidales, y del tiempo de almacenamiento.

♣ Determinación experimental del tamaño de glóbulo

Muy pocos de los glóbulos de una emulsión tienen un tamaño inferior a 0.25 µm de diámetro y las mayores de unos 100 µm se determina la distribución de los glóbulos según el tamaño midiendo los diámetros de 500 a 2000 glóbulos con el microscopio.

Otros métodos para determinar la distribución en función del tamaño incluyen la dispersión de la luz, la sedimentación por centrifugación o la flotación en un gradiente de densidades (Fennema, 1985).

Entre los diámetros medios más utilizados para describir los resultados de distribuciones de tamaño de partícula en sistemas coloidales podemos destacar el D(1,0), (Orr,1988).

$$D(1,0) = \sum \frac{d}{n} \text{ (Diámetro medio)} \dots\dots\dots(3)$$

Consiste en el valor de la longitud media y es la suma de todos los diámetros (d) dividida por el número de partículas (n). En términos matemáticos se conoce como D (1,0), porque el diámetro en la parte superior esta elevado a la potencial 1 y en la parte inferior a cero.

También existen otros dos tipos muy utilizados en la experimentación (D (4,3) y D (3,2)), sin embargo, cabe señalar que para el presente trabajo únicamente se hizo uso del D (1,0) dado la naturaleza de los datos obtenidos.

$$D(4,3) = \frac{\sum d^4}{\sum d^3} \text{ (Diámetro medio del momento volumétrico(4)}$$

$$D(3,2) = \frac{\sum d^3}{\sum d^2} \text{ (diámetro medio de Sauter) (5)}$$

El D (3,2) se suele utilizar en aplicaciones en las que la superficie activa o área es importante. Este diámetro es el más utilizado para el análisis de datos de distribuciones de tamaños de partículas en emulsiones alimentarias, utilizando el equipo adecuado (Orr, 1988)

La obtención de datos experimentales de tamaño de glóbulo es una tarea compleja debido a los tamaños pequeños y a la baja estabilidad a la que se encuentran normalmente las emulsiones ante una manipulación severa.

No obstante, nuevos avances en electrónica, informática...etc, han conducido al desarrollo de técnicas experimentales que permiten determinar los tamaños y distribución de tamaños con bastante exactitud.

Los más empleados en la actualidad son:

- ♣ Microscopía. El ojo humano no puede distinguir objetos menores de 100 μm (Aguilera & Stanley, 1990), por lo que es necesario valerse de técnicas microscópicas para poder observar objetos pequeños (Aguilera & Stanley, 1990). Existen diferentes técnicas que pueden proporcionar información sobre la estructura, dimensiones y organización de los componentes de las emulsiones alimentarias; microscopía óptica, microscopía (de láser confocal (CSLM), microscopía electrónica (de transmisión (TEM) y de barrido (SEM)) y microscopía atómica.

♠ Instrumentos que determinan cambios en la resistencia eléctrica. El número de partículas de un diámetro dado se determina suspendiendo la emulsión en un electrolito que la conduce a través de una apertura entre dos electrodos. La resistencia eléctrica entre éstos se modifica cuando la partícula atraviesa la apertura. Este cambio se convierte en una diferencia de potencial directamente proporcional al tamaño (Kinsman, 1969).

♠ Técnicas que basan su funcionamiento en el fenómeno de la dispersión de la luz láser (Dickinson & Stainsby, 1982). Esta técnica está comprendida para determinar tamaños de gota entre 0.1 y 1000 μm , por lo que permite caracterizar las gotas de la mayoría de las emulsiones.

2.- Propiedades ópticas

La opacidad de una emulsión viene determinada por la distribución de las partículas según el tamaño y la diferencia entre los índices de refracción de ambas fases. Una emulsión es transparente cuando son idénticos los índices de refracción de las fases o cuando los diámetros de las gotitas son de 0.05 μm o inferiores. En la tabla 3 se muestra el efecto del tamaño del glóbulo en el aspecto de la emulsión (Fennema, 1985).

Tabla 3. Efecto del tamaño de los glóbulos sobre el aspecto de la emulsión

TAMAÑO DE LA PARTICULA	ASPECTO
Macroglóbulos	Pueden diferenciarse dos fases
Mayores de 1 μm	Emulsión blanca lechosa
De 1 μm a 0.1 μm	Emulsión azul blanquecina
De 0.1 μm a 0.05 μm	Gris semitransparente
De 0.05 μm o menores	Transparente

(Fennema, 1985)

3- Reología de las emulsiones

La reología ha sido definida como la deformación de los objetos bajo la influencia de fuerzas aplicadas a ellos. Los sólidos, como los líquidos, pueden verse sometidos a un gran número de diferentes tipos de fuerzas. Los alimentos están sometidos a fuerzas durante su procesado, particularmente durante las operaciones de reducción de tamaño y proceso de prensado (Lewis, 1993).

La textura de los alimentos está relacionada con propiedades físicas y químicas percibidas por todos nuestros sentidos. De este modo el consumidor se da cuenta de todo un conjunto de características texturales que se derivan de distintas propiedades fisicoquímicas del alimento tales como el tamaño y formas generales, tamaño de partícula, contenido en grasa, estructura y propiedades mecánicas (Lewis, 1993).

Las propiedades reológicas de las emulsiones son importantes por varias razones (Sherman, 1968). Muchos de los atributos sensoriales de las emulsiones están directamente relacionados con sus propiedades reológicas (Dickinson & Stainsby, 1982).

La vida media de muchas emulsiones depende de las características reológicas de las fases que la componen, por ejemplo el cremado de los glóbulos de la fase oleosa en emulsiones aceite en agua dependen fuertemente de la viscosidad de la fase acuosa. Muchos de los atributos sensoriales de las emulsiones se relacionan directamente con las propiedades reológicas, por ejemplo, la cremosidad, espesura, suavidad, fluidez, untabilidad, fragilidad y dureza (McClements, 2004).

Las emulsiones alimenticias son materiales complejos y estructuralmente, pueden exhibir un amplio intervalo de comportamientos reológicos, desde fluidos con baja viscosidad (leche, bebidas de frutas), geles viscoelásticos (yogurt, postres) y sólidos (margarinas y mantequillas) (McClements, 2004).

Las emulsiones muy diluidas presentan flujo newtoniano con una relación lineal entre el esfuerzo de cizalla (σ) y la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$) (Sherman, 1968). En emulsiones más concentradas, los glóbulos interactúan entre sí para formar

agregados y, entonces, estos sistemas muestran comportamiento no newtoniano. Actúan muchos factores sobre el comportamiento reológico de las emulsiones alimenticias, incluidos los indicados a continuación:

Viscosidad de la fase continua: es el principal factor que rige el comportamiento reológico de una emulsión. La proporcionalidad directa entre la viscosidad de una fase continua y la aparente emulsión, está representada por la siguiente ecuación:

$$\eta = \eta_o X \dots\dots\dots (6)$$

Donde η es la viscosidad aparente de la emulsión; η_o , la viscosidad de la fase continua y X un factor que representa la suma de todas las restantes propiedades que influyen en la viscosidad de la emulsión (Fennema, 1985).

Viscosidad de la fase dispersa: sólo es significativa cuando se comporta como un líquido. Puesto que los glóbulos en una emulsión se comportan como esferas rígidas, su efecto sobre la viscosidad es habitualmente de poca importancia (Fennema, 1985).

Concentración de la fase dispersa: cuando crece el número de glóbulos y ocupan mayor volumen total, aumenta el contacto entre ellas y se produce aumento de la viscosidad. Únicamente el 74% del volumen total de una emulsión puede estar ocupado por la fase dispersa cuando los glóbulos son esféricos, de tamaño uniforme y no las ha deformado la presión. Si la fase dispersa supera el 74% de la emulsión, los glóbulos están deformados y la emulsión posee alto grado de plasticidad (Fennema, 1985).

Película en la interfase y emulsionantes: cuando se adiciona un emulsionante a una de las fases de la emulsión, se forma alrededor de cada glóbulo, mientras se emulsiona, una película en la interfase sólida de moléculas de emulsionante

orientadas. La naturaleza química y la concentración del emulsionante poseen decisiva influencia sobre la viscosidad aparente de la emulsión (Fennema, 1985).

Efecto electroviscoso: puede que los glóbulos de la emulsión tengan doble capa de cargas en su interfase. Estas cargas suelen aumentar por ionización, adsorción o contacto por fricción y son capaces de ejercer importante influencia sobre la viscosidad. Cuando se rompe una emulsión, se deforma la simetría de la doble capa eléctrica alrededor de cada glóbulo y se modifica la interacción entre los iones de la misma. Esto conduce a pérdida de energía e incremento de la viscosidad (Fennema, 1985).

2.3. FORMACIÓN DE EMULSIONES

El primer proceso de la formación de una emulsión es la ruptura de la masa de líquido para producir diminutos glóbulos; después es necesario que se estabilicen (Fennema, 1985).

Existen tres procesos que contribuyen a la ruptura de las emulsiones.

1.- *Sedimentación.* Debido a la diferencia de densidad entre las dos fases, los glóbulos tienden a ascender o descender dentro de la fase estacionaria, separándose selectivamente en la parte inferior o superior.

2.- *Desproporciónación.* Los glóbulos o burbujas tienden a disminuir su área superficial para minimizar la energía potencial de la interfase.

3.- *Floculación y coalescencia.* Cuando dos glóbulos de una emulsión, en ausencia de surfactantes, se aproximan una a otra, tienden a flocular y luego a coalescer. Este proceso depende del balance entre dos interacciones, las fuerzas de atracción de Van der Waals y la repulsión electrostática entre las dos glóbulos, como se verá más adelante (Wong, 1995).

La formación de una emulsión exige el aporte de energía para formar la dispersión de gotitas en la fase continua. Esta energía se representa por la siguiente ecuación; en la que γ es la tensión superficial y σ el área superficial.

$$\delta w = \gamma \delta \sigma \dots\dots\dots(7)$$

Obtener una emulsión fina implica reducir el tamaño de los glóbulos y por lo tanto aumentar el área superficial. En consecuencia es necesaria más energía para mantener una emulsión finamente dividida, lo que quiere decir que la formación de una emulsión es un proceso termodinámicamente desfavorable.

Sin embargo, si puede hacerse más pequeño el valor de γ , la energía necesaria para producir una emulsión dada también disminuye. Reducir la tensión superficial en la interfase mejora la emulsificación, lo que es precisamente uno de los papeles principales de los surfactantes, de los cuales hablaremos a detalle, más adelante (Wong, 1995).

El método más usual para preparar una emulsión es la dispersión mecánica de una fase líquida en otra. El paso siguiente en la tarea de emulsionar es la transformación de glóbulos grandes en glóbulos pequeños, diminutas por rotura, mediante la hoja de una batidora o por tratamiento de la emulsión grosera con un molino u homogeneizador coloidal (Fennema, 1985).

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

La formación y estabilización de emulsiones está favorecida por la adición de agentes emulsificantes. Estos agentes actúan reduciendo la tensión interfásica y por tanto la cantidad de trabajo necesaria para producir la emulsión. La emulsión se estabiliza posteriormente impidiendo la reagrupación de la fase dispersa (coalescencia) y asegurando que los glóbulos sean pequeños y de tamaño uniforme; la estabilidad resultará aumentada empleando una fase continua de elevada viscosidad, una carga uniforme similar y por la producción de fuertes películas mecánicas (Tscheuschner, 2001).

2.4. AGENTES ESTABILIZANTES

La industria alimentaria buscará siempre alargar el período de tiempo, en el que el alimento conserva las propiedades físicas, químicas, sensoriales y microbiológicas que lo hacen inocuo y agradable al gusto del consumidor (vida de anaquel). Esto incluye en el caso de las emulsiones, prolongar su estabilidad (Loera, 2006).

Los agentes estabilizadores para emulsiones se clasifican en, primero, emulsionantes orientados hacia la interfase aceite-agua; segundo, partículas finamente divididas absorbidas en la interfase y, tercero, hidrocoloides dispersables en agua que aumentan la viscosidad de la fase continua. Si se utilizan mezclas de esos tres tipos se consigue el máximo de emulsión (Loera, 2006).

2.5. ANFÍFILAS, SURFACTANTES Y TENSIOACTIVOS

Una sustancia anfífila tiene una doble afinidad, la cual se define desde el punto de vista físico-químico como una doble característica a la vez polar y apolar.

Ya que las sustancias anfífilas tienen una fuerte tendencia en migrar hacia una superficie o una interfase (adsorción), se han denominado también Surfactantes como contracción de las palabras inglesas "*surface-active substances*" (Salager & Fernández, 2004).

Son sustancias que disminuyen el valor de la tensión superficial y se adsorben en la interfase porque rebajan la energía libre total.

En disolución, tienden a formar micelas para disminuir la actividad repulsiva con el disolvente (Fennema, 2000). De esta fuerte afinidad para las superficies o interfases dependen muchas propiedades de los surfactantes.

La tensión superficial o interfacial, juega un papel determinante en cuanto a las propiedades, como por ejemplo la existencia y persistencia de emulsiones o de

espumas, y tales sustancias se califican de tensioactivas, lo que significa que cambian (reducen) la tensión.

Los surfactantes son susceptibles de compatibilizar el agua con los aceites, permitiendo la formación de estructuras que asocian agua y aceite en una sola fase, llamada solución micelar u otra según el caso. Esta acción compatibilizadora se llama solubilización o co-solubilización y tiene muchas aplicaciones presentes y futuras.

Según su acción o aplicación los anfífilos pueden llamarse también jabones, emulsionantes, desmulsionantes, espumantes, dispersantes, etc. Adicionalmente ciertos anfífilos pueden producir estructuras moleculares tales como microemulsiones, cristales líquidos, geles o membranas, (Salager & Fernández, 2004).

2.5.1. CLASIFICACIÓN DE LOS SURFACTANTES

Desde el punto de vista comercial los surfactantes se venden de acuerdo a su uso, es decir a su propiedad de mayor interés práctico en cuanto a la aplicación: jabón, detergente, emulsionante, bactericida, inhibidor de corrosión, dispersante, tensoactivo, humectante, etc (Salager & Fernández, 2004).

Surfactantes aniónicos

Son aquellos que en solución acuosa se disocian en un anión anfífilo y un catión, el cual es generalmente un metal alcalino o un amonio cuaternario. A este tipo pertenecen los surfactantes de mayor producción: detergentes como alquilbenceno sulfonatos, jabones o sales de ácidos carboxílicos grasos, espumantes como el lauril éster sulfato etc.

Surfactantes no iónicos

Por orden de importancia industrial vienen justo después de los aniónicos, y hoy en día su producción está aumentando. En solución acuosa no forman iones, ya que su parte hidrofílica está formado por grupos polares no ionizados como: alcohol, tiol, éter o éster. Una gran parte de estos surfactantes son alcoholes o

fenoles etoxilados (lavaplatos, shampoo). Ciertos derivados del sorbitol producen surfactantes no-tóxicos para uso farmacéutico o alimenticio.

Surfactantes catiónicos

Son aquellos que se disocian en un catión anfífilo y un anión generalmente de tipo halogenado. Estos surfactantes se usan solamente en aplicaciones especiales donde la carga positiva del anfífilo produce ventajas como en enjuagues o emulsiones asfálticas. En la mayoría de los casos corresponden a un grupo amonio cuaternario.

Otros tipos de surfactantes

La combinación en la misma molécula de un grupo con tendencia aniónica y de un grupo con tendencia catiónica produce un surfactante anfotérico, como por ejemplo los aminoácidos, las betainas o los fosfolípidos. Según el pH del medio una de las dos disociaciones prevalece. Este tipo de surfactante se usa sólo en casos particulares debido a su alto costo.

Recientemente se ha producido surfactantes poliméricos al injertar sobre una macromolécula un cierto número de grupos hidrofílicos, o al producir la policondensación de grupos con ciertas características polares y apolares (óxido de etileno, óxido de propileno) (Salager & Fernández, 2004).

También se distingue entre los surfactantes naturales (jabones, monoglicéridos y fosfolípidos) y sintéticos.

2.6. EMULSIONANTES ALIMENTARIOS

Los emulsionantes alimentarios son agentes tensoactivos que constan de mitades hidrófilas e hidrófobas. Estos se clasifican en iónicos (catiónicos, aniónicos y anfóteros) y no iónicos (Fennema, 1985).

Son ésteres incompletos de ácidos grasos y polialcoholes o ácidos orgánicos solubles en agua (Wong, 1995).

Los emulsificantes iónicos tienen la desventaja de que reaccionan con otras partículas cargadas positivamente, en particular con hidrógeno e iones metálicos, formando complejos que pueden tener tanto una solubilidad reducida como una menor capacidad emulsificante. Por este motivo se emplean más extensamente los emulsificantes no iónicos en los sistemas alimentarios (Lewis, 1993).

Algunas de las propiedades que se desea tengan los emulsionantes alimentarios son:

1. – Capacidad para disminuir la tensión de interfase por debajo de 10 dinas/cm. (Preferentemente 5 dinas/cm.) (Fennema, 1985).
2. – Capacidad de ser rápidamente adsorbidos en la interfase.
3. – Poseer el adecuado equilibrio de grupos hidrófilos e hidrófobos para que sea posible estabilizar el tipo de emulsión deseado.
4. – Capacidad para conceder gran potencial electrocinética a los glóbulos dispersos.
5. – Ser eficaces a bajas concentraciones.
6. – Resistencia a los cambios químicos.
7. – Ausencia de olor, color y toxicidad.
8. – Bajo precio.

Los emulsionantes alimentarios proceden de materiales biológicos o se sintetizan a partir de ácidos grasos purificados, triglicéridos y compuestos hidrófilos (Fennema, 1985).

2.6.1. SURFACTANTES ALIMENTARIOS

Monoglicéridos

Son los surfactantes utilizados más ampliamente en los alimentos. El producto obtenible comercialmente es una mezcla de mono- y diglicéridos, siendo los monoglicéridos los más activos como emulsionantes.

Esteres de alcoholes distintos del glicerol

El monoestearato de sorbitán es el producto de la reacción entre el sorbitol y el ácido graso, y se utiliza como agente de antiflorecimiento en los productos de pastelería que contienen sustitutos de la manteca de cacao y como emulsionante en bizcochos (Wong, 1995).

Estearil-2-lactilato de sodio (iónico): es un emulsionante predominantemente hidrófilo, apropiado para fabricar emulsiones aceite-agua muy estables capaces de resistir, por lo menos, seis procesos de congelación-descongelación.

Fosfolípidos (iónico). Son emulsionantes que se adicionan a las emulsiones en forma de lecitina de soja cruda o de yema de huevo (Fennema, 1985).

♣ Lecitina

El nombre comercial lecitina designa una mezcla de fosfolípidos incluyendo fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina (cefalina). La fosfatidilcolina estabiliza las emulsiones de aceite en agua, mientras que la fosfatidiletanolamina tiene propiedades emulsionantes en emulsiones de agua en aceite (Wong, 1995).

La lecitina es el único emulsionante totalmente natural de uso comercial. La forma más común de obtención de lecitina para aplicación industrial es como subproducto de la refinación del aceite, principalmente de soja que contiene aproximadamente un 2-3% de lecitina. También se puede obtener a partir del huevo, pero el precio es muy elevado.

Como característica general la lecitina es insoluble en agua, aunque se hidrata y forma emulsiones debido a su carácter bipolar (Cubero & Villalta, 2002).

En la tabla 4 se muestran las características generales de la lecitina:

Tabla 4. Características generales lecitina de soya

EMULSIONANTE	Nº E	ORIGEN	FUNCIONALIDAD	HLB	APLICACIÓN	LIMITACIONES
Lecitina	E-322	Fosfolípido: modificación del fosfátido natural obtenido de la refinación del aceite de soya	-Baja la viscosidad del chocolate -Mejora extensibilidad -Humectante -Antioxidante	3-4 (10-12)	Chocolate Panadería, pastelería, preparados en polvo (cacao)	Propiedades emulsionantes limitadas Modificaciones de la molécula

(Cubero & Villalta, 2002).

Proteínas (iónico). Son compuestos polifónicos con propiedades tensoactivas y algunas pueden ayudar a la formación y estabilización de emulsiones aceite-agua.

2.7. FENÓMENOS DE INESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES

El término emulsión estable se refiere a la habilidad de la emulsión para resistir cambios en sus propiedades con respecto al tiempo: la emulsión más estable presenta cambios en sus propiedades más lentamente. Una emulsión es inestable a diferentes tipos de procesos físicos y químicos (Mc Clements, 1999).

Los cambios de estabilidad de las emulsiones alimenticias pueden desarrollarse a través de los procesos de descremado, floculación y coalescencia.

El fenómeno del descremado conlleva la flotación o sedimentación de los glóbulos emulsionados y dispersos finalmente, hay el peligro de que el sistema se transforme en dos capas de emulsión, una más rica y otra más pobre en la fase dispersa que en la emulsión inicial. La velocidad de descremado depende de la diferencia de densidad entre la fase dispersa y la fase continua, el tamaño del glóbulo y la viscosidad de la fase continua.

La velocidad, V , de separación del glóbulo se expresa mediante la ecuación de Stokes (ec. 8):

$$V = \frac{2r^2g(d_1-d_2)}{9\eta} \dots\dots\dots (8)$$

Donde r es el radio del glóbulo; g, la aceleración debido a la gravedad; η, la viscosidad de la fase continua; y d1 y d2 son las densidades de las dos fases.

La floculación es la aglomeración de glóbulos para formar grumos indefinidos e irregulares, ya que al producirse aquella aumenta el tamaño del glóbulo, con lo que resulta favorecida la velocidad del descremado. Esta definida como el estado en el cual las partículas se encuentran cercanas durante un tiempo mayor al que les correspondería en ausencia de interacciones atractivas entre ellas (atracciones coloidales) (Fennema, 1996). Por lo general, los glóbulos reunidas pueden dispersarse por mezcla o agitación hasta disminuir las débiles fuerzas (de Van der Waals) entre los glóbulos responsables de la floculación (Fennema, 1985). La floculación no implica la ruptura de la película interfacial que rodea a las partículas de la fase dispersa; sin embargo, los glóbulos de aceite cuando han floculado se mueven como un conjunto en vez de cómo individuos (Fennema, 1996).

La coalescencia, es de los tipos de inestabilidad, la más indeseable, aunque las otras también lo son, sin embargo en algunos alimentos se pudiera permitir, en cierto grado, alguna inestabilidad reversible que se eliminara agitando el envase (Loera, 2006). La coalescencia, es la unión irreversible de diminutos glóbulos para dar otras mayores, ocurre después de la floculación si se ha roto la película de interfase estabilizadora de agente emulsionante. La coalescencia es un proceso termodinámicamente espontáneo y conduce finalmente a la separación de las dos fases en dos capas distintas. La velocidad de la coalescencia viene determinada por la resistencia a la ruptura de la capa de interfase de emulsionante y por la distorsión que puede suceder durante la agitación o congelación de la emulsión (Fennema, 1985).

En este punto vale la pena resaltar que aunque floculación, cremado y coalescencia son fenómenos distintos, se encuentran relacionados: la floculación acrecienta el cremado, y si esto ocurre, el cremado a su vez aumenta la tasa de floculación. Ambas, tanto floculación como cremado favorecen a que ocurra la coalescencia (Fennema, 1996).

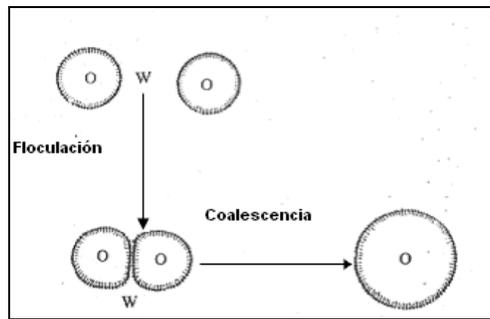


Figura 3. La floculación (izquierda) las dos gotas están intactas pero se agrega una a la otra. En la coalescencia la película de líquido entre ellas se revienta y se forma una gran gota (Larsson, 1997).

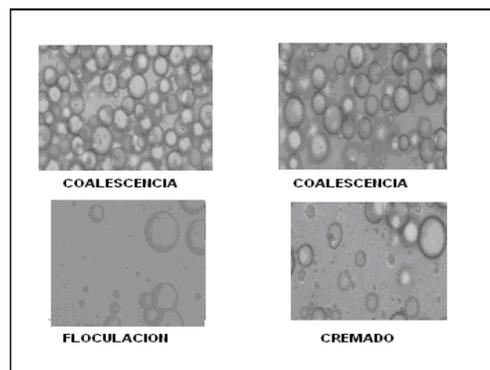


Figura 4. Inestabilidad dominante en diferente tamaño y concentración (Larsson, 1997).

Para estabilizar las emulsiones frente al descremado, floculación y coalescencia se introduce una película resistente de interfase alrededor de cada glóbulo, se añaden cargas eléctricas a las superficies de las mismas y se incrementa la viscosidad de la fase continua (Fennema, 1985).

2.7.1. PARTÍCULAS DE INTERFASE

La resistencia, firmeza y elasticidad de las películas de interfase alrededor de los glóbulos afectan grandemente a la estabilidad de una emulsión. Los emulsionantes de bajo peso molecular son adsorbidos en la interfase en forma de películas monomoleculares fuertemente compactas, cuando su concentración es superior a la concentración crítica de las micelas (CMC), puesto que sus moléculas se encuentran dispersas como monómeros. La combinación de dos emulsionantes, uno lipo y otro hidrosoluble, a menudo es más eficaz para la estabilización que un emulsionante único (Wong, 1995).

Algunas películas muestran elasticidad de superficie cuando se ejerce una fuerza externa sobre los glóbulos. En las emulsiones que contienen emulsionantes de bajo peso molecular, una expansión localizada de la película puede conducir a incremento de la tensión de interfase, si se retrasa la adsorción de otras moléculas de emulsionante desde la masa.

Por el contrario, las emulsiones alimenticias con emulsionantes macromoleculares pueden tener como película de interfase un gel polimérico entremezclado, tridimensional y será posible contrarrestar cualquier fuerza que tienda a adelgazar esta película con una gran fuerza osmótica y la naturaleza elástica de las macromoléculas. Se ha relacionado la ruptura de elasticidad de las películas proteínicas con la estabilidad frente a la coalescencia (Wong, 1995).

2.7.2. DOBLE CAPA ELÉCTRICA

En una emulsión de aceite en agua, sin emulsionantes, la emulsión no es estable a pesar de estar presente una doble capa eléctrica. La energía de repulsión es demasiado pequeña y resulta sobrepasada por la de atracción, con

lo que los glóbulos de aceite tienden a flocular y coalescer. Cuando se añade un emulsionante iónico al sistema, se acumula en la interfase, causando un aumento en el potencial de repulsión. La figura 5 muestra esquemáticamente el efecto de un emulsionante aniónico sobre la doble capa eléctrica (Wong, 1995).

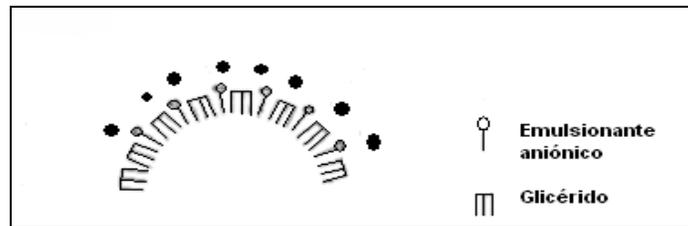


Figura 5. Representación esquemática de la doble capa (Wong, 1995).

2.7.3. ADSORCIÓN EN LA INTERFASE

En una emulsión, las moléculas de emulsionante se orientan en la interfase, y su adsorción reduce la tensión superficial. (Figura 6).

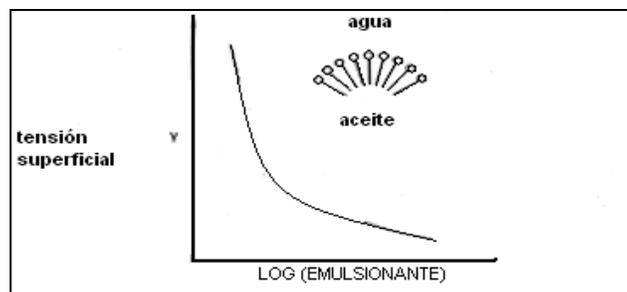


Figura 6. Reducción de la tensión superficial mediante un emulsionante (Wong, 1995).

Las moléculas adsorbidas forman capas interfaciales de diferentes tipos, dependiendo de las propiedades de lipolicidad e hidrofobicidad del emulsionante. En una emulsión de aceite en agua, si el emulsionante utilizado es demasiado lipófilo, algunas moléculas tienden a repartirse entre la interfase y la fase de aceite, dando como resultado una película débil y discontinua. Los

emulsionantes excesivamente hidrófilos tienden a formar micelas en la fase acuosa. Las concentraciones elevadas también favorecen la formación de micelas, y, en muchos casos, de películas multicapas (figura 7).

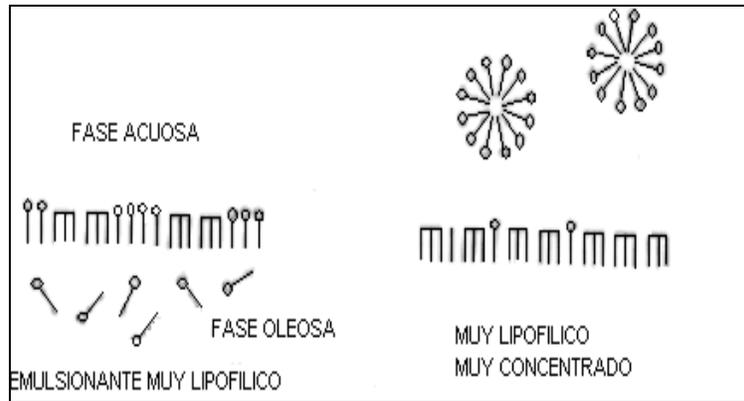


Figura 7. Orientación de las moléculas de un emulsionante en la interfase (Wong, 1995).

La estabilidad óptima se obtiene cuando las moléculas del emulsionante forman una capa densamente empaquetada en la interfase, con los grupos polares dirigidos hacia la fase acuosa y la cadena hidrocarbonada interaccionando con la fase grasa. Esta película interfacial de moléculas de emulsionante muy próximas proporcionan una barrera estérica contra la coalescencia (Wong, 1995).

2.7.4. SEPARACIÓN GRAVITACIONAL

En general los glóbulos de una emulsión tienen diferente densidad a la del líquido que los rodea y actúa sobre ellos una fuerza gravitacional. Si los glóbulos tienen menor densidad que el líquido que los rodea, estos tenderán a moverse hacia arriba, lo cual se refiere a un cremado. Contrariamente, si tienen una mayor densidad al líquido que los rodea, ellos tenderán a moverse hacia abajo, lo cual se refiere a una sedimentación. Los glóbulos en una emulsión aceite en agua tienden al cremado y las emulsiones agua en aceite tienden a la sedimentación (Mc Clements, 1999). Algunos atributos de textura de un producto son afectados por la separación gravitacional ya que se forma una capa espesa,

rica en glóbulos y una capa menos viscosa pobre en glóbulos.

2.7.5. MÉTODOS DE CONTROL DE SEPARACIÓN GRAVITACIONAL

El control de la fuerza de separación gravitacional es el control en la diferencia de densidades entre los glóbulos y el líquido que está alrededor. Es posible prevenir la separación gravitacional por igualación de las densidades de las fases oleosa y acuosa. La igualación de densidades puede lograrse con una mezcla del aceite a utilizar y aceites vegetales bromados (los cuales poseen una mayor densidad que el agua) (Mc Clements, 1999).

En algunas emulsiones es posible controlar la separación gravitacional por variación en el contenido de sólidos grasos de la fase oleosa, un glóbulo graso con un contenido de sólidos grasos cerca del 30%, tiene una densidad similar a la del agua y será estable a la separación gravitacional. El contenido de sólidos grasos puede ser controlado por alteración en la composición de la fase oleosa o pro el control de temperatura. En la práctica, este procedimiento no es apropiado para muchas emulsiones alimenticias ya que los glóbulos se cristalizan parcialmente o son susceptibles a la coalescencia parcial, lo cual reduce severamente la estabilidad (Mc Clements, 1999).

♣ Reducción del tamaño del glóbulo

La ley de Stokes indica que la velocidad a la cual los glóbulos se mueven es proporcional a su radio. La estabilidad de una emulsión a la separación gravitacional puede lograrse con la reducción del tamaño de los glóbulos que contiene. En la práctica, la homogeneización lleva a la formación de emulsiones con glóbulos de tamaños diferentes, cuando se tiene un cierto porcentaje de glóbulos con un radio superior al radio crítico, provocará que el sistema sea susceptible a la separación gravitacional (Mc Clements, 1999).

♣ Modificación de la fase continúa

Al incrementar la viscosidad del líquido que rodea un glóbulo decrece la velocidad a la cual se mueven estos. La estabilidad de una emulsión a la separación gravitacional mejora con el incremento de la viscosidad de la fase continua (por adición de agentes espesantes). La separación gravitacional puede ser completamente retardada si la fase contiene una red tridimensional de las moléculas agregadas o partículas, las cuales atrapan a los glóbulos y previenen su movimiento.

Así, los glóbulos en emulsiones aceite en agua pueden estar completamente estabilizados contra el cremado, usando biopolímeros los cuales forman un gel en la fase acuosa, los glóbulos en emulsiones agua en aceite pueden ser estabilizados contra la sedimentación formando una red de lípidos cristalinos agregados en la fase oleosa.

♣ Incremento en la concentración de glóbulos

La separación gravitacional puede ser retardada incrementando la concentración de glóbulos. Con una fracción volumen de la fase dispersada lo suficientemente grande, se previene el movimiento de los glóbulos ya que son empaquetados muy estrechamente (Mc Clements, 1999).

♣ Modificación del grado de floculación de los glóbulos

En una emulsión diluida, la floculación causa separación gravitacional por el incremento en el tamaño de las partículas. Para mejorar la estabilidad de un sistema así, es importante asegurar que los glóbulos prevengan la floculación. En emulsiones concentradas la floculación se reduce por que los glóbulos de un lado a otro. La fracción crítica de volumen de la fase dispersada la cual, previene la separación depende de la organización estructural de los glóbulos dentro de los flóculos. La estabilidad de las emulsiones concentradas puede por lo tanto mejorar alterando la naturaleza de la interacción coloidal entre los glóbulos y por lo tanto la estructura de los flóculos (Mc Clements, 1999).

3.- QUITOSÁN

3.1 GENERALIDADES DEL QUITOSÁN

La quitina es uno de los amino polisacáridos más abundantes en la naturaleza y se estima que su producción anual es mayor que la de la celulosa (Majeti, 2000). La quitina es un polímero, es decir, una molécula de gran tamaño constituida esencialmente de azúcares (es un polisacárido) y oxígeno. Sus moléculas son fibrosas, y logran un material de gran resistencia química y mecánica.

La quitina es un polímero de N-acetilglucosamina y residuos de glucosamina que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza. Es un polisacárido no tóxico y biodegradable. Es un producto ligero, en polvo o copos de color blanco o amarillento, que puede ser procesado en múltiples derivados (Sandford, 1989).

Esta muy asociada con sales inorgánicas, proteínas, pigmentos y lípidos, por lo que el proceso convencional de extracción por métodos químicos incluye una desproteización con álcalis seguido de una desmineralización con ácidos diluidos y por ultimo se eliminan los lípidos presentes mediante el empleo de solventes orgánicos, aunque este último se considera opcional (Matsumoto et al, 1996).

Un polisacárido es un polímero formado por moléculas más pequeñas del azúcar encadenadas juntas, de manera que su estructura química es muy parecida a la celulosa, salvo que el grupo oxidrilo de la celulosa es sustituido por un grupo acetilamina en la quitina. Esto permite un incremento de los enlaces de hidrógeno con los polímeros adyacentes, dándole al material una mayor resistencia.

La quitina desacetilada se conoce como quitosán polímero constituido fundamentalmente por unidades 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y 2 amino-2-desoxi-D-glucosa unidas mediante enlace β -(1->4).

El quitosán se comporta como un polieléctrolito lineal a pH alto, posee una alta densidad de cargas, posee capacidad de quelar iones metálicos y de adherirse fácilmente a superficies cargadas negativamente. Este compuesto natural no es

tóxico y es biodegradable, sus cargas positivas le confieren propiedades biológicas y fisiológicas únicas (Sandford, 1989).

La figura 8 muestra las estructuras moleculares de la quitina y el quitosán:

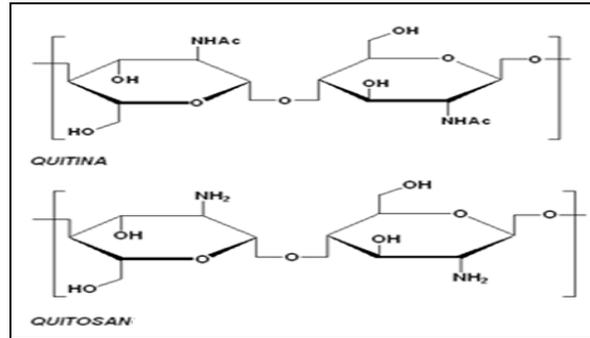


Figura 8.- Estructura quitina y quitosán (Sandford, 1989).

Propiedades tales como su biocompatibilidad, biodegradabilidad y no-toxicidad son las que hace que el quitosán tenga gran potencial para diferentes usos. Una muestra del interés que suscita este polímero es la atención que se le ha prestado en los últimos años en diversos campos como la agricultura, alimentación, medicina, farmacología y biotecnología. La quitina y el quitosán tienen un gran valor comercial debido a que poseen un alto grado de nitrógeno (6.89%), en comparación con la celulosa que posee sólo 1.25% (Majeti & Ravi, 2000).

3.1.1. PROPIEDADES FÍSICAS

La quitina y el quitosán se comercializan como polvos sin blanquear, hojuelas, fibras y películas. Las películas pueden ser producidas acetilando el quitosán, las cuales son completamente transparentes y de alta fuerza mecánica y flexibilidad. Son estables a la temperatura y en ambientes de baja a media humedad relativa. Bajo estas condiciones, su humedad residual va de 2 a 10% (Charalambous & Doxastakis, 1989).

Solubilidad

El quitosán es completamente soluble en soluciones diluidas de ácido clorhídrico, nítrico u orgánico. El ácido acético es un buen solvente y no degrada el sistema; sin embargo, la solubilidad del quitosán depende del grado de acetilación del polímero. A mayor grado, la solubilidad es menor. Las soluciones acuosas de ácido acético (5%) y metanol se usan para producir soluciones de quitosán que eventualmente gelifican y con la dilución por medio de estos ácidos orgánicos, el quitosán produce soluciones ligeramente no newtonianas sin límite de solubilidad. El quitosán es insoluble a pH mayor de 5.5 (Charalambous& Doxastakis, 1989).

3.1.2. PROPIEDADES FUNCIONALES

Agente espesante

La viscosidad de las disoluciones de quitina y quitosán está en función de varios parámetros, como el tipo de solvente, pH, y presencia de ciertas sales en la solución (Charalambous& Doxastakis, 1989).

La naturaleza del solvente determina el número y grado de interacción entre él y el soluto y finalmente tiene un efecto en la viscosidad de la solución. Con solventes compatibles, el efecto es una solución menos viscosa a temperatura constante, pH, y concentración de soluto (Charalambous& Doxastakis, 1989).

La viscosidad de las dispersiones de quitina y quitosán es directamente proporcional a la concentración del polímero disuelto. La relación de esta concentración es prácticamente lineal. Generalmente, las soluciones de quitina y quitosán experimentan una disminución en sus viscosidades con el aumento de temperatura (Charalambous& Doxastakis, 1989).

3.2. –APLICACIONES DEL QUITOSÁN

El quitosán es un producto biológico con características catiónicas de carga eléctrica positiva, lo cual lo distingue con gran interés en la industria, debido a que la mayoría de los polisacáridos son neutros o cargados negativamente. Cuando se logra controlar el peso molecular, el grado de desacetilación y la pureza, es posible producir una amplia variedad de quitosán y sus derivados, los cuales se pueden utilizar para propósitos industriales, dietéticos, cosméticos y biomédicos (Sandford, 1989).

Las aplicaciones de la quitina y quitosán son muy amplias, existiendo sectores en los que su uso es habitual y conocido, y otros en los que constituye actualmente una interesante vía de investigación:

1- Tratamiento de aguas

Quitina-Quitosán y sus derivados actúan como quelantes de metales de transición y contaminantes ambientales como los bifenilos policlorados (PCB), como removedores de iones metálicos (Hg, Cd, Pb, Ag y Ni), como floculantes coagulantes y precipitantes de proteínas, aminoácidos, tintes, colorantes, algas, aceites, metales radioactivos (Uranio y Cobalto), partículas en suspensión y pesticidas. Por ello se emplean en el tratamiento de piscinas y estanques, efluentes de industrias de alimentación y residuos alimenticios (reduciendo la demanda química de oxígeno (DQO) hasta en un 80%), aguas residuales (refinerías de petróleo, plantas procesadoras de pescado, cerveceras, mataderos, etc.) y en el tratamiento de agua bebibible.

2- Industria alimentaria

Una de las principales propiedades del quitosán es su acción antimicrobiana frente a diversos microorganismos, propiedad que ha sido ampliamente descrita en la literatura científica, sobre todo en estudios basados en experimentos in vitro frente a microorganismos individuales (Benjakul et, al, 2000).

El mecanismo exacto de la acción antimicrobiana del quitosán y sus derivados es todavía desconocido si bien se han propuesto diferentes hipótesis. Todas estas teorías están relacionadas con su naturaleza catiónica que le permite reaccionar con moléculas y superficies cargadas negativamente como las paredes celulares microbianas.

Aunque su actividad antimicrobiana depende de diversos factores que pueden limitar su eficacia, los estudios demuestran que se puede considerar un compuesto interesante para su empleo como conservador en alimentos, con un potencial considerable para mejorar la calidad y seguridad de los mismos (Shahidi, et. Al, 2001).

♣ Como aditivos en los alimentos: Por sus propiedades como espesantes, gelificantes y emulsificantes se utilizan como mejoradores de la textura, ya que fijan agua y grasa (ej. quitina cristalina). También se emplean como estabilizantes del color, como agente que previene la precipitación en el vinagre, como aditivos con características nutricionales (fibra dietética, ingrediente funcional), en galletas y pan (previene la disminución del volumen de la masa), como aditivo para alimentación animal (hasta el 10% en alimento para pollos) aumenta el crecimiento, el vigor y el incremento de bifidobacterias en el buche que bloquean el desarrollo de otros microorganismos y generan lactasa. También son utilizadas en harinas de marisco (shellfish), que contienen proteína quitina y astaxantina y que se usan en alimentación del salmón.

♣ Envoltura y recubrimiento protector de alimentos: Las películas con quitosán son resistentes, duraderos y flexibles con propiedades mecánicas similares a polímeros comerciales de fuerzas medias. Su uso en películas comestibles puede favorecer la protección de la vida salvaje, ya que aunque sean ingeridos por algunos animales (el 30% de los peces marinos tienen plásticos en su estómago) pueden ser fácilmente degradados por enzimas existentes en el estómago de algunos de estos. También se emplean junto con otros elementos en recubrimientos para frutas (N, O-carboximetilquitina) retrasando el

envejecimiento, disminuyendo la oxidación, las pérdidas por transpiración y protegiendo frente al ataque de hongos.

Su acción como protector de alimentos frente a microorganismos (concentraciones \geq del 0,02% protegen frente a E. Coli) como bacterias, levaduras y hongos le confiere su capacidad biocida más importante

Es interesante para la obtención de alimentos mínimamente procesados y para retrasar la aparición del mal sabor en la carne. En concreto, la acción antimicrobiana la realizan privando a los microorganismos de iones vitales (Cu), bloqueando o destruyendo la membrana, filtrando constituyentes intracelulares, y formando complejos polielectrolíticos con polímeros ácidos y células de superficie.

♣ En procesos industriales: En la recuperación de proteína de desechos de ovoproductos para alimentación animal, como agente purificador del azúcar, clarificador en industrias de bebida (agua, vino, jugo de manzana y zanahoria) sin afectar el color (0,7g/l), como finalizador en zumos (quitosano ácido soluble y soluble en agua), coagulación del queso (2-2,5% pH 6, remueve el 90% de los sólidos), retardador del pardeamiento enzimático de jugos de manzana y pera (Benjakul et, al, 2000; Shahidi, et. Al, 2001).

La aplicación del quitosán abarca muchas otras industrias como: medicina, Biotecnología, agricultura, industria cosmética, industria papelera, tecnologías de membrana, alimentos nutraceúticos, industria textil, entre otras (Sandford, 1989).

3.3. ASPECTOS ECONÓMICOS

La producción de la quitina y el quitosán esta basada en su obtención de los caparazones de crustáceos, en las industrias de varias regiones de Estados Unidos, Japón y otros países dedicados a la pesca.

Su producción se obtiene de caparazones de la industria alimentaria, lo que lo hace un proceso económico. Además los caparazones contienen considerables

cantidades de astaxantina y carotenoides que pueden comercializarse como aditivos.

La quitina y el quitosán tienen un amplio rango de aplicaciones, por ejemplo la solución de problemas medioambientales y de la ingeniería biomédica. Como ya se comentó con anterioridad (Majeti & Ravi, 2000).

3.4. PROPIEDADES DEL QUITOSÁN COMO EMULSIFICANTE

Muchas son las propiedades estudiadas del quitosán, entre ellas: su utilización como espesante, gelificante y emulsificante. Es de especial interés su aplicación como emulsificante, es por ello que muchos son ya los investigadores dedicados al estudio de esta propiedad del quitosán.

Schulz y colaboradores, realizaron un trabajo acerca de las propiedades emulsificantes del quitosán, en el que se estudiaron propiedades como: actividad interfase aire/solución, conductividad eléctrica y HLB (es decir, el balance del tamaño y fuerza de los grupos hidrofílicos y lipofílicos que componen la molécula del emulsificante), además de las interacciones entre el quitosán y SDS (dodecil sulfato de sodio, por sus siglas en inglés); para concluir que el quitosán en solución presenta un bajo grado de ionización equivalente a una baja conductividad y que la interfase aire/solución es inactiva, pero puede adsorberse en una interfase aceite/agua lo que provee estabilidad mecánica y electrostática de los glóbulos, fue probado que el quitosán puede utilizarse para emulsificar y producir emulsiones múltiples estables w/o/w (Schulz, 1998).

En el trabajo de Del Blanco y colaboradores acerca de la influencia del grado de desacetilación en las propiedades emulsificantes del quitosán, se estudiaron las funciones del quitosán con diferentes grados de desacetilación en una emulsión polidispersa agua/aceite/agua y con grados de desacetilación para el quitosán de entre 73% y 95%. A la emulsión obtenida se le determinó el tamaño y distribución de glóbulo, conductividad y viscosidad de la emulsión, concluyendo

que el grado de desacetilación no es determinante en las propiedades de emulsificación del quitosán, pero con un quitosán con alto grado de desacetilación se obtendrá una capacidad emulsificante más efectiva, el grado de desacetilación recomendado para una emulsión de aceite de girasol y quitosán está entre 80 y 89% con dos valores óptimos 81 y 88%; cabe señalar que para otros tipos de aceites se requerirá de diferentes grados de desacetilación para la obtención de una emulsión óptima (Del Blanco y col...1999).

En el trabajo de Rodríguez y colaboradores, se estudió la capacidad de emulsificación del quitosán. Se indica que el quitosán produce emulsiones polidispersas agua/aceite/agua muy estables y se concluye que a un grado de desacetilación alto y bajo se presenta una distribución unimodal del tamaño del glóbulo y que está independiente de la viscosidad de la solución de quitosán y de la viscosidad de la emulsión, y que la estabilidad de la emulsión es proporcional a la concentración del quitosán (Rodríguez y col...2002).

Saehun Mun y colaboradores en un trabajo más reciente sobre el efecto del peso molecular y el grado de desacetilación en la formación de emulsiones aceite/agua estabilizadas por membranas de quitosán-surfactante, estudiaron la influencia de las características poli electrolíticas (peso molecular y carga de densidad) en la estabilización de emulsiones aceite-agua. Utilizaron quitosán con diferentes pesos moleculares que fueron 15, 145 y 200 kDa y diferente grado de desacetilación de entre 40, 77 y 92% y como surfactante utilizaron tween 20 y SDS. En este trabajo concluyeron que el peso molecular del quitosán no ejerce una gran influencia sobre la carga de los glóbulos de quitosán-SDS.

La carga eléctrica de los glóbulos cubiertos con quitosán-SDS depende del grado de desacetilación del quitosán, con la disminución del grado de desacetilación disminuye el potencial Z (Saehun, 2005).

4.- EVALUACIÓN FÍSICA DE LAS EMULSIONES

4.1. *MICROSCOPIA OPTICA*

4.1.1. El microscopio

La microscopía de los alimentos es una técnica valiosa y agradable si se dispone de un buen microscopio correctamente ajustado e iluminado. Se recomienda utilizar un microscopio binocular con objetivos de 40x, 10x y 20x y oculares de gran campo de 10x. Es conveniente disponer de un objetivo de 40x para trabajar con emulsiones (Flint, 1996).

Es muy importante contar con una buena iluminación. Todas las necesidades se ven plenamente satisfechas si el microscopio incorpora una fuente de iluminación variable; idealmente, una lámpara halógena de cuarzo de 100 vatios. Esta fuente de luz permite alojar permanentemente un polarizador, en forma de disco de material Polaroid, justo debajo de la cabeza del binocular para que actúe como analizador (Flint, 1996).

La eficacia de cualquier microscopio está determinada por su sistema de iluminación (Flint, 1996).

4.1.2. La grasa en los alimentos

La grasa desempeña un importante papel en la microestructura de algunos alimentos procesados. Aunque las grasas neutras no tienen aroma propio, su presencia y la forma en que están dispersadas afecta al gusto y a la sensación en la boca que produce el alimento que las contiene. Esto se debe a que las propiedades de flujo del alimento en la boca (extensibilidad, recubrimiento de la lengua, viscosidad y la sensación al tragar) dependen, en gran medida de la fracción grasa (Flint, 1996).

El aceite de cártamo se obtiene de un cardo, originario de la India, que crece en suelos poco fértiles. Es una planta, de la familia de los cardos, originaria de la India, y que hoy su cultivo está extendido por todo el mundo.

Es una planta muy interesante a la hora de cultivar ya que se adapta a suelos poco fértiles, a diferentes climas y necesita poco agua. El aceite de cártamo se extrae de las semillas de la planta y debe ser extraído en frío y de primera presión (sin refinar) para que mantenga sus extraordinarias propiedades.

La riqueza en ácido graso oléico lo hace conveniente en casos de colesterol, arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares, artritis y reumatismo.

Información nutricional del aceite de cártamo

Las semillas producen una gran cantidad de aceite (un 30 - 35 %) del cual un 70% es ácido linoléico y un 20% es ácido oléico. El aceite de cártamo es quizá el aceite con mayor cantidad en ácidos grasos esenciales.

4.2. DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD DE LA EMULSIÓN

La estabilidad de una emulsión es evidenciada por la retención de la apariencia original, viscosidad y olor bajo condiciones de distribución y de vida media.

La pobre estabilidad, salvo la falta de color y estabilidad de olor, generalmente es causada por la unión de las partículas dispersadas (Mc clements, 1999).

La inestabilidad de una emulsión puede ser física o química; la inestabilidad física da como resultado una alteración en la distribución espacial o estructural de las moléculas, la inestabilidad química produce una alteración en la estructura química de las moléculas. Ejemplos de inestabilidad física son cremado, sedimentación, floculación, coalescencia, coalescencia parcial, inversión de fase y ejemplos de inestabilidad química son la oxidación e hidrólisis.

El cremado y la sedimentación son formas de separación gravitacional (Mc clements, 1999).

♣ Centrifugación y cálculo del % de aceite separado.

Esta técnica mide la resistencia de una emulsión a la coalescencia ante una fuerza centrífuga mediante la medición del volumen de la fase de aceite que se separa en relación con el volumen que permanece de la crema (Cabra, 2002).

5.- EVALUACIÓN REOLÓGICA DE LAS EMULSIONES

Viscosidad

La viscosidad, cualitativamente representa la resistencia al flujo de un material; cuantitativamente se define como el cociente entre el esfuerzo de cizallamiento y la velocidad de cizallamiento en flujo estacionario.

Viscosidad aparente, razón entre un esfuerzo de cizallamiento puntual y la velocidad de cizallamiento correspondiente cuando la relación entre ambos es lineal (Alvarado, 2001).

♣ Instrumentos y equipos

Una amplia variedad de instrumentos están disponibles para medir la viscosidad. El reómetro es un instrumento que mide tanto la historia del esfuerzo como la deformación de un material del cual no se conoce su relación constitutiva; en consecuencia el viscosímetro es un caso especial de reómetro, que mide únicamente la función de cizallamiento estacionario de la viscosidad.

Los equipos más simples y económicos para medir la viscosidad son los viscosímetros de tubo capilar.

Una modificación bastante utilizada de viscosímetros de tubo capilar, es el instrumento de nivel constante de Ubbelohde, en especial para determinar la velocidad intrínseca de soluciones de polímeros (Alvarado, 2001).

5.1 TEORÍA DE LA REOLOGÍA DE LOS FLUIDOS

♠ Flujo newtoniano

El comportamiento de flujo de algunas emulsiones muy diluidas puede ser caracterizado por un solo parámetro, la viscosidad Newtoniana. En donde existe una relación lineal entre el esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla.

Solo unas cuantas emulsiones alimenticias corresponden a este comportamiento pues la mayoría poseen un comportamiento no-newtoniano (Sherman, 1968).

Estos fluidos cumplen la denominada ley de Newton de la viscosidad:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \dots\dots\dots (9)$$

Donde:

η , es una propiedad reológica del material denominada viscosidad dinámica o newtoniana, que solo depende de la naturaleza del material y de las condiciones de presión y temperatura (Bengoechea, 2006).

La viscosidad se puede definir como una medida de la intensidad de disipación de energía necesaria para mantener la deformación continua de un fluido, y sus unidades en el sistema internacional son Pa*s (Bengoechea, 2006).

Para que un fluido sea newtoniano debe cumplir que la viscosidad no varíe con la velocidad ni el tiempo de cizalla (Bengoechea, 2006).

♠ Flujo no-newtoniano

En flujo no-newtoniano la viscosidad varia conforme se cambia el esfuerzo de cizalla σ y la velocidad de cizalla $\dot{\gamma}$, no están relacionados linealmente, y en la práctica la relación entre estos dos parámetros puede seguir en tres formas distintas (Sherman, 1968).

1.- Flujo pseudo- plástico

El esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla están relacionados en forma no lineal, con la pendiente de la curva disminuyendo conforme se aumenta la tasa de corte.

2.-Flujo plástico

El esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla están relacionados en forma no lineal. Sin embargo para que el flujo comience es necesario aplicar un esfuerzo cortante considerable.

3.-Flujo dilatante

Existen dos formas posibles para el flujo dilatante, dependiendo en si se requiere un esfuerzo de cizalla para iniciar el flujo o no (Bengoechea, 2006).

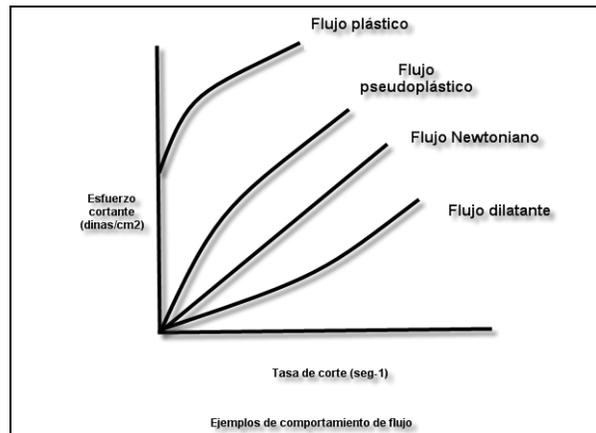


Figura 9. Comportamiento de flujo de fluidos (Sherman, 1968).

Las expresiones matemáticas de modelos que se usan corrientemente en reología de alimentos fluidos se presentan en la Tabla 5.

Una de las primeras tareas que se realiza en el estudio de las propiedades reológicas de alimentos fluidos, es determinar el modelo reológico que mejor representa un conjunto de datos experimentales de la velocidad de cizalla y el esfuerzo de cizalla. Una vez determinado el modelo reológico que se va a

utilizar, se hace necesario determinar los parámetros correspondientes a dicho modelo (Alvarado, 2001).

Nótese que si se interpreta la viscosidad como la pendiente en el gráfico σ vs $\dot{\gamma}$, se ve que depende del gradiente de deformación; así la viscosidad es constante para diferentes valores del gradiente de deformación solamente cuando se trata de fluidos newtonianos (Alvarado, 2001).

Tabla 5. Modelos reológicos.

MODELO	ECUACIÓN	PARÁMETROS REOLÓGICOS
Ley de la potencia	$\sigma = K\dot{\gamma}^n$	n índice de comportamiento al flujo (adimensional) k índice de consistencia (Pa*s ⁿ)
Casson	$\sigma^{0.5} = \sigma_0^{0.5} + Kc\dot{\gamma}^{0.5}$	σ_0 esfuerzo de fluencia (Pa) kc constante de Casson (Pa*s ^{0.5})
Herschel Bulkley	$\sigma = \sigma_0 + Kc\dot{\gamma}^n$	σ_0 esfuerzo de fluencia (Pa) n índice de comportamiento al flujo (adimensional) k índice de consistencia (Pa*s ⁿ)

(Robles, 2003)

CAPITULO II OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Analizar la capacidad emulsificante y estabilizante del quitosán, a través del estudio fisicoquímico (tamaño y distribución de la partícula, estabilidad) y reológico (los parámetros reológicos n = índice de comportamiento al flujo y k = índice de consistencia además de la viscosidad) de la emulsión simple. Bajo las siguientes condiciones: concentración de quitosán: 1 y 2%; pH de solución de quitosán 3 y 5 respectivamente. Concentración de surfactante: 1 y 2%; pH de disolución acuosa 3 y 5 respectivamente

HIPÓTESIS

Bajo ciertas condiciones de variación del pH y concentración, la emulsión que se obtendrá al añadir quitosán, surfactante y mezcla quitosán-surfactante, en una dispersión simple, tendrá características funcionales de gran capacidad y estabilidad.

OBJETIVO PARTICULAR 1

Evaluar la influencia del pH (disolución de quitosán, 3 y 5) y concentración del quitosán [1 y 2%] determinando: tamaño de partícula, estabilidad y comportamiento reológico de la emulsión simple de quitosán-ácido oléico.

OBJETIVO PARTICULAR 2

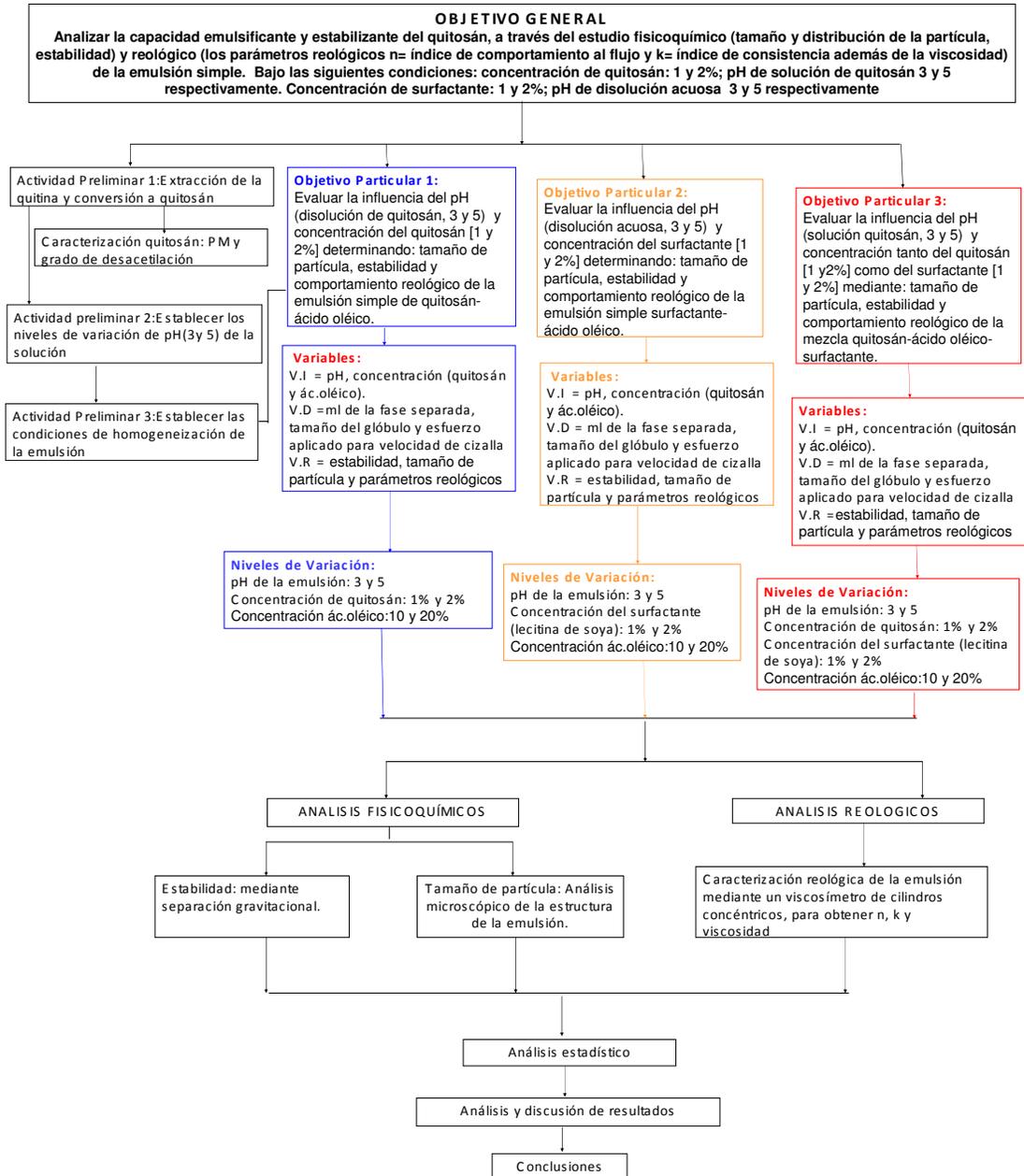
Evaluar la influencia del pH (disolución acuosa, 3 y 5) y concentración del surfactante [1 y 2%] determinando: tamaño de partícula, estabilidad y comportamiento reológico de la emulsión simple surfactante-ácido oléico.

OBJETIVO PARTICULAR 3

Evaluar la influencia del pH (solución quitosán, 3 y 5) y concentración tanto del quitosán [1 y 2%] como del surfactante [1 y 2%] mediante: tamaño de partícula, estabilidad y comportamiento reológico de la mezcla quitosán-ácido oléico-surfactante.

CAPITULO III METODOLOGIA EXPERIMENTAL

CUADRO METODOLÓGICO



1. MATERIALES

Se empleó quitosán en polvo obtenido a partir de la desacetilación de quitina según la metodología establecida en el laboratorio de Biotecnología de la FES-C UNAM.

Los sistemas acuosos se prepararon con agua destilada a la cual se adicionó ácido acético concentrado para obtener los niveles de variación de pH 3 y pH 5.

En las emulsiones se utilizó aceite de cártamo comercial, marca Oléico (Coral internacional S.A. de C.V.) y lecitina de soya grado alimenticio (Droguería Cosmopolita).

2. MÉTODOS

2.1. *ACTIVIDADES PRELIMINARES*

EXTRACCIÓN DE LA QUITINA Y CONVERSIÓN A QUITOSÁN

El método utilizado para la extracción de quitina y posterior conversión a quitosán fue el método desarrollado en el laboratorio de Biotecnología de la FES-C UNAM.

CARACTERIZACIÓN DEL QUITOSÁN

La caracterización del quitosán tanto de su peso molecular como de su grado de desacetilación se realizó siguiendo los procedimientos citados en el manual del laboratorio de biotecnología, realizado de acuerdo con los artículos de Rinaudo y Mohammad publicados en 1993 y 2000 respectivamente.

♣ Masa molecular

Materiales:

Acetato de sodio, grado reactivo (100% de pureza).

Ácido acético, grado reactivo.

Agua destilada.

Qitosán en polvo

PROCEDIMIENTO:

1.- Se prepararon 5 concentraciones de disolución de qitosán (0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 gramos de qitosán), en 25 ml de amortiguador de acetato de sodio 0.2 M y ácido acético 0.3 M ajustado a pH 4.6.

2.- Se mantuvieron en agitación las disoluciones durante 24 horas en parrilla con agitación magnética.

3.- Se filtraron las disoluciones para eliminar cualquier partícula de qitosán que no se haya disuelto o cualquier partícula extraña que pudiese quedar atrapada en el capilar del tubo de Ostwald y que obstruya el paso de la solución.

4.- Se colocaron 4 ml de cada disolución de qitosán en la parte A del tubo de Ostwald (60-100 s) como se muestra en la Figura 10.

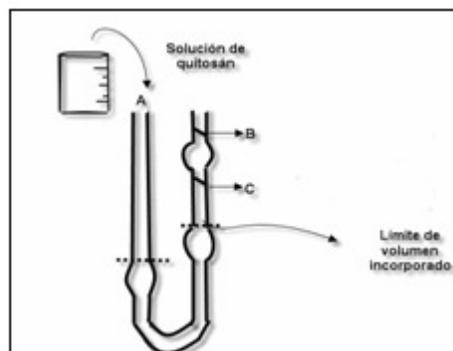


Figura 10. Tubo de Ostwald

5.- Se introdujo el tubo con los 4 ml de disolución de qitosán en un baño térmico regulado previamente a una temperatura de 25°C como se muestra en la

figura 11, permitiendo intervalos de variación de $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ en cada prueba con ayuda de un calentador digital con agitador marca Grant, se colocó un termómetro para corroborar la temperatura.

La muestra se introduce al baño térmico con la finalidad de evitar posibles cambios en la temperatura de la muestra ya que el agitador mantiene al agua en agitación constante y permite mantener la temperatura constante para poder obtener datos confiables al finalizar la prueba.

El baño térmico se llenó con agua hasta cubrir el tubo Ostwald permitiendo ser visibles los puntos B y C (Figura 10):

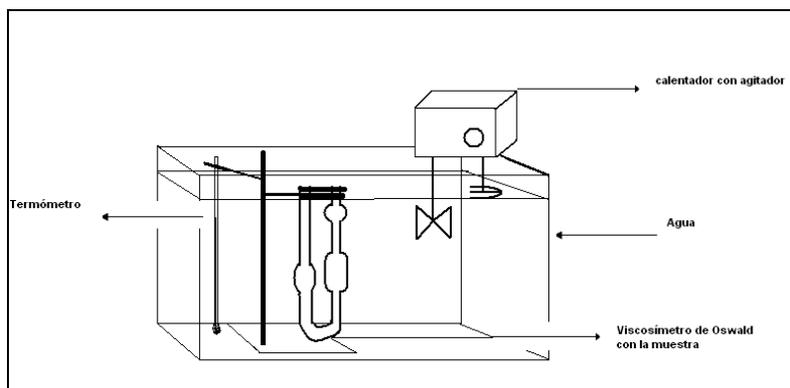


Figura 11. Montaje experimental peso molecular.

6.- Se verificó que la temperatura de la disolución de quitosán (mediante equilibrio térmico) fuera de $25 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, durante toda la experimentación.

7.- Posteriormente se succionó la disolución de quitosán con la ayuda de una pro pipeta hasta cubrir los puntos B y C.

8.- Se tomó el tiempo de caída en los puntos B y C, con la ayuda de un cronómetro, procurando que los tiempos no tuvieran una variación mayor de ± 0.2 segundos.

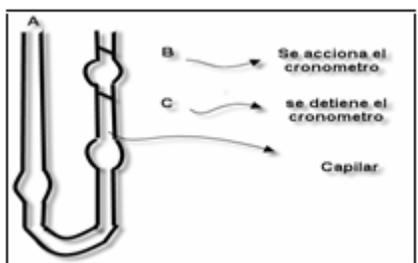


Figura 12. Montaje experimental viscosímetro

9.- Se registraron 5 repeticiones de cada una de las muestras corridas en segundos, incluyendo la solución amortiguadora y se procedió a realizar la secuencia de cálculo correspondiente.

Secuencia de calculo (masa molecular)

Se determinó la viscosidad relativa

$$\eta_{rel} = \frac{t_m}{t_o} \dots\dots\dots (10)$$

Donde:

η_{rel} = viscosidad relativa

t_m = tiempo de la muestra

t_o = tiempo de la solución buffer

Se determinó la viscosidad específica

$$\eta_{especifica} = \eta_{relativa} - 1 \dots\dots\dots (11)$$

Se determinó la viscosidad específica reducida

$$\eta_{reducida} = \frac{\eta_{espe}}{C} \dots\dots\dots (12)$$

Donde:

η reducida = viscosidad específica reducida

η espe = viscosidad específica

(Q) = concentración del quitosán en decilitros [dL]

Se determinó la viscosidad intrínseca

Esto se realizó mediante la construcción de un gráfico de concentración de quitosán (X) vs viscosidad específica reducida (Y)

Se ajustaron los datos obtenidos a una tendencia lineal y de la ecuación general

$Y = 1237.5x + 9073.8$, b será la viscosidad intrínseca.

Finalmente se calculó la masa molecular a partir de la ecuación matemática de Mark-Houwink-Sakurada (MHS) (Rinaudo, 1993):

$$[\eta] = KM^a \dots\dots\dots (13)$$

Donde k y a son constantes que dependen del solvente y el polímero, en este caso se utilizarón las constantes $K = 76 \text{ [dLg}^{-1}\text{]}$, $a = 0.76$ (Rinaudo, 1993).

Al realizar un arreglo algebraico y despejar M para obtener la masa molecular obtenemos:

$$M = 10^{((\log \eta - \log K) / a)} \dots\dots\dots (14)$$

Donde:

M = masa molecular

η = viscosidad intrínseca [m^3Kg^{-1}]

K = una constante de valor 76 [dL/g^{-1}]

a = una constante adimensional de valor 0.76

♣ Grado de desacetilación

Para calcular el grado de desacetilación en polímeros se utilizó el método de titulación.

La titulación potenciométrica es una titulación ácido-base de los grupos NH^{3+} de la muestra del polímero (quitosán) disuelta en un exceso de ácido, utilizando un potenciómetro se determina el cambio de pH de la muestra a evaluar.

Materiales:

NaOH, grado reactivo (100% de pureza).

HCl, grado reactivo.

Agua destilada.

Quitosán en polvo

PROCEDIMIENTO

1. Se pesó 0.30 gramos de quitosán previamente secada a 105°C , y se adicionó la muestra en un vaso de precipitados de 100 ml.
2. Se agregó 45 ml de HCl 0.2 M, y se agitó hasta disolver la muestra.
3. Se calibró el potenciómetro para asegurar una lectura confiable durante la experimentación.
4. Se utilizó una bureta con base (NaOH [0.1M]), en la cual se colocó la muestra en la parte inferior, como se muestra en la Figura 13.
5. Se agregó incrementos pequeños de base (1ml), y se anotó los valores de pH de cada volumen agregado, titulando hasta pH 11 de la muestra. Una vez obtenidos los datos de pH y volumen gastado.
6. Se graficó los valores obtenidos colocando los datos volumen base gastada en el eje de las ordenadas.
7. Con el grafico pH vs volumen NaOH se determinó los puntos de equivalencia, y finalmente se realizaron los cálculos que se presentan en la secuencia de cálculo más adelante, para determinar el grado de desacetilación.

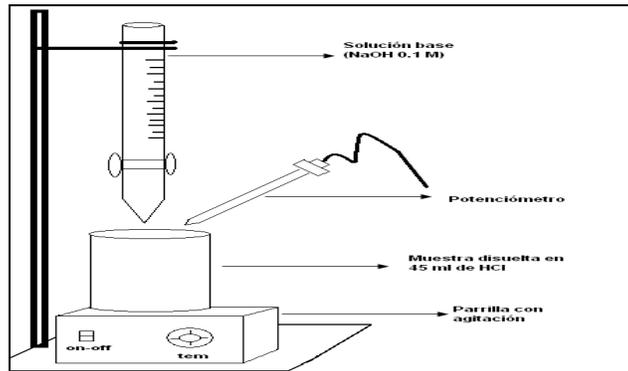


Figura 13. Titulación ácido-base

Secuencia para determinar el grado de desacetilación

8.- Localizar los puntos de equivalencia en la gráfica pH vs volumen de NaOH

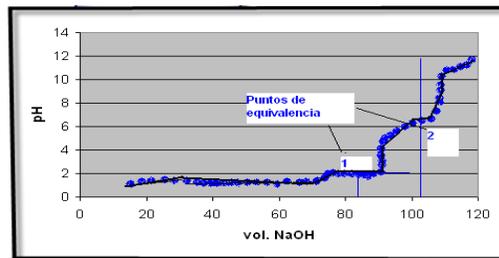


Figura 14. Gráfico pH vs vol. NaOH

9.- Calcular el volumen gastado

$$\text{Vol. promedio (ml)} = \frac{V \text{ equivalencia 2 (ml)} - V \text{ equivalencia 1 (ml)}}{2} \dots\dots\dots (15)$$

$$\text{Vol. gastado (L)} = \frac{\text{vol promedio (ml)}}{1000} \dots\dots\dots (16)$$

10.- Calcular la masa en equivalentes

$$\text{Meq} = \frac{m \text{ (g)}}{[\text{NaOH}] * V \text{ gastado (L)}} \dots\dots\dots (17)$$

Donde:

Meq = masa (equivalentes)

M = masa de quitosán empleada (g)

[NaOH] = concentración de hidróxido de sodio (N)

V gastado = volumen final (L)

11.- Calcular el grado de desacetilación

$$\% \text{ DA} = \left\{ \frac{203}{\text{Meq} + 42} \right\} 100 \dots\dots\dots (18)$$

NIVELES DE VARIACIÓN DE pH

Los niveles de variación que se utilizaron para las soluciones acuosas se determinaron de acuerdo al intervalo de pH que se maneja en los aderezos y mayonesas que va de 3.4 a 5.6 aproximadamente, por lo que se decidió utilizar pH de 3 y 5.

Para las soluciones acuosas de quitosán se siguió este procedimiento:

- 1.-Se pesó el quitosán a utilizar (10 y 20 gramos de acuerdo a la concentración), se midió 1 litro de agua destilada.
- 2.-Se vertió el quitosán en el agua y se llevó a una parrilla con agitación.

3.-Mientras el quitosán se disolvió, se colocó el potenciómetro para medir el pH correspondiente (Figura 15).

4.-Se agregó ácido acético concentrado poco a poco en la mezcla agua-quitosán, y se midió el pH a cada tanto de ácido acético agregado hasta obtener el pH deseado.

Para ajustar el agua se siguió el mismo procedimiento anterior solo que únicamente con agua a la cual se le adicionó ácido acético concentrado paulatinamente hasta que se obtuvo agua con pH 3 y 5.

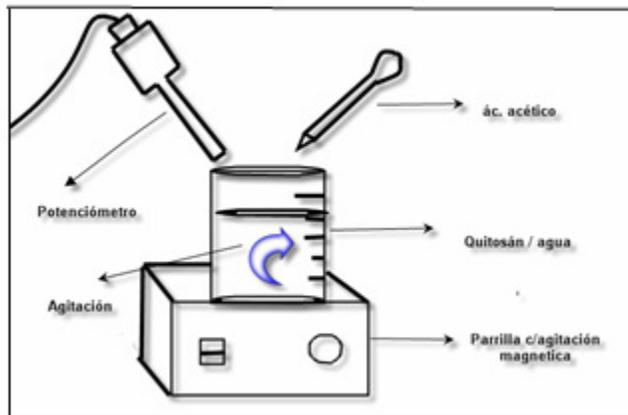


Figura 15.- Montaje experimental ajuste de pH

Condiciones de homogeneización de la emulsión

Para la elección de las condiciones de homogeneización más adecuadas para las emulsiones realizadas, primero se realizó una emulsión muestra homogeneizando la parte acuosa con la oleosa utilizando un homogeneizador ultra-turrax.

Se probó con distintas velocidades y tiempos, descartando las velocidades y los tiempos en los cuales la emulsión no se formó completamente.

2.2. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Sistemas acuosos

Para la preparación de los sistemas acuosos se agregó la cantidad necesaria de quitosán en un litro de agua destilada más la cantidad necesaria de ácido acético concentrado, según la tabla 6 para sistemas acuosos, con agitación magnética a $26 \pm 1^\circ\text{C}$, hasta que se disolvió el polvo de quitosán, aprox. 30 minutos, para las soluciones sin quitosán el tiempo de agitación fue de 2 minutos.

Tabla 6. Sistemas acuosos

SOLUCIÓN	g QUITOSAN	ml AGUA DESTILADA	ml ÁCIDO ACÉTICO
Quitosán [1%], pH 3	10	1000	86
Quitosán [2%], pH 3	20	1000	110
Quitosán [1%], pH 5	10	1000	6
Quitosán [2%], pH 5	20	1000	7
Acuosa, pH 3	-----	1000	45
Acuosa, pH 5	-----	1000	3

Para 1000 ml de disolución

Emulsiones aceite en agua (o/w)

Las emulsiones o/w se elaboraron adicionando el aceite al sistema acuoso (solución de quitosán o agua ajustada) de manera directa, la mezcla se homogeneizó a una velocidad de 24 000 rpm a 25°C (ultra-turrax T18 Basic); las emulsiones a las cuales se le agregó lecitina de soya se elaboraron de igual forma pero la lecitina se agregó a la mezcla posteriormente (previamente disuelta en aceite, la siguiente tabla muestra las condiciones de las emulsiones elaboradas.

Tabla 7. Emulsiones o/w

EMULSIONES	ml DE ACEITE	TIEMPO DE HOMOGENEIZACION	ml DE LECITINA DE SOYA
Quitosán-ác.oleico	10	3.30 minutos	-----
Quitosán-ác.oleico	20	5 minutos	-----
Agua-ác.oleico-lecitina de soya	10	2 minutos	1
Agua-ác.oleico-lecitina de soya	20	2 minutos	2
Quitosán-ác.oleico-lecitina de soya	10	2 minutos	1
Quitosán-ác.oleico-lecitina de soya	20	2 minutos	2

Las emulsiones después de ser elaboradas se refrigeraron y se caracterizaron al día siguiente.

2.3. CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

2.3.1. Estabilidad

La determinación de la estabilidad de las emulsiones se realizó mediante centrifugación en una centrífuga clínica IEC. La muestra fue de 10 ml colocada en tubos para centrifuga graduados.

En un tubo para centrífuga de 15 ml, se colocó 10 ml de muestra. Se centrifugó la muestra durante 15 minutos a 3000 rpm, cada emulsión se centrifugó por triplicado.

Después de centrifugar se determinó el % de aceite separado de la emulsión mediante la ecuación 19.

$$\% \text{ de aceite separado de la emulsión} = (V_s / (V_t * V_{fpd})) * 100 \dots\dots (19)$$

Donde:

V_s = volumen de aceite separado

V_t = volumen total de la muestra

V_{fpd} = volumen fase polar dispersa = vol. parcial/ vol. total

(Cabra, 2002)



Figura 16. Separación de fases de una emulsión

2.3.2. Tamaño de la partícula

La medición del tamaño de partícula se realizó en un microscopio Olympus CX31. El tamaño del glóbulo de grasa de las emulsiones se midió a 25 °C, usando el software de análisis de imágenes del microscopio (Olympus, image Pro-Plus. V 1.1)

Se tomó una pequeña muestra de la emulsión a analizar y se colocó en una cámara de New Bauer para colocarse al microscopio y observar la estructura de la emulsión.

2.4. CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA

La caracterización reológica de cada una de las emulsiones se realizó a $25^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ en un Reómetro de control de esfuerzos (Physica, LS 100) con geometría de doble espacio anular, DG 41 (48 y 50 mm de diámetro interno y externo respectivamente, 36 mm de longitud y una relación de radios de 1.041, $r_4/r_3 = r_2/r_1$).

Se utilizó un baño para mantener la temperatura constante (25°C) y evitar el calentamiento de la muestra durante el cizallamiento.

Se realizó dos ciclos de ascenso descenso, con un intervalo de tiempo de 3 minutos.

Después de realizar las corridas experimentales necesarias en el Reómetro, se guardaron los datos y se procedió a determinar el comportamiento reológico del fluido siguiendo la secuencia correspondiente, la cual se determinó de acuerdo al equipo utilizado, en este caso correspondió a la secuencia de cálculo para un equipo de cilindros concéntricos.

El equipo utilizado (Physica, LS 100) nos registró datos directos tanto de esfuerzo de cizalla σ , velocidad de cizalla $\dot{\gamma}$ y de viscosidad η , por lo que se procede en primera instancia a graficar: σ vs $\dot{\gamma}$ para obtener la curva de flujo correspondiente mediante la cual obtendremos los parámetros reológicos correspondientes n y k para su posterior análisis y de acuerdo a su valor de n se determinó a que fluido corresponde con respecto a las siguientes afirmaciones.

El valor de k indica la cantidad de energía necesaria para mover al fluido, ya que es el índice de consistencia.

Con los valores de n (índice de comportamiento al flujo) podemos clasificar el tipo de fluido a que corresponde cada emulsión, ya que:

$n = 1$ es fluido Newtoniano

$n > 1$ es fluido no Newtoniano (dilatante)

$n < 1$ es fluido no Newtoniano (pseudoplástico)

(Geankoplis, 1998).

CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

ACTIVIDADES PRELIMINARES

En las actividades preliminares se obtuvieron datos importantes para las bases de la experimentación.

A continuación a manera de resumen se presentan los resultados más relevantes obtenidos.

Caracterización del quitosán:

♠ Masa molecular

La masa molecular relativa es un número que indica cuántas veces mayor es la *masa* de una molécula de una sustancia con respecto a la unidad de masa atómica. Su unidad es el Dalton o unidad de masa atómica, que se abrevia u (antes uma). La masa molecular se determina sumando las masas atómicas relativas de los elementos cuyos átomos constituyen una molécula de dicha sustancia. A pesar de que se sigue diciendo popularmente *peso molecular*, el término correcto es *masa molecular*.

La masa molecular obtenido como resultado de la experimentación para el quitosán extraído fue de: **231, 441.69 g/mol**

♠ Grado de desacetilación

El grado de desacetilación se define como el contenido en grupos aminos presentes en la cadena polimérica. Existen numerosos métodos para determinar el grado de desacetilación del quitosano basados en diversas técnicas. Entre estas técnicas podemos destacar la espectroscopía de infrarrojo (IR), la espectroscopía de UV, La espectroscopía de RMN, la potenciometría y la conductimetría (Quitosano; Poly-D-glucosamine (128930) Fact Sheet,2006).

El grado de desacetilación obtenido como resultado de la experimentación para el quitosán utilizado fue de: **71.98%**

OBJETIVO 1

EMULSIÓN QUITOSÁN-ÁCIDO OLÉICO

En este objetivo se trabajo con una emulsión elaborada con quitosán y ác.oleico, siendo la solución de quitosán la parte acuosa de la emulsión.

♠ Estabilidad

La estabilidad de las emulsiones presentó diferentes grados de separación de sus fases después del proceso de centrifugación a que se sometieron, y ello puede observarse en las tablas correspondientes. La separación de fases que experimentó la emulsión quitosán-ácido oléico así como la cantidad de aceite separada se encuentra detallada en la tabla 8.

Tabla 8. Observaciones emulsión quitosán-ácido oléico

Quitosán-ácido oléico	% aceite separado	Observaciones
pH 3 Q [1%], ácido oléico [10%]	0.7142	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite en la parte superior y una pequeña cantidad de sólidos en suspensión y poca cantidad de agua
pH 3 Q [2%], ácido oléico [20%]	0.1851	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite en la parte superior y una pequeña cantidad de sólidos en suspensión y poca cantidad de agua
pH 5 Q [1%], ácido oléico [10%]	1.1111	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite en la parte superior y una gran cantidad de sólidos en suspensión y poca cantidad de agua
pH 5 Q [2%], ácido oléico [20%]	0.1562	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite en la parte superior y una alta cantidad de sólidos en suspensión y muy poca cantidad de agua

Para cuantificar la estabilidad de la emulsión se utilizó la técnica de separación gravitacional y el uso de la ecuación del % de aceite separado (ec. 19) con la cual se obtuvieron los resultados de la tabla 8, en la que se muestran los % de aceite separado de la emulsión quitosán-ácido oléico así como sus respectivas observaciones, bajo sus diferentes condiciones de concentración y pH; en la cual se puede observar que el menor porcentaje de aceite separado corresponde a la emulsión a pH 5, quitosán [2%] y ácido oléico [20%]; lo que significa una mayor estabilidad, puesto que el volumen de aceite separado es muy poco en comparación con el tamaño de la muestra (10 ml).

Por lo cual podemos decir que las condiciones que proporcionan mayor estabilidad para la emulsión quitosán-ácido oléico son: pH 5 [2%].

Al realizar el comparativo entre las emulsiones con ácido oléico al 10% y 20% podemos ver que las emulsiones más estables fueron con 20% de ácido oléico por la alta viscosidad que provee una mayor cantidad de ácido oléico a la emulsión, sin que el cambio de pH de la emulsión influya de manera relevante.

♠ Tamaño de la partícula

En la mayoría de los alimentos, los diámetros de las gotas suelen tener un orden entre 0.1 y 100 μm , no existe un límite preciso en el tamaño de partícula (Dickinson & Stainsby, 1982), pero cuanto más pequeño es el tamaño de partícula, más estable será la emulsión; en alimentos las gotas de 2 mm o más flocculan rápidamente y la floculación es dominante a tamaños de 0.05 mm a 1mm (Dickinson, 1992).

Los datos obtenidos de tamaño de partícula en micras de la emulsión se ven reflejados en el gráfico 1, en el cual podemos observar los tamaños de partículas en micras vs las frecuencias relativas para cada intervalo.

La mayoría de las partículas de la emulsión quitosán-ácido oléico bajo cualquiera de sus condiciones de pH y concentración están dentro del intervalo de 1 a ≤ 10 micras sin embargo son muy pocas las partículas con un tamaño

cercano a 10 micras, en especial bajo condiciones de pH 5, quitosán [2%], ácido oléico [20%]; por lo que podemos decir que la emulsión quitosán-ácido oléico es una emulsión monodispersa, que es aquella que tienen un tamaño uniforme de gota (Dickinson, 1989). Por el tamaño de partícula también podemos determinar si la emulsión es estable ya que si lo es, ésta corresponde generalmente a una distribución de tamaños poco dispersa y con un máximo situado en diámetros pequeños (Mita y col., 1973; Dickinson, 1989), por lo que podemos decir que ésta emulsión es estable.

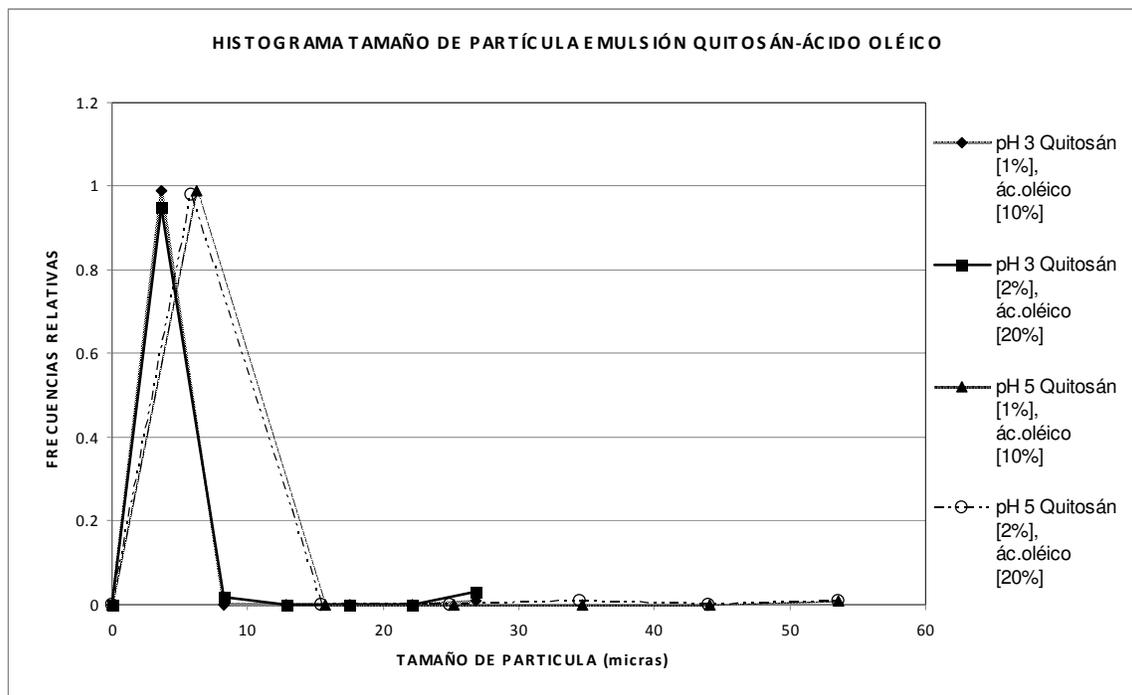


Gráfico 1. Tamaño de partícula emulsión Q/AO

En las siguientes figuras se puede visualizar el tamaño y la forma de las partículas de la emulsión así como su correspondencia en cuanto a tamaño de partícula y estabilidad ya que cuanto más pequeño es el tamaño de partícula, más estable será la emulsión (Dickinson, 1992).

Así, podemos observar que las emulsiones bajo cualquiera de sus condiciones forma glóbulos uniformes e individuales salvo por algunos glóbulos que

muestran floculación, al analizar las imágenes podemos visualizar que el tamaño de partícula de la emulsión quitosán-ácido oléico de menor a mayor tamaño están: figura 20, 18, 17 y 19 respectivamente, lo que corresponde a una estabilidad de mayor a menor en el mismo orden de las figuras.

Las imágenes fueron obtenidas con el microscopio Olympus con un objetivo de 40X, en cada una de ellas se tiene el tamaño (longitud) promedio de las partículas en micras.

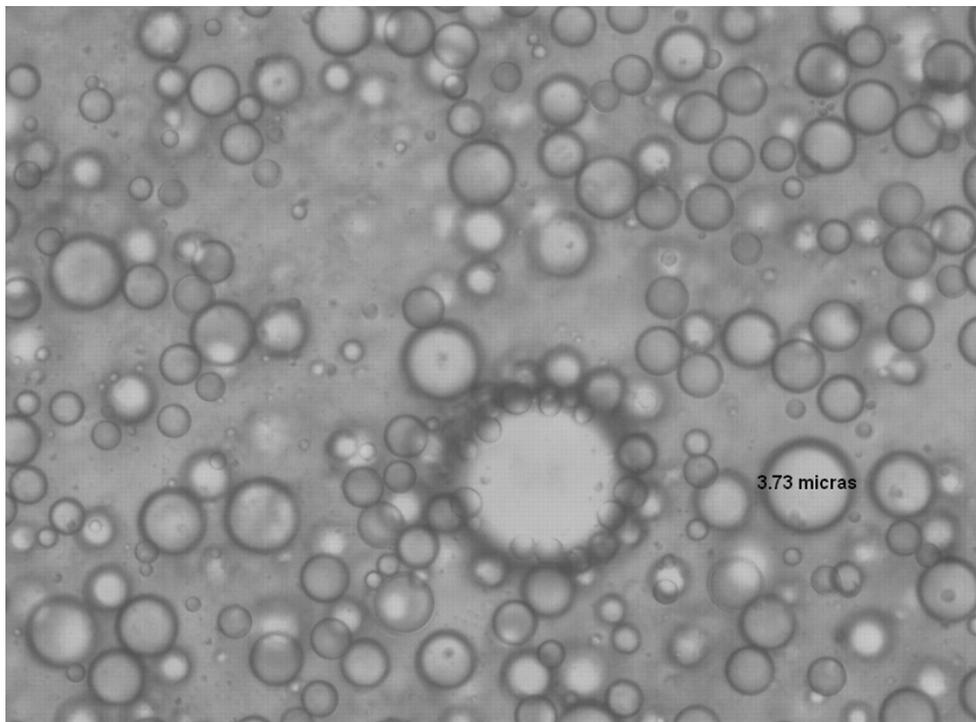


Figura 17. Emulsión quitosán [1%]/ácido oléico [10%] pH 3, 40X.

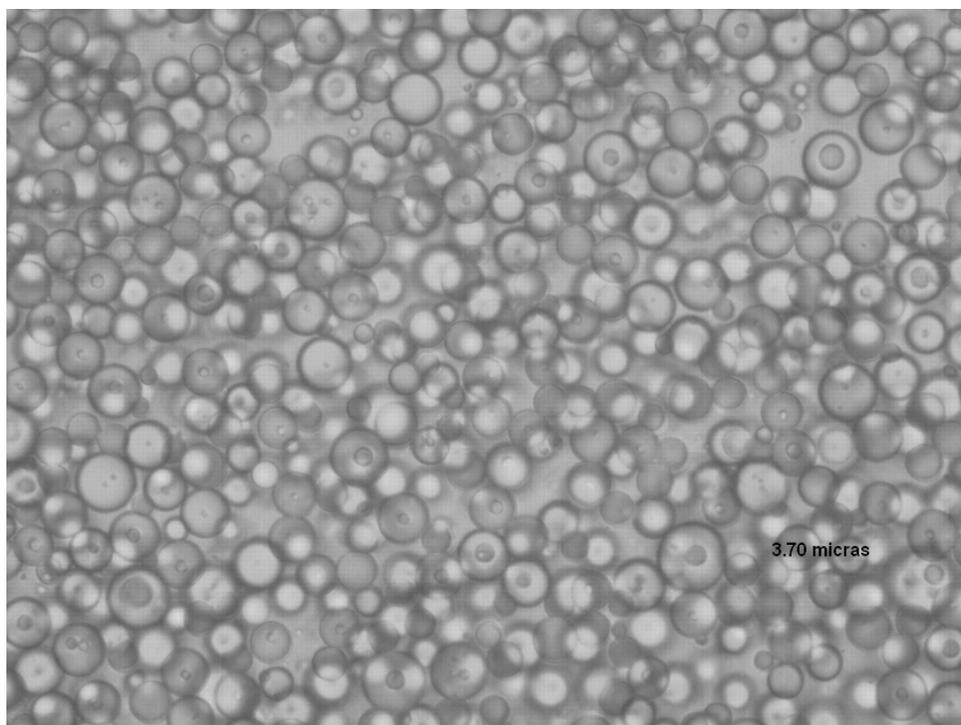


Figura 18. Emulsión quitosán [2%]/ácido oléico [20%] pH 3, 40X.

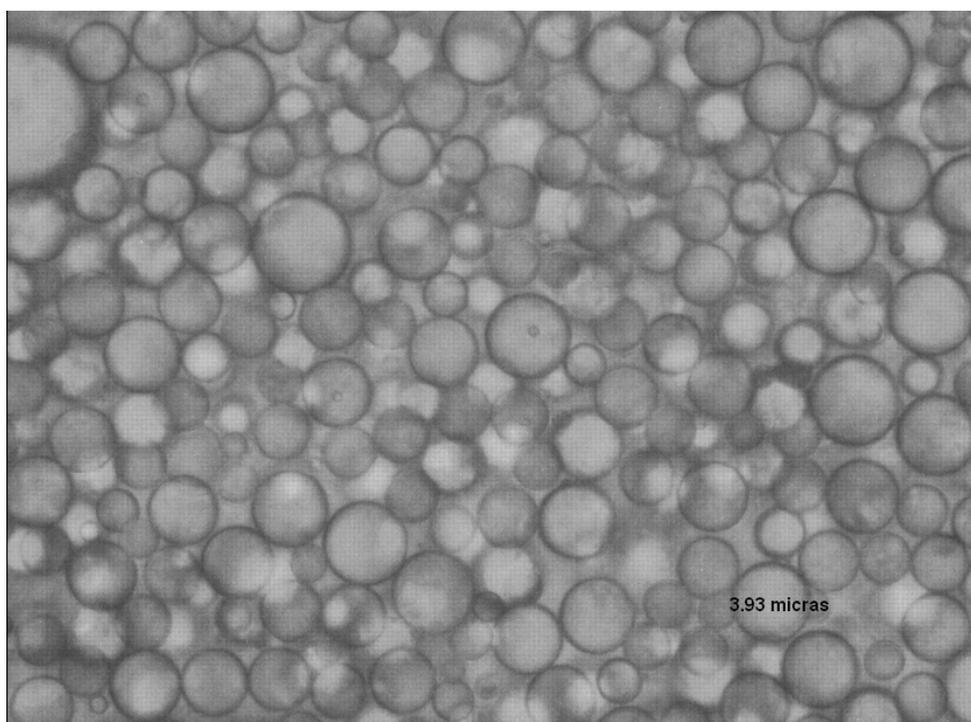


Figura 19. Emulsión quitosán [1%]/ácido oléico [10%] pH 5, 40X.

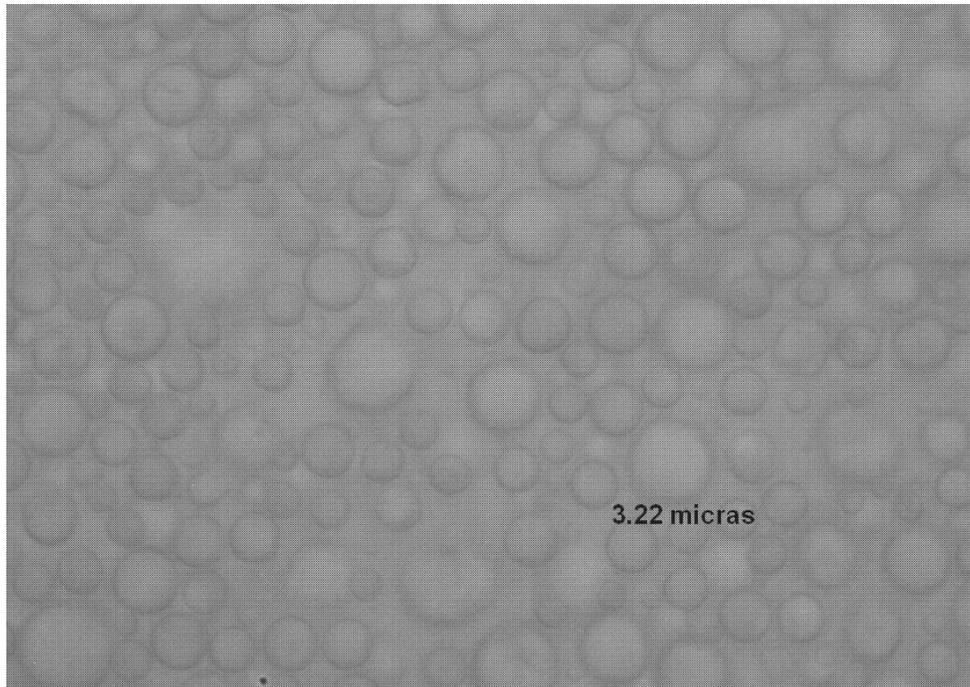


Figura 20. Emulsión quitosán [2%]/ácido oléico [20%] pH 5, 40X.

♠ Caracterización reológica

A continuación se muestra en el gráfico 2 la curva de flujo de la emulsión quitosán-ácido oléico, en la cual podemos ver el comportamiento del fluido con respecto a la velocidad de cizalla. Por tratarse de un fluido independiente del tiempo, su viscosidad es independiente al proceso de cizallamiento, por lo que en los gráficos sólo se muestran las curvas correspondientes a la curva de ascenso.

En ella podemos observar que la emulsión se comporta como un fluido newtoniano (realizando un comparativo con la figura 9), ya que la viscosidad (pendiente) es prácticamente constante (gráfico 3) para diferentes valores del esfuerzo de cizalla (esfuerzo de corte), cosa que caracteriza a un fluido newtoniano.

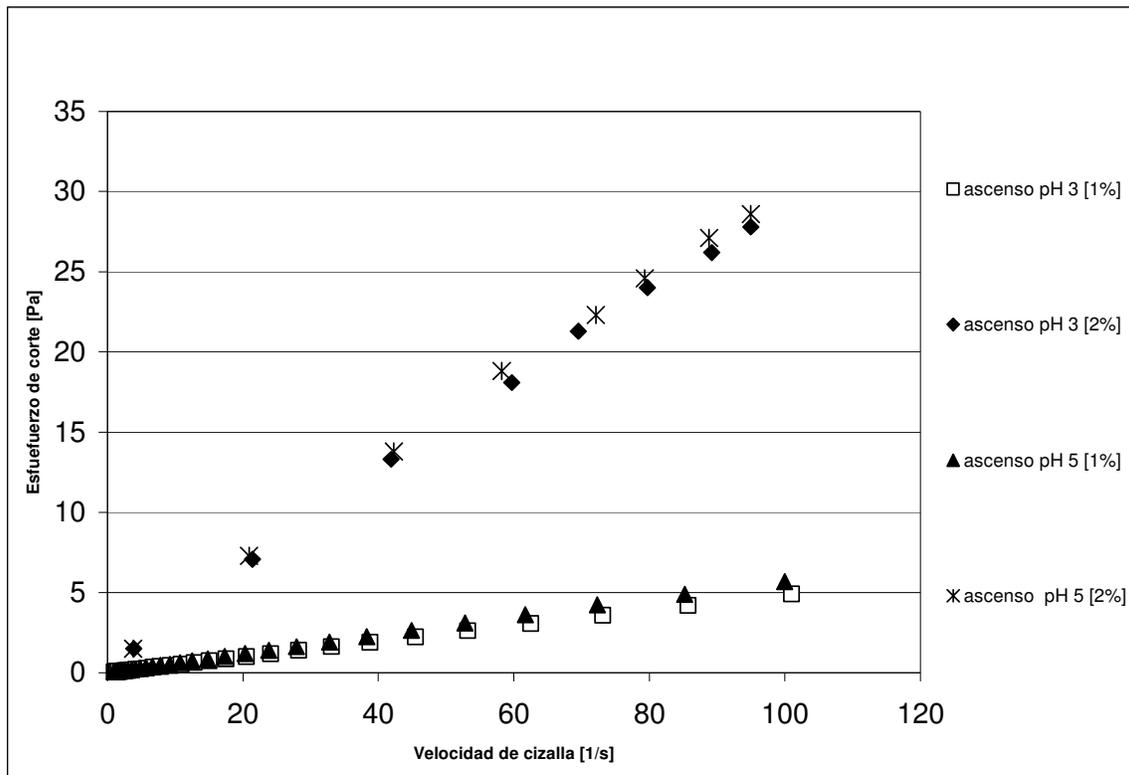


Gráfico 2. Curva de flujo emulsión Q/AO

♠ Viscosidad

La viscosidad de la emulsión bajo diferentes condiciones de pH y concentraciones se muestran en la tabla 9, en la cual se puede observar que la viscosidad mayor se da bajo condiciones de pH 5 [2%], como se muestra en el gráfico 3. Más adelante se retomarán los datos de viscosidad de esta tabla para realizar un comparativo con la viscosidad de la emulsión agua-ácido oléico-lecitina para tener una mejor idea del comportamiento viscoso de esta emulsión.

Tabla 9. Viscosidad emulsión Q/AO

Condiciones	Emulsión Q/AO
	Viscosidad aparente μ [Pa*s]
pH 3 Q [1%],ác.oléico [10%]	0.0498
pH 3 Q [2%], ác.oléico [20%]	0.2881
pH 5 Q [1%], ác.oléico [10%]	0.0641
pH 5 Q [2%], ác.oléico [20%]	0.3570

Q/AO= Quitosán/ác.oleico; Q= quitosán

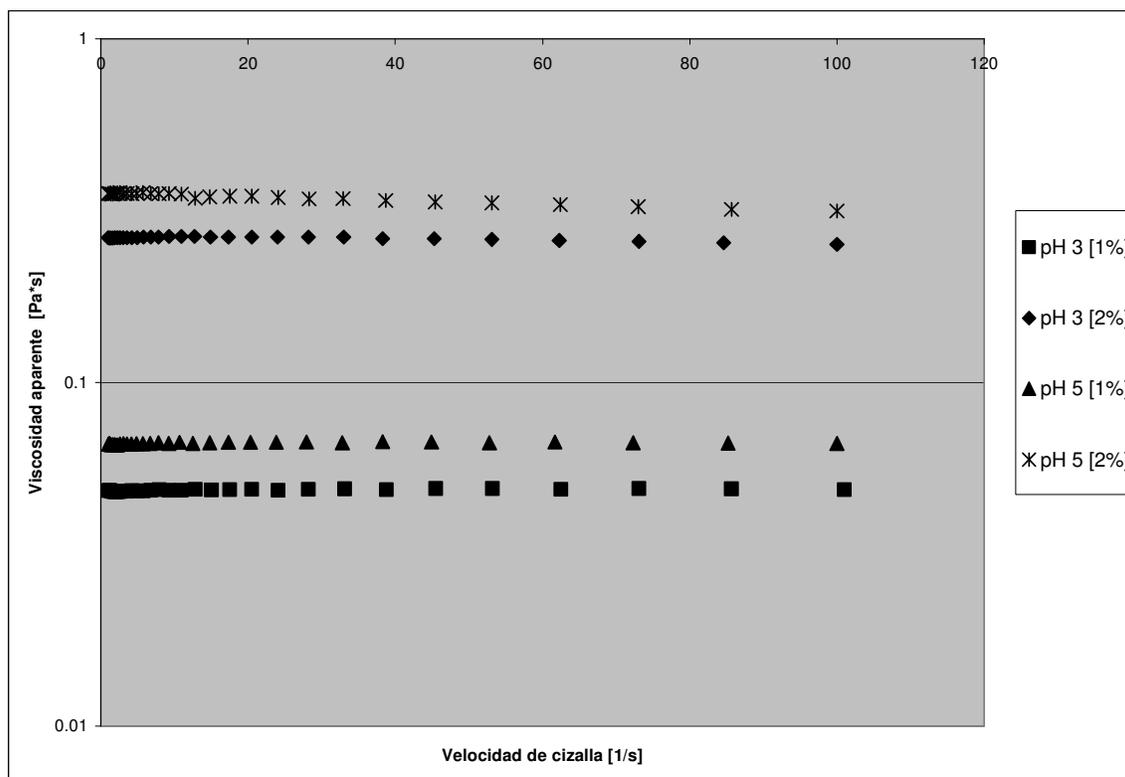


Gráfico 3. Curva de viscosidad emulsión Q/AO

El gráfico anterior muestra la viscosidad de la emulsión bajo diferentes condiciones, podemos observar que las emulsiones con 10% de ácido oléico posee una menor viscosidad dado la baja cantidad del mismo, pero con mayor viscosidad con un pH de 5 lo que favorece tanto a la emulsión con 10% de ácido oléico como la que tiene 20%. Como lo afirmamos anteriormente la viscosidad permanece prácticamente constante durante todo el proceso de cizallamiento, por lo que no se adentrará en los parámetros reológicos puesto que con los

valores de viscosidad podemos decir que se trata de un fluido newtoniano y no es necesario determinar algo más con respecto a su comportamiento de flujo.

OBJETIVO 2

EMULSIÓN AGUA-ÁCIDO OLÉICO-LECITINA DE SOYA

En este objetivo se introduce un surfactante de origen proteico (lecitina de soya) a un porcentaje igual en concentración que el quitosán, la emulsión se forma con agua (en lugar de la solución de quitosán), ác. oléico y la adición del surfactante.

♠ Estabilidad

La separación de fases que experimentó la emulsión agua-ácido oléico-lecitina se encuentra detallada en la tabla 10.

Tabla 10. Observaciones emulsión A/AO/L

Agua-ácido oléico-lecitina	% aceite separado	Observaciones
pH 3 L [1%], ácido oléico [10%]	0.5263	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite muy visual en la parte superior y una mínima cantidad de sólidos en suspensión y gran cantidad de agua
pH 3 L [2%], ácido oléico [20%]	1.7647	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite muy visual en la parte superior y una mínima cantidad de sólidos en suspensión y gran cantidad de agua
pH 5 L [1%], ácido oléico [10%]	0.4166	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite muy visual en la parte superior y una mínima cantidad de sólidos en suspensión y gran cantidad de agua
pH 5 L [2%], ácido oléico [20%]	0.3333	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite muy visual en la parte superior y una mínima cantidad de sólidos en suspensión y gran cantidad de agua

L= Lecitina de soya

Para cuantificar la estabilidad de la emulsión se utilizó la técnica de separación gravitacional y el uso de la ecuación 19 con la cual se obtuvieron los resultados de la tabla 10, la cual muestra el % de aceite separado de la emulsión agua-ácido oléico-lecitina bajo sus diferentes condiciones de concentración y pH; en la cual se puede observar que el menor porcentaje de aceite separado corresponde a la emulsión a pH 5, lecitina [2%] y ácido oléico [20%], lo que significa una mayor estabilidad, ya que a menor % de aceite separado mayor es la estabilidad y viceversa.

Por lo cual podemos decir que las condiciones que proporcionan mayor estabilidad para la emulsión agua-ácido oléico-lecitina son: pH 5 lecitina [2%] y ácido oléico [20%], al igual que en el caso de la emulsión quitosán-ácido oléico, aunque al analizar ambas emulsiones (quitosán-ácido oléico y agua-ácido oléico-lecitina) podemos observar que en el caso de la primera hay una clara influencia de la concentración tanto del emulsionante (quitosán/lecitina) como del ácido oléico en su estabilidad sin que haya relevancia notoria con el cambio de pH, cosa contraria a la que ocurre con la segunda emulsión cuya estabilidad mayor (por su % de aceite separado) recae directamente en las emulsiones de pH 5 no importando su concentración.

♣ Tamaño de la partícula

En la mayoría de los alimentos, los diámetros de las gotas suelen tener un orden entre 0.1 y 100 μm (Dickinson & Stainsby, 1982).

Los datos obtenidos del tamaño de partícula en micras de la emulsión se ven reflejados en el gráfico 4, en el cual podemos observar que en el intervalo de ≤ 30 micras se encuentran las mayor cantidad de partículas, por lo que podemos decir que la emulsión agua-ácido oléico-lecitina es una emulsión monodispersa, que es aquella que tienen un tamaño uniforme de gota (Dickinson, 1989). Por el tamaño de partícula también podemos determinar si la emulsión es estable ya que si lo es, ésta corresponde generalmente a una distribución de tamaños poco

dispersa y con un máximo situado en diámetros pequeños (Mita y col., 1973; Dickinson, 1989), por lo que podemos decir que ésta emulsión es estable.

Aunque la mayoría de las partículas cae en un intervalo menor de tamaño y decimos que es estable, por su tamaño de partícula y cantidad de aceite separado en comparación con la emulsión quitosán-ácido oléico esta emulsión es menos estable (agua-ácido oléico-lectina) y puede deberse a la baja cantidad de surfactante utilizado, cabe recordar que se utilizó en las mismas concentraciones que el quitosán y hasta este momento el quitosán muestra una mejor capacidad emulsionante y estabilizante analizando sólo el tamaño de partícula y la estabilidad.

Podemos observar el tamaño de partícula de ambas emulsiones (quitosán-ácido oléico y agua-ácido oléico-lectina), en el gráfico 5 y corroborar lo antes dicho, no olvidemos que un tamaño de partícula pequeño corresponde a una mayor estabilidad.

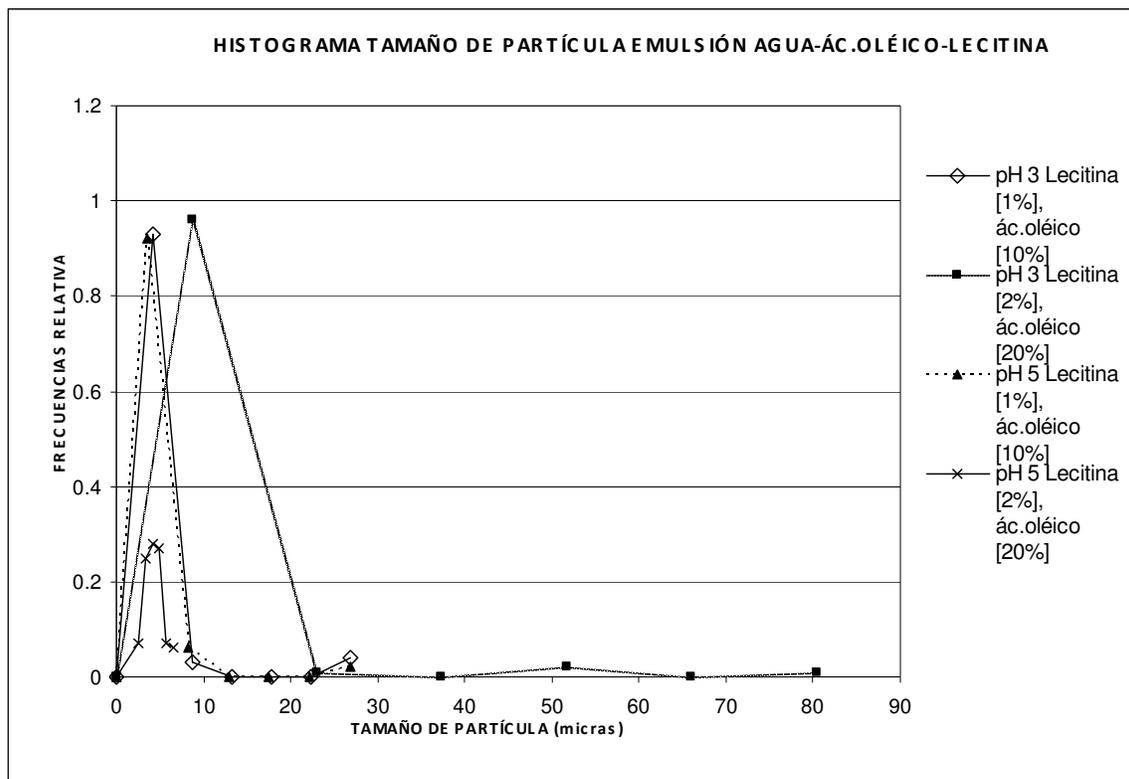


Gráfico 4. Tamaño de partícula emulsión A/AO/L

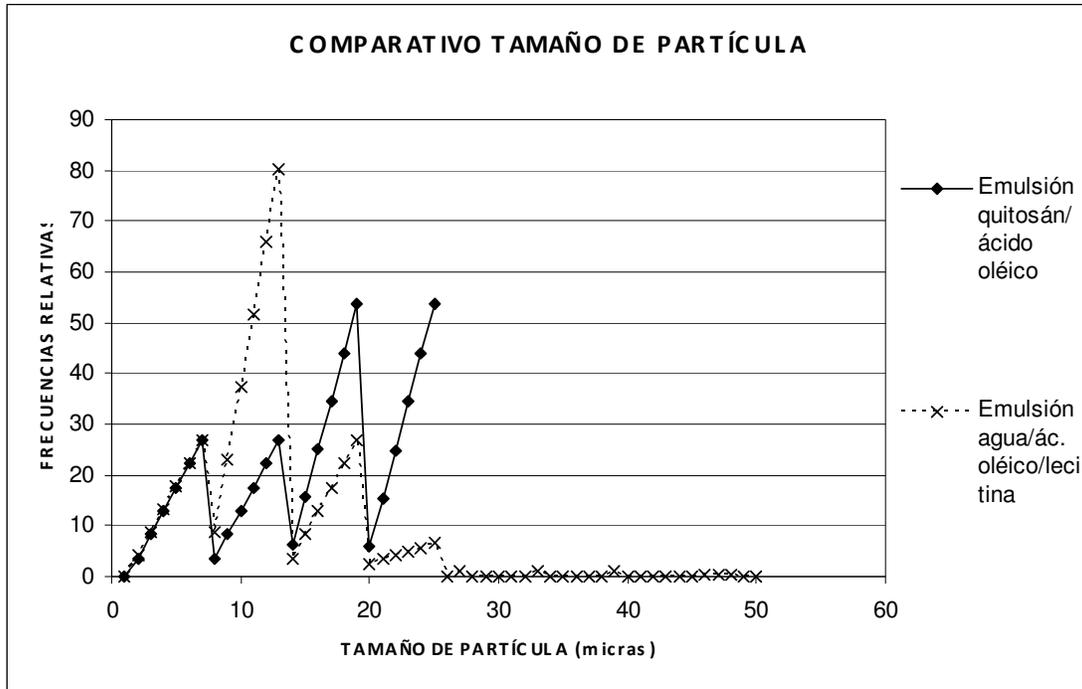


Gráfico 5.- Tamaño de partícula emulsión Q/AO y A/AO/L.

El gráfico 5 se realizó con todos los valores obtenidos del tamaño de partícula de cada emulsión bajo sus diferentes condiciones de pH y concentración, en el podemos ver que la emulsión quitosán-ácido oléico no va más allá de 25 micras aproximadamente, mientras que la emulsión agua-ácido oléico-lecitina alcanza valores de 80 micras aunque sea en un par de sus partículas únicamente.

Las siguientes figuras muestran el tamaño de partícula de las emulsiones las cuales al contrario de las de la emulsión anterior son menos uniformes y poseen claramente un mayor tamaño de partícula. En cada una de las imágenes se muestra el tamaño promedio en micras. Y se corrobora la estabilidad de cada emulsión y nos muestra que las partículas de menor tamaño corresponden a las emulsiones bajo condiciones de pH 5 tanto con concentración de [1% y 2%] de quitosán y de [10 y 20%] de ácido oléico.

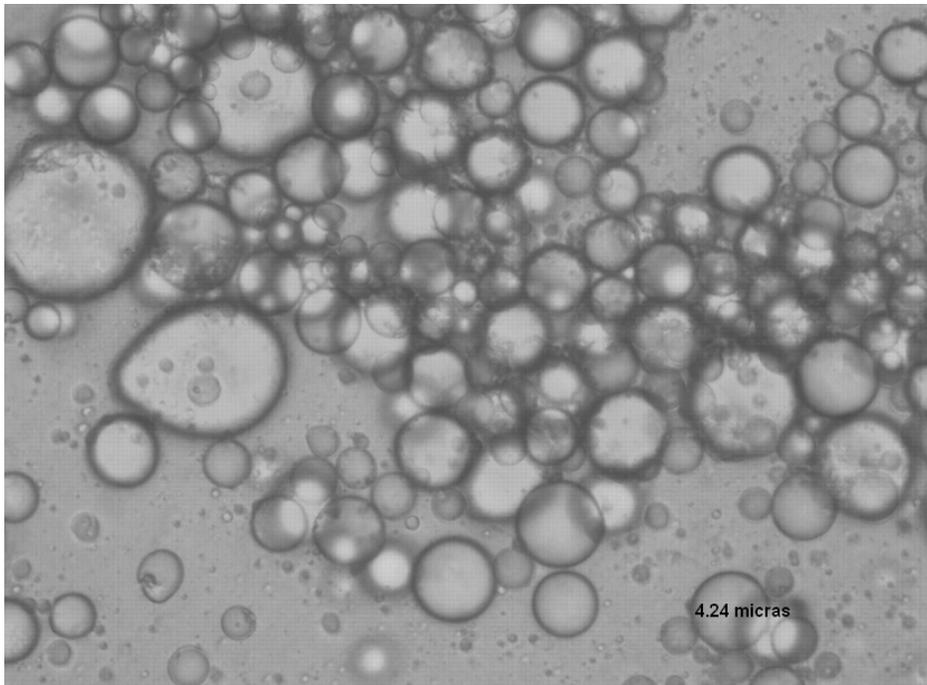


Figura 21. Emulsión agua/ácido oléico [10%]/lecitina [1%] pH 3, 40X.

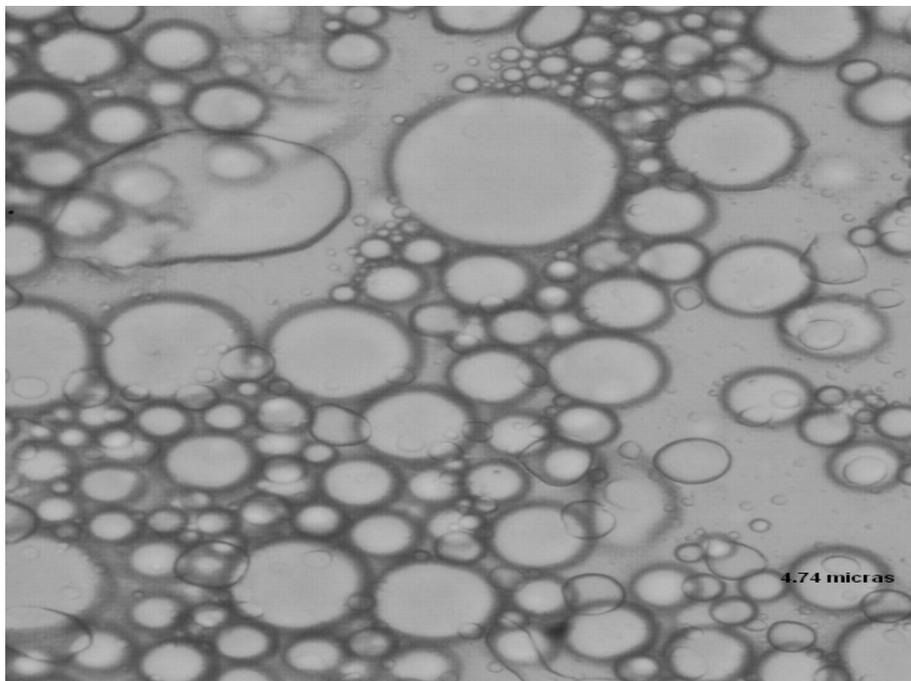


Figura 22. Emulsión agua/ácido oléico [20%]/lecitina [2%] pH 3, 40X.

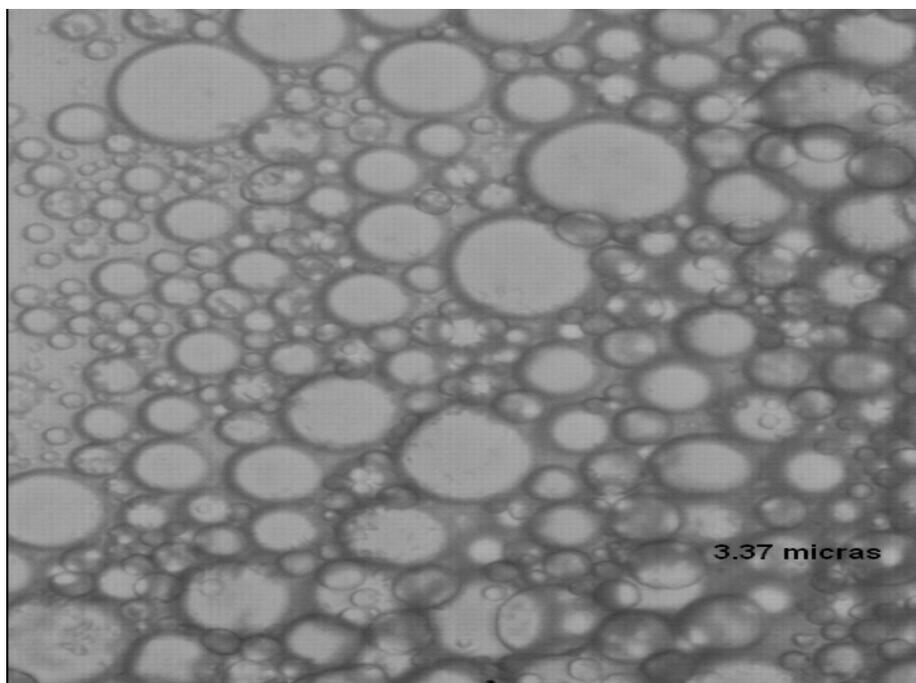


Figura 23. Emulsión agua/ácido oléico[10%]/lecitina [1%] pH 5, 40X.

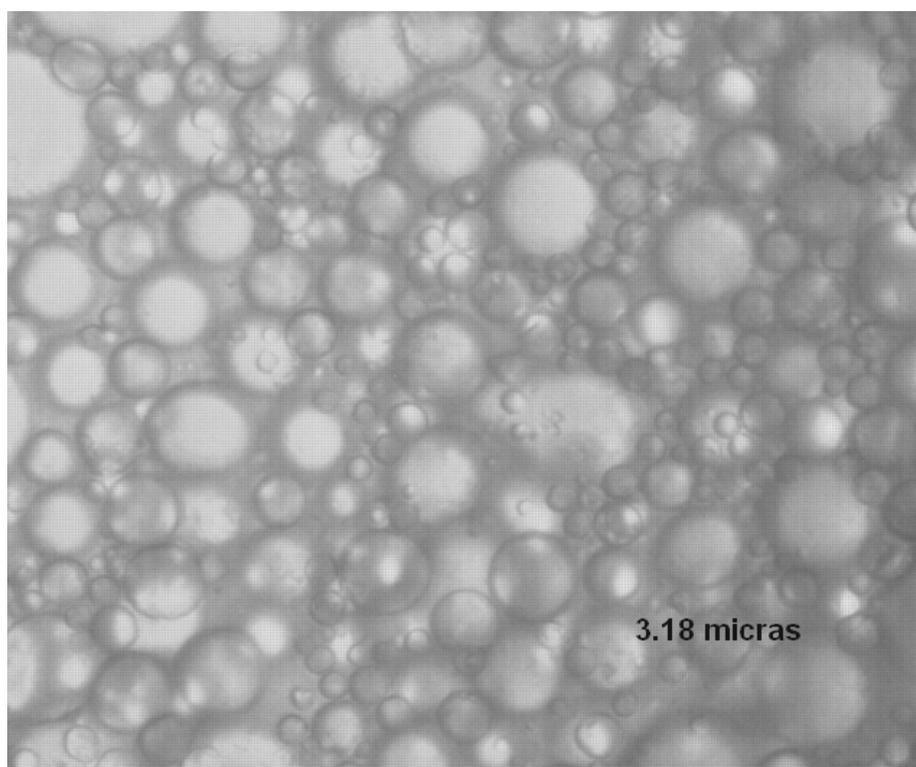


Figura 24. Emulsión agua/ácido oléico [20%]/lecitina [2%] pH 5, 40X.

La emulsión más estable según su % de aceite separado fue bajo condiciones de pH 5, lecitina [2%], ácido oléico [20%], mismo que se corrobora al analizar el tamaño de partícula presentado en las figuras anteriores.

♠ Caracterización reológica

Parámetros reológicos

Al agregar lecitina a la emulsión esta presentará un adelgazamiento puesto que la lecitina provoca este efecto, pero al mismo tiempo aumenta la viscosidad como puede observarse en la tabla 11, la consistencia del sistema es mayor cuando el % de concentración de la lecitina es mayor.

Tabla 11.- Parámetros reológicos emulsión Agua/ácido oléico/lecitina

emulsión A/AO/L	pH 3 [1%]	pH 3 [2%]	pH 5 [1%]	pH 5 [2%]
n [adimensional]	0.4646	0.571	0.9407	0.9599
K [n (Pa*s^n)]	0.0055	0.0064	0.0028	0.0069

A/AO/L= Agua/ác.oleico/lecitina

n = índice de comportamiento al flujo (adimensional)

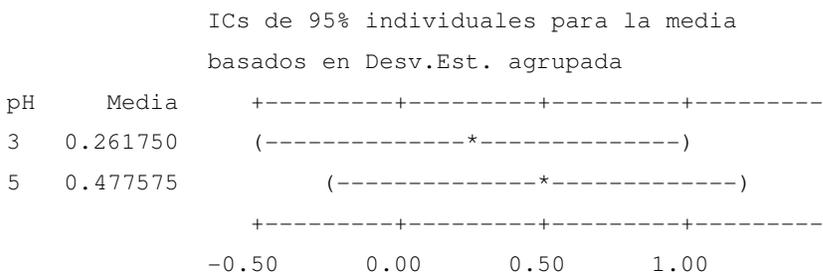
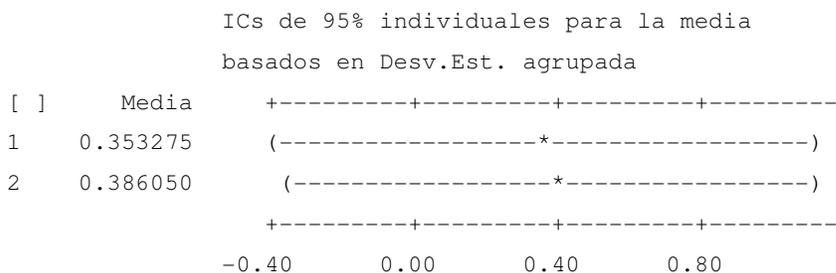
k = índice de consistencia [Pa*s^n]

Para la emulsión agua-ácido oléico-lecitina se obtuvieron los parámetros reológicos presentados en la tabla 11, estos datos se analizaron realizando un anova de dos factores para entender la interacción del cambio de concentración y pH y ver cual de las dos variables afecta en mayor o menor grado la emulsión y su comportamiento.

ANOVA de dos factores: n y K vs. [], pH

Fuente	GL	SC	MC	F	P
[]	1	0.00215	0.002148	0.01	0.936
pH	1	0.09316	0.093161	0.32	0.601
Interacción	1	0.00089	0.000893	0.00	0.958
Error	4	1.15894	0.289734		
Total	7	1.25514			

S = 0.5383 R-cuad. = 7.66% R-cuad.(ajustado) = 0.00%



Con los datos obtenidos del anova anterior podemos ver que entre las medias del pH existe una diferencia significativa en comparación con los cambios de concentración, por lo que podemos decir que el pH tiene mayor influencia en el comportamiento reológico de esta emulsión, y no la concentración como pudiera esperarse, este hecho ya lo describimos con anterioridad ya que tanto el tamaño

de partícula como la estabilidad de la emulsión no responden necesariamente a las concentraciones sino a los cambios de pH.

Los parámetros reológicos fueron analizados para esta emulsión dado a que aparentemente se podía tener un fluido pseudoplástico puesto que los valores de n obtenidos para la emulsión con condiciones de pH 3 son menores de 1, pero si observamos el gráfico 6 que describe su curva de flujo podemos ver que se comporta más como un newtoniano.

En ella podemos observar que en apariencia la emulsión se comporta como un fluido newtoniano (realizando un comparativo con la Figura 9), aunque la viscosidad (pendiente) no es constante para algunos valores del esfuerzo de cizalla (esfuerzo de corte), si lo es para la mayoría.

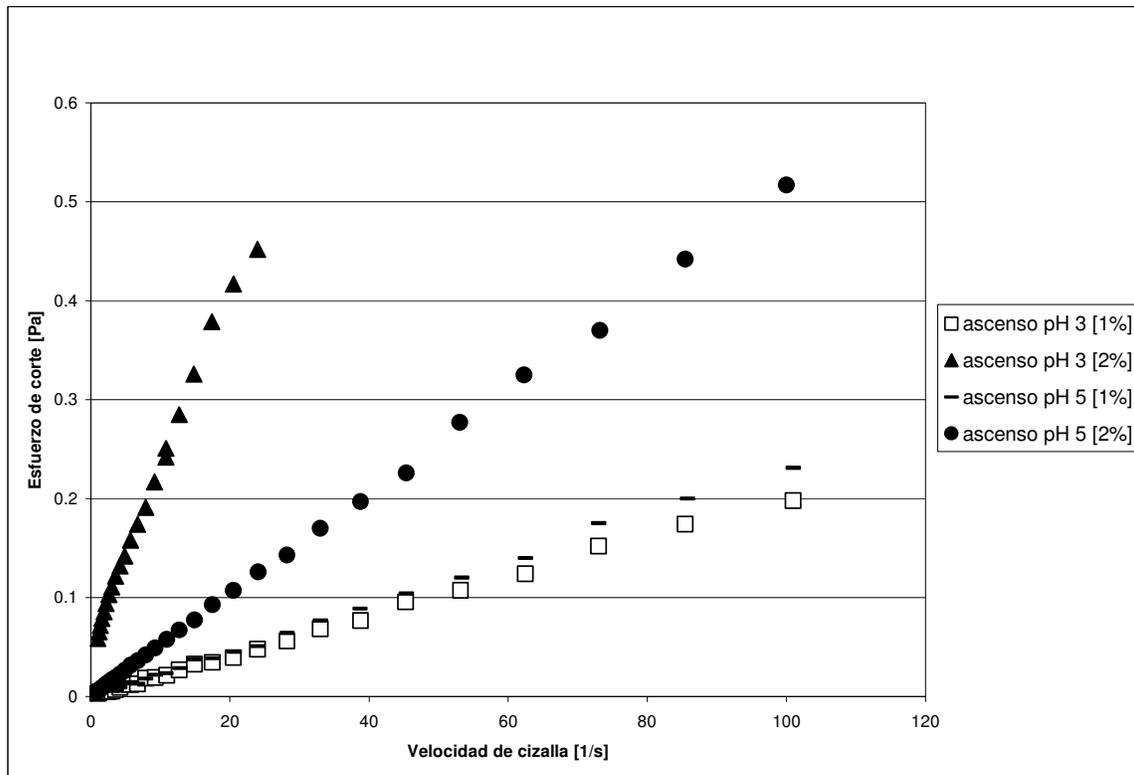


Gráfico 6. Curva de flujo emulsión Agua/ácido oléico/lecitina

♠ Viscosidad

La viscosidad de la emulsión bajo diferentes condiciones de pH y concentraciones se muestran en la tabla 12, en la cual se puede observar que la viscosidad mayor esta bajo condiciones de pH 3 [2%], como se muestra en el gráfico 6 ya que su curva corresponde a una de las que necesito un mayor esfuerzo de cizalla. Cabe señalar que todos los valores de viscosidad obtenidos son aún más pequeños que los obtenidos en la emulsión quitosán-ácido oléico.

Tabla 12. Viscosidad emulsión Agua/ácido oléico/lecitina

Condiciones	Emulsión A/AO/L
	Viscosidad aparente μ [Pa*s]
pH 3 Q [1%], ác.oléico [10%]	0.0068
pH 3 Q [2%], ác.oléico [20%]	0.0260
pH 5 Q [1%], ác.oléico [10%]	0.0023
pH 5 Q [2%], ác.oléico [20%]	0.0058

A/AO/L= agua/ác.oleico/lecitina; Q= Quitosán

Al observar el gráfico 6 y 7 podemos ver que se presenta un comportamiento un tanto arbitrario lo que podría ser resultado de una probable turbulencia provocada por su comportamiento tan fluido.

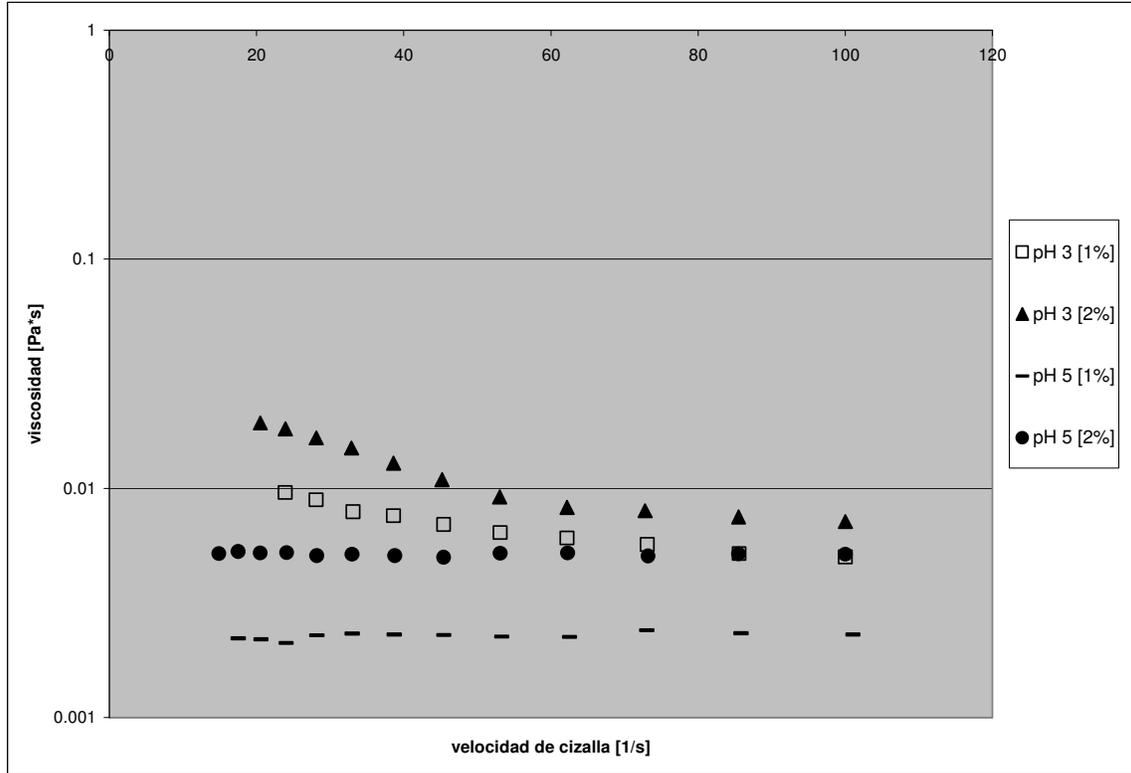


Gráfico 7. Curva de viscosidad emulsión Agua/ácido oléico/lecitina

La viscosidad permanece prácticamente constante aunque el fluido muestra una viscosidad en descenso bajo condiciones de pH 3 [2%], lo cual como ya lo mencionamos puede ser resultado de turbulencia del fluido en el proceso de cizallamiento.

Si realizamos un análisis comparativo de las viscosidades de la emulsión quitosán-ácido oléico y agua-ácido oléico-lecitina podemos ver que posee una mayor viscosidad la primera emulsión como se muestra en el gráfico 8 y su comportamiento es más homogéneo y constante.

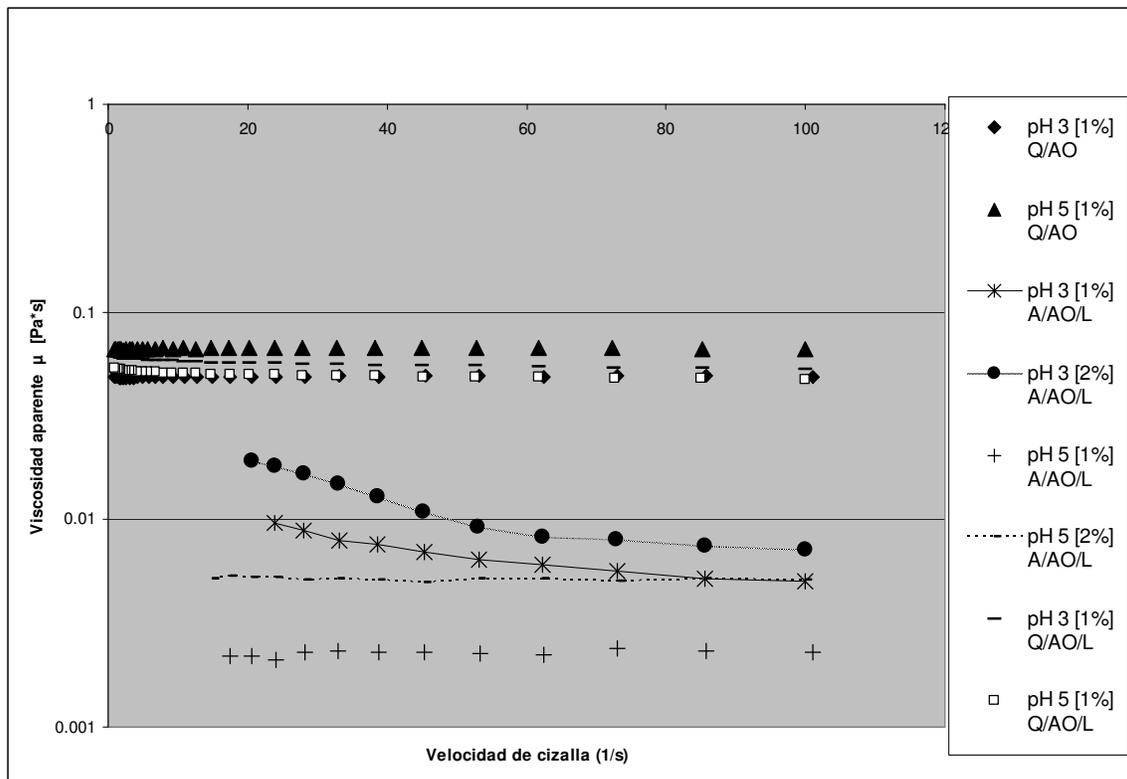


Gráfico 8. Curva comparativa de viscosidad emulsión quitosán-ácido oléico y emulsión agua/ácido oléico/lecitina.

OBJETIVO 3

EMULSIÓN QUITOSÁN-ÁCIDO OLÉICO-LECITINA DE SOYA

Para este objetivo se trabajó con una emulsión formada por quitosán (como medio acuoso), ácido oléico (medio oleoso) y lecitina de soya como surfactante, para analizar el efecto que tiene la emulsión con dos estabilizantes (quitosán y lecitina), utilizados en igual cantidad (tabla 7).

♠ Estabilidad

La separación de fases que experimentó la emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina se encuentra detallada en la tabla 13, así como su % de aceite separado.

Tabla 13. Observaciones emulsión quitosán/ácido oléico/lecitina

Quitosán-ácido oléico-lecitina	% aceite separado	Observaciones
pH 3 Q, L [1%], ácido oléico [20%]	0.0559	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite muy poco visible en la parte superior y una gran cantidad de sólidos en suspensión y poca cantidad de agua
pH 3 Q, L [2%], ácido oléico [20%]	0.0518	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite muy poco visible en la parte superior y una gran cantidad de sólidos en suspensión y poca cantidad de agua
pH 5 Q, L [1%], ácido oléico [20%]	0.0775	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite muy poco visible en la parte superior y una gran cantidad de sólidos en suspensión y poca cantidad de agua
pH 5 Q, L [2%], ácido oléico [20%]	0.0529	La emulsión se desestabilizó presentando una ligera capa de aceite muy poco visible en la parte superior y una gran cantidad de sólidos en suspensión y poca cantidad de agua

Q= Quitosán

L= Lecitina

Para cuantificar la estabilidad de la emulsión se utilizó la técnica de separación gravitacional y el uso de la ecuación 19 con la cual se obtuvieron los resultados de la tabla 13, la cual muestra el % de aceite separado de la emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina bajo sus diferentes condiciones de concentración y pH; en la cual se puede observar que el menor porcentaje de aceite separado corresponde a la emulsión a pH 3, quitosán y lecitina al [2%] y ácido oléico al [20%], lo que significa una mayor estabilidad bajo dichas condiciones y de manera distinta que en las dos primeras emulsiones el pH que favoreció a la emulsión con mayor estabilidad fue el 5 y con concentraciones de [2%] para el

surfactante y [20%] para el ácido oléico, en este caso en primera instancia favorece al sistema un medio ácido, es importante señalar que los % de aceite separado están muy por debajo de los % obtenidos en las dos primeras emulsiones lo que nos habla de una mayor estabilidad.

♠ Tamaño de la partícula

En la mayoría de los alimentos, los diámetros de las gotas suelen tener un orden entre 0.1 y 100 μm (Dickinson & Stainsby, 1982).

Los datos obtenidos de tamaño de partícula en micras de la emulsión se ven reflejados en el gráfico 1, en el cual podemos observar que en el intervalo va de 1 a ≤ 10 micras se encuentran las mayor cantidad de partículas; por lo que podemos decir que la emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina es una emulsión monodispersa, que es aquella que tienen un tamaño uniforme de gota (Dickinson, 1989). Por el tamaño de partícula también podemos determinar si la emulsión es estable ya que si lo es, ésta corresponde generalmente a una distribución de tamaños poco dispersa y con un máximo situado en diámetros pequeños (Mita y col., 1973; Dickinson, 1989), por lo que podemos decir que ésta emulsión es estable, y si regresamos a compara los datos tanto de % de aceite separado y tamaño de partícula observaremos que de las tres emulsiones analizadas, está es la más estable, aunque no muy por encima de la emulsión quitosán-ácido oléico.

Quizá al observar solo el gráfico 9 con detenimiento nos podemos percatar que la mayoría de las partículas son más pequeñas que las de las primeras dos emulsiones, pero al analizar sus respectivas imágenes de tamaño de partícula y comparar sus tamaños de partícula promedio no habrá duda alguna de que esta emulsión es la más estable.

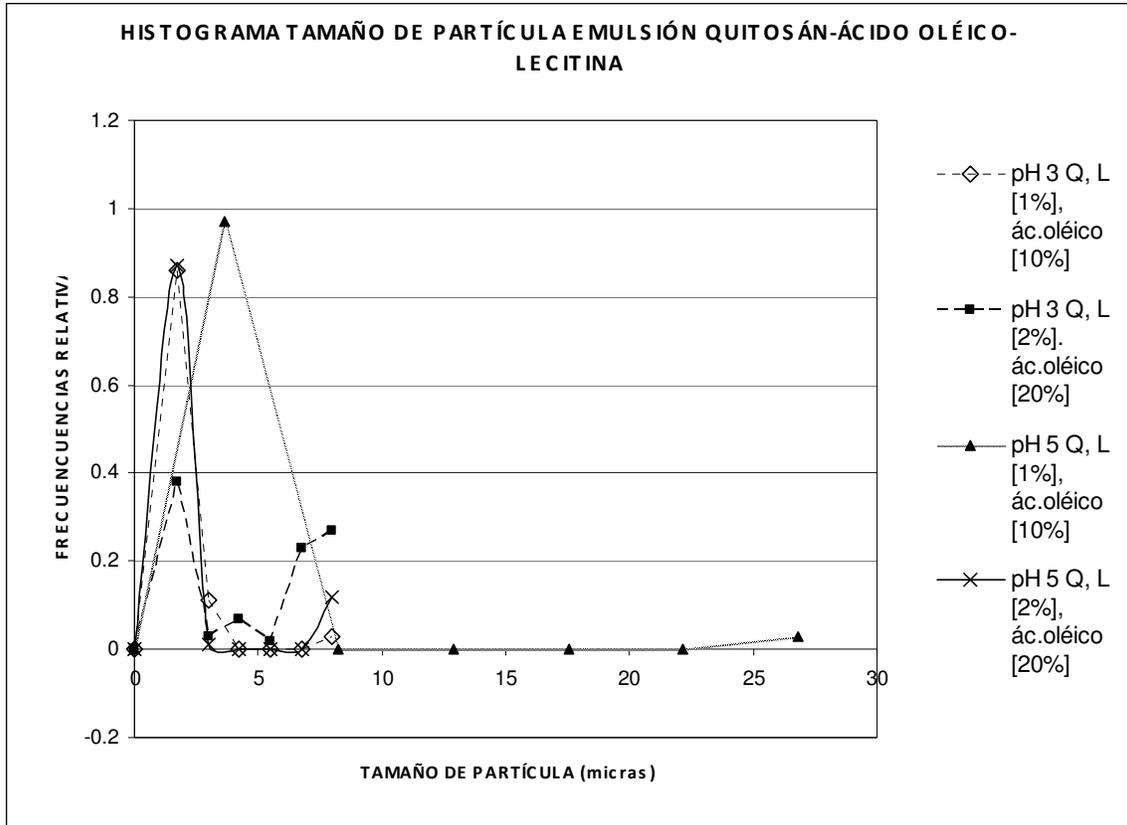


Gráfico 9. Tamaño de partícula emulsión Quitosán/ácido oléico/lecitina

Las siguientes figuras muestran el tamaño de partícula de la emulsión, así como sus tamaños de partícula promedio, a simple vista podemos darnos cuenta que el tamaño de partícula es mucho menor que en los casos anteriores.



Figura 25. Emulsión quitosán [1%]/ácido oléico [10%]/lecitina [1%] pH 3, 40X.

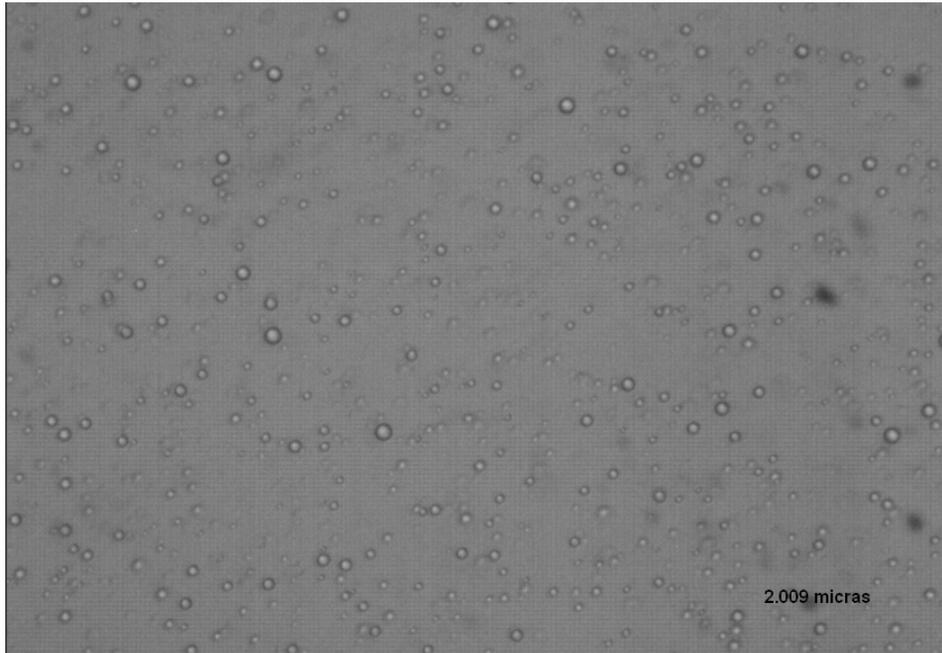


Figura 26. Emulsión quitosán [2%]/ácido oléico [20%]/lecitina [2%] pH 3, 40X.

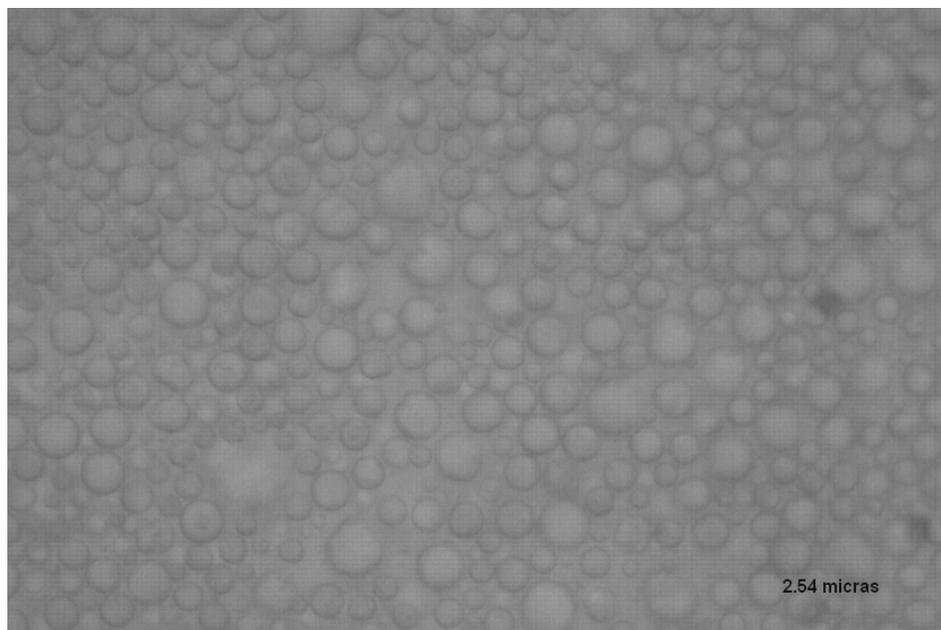


Figura 27. Emulsión quitosán [1%]/ácido oléico [10%]/lecitina [1%] pH 5, 40X.

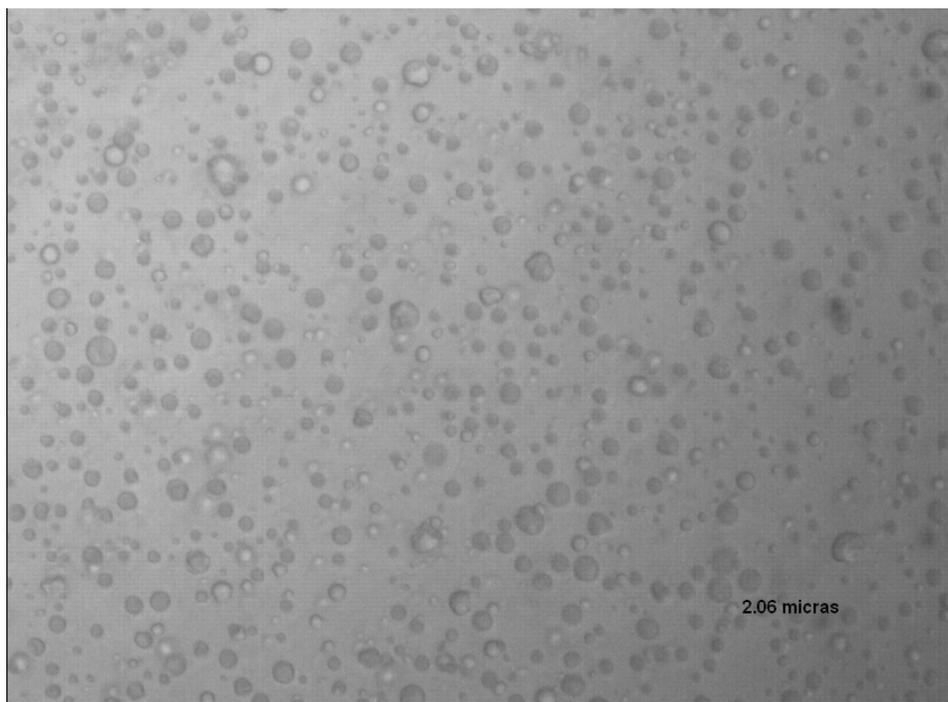


Figura 28. Emulsión quitosán [2%]/ácido oléico [20%]/lecitina [2%] pH 5, 40X.

La emulsión más estable según su % de aceite separado fue bajo condiciones de pH 3, quitosán y lecitina al [2%] y ácido oléico al [20%], la figura de la misma muestra gotas uniformes y mucho más pequeñas que en las otras emulsiones estudiadas en objetivos anteriores, aunque en general bajo todas las condiciones se mostraron estables.

♠ Caracterización reológica

Parámetros reológicos

Tabla 14.- Parámetros reológicos emulsión Quitosán/ácido oléico/lecitina

emulsión	pH 3	pH 3	pH 5	pH 5
Q/AO/L	[1%]	[2%]	[1%]	[2%]
n [adimensional]	0.7566	0.839275	0.84915	0.85505
K [n (Pa*s ⁿ)]	0.2496	0.652575	0.165075	0.64945

Q/AO/L= Quitosán/ác.oleico/lecitina

n = índice de comportamiento al flujo (adimensional)

k = índice de consistencia [Pa*sⁿ]

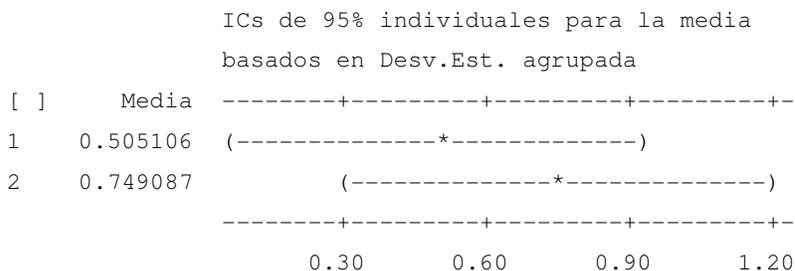
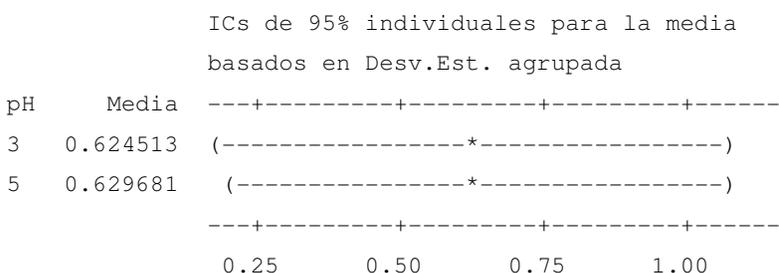
Para la emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina bajo todas las condiciones manejadas, sus valores de n se acercan a 1 aunque en ningún caso es igualado. Al igual que en la emulsión de agua-ácido oléico-lecitina, se realizó un anova de dos factores a los datos obtenidos de los parámetros reológicos para analizar la influencia que ejerce sobre la emulsión y su comportamiento la concentración de sus diferentes componentes y la variación de pH.

En los resultados del anova podemos verificar que el comportamiento reológico de esta emulsión esta regido prácticamente por su concentración y no por los cambios de pH.

ANOVA de dos factores: n y K vs. pH, []

Fuente	GL	SC	MC	F	P
pH	1	0.000053	0.000053	0.00	0.983
[]	1	0.119054	0.119054	1.19	0.337
Interacción	1	0.000003	0.000003	0.00	0.996
Error	4	0.401068	0.100267		
Total	7	0.520178			

S = 0.3166 R-cuad. = 22.90% R-cuad.(ajustado) = 0.00%



A continuación se muestra en el gráfico 10 la curva de flujo de la emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina, en la cual podemos ver el comportamiento del fluido con respecto a la velocidad de cizalla y podemos tener una idea más clara de su comportamiento reológico complementando la información obtenida tanto de la tabla 14 como del anova de dos factores.

En ella podemos observar que la emulsión se comporta como un fluido newtoniano (realizando un comparativo con la figura 9), y de consistencia más homogénea que en las emulsiones anteriores, la viscosidad es prácticamente constante como se describe en el gráfico 11.

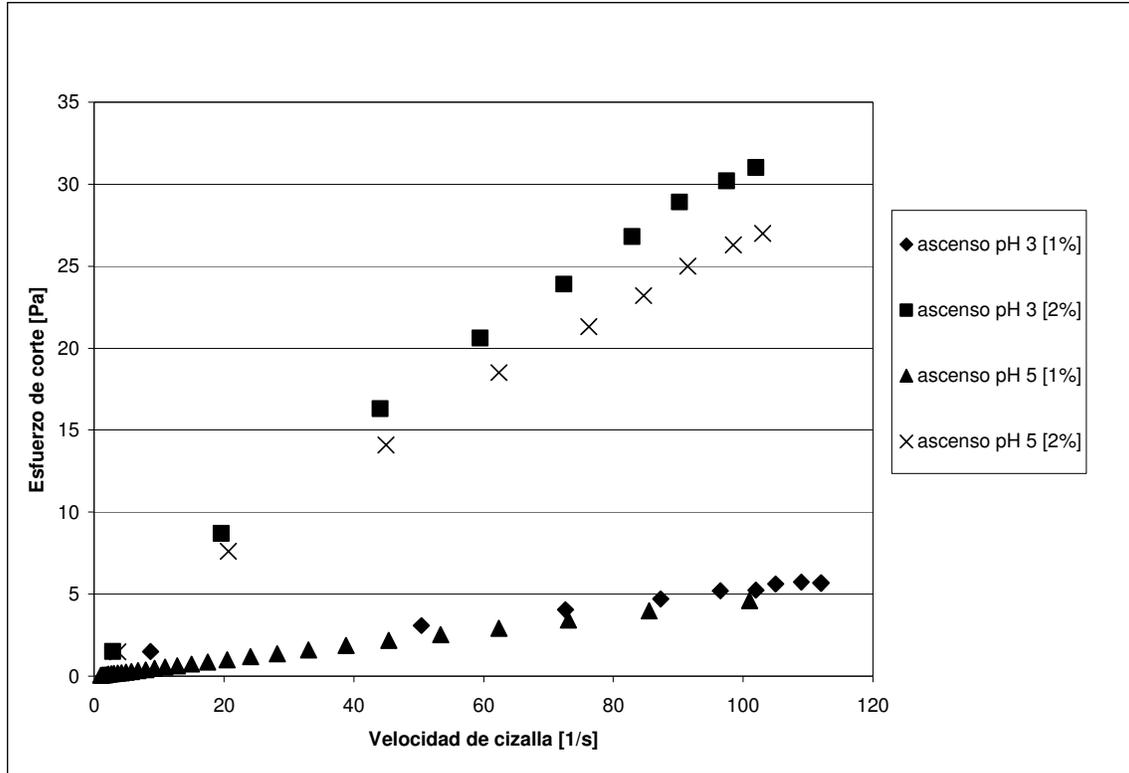


Gráfico 10. Curva de flujo emulsión Quitosán/ácido oléico/lecitina

Aunque el gráfico 10 y los parámetros reológicos demuestran que esta emulsión al igual que las dos anteriores presenta un comportamiento newtoniano y a pesar de su baja viscosidad (aunque en comparación con las dos anteriores es alta), su comportamiento es más estable y homogéneo, mismo que se demuestra por su tamaño de partícula, consistencia y comportamiento al flujo.

♠ Viscosidad

La viscosidad de la emulsión bajo diferentes condiciones de pH y concentraciones se muestran en la tabla 15, en la cual se puede observar que la viscosidad mayor esta bajo condiciones de pH 3, quitosán y lecitina al [2%] y ácido oléico al [20%], como se muestra en el gráfico 11.

Tabla 15. Viscosidad emulsión Quitosán/ácido oléico/lecitina

Condiciones	Emulsión Q/AO/L
	Viscosidad aparente μ [Pa*s]
pH 3 Q [1%], ác.oléico [10%]	0.0572
pH 3 Q [2%], ác.oléico [20%]	0.3921
pH 5 Q [1%], ác.oléico [10%]	0.0249
pH 5 Q[2%], ác.oléico [20%]	0.3861

Q/AO/L= Quitosán/ác.oleico/lecitina; Q= Quitosán

Las viscosidades de la emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina están muy por encima de las dos emulsiones anteriores y su comportamiento como puede observarse en el siguiente gráfico es más homogéneo y constante, salvo por el ligero descenso que se muestra bajo condiciones de pH 5, quitosán y lecitina al [2%] y ácido oléico al [20%] y pH 3, quitosán y lecitina al [2%] y ácido oléico al [20%] , pero en general la viscosidad permanece constante.

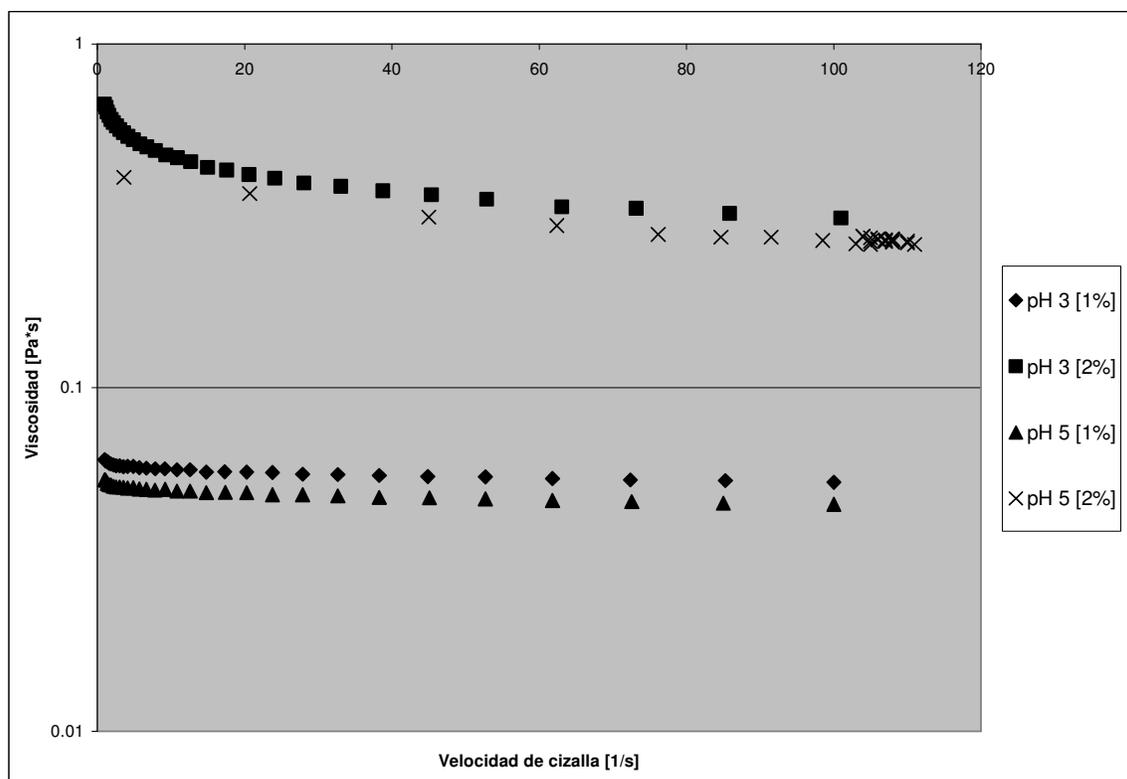


Gráfico 11. Curva de viscosidad emulsión Quitosán/ácido oléico/lecitina

El gráfico 11 muestra la viscosidad de la emulsión bajo diferentes condiciones, podemos observar que las emulsiones con 10% de ácido oléico posee una menor viscosidad dado la baja cantidad de ácido oléico, como es lógico puesto que a mayor concentración de ácido oléico mayor es la viscosidad por las mismas propiedades del ácido oléico.

DISCUSIÓN

Después de analizar las emulsiones cada una por separado y entre la primera (quitosán-ácido oléico) y la segunda (agua-ácido oléico-lecitina), en este apartado analizaremos de manera global el comportamiento de cada una de las emulsiones incluida la tercera (quitosán-ácido oléico-lecitina) y su comparación entre si.

ESTABILIDAD

El gráfico 12 muestra el comportamiento de todas las emulsiones analizadas con respecto al porcentaje de aceite separado, en él podemos observar que los % mínimos de aceite separado pertenecen a la emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina bajo cualquiera de sus condiciones, lo que representa una mayor estabilidad, lo que respalda lo que con anterioridad se describió con respecto a la estabilidad de las emulsiones; en tanto que el caso contrario de un mayor % de aceite separado se encuentra en la emulsión agua-ácido oléico-lecitina, lo que representa una menor estabilidad y nos demuestra la capacidad emulsificante y estabilizante del quitosán.

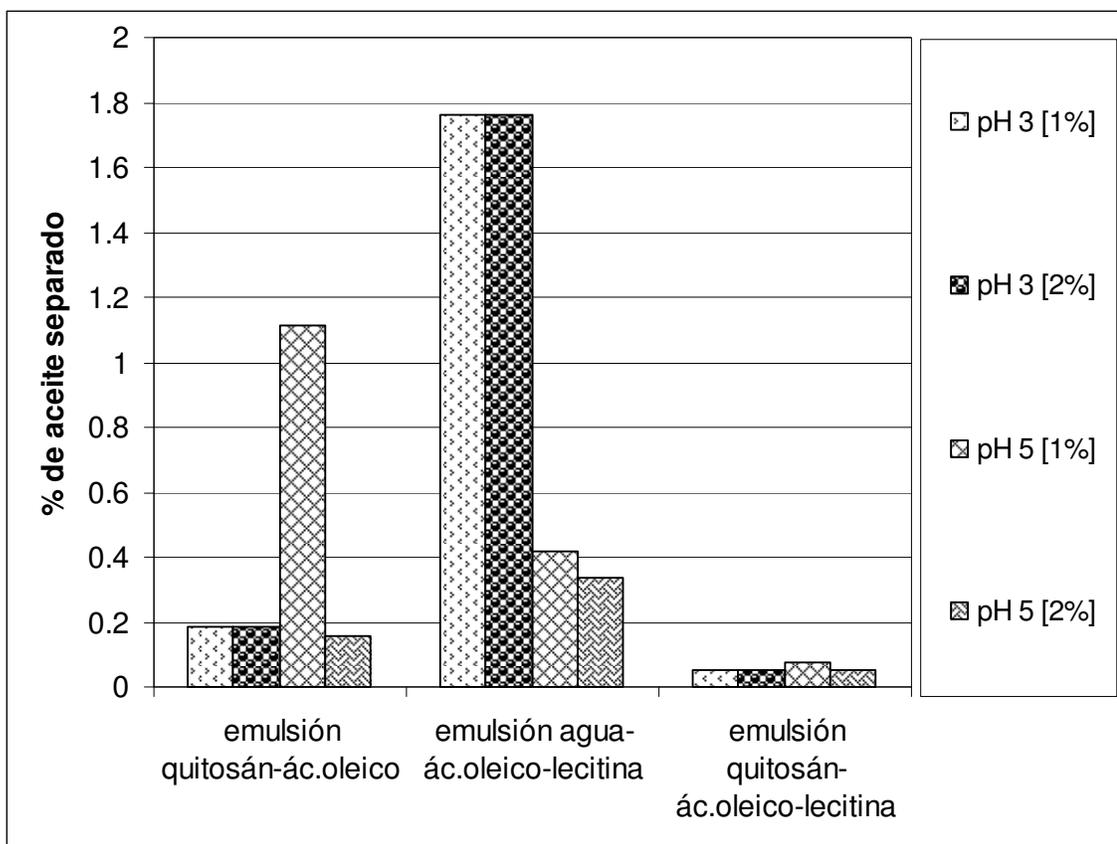


Gráfico 12. % de aceite separado global.

El % de aceite separado fue bajo en la emulsión que no tenía quitosán, pero este porcentaje disminuye considerablemente al agregar a la emulsión lecitina de soya (surfactante) lo que significa que entre la lecitina y el quitosán hay una buena afinidad por lo que las emulsiones de quitosán-ácido oléico-lecitina son más estables en consecuencia, en el caso de la emulsión de quitosán-ácido oléico las emulsiones bajo cualquiera de sus condiciones presentan % de aceite separado muy parecidos; en tanto que en la emulsión de quitosán-ácido oléico-lecitina los valores son muy similares en todas sus condiciones.

TAMAÑO DE PARTÍCULA

La tabla 16 presenta solo promedios de tamaño de partícula calculados a partir de la ecuación 3. En ella podemos ver en la primera columna las condiciones de cada una de las emulsiones analizadas, siendo Q= quitosán y L=lecitina, se

colocan como abreviaturas y se detonan Q ó L, es decir la concentración de quitosán ó lecitina según sea el caso de cada emulsión.

En ella podemos ver que los tamaños más pequeños corresponden a la emulsión de quitosán-ácido oléico-lectina, como ya se había observado claramente en las figuras correspondientes para esta emulsión, bajo cualquiera de sus condiciones; en la tabla se señalan con negritas los valores de tamaño de partícula más pequeños en todas las emulsiones.

Los tamaños de partícula de las emulsiones quitosán-ácido oléico y agua-ácido oléico-lectina son muy cercanos entre si para las emulsiones con pH 5, aunque en cuestión de estabilidad la primera emulsión muestra una mayor estabilidad con respecto a la segunda, lo que nos dice que el quitosán puede cumplir en una emulsión con las mismas funciones que la lecitina.

Mientras que los valores del tamaño de partícula de la emulsión quitosán-ácido oléico-lectina están muy por debajo lo que indica una mayor estabilidad como se pudo apreciar en el gráfico 12.

Tabla 16. Tabla comparativa tamaño de partícula

CONDICIONES	EMULSION QUITOSÁN/ÁC. OLÉICO	EMULSIÓN AGUA/ÁC. OLÉICO/LECTINA	EMULSIÓN QUITOSÁN/ÁC. OLÉICO/LECTINA
pH 3, Q ó L [1%], ác. oléico [10%]	3.73 micras	4.24 micras	2.35 micras
pH 3, Q ó L [2%], ác. oléico [20%]	3.70 micras	4.79 micras	2.009 micras
pH 5, Q ó L [1%], ác. oléico [10%]	3.93 micras	3.37 micras	2.54 micras
pH 5, Q ó L [2%], ác. oléico [20%]	3.22 micras	3.18 micras	2.06 micras

El tamaño de partícula y la estabilidad de las emulsiones están íntimamente relacionados ya que a mayor estabilidad menor tamaño de partícula y viceversa y con el análisis tanto del gráfico 12 como de la tabla 16 lo podemos corroborar.

CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA

El comportamiento de flujo de algunas emulsiones muy diluidas puede ser caracterizado por un solo parámetro, la viscosidad newtoniana. En donde existe una relación lineal entre el esfuerzo de cizalla y velocidad de cizalla.

Solo unas cuantas emulsiones alimenticias corresponden a este comportamiento pues la mayoría poseen un comportamiento No-Newtoniano (Sherman, 1968), en este caso la emulsión obtenida fue newtoniana pues el principal punto de este trabajo fue únicamente estudiar la capacidad emulsificante y estabilizante del quitosán y no el de obtener una consistencia como tal de aderezo, pero si se espera una futura utilización para la caracterización de tal sistema alimenticio.

En la tabla 17 se presentan los valores de las viscosidades obtenidas de las emulsiones experimentales y en ella se puede apreciar que se trata de valores muy bajos por lo descrito anteriormente; los valores más altos de viscosidad se presentan en la emulsión quitosán-ácido oléico-lectina razón por la cual se comporta de una manera más estable.

Tabla 17. Viscosidad aparente emulsiones experimentales

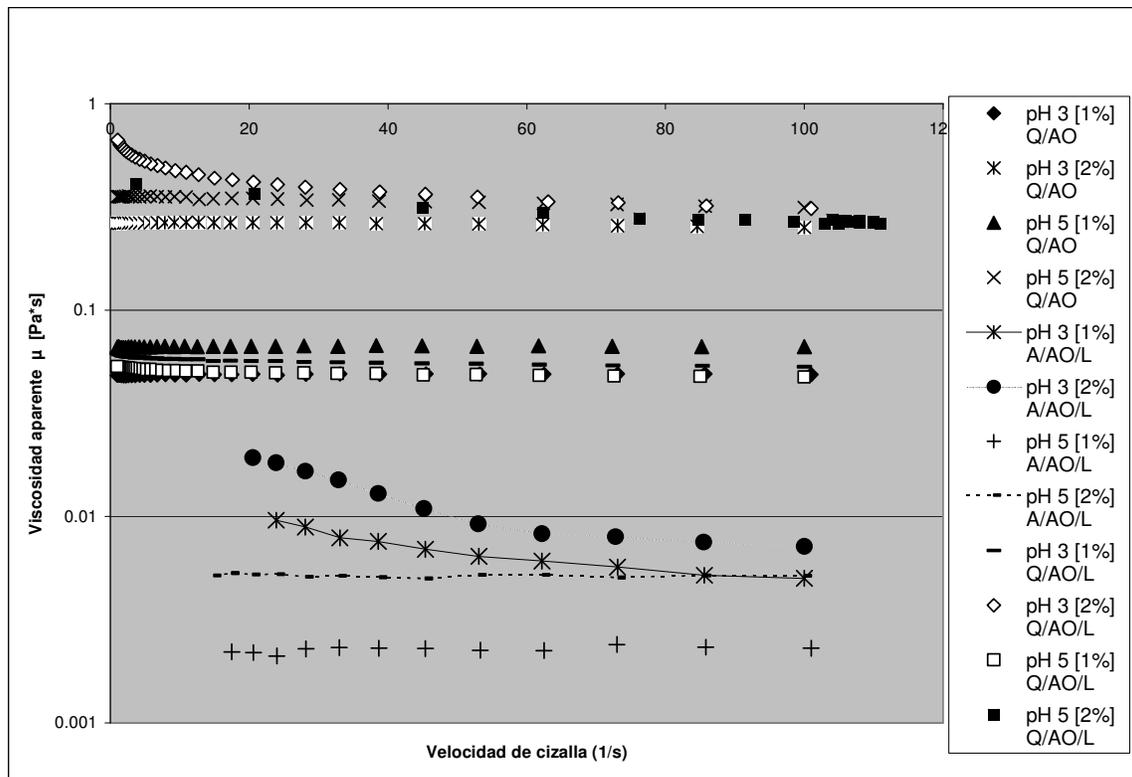
Condiciones	Emulsión Q/AO	Emulsión A/AO/L	Emulsión Q/AO/L
	μ [Pa*s]	μ [Pa*s]	μ [Pa*s]
pH 3 [1%]	0.0498	0.0068	0.0572
pH 3 [2%]	0.2881	0.0260	0.3921
pH 5 [1%]	0.0641	0.0022	0.0249
pH 5 [2%]	0.3570	0.0058	0.3861

Q/AO= Quitosán/ác.oleico; A/AO/L= agua/ác.oleico/lectina; Q/AO/L= Quitosán/ác.oleico/lectina

La emulsión de agua-ácido oléico-lectina fue la emulsión más diluida que se obtuvo en la experimentación, aunque tanto la emulsión de quitosán-ácido oléico y la de quitosán-ácido oléico-lectina también presentaron una menor viscosidad,

las tres presentaron un valor por lo general constante de viscosidad por lo que podemos decir que presentan un comportamiento Newtoniano.

Nuevamente los valores de la viscosidad de las emulsiones quitosán-ácido oléico y quitosán-ácido oléico-lectina que son muy similares evidencian la afinidad o sinergismo entre quitosán y lecitina, ya que la viscosidad aumenta considerablemente al adicionar lecitina a la emulsión quitosán-ácido oléico, como se puede observar en el gráfico 13.



Q/AO = Quitosán-ácido oléico; A/AO/L = Agua-ácido oléico-lectina; Q/AO/L = Quitosán-ácido oléico-lectina

Gráfico 13. Comparativo de viscosidades aparentes

Retomando la información de antecedes que se tiene acerca del quitosán y sus propiedades como emulsificante y estabilizante podemos contrastar los resultados obtenidos con dicha evidencia bibliográfica para poder concluir sobre estos temas.

En el trabajo de Del Blanco y colaboradores acerca de la influencia del grado de desacetilación en las propiedades emulsificantes del quitosán, se estudiaron las funciones del quitosán con diferentes grados de desacetilación en una emulsión polidispersa agua/aceite/agua y con grados de desacetilación para el quitosán de entre 73% y 95%. A la emulsión obtenida se le determinó el tamaño y distribución de glóbulo, conductividad y viscosidad de la emulsión, concluyendo que el grado de desacetilación no es determinante en las propiedades de emulsificación del quitosán, pero con un quitosán con alto grado de desacetilación se obtendrá una capacidad emulsificante más efectiva, el grado de desacetilación recomendado para una emulsión de aceite de girasol y quitosán está entre 80 y 89% con dos valores óptimos 81 y 88%; cabe señalar que para otros tipos de aceites se requerirá de diferentes grados de desacetilación para la obtención de una emulsión óptima (Del Blanco, 1999).

El grado de desacetilación que se obtuvo para la experimentación de este trabajo fue mucho más bajo que el recomendado (71.98%) lo que no impidió que el quitosán cumpliera con su propiedad emulsificante, además de que el aceite utilizado fue de cártamo que es el que posee un mayor % de ácido oléico, No se obtuvo un % más alto del grado de desacetilación puesto que las condiciones del equipo utilizado no lo permitieron así, si esto se hubiese logrado muy probablemente la capacidad emulsificante del quitosán habría aumentado considerablemente.

En el trabajo de Rodríguez y colaboradores, se estudió la capacidad de emulsificación del quitosán. Se indica que el quitosán produce emulsiones polidispersas agua/aceite/agua muy estables y se concluye que a un grado de desacetilación alto y bajo se presenta una distribución unimodal del tamaño del glóbulo y que está independiente de la viscosidad de la solución de quitosán y de la viscosidad de la emulsión, y que la estabilidad de la emulsión es proporcional a la concentración del quitosán (Rodríguez, 2002).

Las emulsiones obtenidas experimentalmente para este trabajo fueron consideradas monodispersas puesto que la mayoría de sus partículas eran de

un tamaño uniforme, aunque en algunos casos algunas de las partículas eran mucho más grandes que la mayoría pero no se tomaron en cuenta para definir a que tipo de emulsión pertenecían, pues de 100 solo un par o hasta 5 tenían un tamaño muy disparado o alto.

El quitosán utilizado en este trabajo fue con un grado de desacetilación de 71.98% y presentó una distribución unimodal del tamaño de glóbulo y en el caso de todas las emulsiones experimentales la concentración del quitosán jugó un papel fundamental en la estabilidad de la emulsión ya que en concentración [2%] con pH 3 y 5 se mostró una mayor estabilidad.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos durante la experimentación, se concluyó que:

El quitosán provee de estabilidad a las emulsiones formadas con quitosán-ácido oléico, siendo mayor la estabilidad bajo condiciones de pH 5, quitosán al [2%] y ácido oléico al [20%], además al agregar lecitina a la emulsión, las mejores condiciones se presentan bajo pH 3 quitosán-lecitina al [2%] y ácido oléico al [20%], siendo claro que la mayor estabilidad en todos los casos es a mayor cantidad de ácido oléico (20% v/v) y mayor cantidad de quitosán [2% p/v].

Las mejores condiciones para la emulsión quitosán-ácido oléico-lecitina se presentaron bajo un pH de 3, lo que es importante para una futura aplicación en aderezos ya que la NMX-F-341-S-1979 (Lissant, 1984) marca que un aderezo debe tener un límite mínimo de acidez de pH 3.2 y un máximo de 4.0

Al agregar a la emulsión quitosán-ácido oléico, lecitina de soya, aumentan la estabilidad y viscosidad siendo mayor el aumento bajo condiciones de pH 3 y concentración de 20% v/v ácido oléico y 2% p/v quitosán, lo que indica un sinergismo entre quitosán y lecitina, evidenciado por el aumento de la estabilidad, viscosidad y disminución del tamaño de partícula en las emulsiones,

además de que al realizar los análisis individuales podemos ver que en ausencia de lecitina en la emulsión quitosán-ácido oléico su comportamiento es muy similar a la emulsión con quitosán y lecitina; por lo que podemos concluir que el quitosán efectivamente posee capacidad emulsificante, estabilizante y que además es muy similar su comportamiento al de la lecitina de soya.

De acuerdo al tamaño y distribución de las partículas el quitosán puede formar emulsiones monodispersas estables.

Se comprueba que el quitosán forma emulsiones ligeramente no Newtonianas según la concentración del mismo y en presencia de lecitina la viscosidad aumenta y en consecuencia su estabilidad aumenta.

Se comprueba que la concentración del quitosán juega un papel muy importante en la formación de emulsiones, a mayor concentración de quitosán mayor será la viscosidad y estabilidad de la emulsión y viceversa.

Se recomienda utilizar quitosán con alto grado de desacetilación y en alta concentración para obtener mejores resultados en cuanto a su capacidad emulsificante y estabilizante.

REFERENCIAS:

1. Aguilera, J.M., Stanley, D.W., 1990. "Microstructural Principles of Food processing and Engineering". Elsevier, Amsterdam.
2. Alvarado, 2001."Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos". Ed. Acribia, Zaragoza.
3. Badui, D.S. 2006. "Química de los alimentos". 4 ed. Pearson, México.
4. Bengoechea, 2006. "Estudio reológico de emulsiones alimentarias estabilizadas con proteínas vegetales". Tesis Doctorado, Universidad de Sevilla, Facultad de Química. Sevilla, España.
5. Benjakul, S., Visessanguan, W., Tanaka, M., Ishizake, S., Suthidham, R., & Sunpech, O. 2000. "Effect of chitin and chitosan on gelling properties of surimi from carred garfish (hemiramphus far)". Journal of Science of Food and Agriculture, 81, 102-108.
6. Cabra Ledesma. 2002. "Identificación y estudio de las proteínas del gluten de maíz involucradas en la estabilización de emulsiones de aceite en agua". Tesis Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF.
7. Charalambous & Doxastakis, G. 1989. "Food Emulsifier Chemistry Technology, Functional Properties and Application". Ed. New York: Elsevier.
8. Cubero, N, A & Villalta, J 2002, "Aditivos alimentarios", Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
9. Del Blanco, L. F., Rodríguez, M.S., Schulz, P.C. & Agulló, E. 1999."Influence of the deacetylation degree on chitosan emulsification properties". Colloid Polymer Science, 277, 1087-1092.
10. Dickinson, E, Stainsby, J., 1982. "Colloids in foods", Applied Science Publishers, Londres.
11. Dickinson, E., Flint, F., O., Hunt, J.A., 1989. "Bridging flocculation in binary protein stabilized emulsions", Food Hydrocolloids, 3, 389.

12. Dickinson, E., Hunt, J.A., Horne, D. S. 1992. "Calcium induced flocculation of emulsions containing absorbed β -casein or phosvitin". Food Hydrocolloids, 6, 359.
13. Dickinson, E 2003. "Hydrocolloids of interfaces and the influence on the properties of dispersed systems": Food hydrocolloids. 17, 25-39.
14. Fennema, 1996. "Food chemistry". Third edition. Edited by Owen R.
15. Fennema, 1985. "Introducción a la ciencia de los alimentos". Tomo 2, Ed. Reverté. Barcelona.
16. Fennema, 2000. "Química de los alimentos". 2da. Edición. Ed. Acribia, Zaragoza.
17. Flint, 1996. "Microscopía de los alimentos". Ed. Acribia, Zaragoza.
18. Geankoplis, 1998. "Procesos de transporte y operaciones unitarias". 3ra. Edición. Ed. Compañía Editorial Continental, México.
19. Hart, 1991. "Análisis modernos de los alimentos". Ed. Acribia, Zaragoza.
20. Kinsman, 1969. "Electrical resistance method for automated counting of particles". Ed. Ann, New York.
21. Larsson, 1997. "Food emulsions" 3era. Edición. Ed. Marcel Dekker. New York.
22. Lewis, 1993. "Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado". Ed. Acribia, Zaragoza.
23. Lissant, 1984. "Síntesis; auxiliares y aditivos, procesado y acabo". Ed. Marcel Dekker. New York.
24. Loera Rivera, 2006. "Efecto de la relación proteína-hidrocoloide en la estabilidad de emulsiones aceite-agua". Tesis licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF.
25. Majeti N.V. Ravi K., 2000. "A review of chitin and chitosan applications". Reactive & Fuctional Polymers. 46 1-27
26. Matsumoto, K.S., Guerrero I. & Hall G.M. 1996. "La quitina: ocurrencia, propiedades y aplicaciones". Ciencia, 47, 317-328.
27. Mc Clements, 1999. "Food emulsions principles, practices, and techniques". 2da. Edition. Ed. New York: CRC Press.

28. Mc Clements, 2004. "Food emulsions principles, practices, and techniques". 2da. Edition. Ed. New York: CRC PRESS.
29. Mita T., Yamada, K., Matsumoto, S., Yonezawa D.S., 1973. "Texture stud", 4, 41.
30. Mohammad R., Joseph Azul, Gerar Charlet, 2000. "Intrinsic viscosity-molecular weight relationship for chitosan". Journal of polymer science, 38,2591-2598.
31. Orr, C. 1988. "Encyclopedia of Emulsion Technology", Vol. 3. Ed. Marcel Dekker, New York.
32. «Chitosano; Poly-D-glucosamine (128930) Fact Sheet». US Environmental Protection Agency (May 2nd de 2006). Consultado el 2010-01-06. Disponible en:
http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2006/yaipen_chj/html/TH.2.html
33. Robles, 2003. "Reología y textura de materiales biológicos: propiedades reológicas de una pulpa de mango. Influencia de la concentración y la temperatura". Trabajo de seminario, licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuautitlan Izcalli, Edo. México.
34. Rinaudo, M.; Milas, M.; Dung, P.L., 1993."Biol macromol". 15, 281-285.
35. Rodríguez, M.S Albertengo, L.A. & Agulló, E. 2002. "Emulsification capacity of chitosan". Carbohydrate Polymers, 48, 271-276.
36. Saehun Mun. Decker, D. McClements. 2005. "Effect of molecular weight and degree of deacetylation of chitosan on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan membranes". Colloid and Interface Science, 296, 581-590.
37. Sandford, P. 1989. "Chitosan: commercial uses and potential applications. Pp. 51-69. In: G Skjak-Braek, T. Anthosen, & Stanford (Eds). "Chitin and chitosan. Sources, chemistry, Biochemistry, Physical properties and applications". Elsevier Applied Science. New York, USA. 835 p.
38. Salager. & Fernández. 2004. "Surfactantes generalidades y materias primas (cuaderno FIRP # 301PP)".Ed. FIRP, Escuela de Ingeniería Química Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela.

39. Shahidi, F. and Synowiecki, J. (1991). «Isolation and characterization of nutrients and value-added products from snow crab (*Chionoecetes opilio*) and shrimp (*Pandalus borealis*) processing discards» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 39. n.º 8. pp. 1527-1532. American Chemical Society.
40. Shahidi, F., Kamil, J.K., Jeon, Y., & Kim, S. 2001. "Antioxidant role of chitosan in a cooked cod (*Gadus morhua*) model system". *Journal of Food Lipids*, 9, 57-64.
41. Sherman, P. 1968. "Rheology of emulsions". *Emulsions science*, Academy press. Londres.
42. Shulz, P.C., Rodríguez. M.S., Del Blanco. L.F., Pistonesi, M. & Agulló, E. 1998. "Emulsification properties of chitosan". *Colloid Polymer Science*, 276, 1159-1165.
43. Tscheuschner, 2001. "Fundamentos de tecnología de los alimentos". 2 ed. Ed. Acribia, Zaragoza.
44. Wong, 1995. "Química de los alimentos: mecanismos y teoría". Ed. Acribia, Zaragoza.