



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**PROPIEDADES REOLÓGICAS DE  
PROTEÍNAS DE SUERO LÁCTEO  
Y POLISACÁRIDOS GELIFICANTES  
Y ESPESANTES**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA  
**MARÍA KARINA VÁZQUEZ  
REYES**



**MÉXICO DF**

**2011**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: JOSEFINA ESPERANZA VIADES TREJO**

**VOCAL: ALBERTO TECANTE CORONEL**

**SECRETARIO: AGUSTÍN REYO HERRERA**

**1er. SUPLENTE: AMELIA MARÍA DE GUADALUPE FARRES  
GONZALEZ SARAVIA**

**2° SUPLENTE: JOSÉ GULLERMO DE JESUS  
AGUILAR OSORIO**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

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

**ASESOR DEL TEMA:**

**Dr. ALBERTO TECANTE CORONEL.**

\_\_\_\_\_

**SUPERVISOR TÉCNICO:**

**I. A. MARIANA RAMIREZ GILLY.**

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE (S):**

**MARÍA KARINA VÁZQUEZ REYES.**

\_\_\_\_\_

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesor de Tesis, Dr. Alberto Tecante Coronel, por brindarme la oportunidad de realizar éste trabajo recibiendo en todo momento su apoyo, orientación, dedicación y paciencia para concluir éste proyecto, además de compartir su conocimiento conmigo.

A la I. A. Mariana Ramírez Gilly, Técnico académico de la Facultad de Química, UNAM, por su disposición y apoyo para la realización de pruebas reológicas.

A la Q. Margarita Portillo Bauza, Técnico Académico en el Laboratorio de Absorción Atómica de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación de la Facultad de Química, UNAM, por proporcionarme los datos de contenido de iones, determinados por absorción atómica en el concentrado de suero de leche en polvo (WPC).

A la Dr. Josefina Esperanza Viades Trejo y al profesor Agustín Reyó Herrera, por sus valiosos comentarios y por su tiempo dedicado a la corrección de éste trabajo.

A la M. en C. Carmen Ortiz Tafóya, por su apoyo y compañerismo al compartir su experiencia para ayudarme a resolver dudas en la parte experimental de éste trabajo.

## **DEDICO ÉSTA TESIS A:**

Mis padres; Reyna Reyes González y Bolívar Vázquez Calderón, quienes además de su amor incondicional, siempre tuve su ejemplo, su guía y completo apoyo, siempre estando al pendiente de mi, sin que nada me faltara para superarme.

Mi abuela María Calderón Salgado que siempre está viva en mí, por sus consejos, por su compañía, siendo un gran ejemplo de luchar y salir adelante.

Mi hermano José Alfredo Vázquez Reyes, por su cariño, su compañía, ayuda y consejos, de quien he aprendido siempre aspirar a más y tener seguridad.

Mis profesores, por compartir su conocimiento conmigo, por ser una guía, recibiendo de ellos valiosos consejos que han servido de ejemplo e inspiración para culminar mis estudios.

Mi mejor amiga Jessica Sandoval Tamayo, por estar siempre conmigo de manera incondicional, con quien he crecido, he llorado, he sonreído y he aprendido.

Mi mejor amigo Adrián Espinoza Guillén, por su valiosa amistad y apoyo incondicional, por escucharme y estar conmigo en momentos difíciles, recibiendo siempre lo mejor de él.

Mis amistades: Diana Juárez, Alba García, Miriam Martínez, Jessica Estrellita, Xelha Mendoza, Brenda Cinta, Isaac Rangel, Luis Trueba, Pavel Martínez y Gerardo Pacheco, con quienes he crecido, aprendido, he sonreído y vivido grandes y valiosas experiencias y por permitirme seguir conservando su amistad.

Mis amistades: Jimena Contreras, Monserrat Calzada, Sandra Carrillo, Gabriela Romano, Karla Esquivel, Víctor Trujillo, Estefanía Rodríguez, Miriam Santiago y Mabel Ruiz, Marcos Hernández y Daniela Mondragón por su valiosa compañía, su amistad y apoyo a lo largo de la carrera y por siempre sacarme no una sino varias sonrisas, siempre convirtiendo los malos ratos en momentos divertidos.

Jorge Zavala Tapia, quien estuvo conmigo de manera incondicional, con quien viví hermosos momentos a lo largo de la carrera, un maravilloso compañero que me permitió entrar en su vida, de quien siempre tuve su hombro, su oído y las mejores palabras para hacerme sentir mejor y no dejarme caer.

Mis compañeros de la Facultad de Química, con quienes compartimos nuestros conocimientos y trabajamos juntos para superarnos.

La máxima casa de estudios, Universidad Nacional Autónoma de México, donde he crecido, he caído y me he levantado, para ser cada día mejor.

**POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU.**

## INDICE

Contenido	Pág.
<b>Resumen</b> .....	1
<b>Introducción</b> .....	3
<b>1. Aspectos generales</b> .....	8
1.1 Proteínas del suero de leche.....	8
1.2 Polisacáridos gelificantes.....	12
1.3 Reología.....	16
1.4 Pruebas mecánicas.....	19
1.5 Pruebas reológicas.....	23
<b>2. Objetivos</b> .....	27
<b>3. Metodología</b> .....	28
3.1 Diagrama general.....	28
3.2 Materiales.....	29
3.3 Metodología.....	29
3.3.1 Análisis del concentrado del suero de leche en polvo.....	29
3.3.1.a. Humedad.....	29
3.3.1.b. Absorción atómica.....	29
3.3.2 Análisis de los polisacáridos gelificantes.....	29
3.3.2.a. Humedad.....	29
3.3.3 Preparación de geles de WPC para pruebas de gelificación.....	30
3.3.3.a. Efecto de temperatura y concentración.....	30
3.3.3.b. Efecto de pH.....	30
3.3.3.c. Efecto de fuerza iónica.....	30
3.3.4. Preparación de geles con mezclas con WPC 80 y polisacáridos gelificantes.....	30
3.3.5. Determinaciones mecánicas.....	31
3.3.6. Determinaciones reológicas.....	32
3.3.7. Determinación de fuerza iónica y actividad total.....	32
3.3.8. Análisis estadístico.....	32
<b>4. Resultados y Discusiones</b> .....	33
4.1. Pruebas de gelificación.....	33
4.4.1. Efecto de la temperatura y concentración.....	33
4.4.2. Efecto de pH y Fuerza iónica.....	35
4.2. Formación de geles con WPC y polisacáridos gelificantes.....	36
4.3. Propiedades mecánicas.....	40
4.4. Propiedades reológicas.....	47
4.5. Fuerza iónica.....	52
4.6. Aplicaciones.....	56
<b>5. Conclusiones</b> .....	57
<b>Referencias bibliográficas</b> .....	58
<b>Apéndice A</b> .....	61
<b>Apéndice B</b> .....	63

## RESUMEN

Se estudiaron las propiedades mecánicas y reológicas, mediante compresión uniaxial y cizalla oscilatoria de baja amplitud, respectivamente, de mezclas de un concentrado de proteínas de suero de leche en polvo (WPC) y diferentes concentraciones de gelana de alto acilo (GAA), gelana de bajo acilo (GBA) y  $\kappa$ -carrageninas ( $\kappa$ C). Las mezclas se prepararon a 90 °C, pH 7.0, 20 y 30% de WPC y diferentes concentraciones de polisacáridos. Estas condiciones se seleccionaron a partir de pruebas iniciales de comportamiento del WPC bajo diferentes temperaturas, concentraciones, pH y fuerza iónica. Los geles formados con GBA y  $\kappa$ C fueron heterogéneos. El aumento de la concentración de WPC, provocó mayor heterogeneidad produciéndose geles más débiles. En compresión uniaxial, los geles con 30% de WPC mostraron esfuerzos de fractura y módulos de Young menores. En cizalla oscilatoria ambas concentraciones de WPC formaron geles firmes que soportan bajas deformaciones. En los geles con  $\kappa$ C,  $G'$  y  $G''$  aumentaron con incremento de la concentración de polisacáridos mostrando un mayor carácter elástico. En los geles con GBA,  $G'$  y  $G''$  no mostraron un comportamiento característico en relación con la concentración de WPC o de polisacáridos. Los geles con GAA fueron homogéneos; en compresión uniaxial y cizalla oscilatoria soportaron altas deformaciones con una notoria flexibilidad; fue necesario aumentar la velocidad de compresión para fracturar la mayoría de ellos. En los geles con GBA, GAA y  $\kappa$ C, la fuerza iónica ( $I$ ) aumentó al usar diferente polisacárido, pero fue mayor con  $\kappa$ C. El aumento de la concentración de WPC incremento  $I$  considerablemente, pero el aumento de la concentración de polisacárido no modificó  $I$  en las tres mezclas. El cambio en el contenido de WPC tiene una gran influencia en el comportamiento mecánico y reológico de los geles. Por medio de los diagramas de transición sol-gel de GBA y  $\kappa$ C, se ubicó el tipo de comportamiento predominante en estas mezclas. La actividad total,  $a_T$ , a 25 °C para los geles con WPC y GBA se encuentra en la zona "SOL" del diagrama, de acuerdo a esto, para las  $a_T$  de esas mezclas a 25 °C no hay formación de geles y por tanto en este sistema, la GBA tiene una mayor afinidad hacia las proteínas para formar geles. En los geles con  $\kappa$ C los valores de  $a_T$  se ubican en la zona "GEL" del diagrama, indicando su mayor afinidad hacia el ión potasio para la formación de estos geles.

## ABSTRACT

The mechanical and rheological properties were studied of mixtures of whey protein concentrate (WPC) and high acyl gellan (HAG), low acyl gellan (LAG) and  $\kappa$  carrageenans ( $\kappa$ C) by means of uniaxial compression and low amplitude oscillatory shear, respectively. Mixtures were prepared at 90 °C, pH 7.0, 20 and 30% WPC and different polysaccharide concentrations. These conditions were selected from initial tests on the behavior of WPC at different temperatures, concentrations, pHs and ionic strengths. Mixtures with  $\lambda$ C did not form gels. Gels with LAG and  $\kappa$ C were heterogeneous. High concentrations of WPC, resulted in more heterogeneous and weaker gels. In uniaxial compression, gels with 30% WPC had lower failure stresses and Young moduli. In oscillatory shear both WPC concentrations formed firm gels withstanding low strains. In gels with  $\kappa$ C,  $G'$  and  $G''$  increased with polysaccharide concentration showing a larger elastic character. In gels with LAG,  $G'$  and  $G''$  did not show a characteristic behavior in relation to WPC or polysaccharide concentrations. Gels with HAG were heterogeneous; in uniaxial compression and oscillatory shear they withstood high strains with remarkable flexibility; it was necessary to increase the speed compression to fracture most of them. In gels with LAG, HAG and  $\kappa$ C, ionic strength ( $I$ ) increased on using different polysaccharide, but it was larger with  $\kappa$ C. Increasing WPC concentration increased  $I$  considerably, but increasing polysaccharide concentration did not modify noticeably  $I$  in the three mixtures. Changing the WPC content had a great influence on the mechanical and rheological behavior of the gels. By means of the sol-gel transition diagrams of LAG and  $\kappa$ C, the dominant behavior of the mixtures was located. The total activity,  $a_T$ , at 25 °C for the gels with WPC and LAG was found in the "SOL" zone of the diagram, accordingly, for the  $a_T$  of these mixtures at 25 °C gelation did not occur, therefore, in this system, the LAG has a greater affinity for the protein to form gels. With  $\kappa$ C, values of  $a_T$  corresponded to the "GEL" zone in the diagram, indicating a greater affinity to the potassium ion for the formation of gels.

## INTRODUCCIÓN

Los concentrados de proteína de suero de leche (WPCs por sus siglas en inglés) son subproductos de la industria láctea resultantes de la elaboración de queso o de la separación de caseína a partir de leche desnatada. El WPC es usado en la industria de alimentos por sus propiedades como emulsionante, para aumentar la capacidad de mezclado e incorporar la grasa con saborizantes en alimentos preparados. Por otra parte, las proteínas del suero tienen la habilidad de formar geles fuertes al ser calentadas, por lo que pueden ser usadas para impartir textura a los alimentos.

Cuando se mezclan dos diferentes polímeros naturales en solución, pueden ocurrir interacciones asociativas o segregativas. La asociación ocurre normalmente, aunque no exclusivamente, por atracciones electrostáticas entre un polianión y un polication, conduciendo a la precipitación o formación de estructuras de gel o complejos solubles, dependiendo de factores como el ambiente iónico y la concentración de los polímeros. Las interacciones segregativas o de incompatibilidad termodinámica son las más usuales si las interacciones entre los diferentes polímeros son repulsivas o cuando dos tipos de polímeros muestran distinta afinidad por el disolvente como consecuencia de una baja entropía de mezcla, lo que resulta en una separación de fases (Picullel & Lindmann, 1992; Tolstoguzov, 1991).

Pérez et al. (2006) estudiaron la influencia de la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) sobre las propiedades gelificantes de proteínas del suero de leche (WPC) bajo condiciones de incompatibilidad termodinámica a pH neutro y temperatura ambiente. Se construyó el diagrama de separación de fases de los sistemas WPC/HPMC determinando en él la separación de fases o bien los sistemas WPC/HPMC en los que ésta ocurre. Además, se estudió por separado la formación de geles de la HPMC mediante diferentes técnicas, e.g. diagrama de transición sol-gel, dinámica de gelificación y viscoelasticidad, calorimetría diferencial de barrido y propiedades de textura, con la finalidad de interpretar el comportamiento de los sistemas WPC/HPMC. Las mezclas de estos componentes a pH neutro y 25 °C son termodinámicamente incompatibles y exhiben separación de fases por arriba de una concentración de 5%. El calentamiento da lugar a varios eventos complejos muchos de los cuales ocurren

simultáneamente. Por ejemplo, deshidratación de las cadenas de HPMC con exposición de grupos hidrofóbicos y su interacción, agregación y gelificación de la HPMC deshidratada, desnaturalización de WPC, agregación y gelación de WPC y separación de fases. La dinámica de gelificación y la macroestructura de los geles durante el calentamiento y el enfriamiento señala que hay dos fenómenos competitivos: separación de fases y la gelificación de ambos biopolímeros.

Syrbe et al. (1998) estudiaron disoluciones de polisacáridos aniónicos con proteínas del suero incluyendo, pectina de alto metoxilo, alginato de sodio o carboximetilcelulosa de sodio a pH 6 y 7. Se encontró que la segregación polimérica en estos sistemas no ocurre a menos que las proteínas del suero se desnaturalicen térmicamente o por tratamientos de altas presiones. Después ocurre de manera paralela la separación de las fases y la gelificación de las proteínas y el sistema queda atrapado en un estado de no equilibrio. Dependiendo de las condiciones de procesamiento, las estructuras de los geles de las proteínas del suero pueden variar de redes de partículas muy interconectadas a microgeles de esferas que fluyen libres, distintos de los geles de ramificaciones finas observados en ausencia de los polisacáridos aniónicos. La gelificación térmica de disoluciones de  $\beta$ -lactoglobulina-pectina de bajo metoxilo se ve influenciada significativamente por la presencia de iones calcio en ambos lados del punto isoeléctrico. A pH 3.5 el incremento de la autoasociación de la pectina de bajo metoxilo en presencia de altos niveles de  $\text{Ca}^{2+}$  reduce la habilidad para formar complejos insolubles con la región positiva de la  $\beta$ -lactoglobulina. A pH 6.5, el  $\text{Ca}^{2+}$ , parece reducir las interacciones repulsivas entre la proteína y el polisacárido, llevando a geles más homogéneos y estructurados.

Ould Eleya y Turgeon (1999) investigaron la formación y fusión de geles de  $\kappa$ -carragenina en presencia de  $\beta$ -lactoglobulina usando técnicas de reología dinámica así como una secuencia experimental de barridos de tiempo, temperatura, frecuencia y deformación. Se prepararon mezclas a 45 °C, las cuales mostraron ser homogéneas y por tanto encabezan la formación de las redes de gel de  $\kappa$ -carragenina conteniendo incluso a la  $\beta$ -lactoglobulina en su forma nativa durante el control en la fase de enfriamiento de 45 a 20 °C. En este estado nativo, la proteína parece debilitar la red del polisacárido particularmente cuando está presente en altas concentraciones. Después de 90 °C, los geles de WPC/ $\kappa$ -carragenina presentan un perfil bifásico: la primera fase, está

caracterizada por una disminución del módulo de almacenamiento, correspondiente a la formación de una red de proteínas. Estos resultados muestran la falta de asociación entre los polímeros naturales y sugiere una separación de fases. La fase final de enfriamiento de los geles de la mezcla, de 90 a 20 °C, induce la consolidación de una red de proteínas y la gelificación de  $\kappa$ -carragenina. Dicho comportamiento reológico sugiere entonces que la gelificación de  $\kappa$ -carragenina en presencia de la red de gel de proteínas podría encabezar la formación de una red bicontinua de fases separadas.

Sedlmeyer et al., (2003) estudiaron las características de geles hechos a partir de mezclas de proteínas lácteas y  $\kappa$ /I carragenina, variando tres factores: (1) la relación proteínas de suero-caseína; (2) la concentración de carragenina y (3) la adición de KCl y CaCl<sub>2</sub> en el sistema lácteo. Estas características se determinaron por medio de reometría oscilatoria. En el modelo en el que se usaron todos los ingredientes como parámetros se observó que el módulo de almacenamiento  $G'$  depende linealmente de los ingredientes minoritarios, KCl y CaCl<sub>2</sub>. La influencia de la concentración de carragenina muestra un comportamiento no lineal. Cuando el contenido total de proteína fue constante (5%), el incremento lineal de  $G'$  debido a las altas cantidades de caseína se puede explicar por el conocimiento de las interacciones caseína y carragenina. Estas interacciones fueron estudiadas posteriormente por Spagnuolo et al. (2005), quienes mencionan dos propuestas para explicar las interacciones de la  $\kappa$ -carragenina con las micelas de caseína. La primera propuesta postula que las cargas negativas de la  $\kappa$ -carragenina interactúan con la región cargada positivamente de la  $\kappa$ -caseína y debido a esto la  $\kappa$ -carragenina se adsorbe sobre la superficie de la micela de caseína. La segunda propuesta postula que la separación se previene vía la formación de un gel débil de  $\kappa$ -carragenina, que mantiene las micelas de caseína suspendidas, aunque las concentraciones que se requieren para estabilizarlas están por debajo de la concentración crítica de gelificación (0.03%). Las interacciones se observaron por medio de micrografías (FE-SEM y DLS), los datos sugieren que la  $\kappa$ -carragenina en su forma de hélice interactúa con la superficie de la micela de caseína, quizá por el grado de sulfatación y el incremento en la densidad de cargas cuando está en la forma de hélice. Los experimentos de separación de fase sugirieron que tanto la interacción de  $\kappa$ -carragenina con las micelas de caseína como la agregación de la hélice de  $\kappa$ -carragenina se requieren para

prevenir la separación de la micela de caseína y para suministrar estabilidad visual. Estos estudios muestran que la interacción entre un polisacárido aniónico y las proteínas de la leche es determinante para el desarrollo de las propiedades fisicoquímicas y particularmente las propiedades reológicas. Por ello se espera que en el caso de nuestro estudio tales interacciones jueguen también un papel importante.

Recientemente Flett y Corredig (2009) estudiaron el efecto de la carga negativa de la  $\kappa$ -carragenina, sobre el comportamiento de agregación de las proteínas del suero durante el calentamiento. Utilizaron soluciones acuosas de aislados de proteínas del suero (WPI) a 0.5% las cuales fueron calentadas en presencia de  $\kappa$ -carragenina (0.1%) a pH 7. Estas condiciones fueron escogidas ya que son óptimas para detectar los agregados intermediarios durante el análisis por cromatografía. Los residuos no agregados de proteína, los agregados intermediarios y la solubilidad de los agregados fueron examinados en función del tiempo de calentamiento y la temperatura, usando cromatografía por exclusión de tamaño a la par con detección por dispersión de luz. En este estudio encontraron que la presencia de  $\kappa$ -carragenina no afecta la agregación de las proteínas del suero a 75 °C; sin embargo, un cambio en el mecanismo de agregación parecía ocurrir a altas temperaturas y los intermediarios con masa molecular alta se forman a 85 °C. A 90 °C, la presencia de  $\kappa$ -carragenina afecta significativamente el comportamiento de las proteínas del suero en la solución, en la medida en que la agregación de WPC era mucho más grande, los agregados solubles ya no estaban presentes.

Las proteínas y polisacáridos son de gran importancia en los sistemas alimentarios ya que desempeñan un papel esencial en su estructura, la textura y la estabilidad. Por otro lado, la forma, la textura y la estabilidad general de los productos alimenticios depende no sólo de las propiedades de las proteínas y polisacáridos, sino también de la naturaleza y la fuerza de sus interacciones (Dickinson, 1995).

En este trabajo se planteó examinar las interacciones proteína-polisacárido a través de la formación de geles y disoluciones de mezclas de un concentrado de suero lácteo con diferentes polisacáridos aniónicos, e.g. gelana de alto y bajo acilo,  $\kappa$  y  $\lambda$ -carrageninas, buscando y seleccionando las mejores combinaciones y condiciones para posteriormente estudiar sus propiedades reológicas y así

conocer la influencia de las interacciones de estos polisacáridos con las proteínas del suero sobre las propiedades viscoelásticas y encontrar de esta forma la relación entre la composición y las propiedades reológicas de las mezclas. Existen varias publicaciones en donde se ha estudiado el sistema proteínas lácteas/k-carragenina, sin embargo, en este estudio se trabajó con un concentrado de proteínas de suero lácteo que no forma geles además de que las condiciones de trabajo son diferentes. Por otro lado, el sistema proteínas lácteas-gelana de alto y bajo acilo no ha sido estudiado; no existen en la literatura científica trabajos que reporten las propiedades de estas mezclas.

Por lo tanto, el conocimiento de los fenómenos que ocurren en estos sistemas mixtos aumentará el potencial de las aplicaciones de las proteínas del suero lo cual es importante para desarrollar propiedades deseables en los alimentos (Hemar et al. 2001).

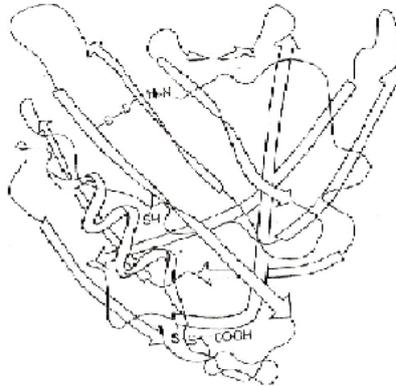
**Proteínas del suero de leche**

Las proteínas más abundantes de la leche son las fosfoproteínas: caseína  $\alpha$  y caseína  $\beta$ ; la caseína  $\kappa$  es una fosfoglicoproteína. Las proteínas más simples de la leche son las holoproteínas, las más importantes del lactosuero son:  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina. En la leche las proteínas tienen una estructura definida, que puede modificarse bajo la acción de diversos tratamientos aplicados en el laboratorio o en la industria, especialmente calentamiento a más de 70 °C. También por reactivos desnaturizantes variados como ácidos, álcalis, urea y detergentes. La desnaturización es una modificación sin ruptura de los enlaces covalentes, ni separación de fragmentos, que consiste en una ruptura de enlaces que aseguran las estructuras secundarias y terciarias, seguida de reagrupamiento que conduce a una nueva conformación. La disminución de la solubilidad y la pérdida de la actividad son las consecuencias de una modificación estructural profunda de la molécula, que en general, es irreversible y corresponde con el paso de un estado de orden superior a un estado de orden inferior.

Las proteínas del lactosuero forman una fracción compleja. Son las sustancias no dializables contenidas en el “suero isoeléctrico”, obtenido tras la precipitación de la caseína a pH 4.7, y en el “suero de cuajada”, aunque éste también contiene caseinoglicopéptido. Si se exceptúa una parte de las glicoproteínas, las proteínas del lactosuero precipitan casi en su totalidad con el ácido tricloroacético al 12%. Estas proteínas representan 17% de las materias nitrogenadas de la leche de vaca (Alais, 1985). Las proteínas principales del suero son:  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoalbúmina. La  $\beta$ -lactoglobulina es una proteína globular de 162 residuos de aminoácidos en una cadena simple, mientras que la  $\alpha$ -lactoalbúmina es una proteína globular de 123 residuos de aminoácidos con una conformación muy estable entre pH 5.4 y 9 (Bottomley, 1990).

En la leche de la vaca la  $\beta$ -lactoglobulina (Figura 1) es la proteína del suero más abundante (2.5 a 3.1 g/L). Es una proteína globular con una masa molecular de 18,400 g/mol y un monómero con un radio de 2 nm. La cadena está replegada sobre sí misma, estando asegurada la estructura terciaria por dos puentes S-S y queda un grupo sulfidrilo libre. La  $\beta$ -lactoglobulina es el principal portador de grupos sulfidrilo, que son modificados o separados en el curso de la

desnaturalización y que intervienen en la formación del “gusto cocido” de la leche tratada térmicamente.



**Figura 1.** Estructura terciaria de  $\beta$ -lactoglobulina.

La  $\alpha$ -lactoalbúmina (Figura 2) es el componente proteínico más característico del suero lácteo, pues parece estar presente en la leche de todos los mamíferos. Esta proteína es considerablemente rica en triptófano: cuatro restos por mol, o sea, alrededor de 6%. Es también una proteína globular con una masa molecular de 14,200 g/mol. Las estructuras tridimensionales de estas proteínas se han determinado por cristalografía de rayos X. La estructura ternaria de la  $\beta$ -lactoglobulina contiene un motivo estructural en  $\beta$ -tonel (barril o cuba) y una sola  $\alpha$ -hélice corta superficial. El centro del  $\beta$ -tonel forma una bolsa hidrófoba existiendo también un bolsillo superficial entre la  $\alpha$ -hélice y  $\beta$ -tonel. Como consecuencia, la  $\beta$ -lactoglobulina se une a muchas moléculas hidrófobas pequeñas con diferentes afinidades.



**Figura 2.** Estructura terciaria de  $\alpha$ -lactoalbúmina.

La funcionalidad de la  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -lg) está gobernada por estos bolsos hidrófobos y zonas superficiales y quizá e incluso más importante, por la presencia de enlaces disulfuro y un grupo sulfidrilo parcialmente enterrado. Por ello bajo las condiciones apropiadas esta proteína participa rápidamente en reacciones de intercambio sulfidrilo-disulfuro consigo misma o con otras proteínas tal como la  $\kappa$ -caseína. Las interacciones de la  $\beta$ -lactoglobulina dependen del pH. Al pH de la leche forma dímeros con una geometría parecida a dos esferas unidas, por debajo de pH 3,5 el dímero se disocia en los dos monómeros ligeramente expandidos, a pH entre 3.5 y 5.2 el dímero se tetrameriza formando un octómero y por encima de pH 7.5 el dímero se disocia con los consiguientes cambios conformacionales originando monómeros expandidos. A temperaturas mayores de 65 °C esta proteína sufre cambios estructurales; uno o más de sus residuos de cisteínas comienzan a ser reactivos por lo tanto las interacciones inducidas por calentamiento y si la concentración es alta y suficiente, la ( $\beta$ -lg) formas redes de gel. La estereoestructura tridimensional de la  $\alpha$ -lactoalbúmina es muy compacta, siendo la proteína globular casi esférica conteniendo 4  $\alpha$ -hélices, varias  $3_{10}$ -hélices y una  $\beta$ -antiparalela. Con los enlaces disulfuro intactos, tal como la proteína se encuentra en la leche, la estructura terciaria se despliega y repliega reversiblemente. Aunque la  $\alpha$ -lactoalbúmina se desnaturaliza a una temperatura más baja que la  $\beta$ -lactoglobulina, la transición es reversible excepto a temperaturas muy altas. Ambas proteínas al igual que la caseína, tienen una carga negativa neta al pH de la leche, sin embargo, a diferencia de las caseínas, la secuencia de la distribución de los residuos hidrófobos, polares y cargados es bastante uniforme. Consecuentemente, estas proteínas se pliegan intramolecularmente para alojar interiormente a la mayoría de sus residuos hidrófobos para que no ocurran grandes autoasociaciones o interacciones con otras proteínas.

La gelificación de las proteínas del suero es el resultado de dos tipos de interacciones; físicas, i.e. electrostáticas e hidrofóbicas, y químicas, i.e. puentes disulfuro, entre las moléculas constitutivas de la proteína. La desestabilización del plegamiento terciario nativo de las proteínas aumenta sus interacciones a un nivel que causa en última instancia la formación de una red y gelificación estables. Las proteínas del lactosuero se desnaturalizan fácilmente por el calor y se vuelven insolubles. La disminución de la solubilidad y la pérdida de actividad son las

consecuencias de una modificación estructural profunda de la molécula, que en general, es irreversible y corresponde al paso de un estado de orden superior a un estado de orden inferior. Este fenómeno parece que no concierne a las caseínas.

### **Aplicaciones de las proteínas del suero de leche en la industria alimentaria**

En el cuadro se resumen las principales aplicaciones del WPC en productos alimenticios.

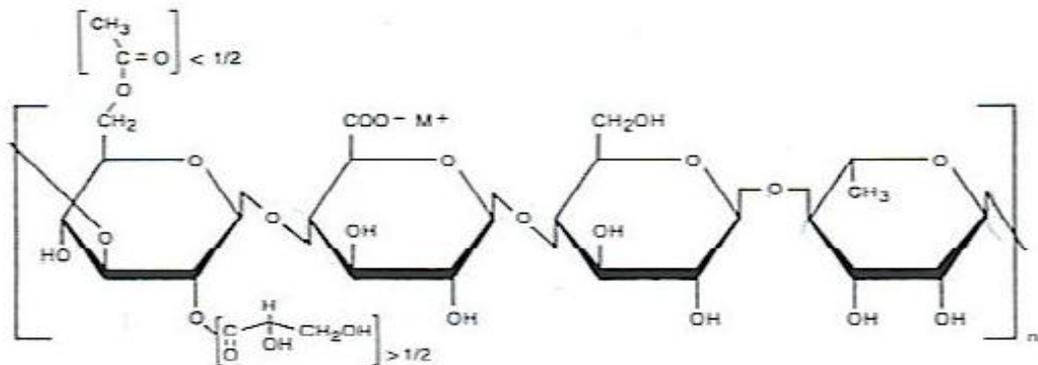
<b>Propiedades funcionales</b>	<b>Modo de acción</b>	<b>Alimentos</b>
Retención de agua	Las proteínas atrapan agua por Interacciones puente de hidrogeno, lo que produce mejores texturas en alimentos y ayudan a mantener sus cualidades, como la humectación del alimento.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carnes</li> <li>• Bebidas</li> <li>• Panes</li> <li>• Tortas</li> <li>• Salchichas</li> </ul>
Gelación / Viscosidad	Las interacciones proteína-proteína retienen agua lo que afecta la viscosidad, a través del espesamiento y la gelación.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sopas</li> <li>• Postres</li> <li>• Yogures</li> <li>• Productos horneados</li> </ul>
Emulsificación	Las proteínas actúan en las interfaces O/W facilitando la formación de emulsiones y estabilizándolas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Salsas</li> <li>• Bebidas lácteas</li> <li>• Panes</li> <li>• Comida infantil</li> </ul>
Espumado / Batido	Las proteínas actúan en las interfaces aire / agua formando un film estable que rodea las burbujas, influyendo en la textura y el aspecto del alimento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mousses</li> <li>• Tortas</li> <li>• Merengues</li> <li>• Helados</li> </ul>
Tostado / Sabor / Aroma	Las proteínas contribuyen al tostado (Browning) por reacción durante la cocción con la lactosa y otros azúcares reductores presentes (Reacción de Maillard). Los WPC no afectan el sabor de las preparaciones.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Confituras</li> <li>• Carnes en microondas</li> <li>• Salsas</li> <li>• Panes</li> <li>• Productos lácteos</li> <li>• Sopas</li> </ul>
Solubilidad	Por solvatación de las proteínas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bebidas lácteas</li> <li>• Jugos de frutas</li> </ul>

## Gelana

La gelana es un polisacárido producido por la bacteria *Sphingomonas elodea*, y se encuentra en tres formas diferentes (Rodríguez-Palacios, 1997):

- **Gelana de alto acilo:** obtenida directamente del caldo de cultivo por precipitación con isopropanol; se caracteriza por tener grupos acetilo en un alto porcentaje, sus geles son termorreversibles y elásticos.
- **Gelana de bajo acilo:** obtenida por un proceso de desacetilación, sus geles son firmes y quebradizos.
- **Gelana desacetilada y clarificada:** proporciona geles firmes quebradizos y de una gran transparencia.

La gelana (Figura 3) consiste en unidades repetidas de un tetrasacárido formado por residuos de glucosa, ácidos gluco urónico y ramnosa en una relación molar de 2:1:1, respectivamente, en una cadena lineal  $[(\rightarrow 3)\text{-}\beta\text{-D-glucosa-(1}\rightarrow 4)\text{-}\beta\text{-D-Glucosa-(1}\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-L-ramnosa-(1}\rightarrow )\text{]}_n$  (Nickerson et al., 2004).

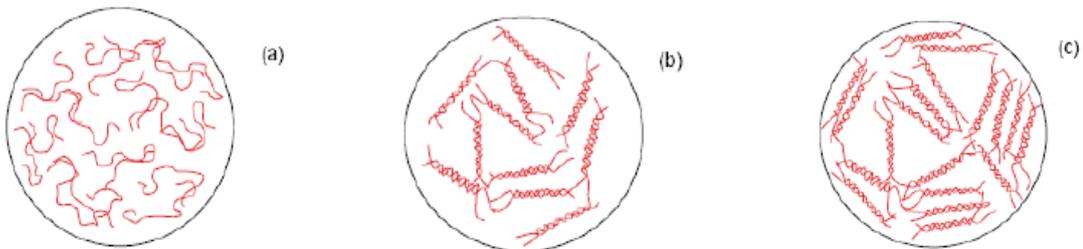


**Figura 3.** Estructura química de la gelana nativa (Sanderson, 1990).

Comercialmente, la gelana ha sido clasificada en dos categorías: gelana de alto acilo (GAA) y gelana de bajo acilo (GBA). En su forma nativa hay aproximadamente uno y medio residuos O-acilo por cada unidad repetida. Contiene un sustituyente O-acetilo y uno O-glicerilo en cada tercera glucosa enlazada en el polímero, la forma tentativa los asigna en la posición 6 y en la posición 2, respectivamente, predominando este último (Sanderson, 1990). Las diferencias estructurales entre la gelana de alto acilo y la gelana de bajo acilo dan lugar a una gran disparidad en sus propiedades reológicas y funcionales (Huang et al., 2004). La gelana en su forma desacilada requiere de la presencia de

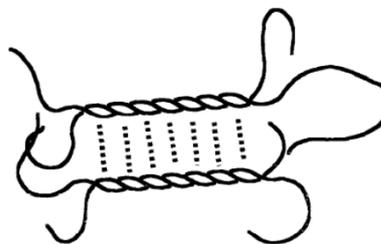
cationes para promover la gelificación, los cationes divalentes promueven una gelificación más fuerte y a mayor temperatura en comparación con los cationes monovalentes, aunque se ha observado que a concentraciones superiores de 1% masa se forman geles débiles en ausencia de iones (Rodríguez-Hernández,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

La gelificación de gelana de alto acilo como la de bajo acilo involucra dos pasos: a) A altas temperaturas la gelana en disolución acuosa se encuentra en forma de cadenas aleatorias, al disminuir la temperatura se promueve la transición de éstas a doble hélice, seguida de la asociación de los segmentos de dobles hélices rígidas para formar los agregados lo que lleva a la formación de una red tridimensional como se ilustra en la Figura 4 (Goh et al. 2006).



**Figura 4.** Modelo propuesto para la gelificación de la gelana. A) Cadenas aleatorias, b) Formación de las dobles hélices, c) Agregación de dobles hélices (Goh et al. 2006)

Los cationes monovalentes y los divalentes estabilizan la red tridimensional mediante enlaces cruzados entre dos dobles hélices de gelana vía grupos carboxilo del residuo gluco urónico (Figura 5).



**Figura 5.** Representación esquemática de la interacción de doble hélice  $-M^+ - \text{agua} - M^+$  doble hélice (Goh et al. 2006).

Sin embargo, los cationes monovalentes y divalentes siguen mecanismos diferentes para la gelificación de la gelatina. Los cationes divalentes ( $M^{++}$ ) forman entrecruzamiento de las dobles hélices directamente (doble hélice- $M^{++}$ -doble hélice) mientras que los cationes monovalentes ( $M^+$ ) lo hacen de forma indirecta (doble hélice - $M^+$ -agua- $M^+$ -doble hélice). Como resultado de los diferentes mecanismos de gelificación, los cationes divalentes son más efectivos en la formación del gel que los cationes monovalentes, debido a que se generan enlaces hélice-hélice más cortos y con menor número de cationes involucrados, lo cual explica la capacidad de los cationes divalentes de generar geles de fuerza y textura similar a los formados a partir de cationes monovalentes pero con fuerza iónica significativamente menor.

Las propiedades de la gelatina dependen fundamentalmente del grado de acetilación del polímero y de la naturaleza y concentración de los cationes presentes en el medio. Algunas características en la gelatina son: propiedades de gelificación, compatibilidad con otros hidrocoloides dando lugar a una variedad de texturas de gel, alta sensibilidad a sales, facilidad de modificar los atributos de textura del gel modificando la concentración del polisacárido y la de los iones que favorecen la gelificación, buena estabilidad sobre un amplio intervalo de pH en el medio, factibilidad de obtener geles a concentraciones tan bajas como 0.05% y de convertir sus geles de termoreversibles a termoirreversibles con sólo modificar la concentración del polisacárido y la fuerza iónica.

## **Carrageninas**

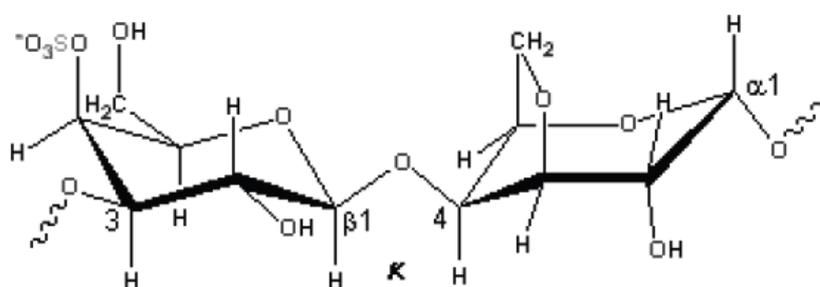
Las carrageninas son galactanos sulfatados aniónicamente solubles en agua, son extraídas de especies de las algas marinas rojas, la estructura de las carrageninas depende de la especie de alga y de su etapa de vida. Las carrageninas son hidrocoloides ubicados en la pared de las células y en la matriz intercelular del tejido de las algas marinas de diversos géneros y especies de la clase *Rodophyta*, las cuales producen carrageninas de diferentes tipos: kappa, iota y lambda, las especies productoras de carragenina tipo kappa son la *Hypnea musciformis*, la *Gigartina stellata*, la *Euचेuma cottonii*, la *Chondrus crispus* y la *Iridaea*. De acuerdo a su estructura (Figura 6), la carragenina es un polisacárido de alto peso molecular con contenido de éster sulfato de 15 a 40% formado por unidades alternadas de D-galactosa y 3,6-anhidro-galactosa (3,6-AG) unidas por

ligaduras  $\alpha$ -1,3 y  $\beta$ -1,4-glucosídica. La posición y el número de grupos de éster sulfato así como el contenido de 3,6-AG determinan las diferencias primarias entre los tipos de carragenina kappa, iota y lambda. Los mayores niveles de éster sulfato implican en una menor fuerza de gelificación y baja temperatura de disolución. Con respecto a sus propiedades gelificantes la carragenina es clasificada de acuerdo con su estructura y propiedades físico-químicas:

**Kappa** - gel rígido, quebradizo, termorreversible, de alta fuerza, muestra sinéresis.

**Iota** - gel elástico, termorreversible, sin sinéresis.

**Lambda** - soluble en frío, no gelificante, produce altas viscosidades.



**Figura 6.** Unidad estructural básica de la kappa carragenina.

Las soluciones calientes de las carrageninas kappa y iota poseen la habilidad de formar geles termorreversibles a través de su enfriamiento. Este fenómeno ocurre debido a la formación de una estructura de doble hélice. La carragenina kappa es sensible al ion potasio y produce geles rígidos y quebradizos en soluciones acuosas con sales de potasio, sus geles presentan sinéresis, i.e. exudación espontánea de agua a través de la superficie del gel en reposo, y cuanto mayor es la concentración de potasio en la solución mayor es la sinéresis. La  $\kappa$ -carragenina posee diversas funciones de acuerdo con su aplicación: gelificación, espesamiento, estabilización de emulsiones, estabilización de proteínas, suspensión de partículas, control de fluidez y retención de agua y es extensamente empleada en industrias de alimentos, e.g. postres a base de leche, chocolate con leche, helados y productos similares, farmacéuticas y cosméticas como espesante, gelificante y agente estabilizante.

## **Gel**

Desde un punto de vista reológico un gel típico es un material que muestra un umbral de fluencia y tiene propiedades viscoelásticas. Cuando sobre el gel actúa un esfuerzo pequeño ( $\sigma = \text{fuerza/área}$ ), se comporta elásticamente; se deforma inmediatamente. Existen geles químicos y físicos. En los primeros el entrecruzamiento de polímeros ocurre mediante enlaces covalentes, mientras que en los segundos ocurre mediante interacciones de diferentes tipos. En ambos casos se forma una red capaz de atrapar el disolvente y otras sustancias de bajo peso molecular. Las redes de geles que están soportadas fundamentalmente por interacciones no covalentes son termorreversibles, es decir pueden gelificar y fundir al disminuir y aumentar la temperatura, respectivamente. Esto sucede sobre todo cuando quienes más contribuyen al mantenimiento de la red son los puentes de hidrógeno.

Desde el punto de vista estructural, un gel consta de una matriz continua de material interconectado y una gran cantidad de disolvente, retenido en los intersticios. Las moléculas poliméricas en disolución se comportan como si estuviesen enrolladas al azar, inmovilizando eficazmente gran cantidad de disolvente (agua), aumentando, por lo tanto, considerablemente la viscosidad. Si la concentración de polímero no es baja, las moléculas tienden a entrecruzarse y enmarañarse. La gelificación es consecuencia de la formación de enlaces entrecruzados intermoleculares. Estos enlaces pueden ser covalentes, salinos o regiones microcristalinas. En el caso de los polímeros cargados eléctricamente, la gelificación puede ser inducida por la formación de puentes salinos. Desde el punto de vista reológico

## **Reología**

La reología es la ciencia que estudia la deformación y flujo de la materia (Barnes et al. 1992). El modo en el que los materiales responden a un esfuerzo o deformación (Steffe, 1996). La reología está basada en los principios de la física clásica y la mecánica de fluidos, el sólido perfecto de Hooke y el líquido viscoso perfecto de Newton, respectivamente. Sin embargo, las características de sólido o líquido viscoso perfecto, no están presentes en la mayoría de los materiales reales. Se fundamenta en ecuaciones constitutivas, las cuales relacionan variables dinámicas como la presión, el esfuerzo y la fuerza con variables

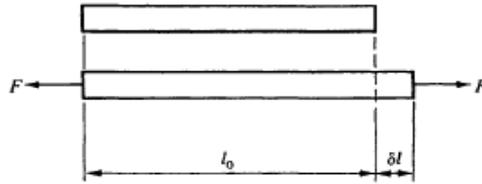
cinemáticas como la deformación, la velocidad de deformación o cizalla, para dar como resultado entidades o propiedades reológicas como el módulo de almacenamiento, el módulo de pérdida y la viscosidad, entre muchas más, conocidas como funciones materiales (Pérez, 2008).

En la industria de alimentos la reología tiene numerosas aplicaciones:

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

## **Deformación**

Para hablar de deformación es necesario considerar simultáneamente el concepto de fuerza, esto es porque los dos conceptos coexisten en una masa dada. La fuerza es una acción física cuya aplicación provoca un cambio en el movimiento o en la forma o en las dimensiones de algún cuerpo. Si al aplicar una fuerza sobre un cuerpo se altera su estado de movimiento o de reposo se habrá provocado un deslizamiento, es decir, se habrá movido el cuerpo entre dos puntos en el espacio. Por otro lado si al aplicar la fuerza se cambia el tamaño, por lo tanto el volumen, o forma del cuerpo entonces se habrá provocado una deformación (Steffe, 1996). La deformación es expresada como la relación de un cambio dimensional dividido por la dimensión inicial. También se expresa como el incremento de la longitud ( $dL$ ) o extensión dividida por la longitud original ( $L_0$ ) la cual es conocida como ingenieril o deformación de Cauchy ( $e$ ) o bien como el logaritmo natural de la longitud extendida dividida por la longitud original  $\ln(L/L_0)$  conocida como deformación de Hencky (Figura 7).



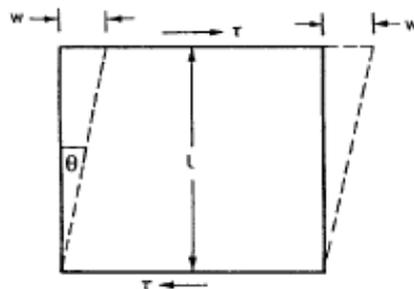
**Figura 7.** Objeto sometido a deformación axial de tracción.

La definición de la deformación de Cauchy es satisfactoria para deformaciones elásticas pequeñas pero para materiales que experimentan largas deformaciones donde el cambio de la longitud original es considerable, la definición ingenieril es inadecuada debido a que está basada enteramente en las dimensiones originales. Muchos materiales en alimentos son deformados en exceso hasta llegar a un 100%. La deformación de Hencky ( $\epsilon_H$ ) es más adecuada para definir las deformaciones que sufren este tipo de materiales ya que está basada en los cambios incrementales de las dimensiones del material ( $dL$ ) denominado como la longitud instantánea durante el estiramiento ( $L$ ), por lo tanto:

$$e = dL/L_0 \quad (\text{deformación de ingeniería o de Cauchy})$$

$$\epsilon_H = \int_{L_0}^L dL/L = \ln(L/L_0) \quad (\text{Deformación de Hencky})$$

La deformación de cizalla, se genera cuando una fuerza se aplica de forma paralela a la superficie del cuerpo; se define como el ángulo ( $\gamma$ ) formado en respuesta a un esfuerzo cortante ( $\sigma$ ). Durante este tipo de deformación solo la forma del producto cambia, mientras que el volumen es el mismo (Figura 8):



**Figura 8.** Objeto sometido a deformación en cizalla.

## **Esfuerzo**

Se define como la fuerza por unidad de área y regularmente es el causante de un cambio de movimiento o de dimensiones del cuerpo sobre el cual se está aplicando (Figura 9). Usualmente se expresa en Pascales ( $\text{N/m}^2$ ):

$$\sigma = F/A$$

Normalmente la fuerza es dividida entre el área original ( $A_0$ ) de la muestra, pero si se tienen largas deformaciones es necesario tomar en cuenta el área instantánea en diferentes puntos. Se han definido varios estados de esfuerzo dependiendo de cómo es aplicada la fuerza. Los esfuerzos se dividen en esfuerzos normales; esfuerzos de tensión y compresión, y esfuerzos tangenciales también conocidos como esfuerzos cortantes o de cizalla. Los esfuerzos normales son aquellos que resultan de la aplicación de un esfuerzo perpendicular a la superficie del material. Los esfuerzos tangenciales se generan cuando la fuerza actúa paralela o tangencial a la superficie.

## **Pruebas mecánicas**

Los alimentos son materiales y por lo tanto tienen propiedades mecánicas. Dentro de las acciones que se llevan a cabo a lo largo de la preparación de los alimentos se tiene “la trituración”, la cual puede relacionarse con la fractura mecánica. En los alimentos, la “textura” se rige por una combinación de propiedades mecánicas y de fractura, las modificaciones de éstas y su expresión dentro de la boca durante la masticación. Los alimentos en la boca, están cambiando continuamente sus propiedades como: temperatura, contenido de agua y pH, esto los hace ser materiales mecánicamente complejos y además las transformaciones mecánicas que sufren en la masticación son una combinación de muchos procesos, los cuales la ciencia de materiales ha tratado de separarlos y cuantificarlos para entenderlos mejor. Por lo tanto, es probablemente imposible medir la textura de los alimentos en una máquina, pero si es posible identificar los principales factores que rigen la textura de un producto alimenticio los cuales pueden ser medidos.

Dos formas principales de medir estos factores involucrados en la textura de los alimentos son:

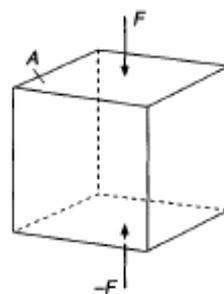
- El primer enfoque, más común e intrínsecamente más fácil, consiste en aplicar cualquier tipo de deformación mecánica en la muestra, se mide la respuesta, y se trata de correlacionar el resultado con los resultados de un panel sensorial.
- El segundo enfoque consiste en tratar de entender la forma en la que los alimentos responden a un tipo de deformación mecánica y de esta forma saber cuál es la que mejor describe al alimento que está siendo sometido.

### Compresión uniaxial

Las grandes deformaciones y la fractura son propiedades en los alimentos sólidos y semisólidos las cuales son importantes para:

- manejo de propiedades de almacenamiento o posterior al proceso.
- las propiedades de uso.
- calidad de los alimentos.

Se considera que ocurre una fractura cuando los enlaces entre los elementos estructurales en un determinado plano macroscópico se rompen, resultando en una degradación de las estructuras del material. La compresión uniaxial entre placas paralelas lisas es la técnica más simple y popular para la determinación de las propiedades de deformación y fractura de los alimentos (Figura 9).



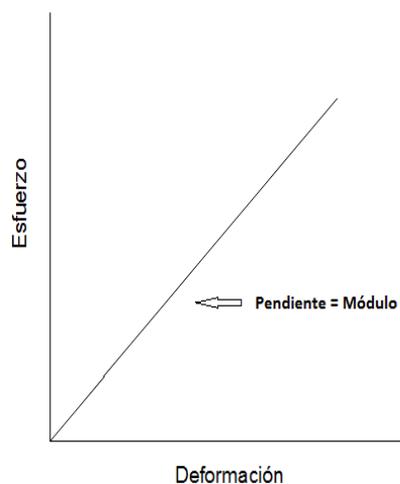
**Figura 9.** Tensión simple uniaxial,  $\sigma = F/A$ .

Normalmente, se aplica una tasa de compresión constante, midiendo la fuerza necesaria para llevar a cabo dicha compresión. Para calcular la deformación en función del esfuerzo se requiere hacer una corrección debido al cambio en el área de la muestra. La deformación de Cauchy o deformación “ingenieril” ( $\Delta L/L_0$ ) es adecuada para deformaciones pequeñas, e.g. 0.1. En el caso de los alimentos

existen grandes deformaciones y por lo tanto es adecuado utilizar la deformación de Hencky:

$$\varepsilon_H = \int \left( \frac{dL}{L(t)} \right) = \ln \left( \frac{L(t)}{L_0} \right)$$

La principal ventaja es que esta prueba y la preparación de las muestras son fáciles. A partir de este tipo de pruebas se obtiene la curva esfuerzo – deformación (Figura 10), por medio de la cual es posible calcular el módulo de Young E. Cuando la muestra está siendo deformada aplicando una fuerza constante, presenta cierta dificultad para ser deformada, lo cual se conoce como “rigidez” que se expresa como la relación que existe entre el esfuerzo y la deformación o bien la pendiente de la parte lineal de la curva esfuerzo-deformación.



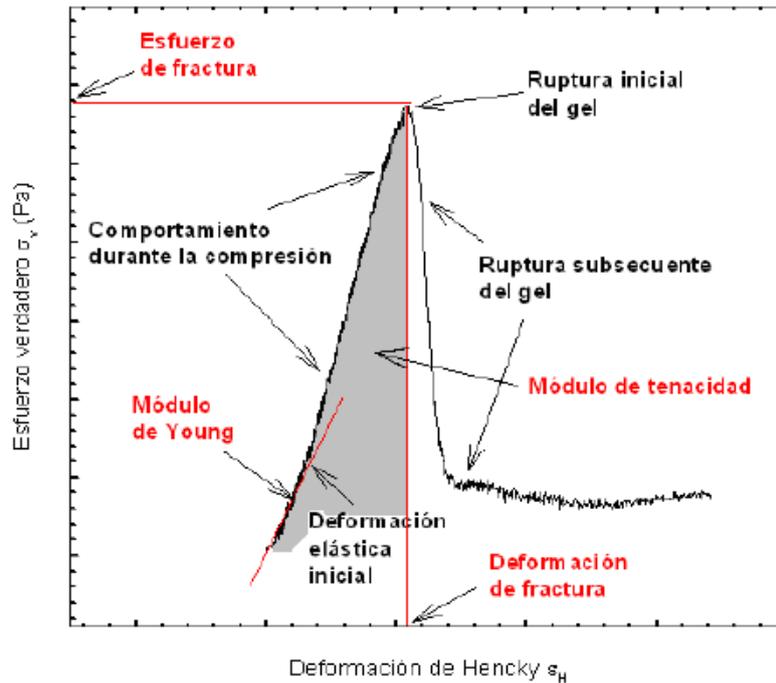
**Figura 10.** Gráfico esfuerzo-deformación en el que se muestra la pendiente que corresponde al módulo de Young.

La ley de Hooke establece que para muchos materiales en condiciones de baja a moderada deformación, el esfuerzo es proporcional a la deformación. Sin embargo, Hooke no tomó en cuenta que esta proporcionalidad depende de la geometría de la muestra. Thomas Young en 1800 fue quien demostró que para describir la relación en términos de esfuerzo y deformación, era necesario eliminar la dependencia de la geometría y por ello en su honor se denominó a la propiedad material “módulo de Young”. La relación esfuerzo-deformación de la

mayoría de los materiales es lineal solo a bajas deformaciones, a más altas deformaciones la relación se convierte en no lineal. La linealidad generalmente significa que el material tiene un comportamiento elástico, o bien que retomará sus dimensiones originales al ser retirada la fuerza como sucede en una banda elástica. Es por esto que la rigidez o módulo de Young es denominado a veces como módulo elástico.

Los alimentos son materiales viscoelásticos y sus curvas esfuerzo-deformación son no lineales (Figura 11). En algún punto, la curva esfuerzo-deformación se desvía de la linealidad; este es el límite de elasticidad y límite de esfuerzo. Más allá del límite de elasticidad, el material se deforma plásticamente, y al interrumpir la fuerza aplicada, el material no recupera sus dimensiones originales. Este comportamiento se puede ver generalmente en materiales plásticos como las masas de moldear. Otro término es la ductilidad que se define como la capacidad que tiene un material de fluir como plástico al ser deformado o bien al ser deformado no muestra fractura. Si un material se fractura en la región dúctil, las fracturas de las superficies son muy bruscas y por tanto se encuentran muy deformadas lo cual hace imposible que las superficies se vuelvan a incorporar.

Los materiales que se fracturan en la región elástica son generalmente frágiles por lo que la fractura ocurre rápidamente. La fractura frágil elástica muestra una relación lineal y una caída súbita de la fuerza a la fractura mientras que la fractura dúctil plástica resulta en una curva no lineal y se produce en un período de deformación.



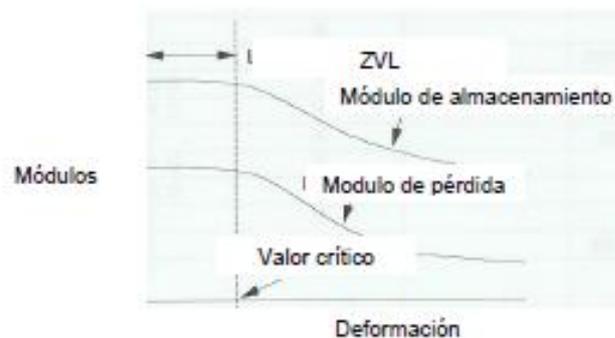
**Figura 11.** Diagrama de las zonas principales y los parámetros que pueden ser determinados en la curva esfuerzo-deformación.

### Pruebas reológicas

Los reómetros son instrumentos con los que se determinan distintas funciones materiales. Aquellos capaces de determinar las propiedades reológicas fundamentales de alimentos fluidos y semisólidos, se dividen en dos categorías: rotacionales y axiales. En los instrumentos oscilatorios, el material a examinar es sometido a variaciones armónicas de esfuerzo y deformación. Los resultados son muy sensibles a la composición química y estructura física, además estas pruebas algunas veces son referidas como “pruebas de cizalla de baja amplitud” ya que se deben aplicar pequeñas deformaciones para mantener el comportamiento viscoelástico lineal. En las pruebas reológicas de cizalla oscilatoria, se obtienen los módulos  $G'$  y  $G''$ . El primero describe el comportamiento elástico, similar al de un sólido, mientras que el segundo describe el comportamiento viscoso similar al de un líquido.

## Barridos de deformación

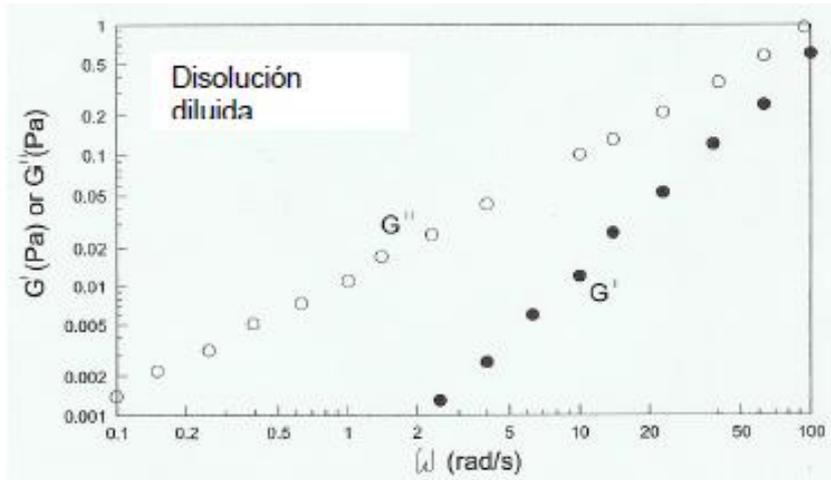
Los barridos de deformación son llevados a cabo a una frecuencia constante y son utilizados para examinar la dependencia de  $G'$  y  $G''$  con la amplitud de la deformación para de este modo determinar la extensión de la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL). Para deformaciones inferiores a un valor crítico,  $G'$  y  $G''$  tienen un valor constante con el incremento de la deformación (Figura 12). El límite de la ZVL se excede cuando  $G'$  y  $G''$  empiezan a decrecer significativamente. En la ZVL las propiedades reológicas no dependen de la deformación o el esfuerzo. Además de identificar la ZVL, los barridos de deformación han sido utilizados para distinguir geles débiles de geles fuertes: en los geles débiles la extensión de la zona de la ZVL es mayor que en los geles fuertes.



**Figura 12.** Respuestas esquemáticas típicas a la deformación mostrando la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL) (Steffe, 1996).

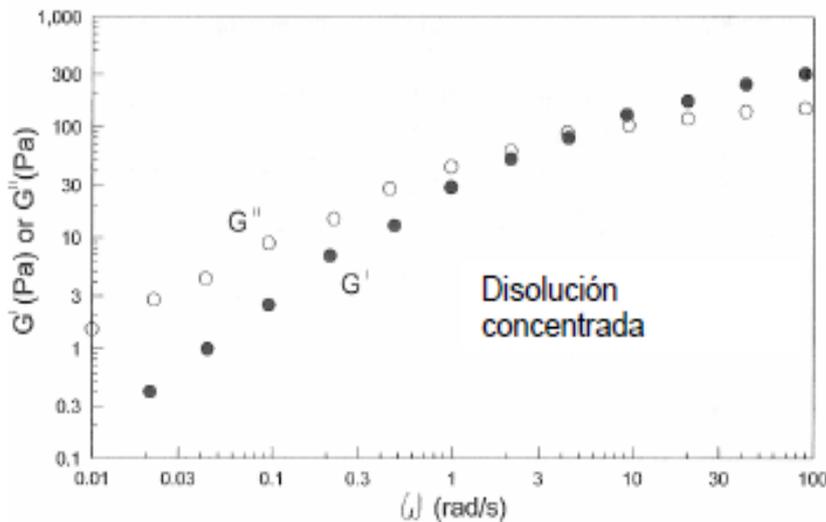
## Barrido de frecuencia

Los barridos de frecuencia son las pruebas más comunes. En ellas la frecuencia aumenta mientras la deformación se mantiene constante. Cuando una disolución diluida, una disolución concentrada y un gel de un polímero natural dado son sometidos a barridos de frecuencia, muestran diferentes comportamientos y producen diferentes espectros mecánicos propios de cada sistema. En una disolución diluida (Figura 13),  $G''$  es mayor que  $G'$  sobre todo el intervalo de frecuencias pero tienden a igualarse a altas frecuencias.



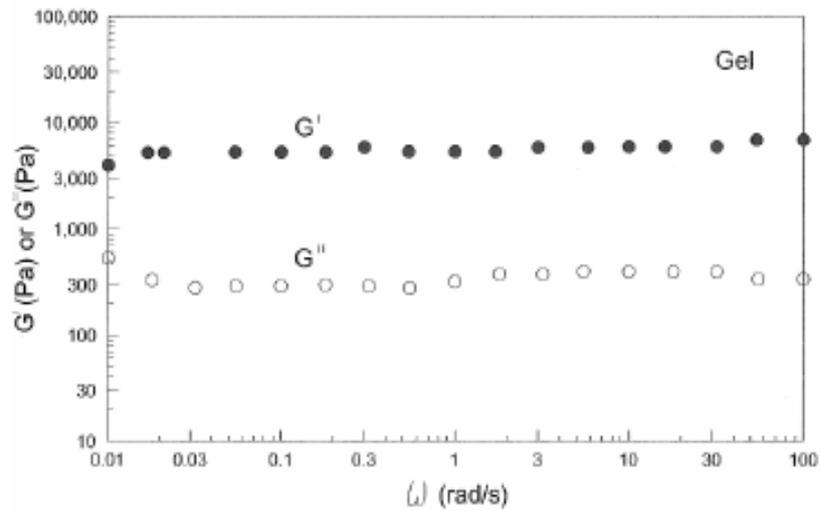
**Figura 13.** Espectro mecánico de una solución diluida

En las disoluciones concentradas, se observa una alta dependencia de los módulos a frecuencias bajas, predominando  $G''$  sobre  $G'$  y al aumentar la frecuencia,  $G''$  y  $G'$  se igualan para luego mostrar un comportamiento más sólido a altas frecuencias ( $G' > G''$ ) con poca o nula dependencia con la frecuencia (Figura 14).



**Figura 14.** Espectro mecánico de una solución concentrada.

Para un gel fuerte (Figura 15),  $G'$  es significativamente mayor que  $G''$  a lo largo de todo el intervalo de frecuencia. Los módulos dependen más de la frecuencia cuando se trata de disoluciones diluidas o concentradas pero son prácticamente constantes cuando se trata de un gel. En el espectro de un gel débil,  $G'$  es superior a  $G''$  pero ambos muestran una alta dependencia con la frecuencia y pueden entrecruzarse a altas frecuencias.



**Figura 15.** Espectro mecánico de un gel fuerte.

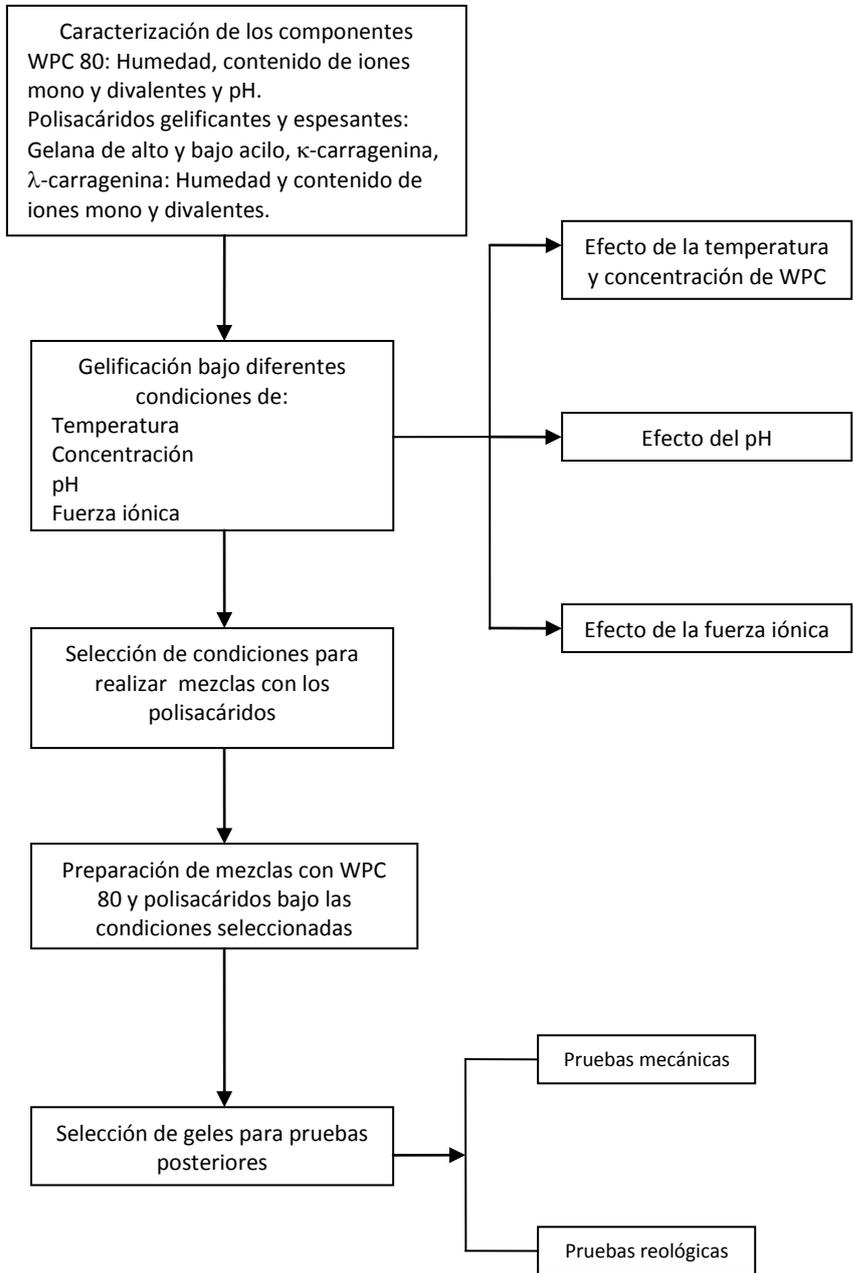
## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el comportamiento reológico y mecánico de mezclas de concentrado de proteína de suero lácteo con polisacáridos gelificantes y espesantes en medio acuosa bajo diferentes condiciones de temperatura, pH y fuerza iónica para examinar la gama de propiedades que pueden obtenerse mediante la combinación de componentes proteínicos y de polisacáridos.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Examinar el comportamiento viscoelástico de geles de mezclas polisacárido-proteínas lácteas, preparados con diferentes proporciones de ambos componentes para conocer el intervalo de propiedades mecánicas de los sistemas resultantes.
- Examinar la influencia de tratamientos de calentamiento y enfriamiento sobre las propiedades viscoelásticas de los geles de las mezclas polisacárido-proteínas lácteas para determinar su estabilidad térmica.
- Determinar el comportamiento mecánico de geles de mezclas polisacárido-proteínas lácteas en régimen de compresión uniaxial para conocer la resistencia a la deformación y la fractura.

La Figura 16 muestra el diagrama general de la metodología usada en este trabajo.



Figuran 16. Diagrama general de la investigación.

## **Materiales**

Se usaron preparaciones comerciales grado alimenticio de concentrado de proteínas de suero lácteo (WPC 80, América Alimentos S.A. de C.V.) con 80% de proteína, gelana de bajo acilo (Kelcogel, CPKelco, San Diego, EUA), gelana de alto acilo (LT-100, CPKelco, San Diego, EUA),  $\kappa$ -carragenina (HMR-XZ/250, Degussa Texturant Systems, Baupte, France) y  $\lambda$ -carragenina (Viscarin GP 109, FMC BioPolymer, México). En todos los casos se usó agua desionizada.

## **Metodología**

Previamente a las pruebas con el concentrado de suero de leche (WPC) y con sus mezclas con los polisacáridos, se determinó su humedad y su contenido de iones mono y divalentes por absorción atómica.

### **Análisis del concentrado de suero de leche en polvo (WPC 80)**

**Humedad.** Se pesó 1 g de WPC en un pesafiltros metálico con tapa previamente llevado a peso constante. Se colocó en una estufa de secado (HCF-45, MG, USA) a  $90 \pm 1$  °C, durante 24 horas hasta peso constante. Se midió el peso de la muestra y por diferencia de pesos se determinó el contenido de humedad. La determinación se hizo por triplicado.

**Absorción atómica (Método de flama).** El análisis fue realizado en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química en el laboratorio de Absorción Atómica con un espectrofotómetro Varian SpectrAA 22.

### **Análisis de los polisacáridos**

**Humedad.** Se pesó 1 g de polisacárido en un pesafiltros metálico con tapa a previamente llevado a peso constante. Se colocó en una estufa de secado (HCF-45, MG, USA), a  $90 \pm 1$  °C, durante 24 horas hasta peso constante. Se midió el peso de la muestra y por diferencia de pesos se determinó el contenido de humedad. La determinación se hizo por triplicado.

## **Pruebas de gelificación con WPC**

**Efecto de la temperatura y concentración de WPC.** Se prepararon dispersiones con 2, 5, 10, 20, 30, 40 y 50% de WPC en agua desionizada. Las dispersiones de WPC se agitaron durante 1 h a temperatura ambiente y se calentaron a 60, 80, 85 y 90 °C por 60 minutos.

**Efecto del pH.** Se prepararon nueve dispersiones con 20% de WPC en agua desionizada (esta concentración de WPC se considera óptima para el estudio con pH, ya que es en dónde se comienza a observar agregación de las proteínas). Se ajustó el pH de 2 a 10 con HCl 0.1 M o con NaOH 0.1 M. Las dispersiones se agitaron en una parrilla de agitación magnética (SP13425, Barnstead/thermolyne, USA), durante 1 h y se calentaron hasta 90 °C. Posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

**Efecto de la fuerza iónica.** Se prepararon dos series de dispersiones, cada serie con concentraciones de 2, 5, 10, 20 y 30% de WPC. Para cada concentración de WPC se adicionó NaCl en concentraciones de 0.5, 1, 1.5, y 2 M. Las mezclas de WPC y NaCl fueron dispersadas en agua desionizada y posteriormente se ajustó una serie a pH 6 y otra serie a pH 7. Las dispersiones se dejaron en agitación continua durante una hora a temperatura ambiente, se calentaron a 90 °C y se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

### **Preparación de mezclas con WPC 80 y los polisacáridos**

El WPC 80 en concentraciones de 20 y 30% se dispersó conjuntamente con cada polisacárido individual; gelana de bajo acilo (GBA), gelana de alto acilo (GAA),  $\kappa$ -carragenina ( $\kappa$ C) y  $\lambda$ -carragenina ( $\lambda$ C), en concentraciones de 0.1, 0.5, 0.8% en una parrilla (SP13425, Barnstead/thermolyne, USA), con agitación continua. Las mezclas se dejaron en agitación 24 horas a temperatura ambiente para permitir y asegurar la hidratación y disolución de los componentes. Después de este tiempo se ajustó el pH a 7.0 con NaOH 0.5 M, se dejaron en agitación nuevamente durante 10 minutos y posteriormente se vaciaron las disoluciones calientes en moldes de 20 mm de diámetro interno y 114 mm de longitud para las pruebas mecánicas y 26.1 mm de diámetro interno y 114 mm de longitud para

pruebas reológicas. Las disoluciones se calentaron en baño de agua (Polysat 12101-50, Cole Parmer, USA) a 90 °C durante 60 minutos. Posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se colocaron en refrigeración durante 24 horas para realizar las pruebas posteriores.

### **Pruebas mecánicas**

Se llevaron a cabo pruebas de compresión uniaxial a 25 °C en una máquina de pruebas mecánicas Sintech 1/S (MTS System Corporation, EUA) con una celda de carga de 100 N. Los discos de gel se obtuvieron de los moldes de 20 mm de diámetro interno y una longitud de 80 y 90 mm. Los geles se cortaron con ayuda de un dispositivo mecánico diseñado para este fin hasta obtener un cilindro de 20 mm de longitud. Se colocaron en la placa de soporte y se comprimieron con un cilindro sólido de 3 cm de diámetro a una velocidad de 50 mm/min o 400 mm/min, según fuese posible fracturarlos, dependiendo de una deformación relativa de 80%. Las pruebas mecánicas fueron realizadas a los geles de WPC con los polisacáridos gelana de alto acilo, gelana de bajo acilo y  $\kappa$ -carragenina que formaron estructuras lo suficientemente fuertes para autosostenerse. Las determinaciones se realizaron por duplicado. En las formulaciones con GAA 0.5% y WPC 20% no fue posible realizar esta prueba debido a que el gel formado fue demasiado débil como para autosostenerse. En el caso de las mezclas de WPC con  $\lambda$ -carragenina no fue necesario realizar esta prueba ya que no hubo gelificación. Con los datos expresados como esfuerzo normal verdadero y deformación relativa normal verdadera (ver apéndice A), se construyeron las gráficas  $\sigma_V$  (Pa) vs  $\epsilon_H$  (adimensional) para cada espécimen y posteriormente se determinaron los valores del módulo de Young (Pa) determinando la pendiente de la porción inicial de la curva  $\sigma_V$  vs  $\epsilon_H$ .

### **Determinaciones reológicas**

Se llevaron a cabo pruebas de cizalla oscilatoria de baja amplitud a 25 °C en un reómetro ARES- RFS III (TA Instruments, USA), usando geometrías de placas paralelas estriadas. Los discos de gel se obtuvieron de los moldes cortándolos de un espesor de 2 y 3 mm. Los discos se colocaron en la placa inferior del reómetro y la placa superior se hizo descender lentamente. Las determinaciones realizadas fueron: (1) Barrido de deformación para verificar que las mediciones se llevaran a cabo en la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL), es decir, en la zona en la cual la relación esfuerzo-deformación es lineal y por lo tanto las funciones materiales son constantes. Para esto se impuso un movimiento oscilatorio de frecuencia constante, 6.28 rad/s, y amplitud variable sobre la placa inferior, (2) barrido de frecuencia en la amplitud para la cual se observó la ZVL. El intervalo de frecuencia fue de 0.1 rad/s a 100 rad/s.

### **Fuerza iónica y concentración iónica total**

Se calculó la fuerza iónica para los sistemas WPC-GAA, WPC-GBA y WPC-κC, utilizando la ecuación de Lewis y Randall.

$$I = \frac{1}{2} \sum z_i^2 C_i$$

Por otro lado, se calculó la concentración iónica total de estas mezclas y el valor se refirió a los diagramas de transición sol-gel de la sal de potasio correspondientes a los polisacáridos GBA y κC con la finalidad de ubicar en dicho diagrama el tipo de sistema.

### **Análisis estadístico**

Se hizo un análisis estadístico para determinar la desviación estándar y el coeficiente de varianza en las pruebas mecánicas. En las pruebas reológicas solo se determinó la desviación estándar.

### PRUEBAS DE GELIFICACIÓN

#### Efecto de la temperatura y la concentración

La gelificación de las proteínas inducida por calor está gobernada por un balance entre fuerzas de atracción y repulsión (Egelandsdal, 1980). Las fuerzas de repulsión se atribuyen a las cargas que existen en la superficie y las fuerzas de atracción a varios grupos funcionales expuestos por el desplegamiento térmico de las proteínas (Kojima y Nakamura (1985). La gelificación se refiere a la transformación de una proteína en solución a una estructura tipo gel por calentamiento u otros agentes (Damodaran & Paraf, 1997). La gelificación mediada por calor de los sistemas proteína-agua ha sido descrita por un proceso de dos estados, primero la desnaturalización de la proteína nativa seguida de una interacción proteína-proteína dando como resultado una malla de proteína tridimensional la cual forma finalmente la estructura del gel ( Ferry, 1948; Shimada and Matsushita, 1980).

En el Cuadro 1 se observan los resultados del efecto del tratamiento térmico y la concentración de lactosuero (WPC). Para concentraciones menores de 20% y las cuatro diferentes temperaturas no se observó gelificación sino disolución de WPC en agua. A partir de 20% comenzó a observarse coagulación, para las cuatro temperaturas. La coagulación térmica, es la interacción aleatoria de las moléculas proteínicas por un tratamiento térmico, encabezando la formación de agregados que podrían ser solubles o insolubles, formando así una malla tridimensional que exhibe cierto grado de orden (Damodaran & Paraf, 1997). A 85 y 90 °C la coagulación fue más firme. Una mayor concentración de WPC (40 y 50%) y un tratamiento térmico a 85 y 90 °C por 60 min resultó en una mayor coagulación. Sin embargo, estas concentraciones se consideraron muy grandes e inadecuadas para pruebas posteriores.

**Cuadro 1.** Efecto de la temperatura y concentración de WPC.

WPC (%)	Temperatura (°C)			
	60	80	85	90
2	NG	NG	NG	NG
5	NG	NG	NG	NG
10	NG	NG	NG	NG
20	C (+)	C(+)	C(++)	C(++)
30	C (+)	C(++)	C(++)	C(+++)
40	-----	-----	C(+++)	C(+++)
50	-----	-----	C(+++)	C(+++)

NG = no gelifica; C = Coagulación, (+) = débil; (++) = moderada; (+++) = firme

Se ha demostrado un incremento de viscosidad de las dispersiones de WPC a 65 °C, independientemente de la concentración, temperatura a la cual la  $\alpha$ -lactoalbúmina es desnaturalizada y la gelificación fue observada por arriba de 70 °C; temperatura muy cercana a la de desnaturalización de la  $\beta$ -lactoglobulina (Joyce, 1995). El concentrado de suero lácteo (WPC 80) únicamente coagula sin formar geles y la coagulación es más firme a temperaturas mayores. Esto permitió seleccionar una temperatura para poder llevar a cabo pruebas posteriores. Dicha temperatura fue 90 °C, temperatura a la cual las proteínas globulares se encuentran desnaturalizadas permitiendo interaccionar con otras macromoléculas en el medio.

Con respecto a la concentración de WPC, el hecho de no observar coagulación por debajo de 20% aun a 85 y 90 °C se debe a que la agregación de las proteínas es un paso que no depende de la concentración de proteína, pero la formación de geles a partir de la agregación de las proteínas sí depende de la concentración (Ferry, 1948; Trautman, 1966). Dicho de otra forma y en relación con los resultados obtenidos, para las concentraciones de 2, 5 y 10% sí hay agregación de las proteínas, sin embargo, a 80, 85 y 90 °C aunque las dos proteínas globulares se encuentran desnaturalizadas no es suficiente la concentración de éstas para poder coagular; fenómeno que sí fue observado a partir de 20% de concentración de WPC. Por lo tanto, se requiere una concentración crítica a una cierta temperatura para que comience a ocurrir la coagulación.

### Efecto del pH y la fuerza iónica

El pH y la fuerza iónica de las dispersiones de proteína tienen un efecto profundo en la gelificación debido a la influencia sobre el balance de residuos polares y no polares. En el Cuadro 2 se muestra el efecto del pH sobre las nueve dispersiones con 20% de WPC.

**Cuadro 2.** Efecto del pH.

pH	Observaciones
2	Soluble
3	Soluble
4	Soluble
5	Coagulación (+)
6	Coagulación (+)
7	Coagulación (++)
8	Coagulación y oscurecimiento(+++)
9	Solo oscurecimiento
10	Solo oscurecimiento

Disoluciones con 20% de WPC  
(+) = débil; (++) = moderado; (+++) = firme

A pH 2 y 4 solo se observó disolución de WPC en agua, a partir de pH 5 comenzó a coagular. La región isoelectrica de la  $\alpha$ -lactalbúmina y la  $\beta$ -lactoglobulina está en el intervalo de pH de 4 a 6. En esta región el pH y la falta de fuerzas de repulsión podrían conducir a una menor expansión, menor hidratación y por lo tanto la formación de coágulos débiles. Los coágulos de mayor firmeza se obtuvieron en una región de pH alcalino (7 a 8) ya que para estos valores de pH las proteínas del suero pueden estar sometidas a una desnaturalización extensa, mayor expansión y por lo tanto atrapar más agua. El hecho de no observar coagulación en los intervalos de pH de 2 a 4 y de 9 a 10 demuestra que no hay interacción entre proteínas lo cual puede deberse a que se requieren temperaturas más altas para desnaturalizar las proteínas a pH ácido o pH muy alcalino (Joyce, 1995). Analizando estos resultados, se seleccionaron los valores de pH 6 y 7 para el estudio del efecto de la fuerza iónica.

En el Cuadro 3 se muestran los resultados del efecto de la fuerza iónica de las dispersiones con 2, 5, 10, 20 y 30% de suero lácteo con adición de 0.5, 1, 1.5, y 2 M de NaCl a pH 6 y pH 7 para cada caso todas calentadas por 60 min a 90 °C. Para una concentración de 2% de WPC no se observó gelificación ni formación de

coágulos en ninguna de las dispersiones adicionadas con sal, pero a partir de 5% de WPC se observó formación de coágulos cuya firmeza fue mayor en las dispersiones con mayor contenido de sal adicionada. El coagulo más firme se observó para una concentración de sal de 2 M. En las dispersiones con 10% de WPC los coágulos más firmes se observaron para una concentración de sal de 1.5 M. Para 20 y 30% de WPC los coágulos fueron más firmes para concentraciones de sal de 0.5 y 1 M, mientras que para 1.5 y 2 M de sal, los coágulos fueron de mayor firmeza. Cabe mencionar que los coágulos formados fueron de mayor firmeza que los coágulos observados en las pruebas anteriores. La formación de agregados de proteínas depende del pH y de la fuerza iónica. Para un pH cercano al punto isoelectrico y una fuerza iónica grande, la formación de agregados de proteínas fue mayor de acuerdo con lo reportado en la literatura (Aymard et al. 1996; Hoffmann et al. 1997).

**Cuadro 3.** Efecto de la fuerza iónica.

WPC (%)	Observaciones							
	NaCl (0.5 M)		NaCl (1 M)		NaCl (1.5 M)		NaCl (2 M)	
	pH 6	pH 7	pH 6	pH 7	pH 6	pH 7	pH 6	pH 7
2	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG	NG
5	C	C	C (+)	C (+)	C (+)	C (+)	C (++)	C (++)
10	C	C	C (+)	C (+)	C (++)	C (++)	C (++)	C (+++)
20	C (++)	C (++)	C (+++)	C (+++)	C (++)	C (++)	C (++)	C (++)
30	C (++) y O	C (++)	C (++)	C (+++)	C (+++)	C (+++)	C (+++)	C (+++)

NG = no gelifica; C = Coagulación; O = oscurecimiento. +, ++ y +++ indican un aumento de firmeza y tamaño del coágulo.

### **MEZCLAS DE WPC 80 CON LOS POLISACÁRIDOS INDIVIDUALES**

Considerando las observaciones anteriores, estas mezclas se prepararon a 90 °C, pH 7, sin adición de sal con 20 y 30% de WPC. En el Cuadro 4 se muestran los resultados de las pruebas realizadas. Para 0.1% de polisacárido (GBA, GAA, κC, λC), no hubo gelificación, solo se observó formación de coágulos. A partir de 0.5% de polisacárido comenzó a observarse gelificación excepto en el caso de las mezclas con λC, en las que no hubo formación de geles sino solo coagulación más firme para una mayor concentración de este polisacárido y por tanto no se consideraron para ser estudiadas sus propiedades mecánicas y reológicas.

**Cuadro 4.** Mezclas de polisacáridos con 20 y 30% de WPC 80 a pH 7.

GBA* (%)	Observaciones		κC (%)	Observaciones	
	WPC 20%	WPC 30%		WPC 20%	WPC 30%
0.1	NG	NG	0.1	NG	NG
0.5	G (+); HT	G (+); HT	0.5	G (+); HT	G (+); HT
0.8	G (++) ; HT	G (++) ; HT	0.8	G (+++) ; HT	G (++) ; HT
1	G (+++) ; HT	G (++) ; HT	1.0	G (+++) ; HT	G (++) ; HT
GAA** (%)	WPC 20%	WPC 30%	κC (%)	WPC 20%	WPC 30%
0.1	NG	NG	0.1	NG	NG
0.5	G (+); HM	G (+); HM	0.5	NG	NG
0.8	G (++) ; HM	G (++) ; HM	0.8	NG	NG
1.0	G (++) ; HM	G (++) ; HM	1	NG	NG

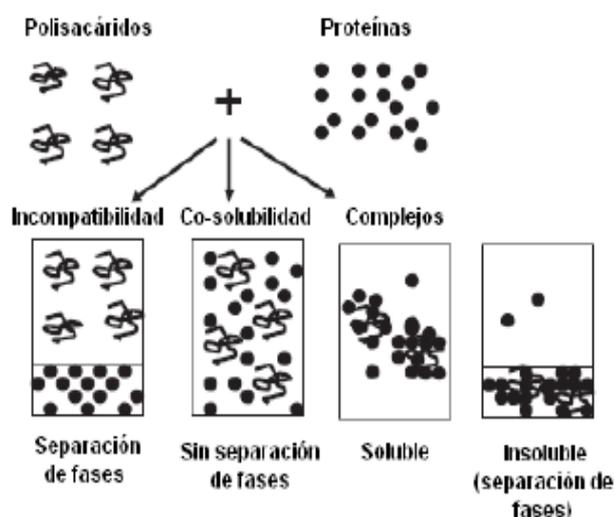
\* Geles quebradizos; \*\* Geles elásticos; HT= Heterogéneos; HM = Homogéneos, NG = no gelifica; G = gelifica, +, ++ y +++ indican un aumento de firmeza.

Los geles formados con GAA, fueron elásticos y homogéneos; no se observó separación de fases y para una mayor concentración de polisacárido se obtuvieron geles más firmes. Los geles formados con GBA fueron quebradizos y heterogéneos, es decir, hubo partes del gel en las que se encontraron agregados de la mezcla proteína-polisacárido y en otras partes agua-polisacárido para las diferentes concentraciones de gelatina. La GAA tiene un voluminoso sustituyente L-glicerilo, localizado en el interior de la doble hélice. Esto altera los puentes de hidrógeno dentro y entre las dobles hélices y enmascara estéricamente los grupos glucurónicos alterando la unión de cationes como el potasio (Jay et al. 1998; Kasapis et al. 1999), lo que puede explicar las débiles propiedades gelificantes de la GAA ya que los voluminosos grupos acetilo y glicerilo previenen la asociación cercana entre las cadenas de la formación de la doble hélice y dificultan el empaquetamiento de las uniones cruzadas en la red tridimensional. La GAA es tratada con un álcali a altas temperaturas para remover los grupos acilo y obtener la forma desacilada (Mao et al. 2008), la cual produce geles duros, no elásticos y quebradizos.

Con la κC los geles obtenidos fueron quebradizos y más heterogéneos que los geles formados con GBA. El mecanismo de gelificación de la κ-carragenina ocurre en un proceso de dos etapas; a partir de hebras aleatorias o bien de un estado desordenado a la formación de hélices o bien estado ordenado, seguido

por la agregación de cada una de estas hélices para formar redes al presentarse el enfriamiento (Rochas & Rinaudo 1980). La gelificación de  $\kappa$ C está fuertemente influenciada por el tipo de iones en solución especialmente por el ion potasio.

Si las proteínas y los polisacáridos muestran una atracción neta, usualmente a través de interacciones electrostáticas, cuando tienen grupos con cargas opuestas, ocurre la coacervación compleja o una separación de fases asociativa, dando lugar a la formación de complejos proteína-polisacárido, o bien, la mezcla se separa en dos fases: la fase inferior contiene el complejo proteína polisacárido y la fase superior contiene principalmente al disolvente (Ye, 2008).



**Figura 17.** Principales tendencias en la interacción en sistemas de proteínas-polisacáridos (Ye, 2008).

Con respecto a la heterogeneidad en los geles formados con GBA y  $\kappa$ C se ha demostrado que las mezclas de proteínas y polisacáridos son inestables, como se observa en la Figura 17. A pH neutro, como el de este trabajo, tanto las proteínas del suero como los polisacáridos aniónicos, se encuentran cargados negativamente por lo tanto hay una repulsión electrostática entre ambos. Además, cada uno muestra una afinidad variable hacia el disolvente y dependiendo de la concentración, ya sea de WPC como de polisacárido, estos sistemas muestran un comportamiento diferente, resultando ya sea en una co-solubilidad o bien en formación de complejos. Los geles con GBA al tener una concentración de 20 % de WPC y 0.5 % de GBA muestran una co-solubilidad, ya que existen zonas en

dónde se observa hay interacción de las proteínas, con el polisacárido y en otras zonas solo se observan pequeños espacios transparentes los cuales se consideran son polisacárido y disolvente, a medida que aumenta la concentración de polisacárido se observa un sistema más homogéneo sin embargo se sigue observando co-solubilidad. Al aumentar la concentración de WPC el sistema es más inestable y los geles formados son más débiles, observando también un fenómeno de co-solubilidad. Los geles con  $\kappa$ -C, son sistemas de mayor heterogeneidad que los de GBA. En éste caso, al tener una concentración de 20% de WPC y concentraciones de  $\kappa$ -C de 0.5% y 0.8% se observó hay una formación de complejos (insoluble), es decir, se exhiben dos fases: una rica en proteína que se observa en el fondo del tubo y otra rica en polisacárido. A esta misma concentración de WPC y con una concentración de  $\kappa$ -C del 1% hay formación de complejos: proteína-polisacárido y polisacárido-disolvente sin resultar este en una separación de fases. A concentraciones de 30 % de WPC, se observa una co-solubilidad, exceptuando en el gel con 0.8 % de  $\kappa$ -C en el cual se distingue una separación de fases: una rica en proteína (fase inferior) y otra rica en polisacárido (fase superior).

En la GAA el voluminoso grupo glicerol tiene efectos estabilizantes en la estructura de la doble hélice ya que los tres átomos de oxígeno en el grupo glicerol estabilizan la estructura de la doble hélice formando cuatro nuevos puentes de hidrógeno inter o intracatenarios (Kassapis et al. 1999). Puede ser por esto que a pesar de que los geles de GAA son normalmente más suaves que los de GBA, la estructura de los primeros es más estable, lo cual puede explicar también el hecho de que al mezclar GAA con proteínas del suero los geles resultantes son homogéneos.

En el caso de los geles con  $\kappa$ C, en otros estudios (Ould Eleya, 1999) se observó que mezclas preparadas con  $\beta$ -lg y  $\kappa$ C a 45 °C forman un sistema homogéneo aun a altas concentraciones de proteína. Estas mezclas al ser llevadas a 90 °C muestran un perfil bifásico, sin embargo, esta temperatura es la requerida para una completa desnaturalización de la  $\beta$ -lg y la formación de agregados. Por lo tanto, a 90 °C se ve totalmente favorecida la incompatibilidad termodinámica de la  $\beta$ -lg y la  $\kappa$ C. Este fenómeno ocurre en el presente trabajo y puede explicar la heterogeneidad de los sistemas WPC/GBA.

La compatibilidad entre proteínas y polisacáridos aparece donde éstos forman complejos solubles estabilizados por interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno. La incompatibilidad ocurre cuando se inhibe la formación del complejo proteína-polisacárido. La separación de fases en disoluciones mixtas de los biopolímeros estudiados es muy sensible a factores de entropía provocados por el volumen de exclusión de las macromoléculas. Además, la incompatibilidad de los biopolímeros incrementa las condiciones favorables para la autoasociación y la ampliación de las macromoléculas, por ejemplo, la transición conformacional de hebra a hélice (Tolstoguzov, 1991), añadiendo también a esto la temperatura, concentración, pH y fuerza iónica.

### **PROPIEDADES MECÁNICAS**

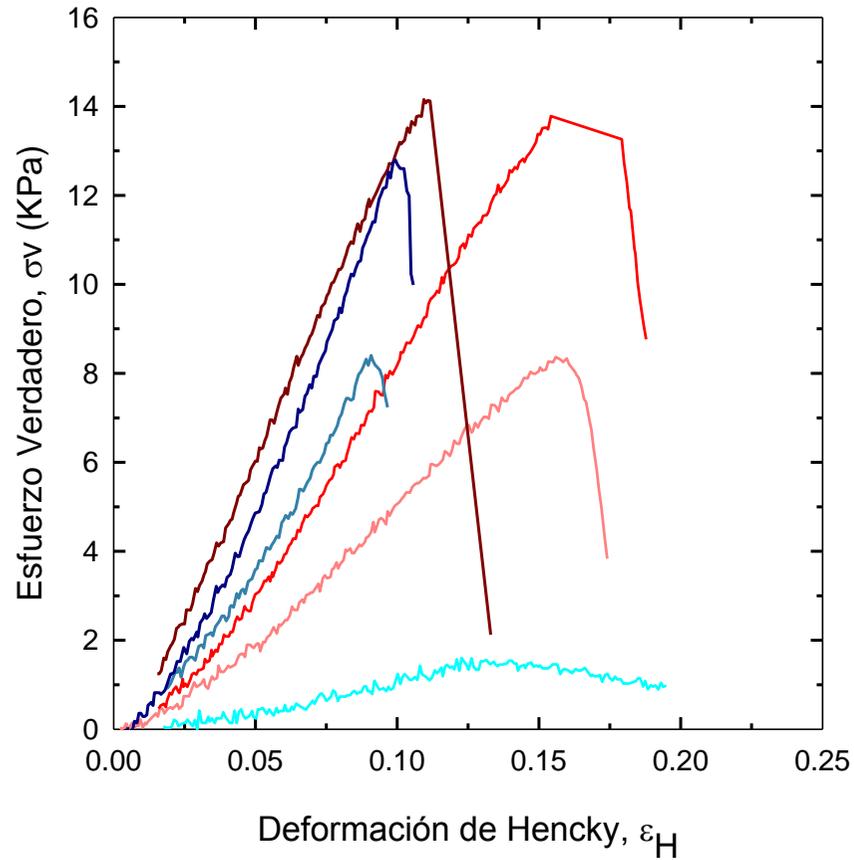
La comprensión uniaxial es una prueba utilizada para determinar las propiedades mecánicas en alimentos sólidos y semisólidos debido a que la muestra no necesita sujetarse (Rodríguez-Hernandez, 2006). Los alimentos son materiales viscoelásticos y las curvas esfuerzo-deformación que se generan no son lineales. De las pruebas mecánicas realizadas a los geles se trazó para cada uno la curva esfuerzo-deformación a partir de la cual se obtuvieron los valores de esfuerzo de fractura, deformación de fractura y módulo de Young o módulo de elasticidad. Cabe mencionar que debido a la heterogeneidad de los geles con GBA y  $\kappa$ C y a las dificultades que presentaron los geles con GAA para ser sometidos a compresión mecánica debido a que se colapsaban, al realizar las pruebas por duplicado en la mayoría de los casos los valores obtenidos para cada repetición fueron muy diferentes entre sí, por lo que en el análisis estadístico de los valores obtenidos existe una gran diferencia en la mayoría de los casos (Apéndice B, Cuadros 6, 7 y 8). No obstante, con la finalidad de mostrar el comportamiento esfuerzo-deformación de todos los sistemas estudiados, se muestran las curvas de los geles que mostraron mayor homogeneidad y en el caso de GAA mayor firmeza para no colapsarse por su propio peso. En estos casos se tomaron en cuenta los valores de esfuerzo de fractura, deformación de fractura y módulo de Young, E, obtenidos de dichas curvas para describir su comportamiento mecánico.

En la Figura 18 (A, B, C y D) se muestran las curvas esfuerzo-deformación obtenidas para cada sistema estudiado. Todos los sistemas muestran diferentes comportamientos de acuerdo con el tipo de polisacárido utilizado y a las diferentes concentraciones utilizadas de ambos componentes. En la Figura 18 (A) se muestran las curvas esfuerzo-deformación para los geles de WPC y GBA. Para cada concentración de WPC, 20 y 30%, al aumentar la concentración de polisacárido, aumentó el esfuerzo de fractura. Sin embargo, para 20% de WPC y con las tres diferentes concentraciones de GBA los esfuerzos de fractura fueron mayores que para los geles con 30% de WPC (Apéndice B, Cuadro B1). Esto puede atribuirse a que probablemente se favorezca la competencia entre los dos componentes por interactuar con el disolvente ya que ambos tienen diferente afinidad por el agua. Además, se sabe que estos dos componentes son termodinámicamente inestables y al existir una mayor concentración de WPC en el medio, lo cual conlleva a una mayor cantidad de iones, resulta un sistema más inestable de lo que ya es (Antonov et al. 1996; Picullel & Nilsson, 1995). Con respecto a la deformación de fractura, no se observó un comportamiento característico de las curvas, esto es, que la deformación se haya visto afectada por la concentración de WPC o de GBA, ya que los valores de deformación de fractura obtenidos son muy variados (Apéndice B, Cuadro B2). Los geles de  $\kappa$ C y WPC tuvieron el mismo aspecto que los geles con GBA; firmes y quebradizos.

En la Figura 18 (B), se observa que para ambas concentraciones de WPC el esfuerzo de fractura aumenta al incrementar la concentración de polisacárido. Los esfuerzos de fractura son menores para los geles con 30% de WPC que para 20% (Apéndice B, Cuadro B1). Asimismo, para 20% de WPC con 0.5 y 0.8% de  $\kappa$ C las deformaciones fueron mayores que para los geles con 30% de WPC, exceptuando en los geles con la mayor concentración de  $\kappa$ C (Apéndice B, Cuadro B2), ya que el gel con 30% de WPC y 1% de  $\kappa$ C soportó una mayor deformación antes de fracturarse. Esto quiere decir que es un gel más débil que el que contiene 20% de WPC. El resto de los geles con 20% de WPC son ligeramente más rígidos que para una concentración mayor de WPC. Por lo tanto, al igual que en el caso de los geles con GBA, una mayor concentración de WPC promueve una competencia por los iones presentes en el medio lo cual tiene como efecto que los geles formados sean de menor firmeza.

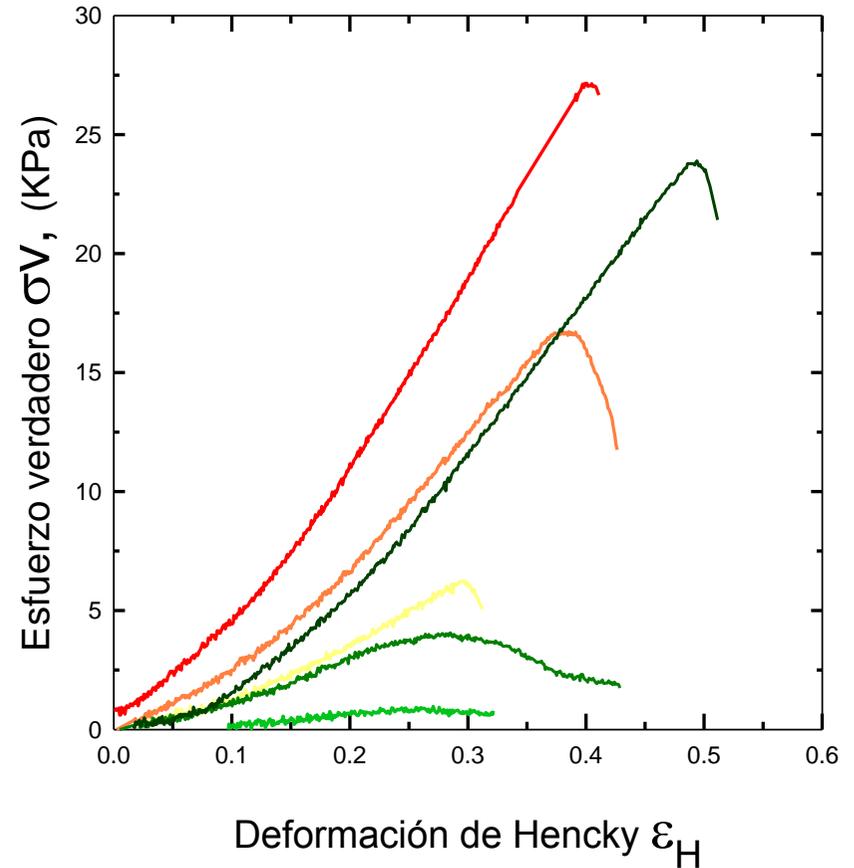
Los geles con WPC y GAA soportaron deformaciones mayores de 1.2 (Figura 17 C). Solo en el caso del gel con la menor concentración de suero y de polisacárido (WPC 20% + GAA 0.8%) hubo fractura. Sin embargo, el esfuerzo necesario para fracturarlo es de 23.30 KPa, el resto de los geles no fueron fracturados a pesar de soportar mayores deformaciones que el anterior. Por lo tanto, se puede decir que son geles muy flexibles, ya que pueden llegar a deformarse sin llegar a la fractura. Al aumentar la velocidad de compresión hasta 400 mm/s fue posible fracturar estos geles (Figura 17 D). Los esfuerzos de fractura fueron similares para WPC 30% + GAA 0.8%, 1% y WPC 20% + GAA 1%; 0.55, 0.53 y 0.54 KPa, respectivamente. Para el gel con 30% de WPC y 0.8% de GAA se requirió un esfuerzo de fractura menor que en los anteriores; 0.36 KPa. Sin embargo, la deformación de fractura fue similar en los cuatro casos (Apéndice B, Cuadro B2).

En general, el comportamiento mecánico de estos geles fue muy variado y por lo tanto el utilizar diferentes polisacáridos muestra un comportamiento característico. Los geles con GBA y GAA no mostraron una tendencia con respecto al aumento de la concentración de WPC o de polisacárido, mientras que para los geles con  $\kappa$ C el comportamiento de las curvas esfuerzo-deformación sí mostró una tendencia con respecto al aumento de la concentración de polisacárido. Con respecto a los valores de deformación de fractura, es destacable la diferencia que existe entre los geles de GBA y  $\kappa$ C con los de GAA. Los geles con GBA soportaron deformaciones no mayores de 0.2, los geles con  $\kappa$ C comenzaron a fracturarse a partir de 0.3, pero no más allá de 0.5, mientras que los geles con GAA soportaron deformaciones mayores de 1.0 lo cual muestra su gran flexibilidad.



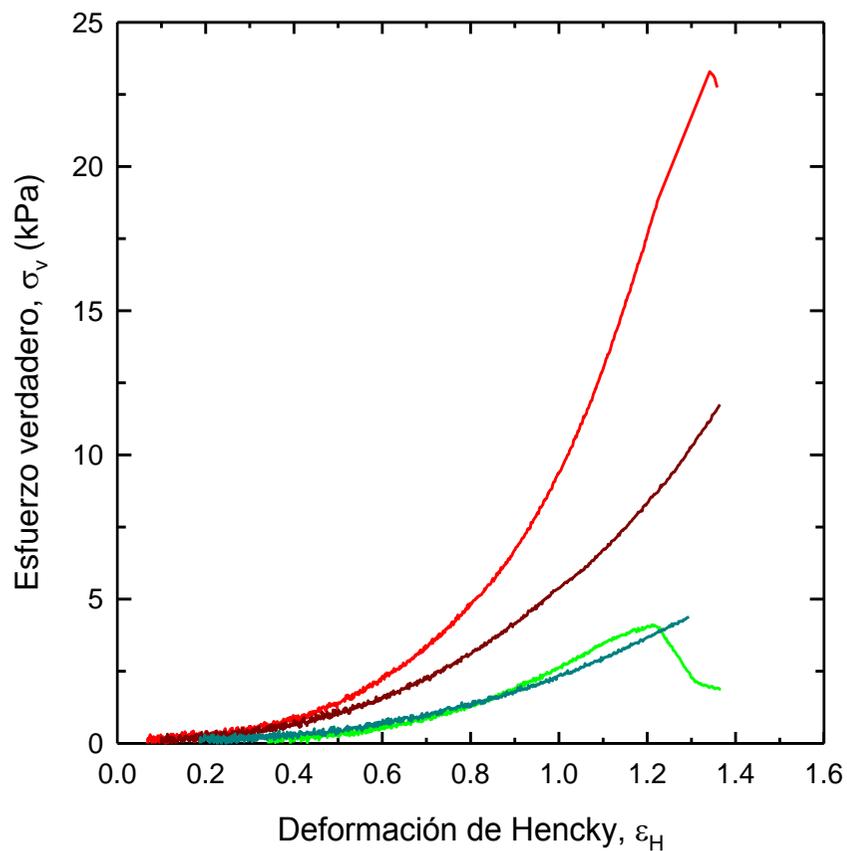
**(18 A) Curva esfuerzo-deformación para los sistemas WPC/GBA**

WPC 20 GBA 0.5 —, WPC 20 GBA 0.8 —, WPC 20 GBA 1 —  
 WPC 30 GBA 0.5 —, WPC 30 GBA 0.8 —, WPC 30 GBA 1 —



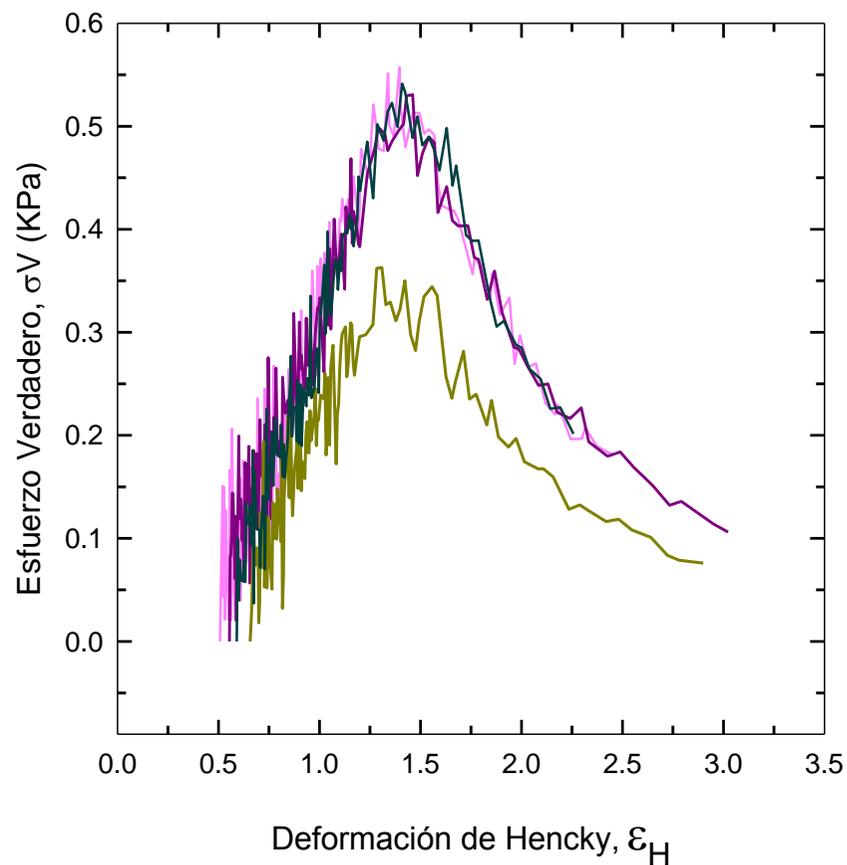
**(18 B) Curva esfuerzo-deformación para los sistemas WPC/κC**

WPC 20 κC 0.5 —, WPC 20 κC 0.8 —, WPC 20 κC 1 —  
 WPC 30 κC 0.5 —, WPC 30 κC 0.8 —, WPC 30 κC 1 —



(18 C) Curva esfuerzo-deformación para los sistemas WPC/GAA

WPC 20 GAA 0.8 —, WPC 20 GAA 1 —  
 WPC 30 GAA 0.8 —, WPC 30 GAA 0.8 —

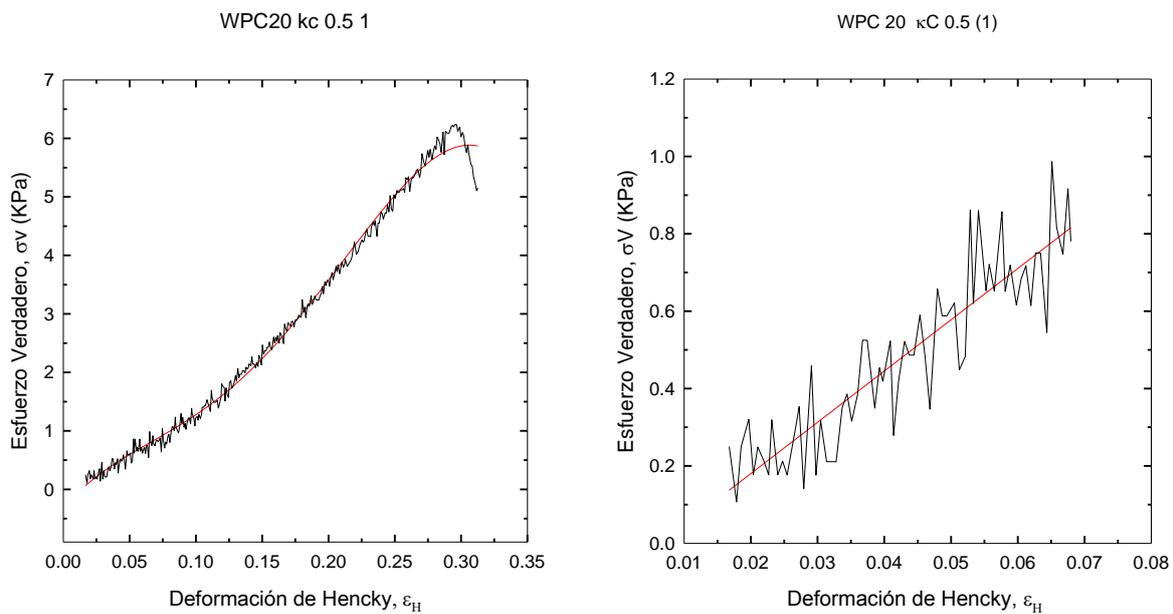


(18 D) Curva esfuerzo-deformación para los sistemas WPC/GAA con velocidad modificada

WPC 20 GAA 0.8 —, WPC 20 GAA 1 —  
 WPC 30 GAA 0.8 —, WPC 30 GAA 0.8 —

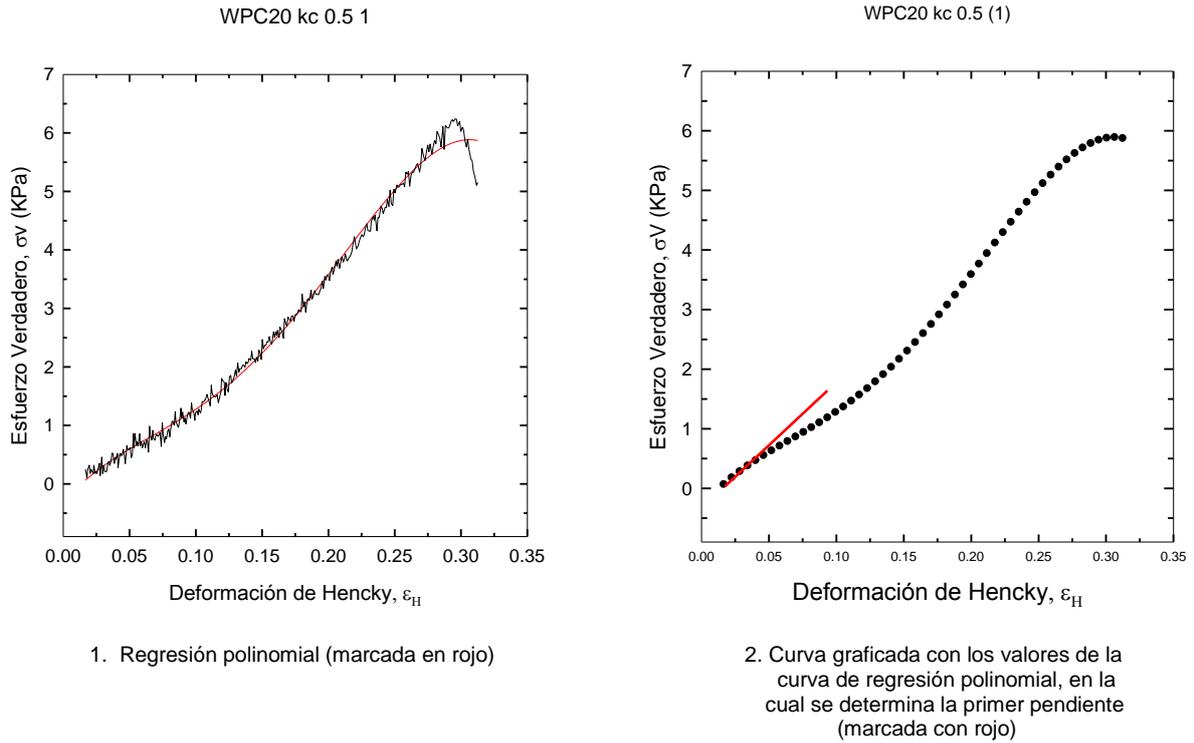
**Figura 18.** Curvas esfuerzo-deformación para las mezclas WPC-polisacáridos; GBA (A), κC (B) y GAA (C, D).

Esto indica claramente las diferencias entre un gel fuerte y rígido, lo cual le da esa característica de ser quebradizo con esfuerzos de fractura grandes que soportan deformaciones pequeñas como lo son los geles con GBA y  $\kappa$ C y los geles suaves, débiles y flexibles que pueden soportar grandes deformaciones como los geles con GAA. Sin embargo, la gran flexibilidad de estos geles permite que tengan esfuerzos de fractura similares a los de los geles firmes con GBA y  $\kappa$ C o bien que para ser fracturados se necesite aumentar la velocidad de compresión.

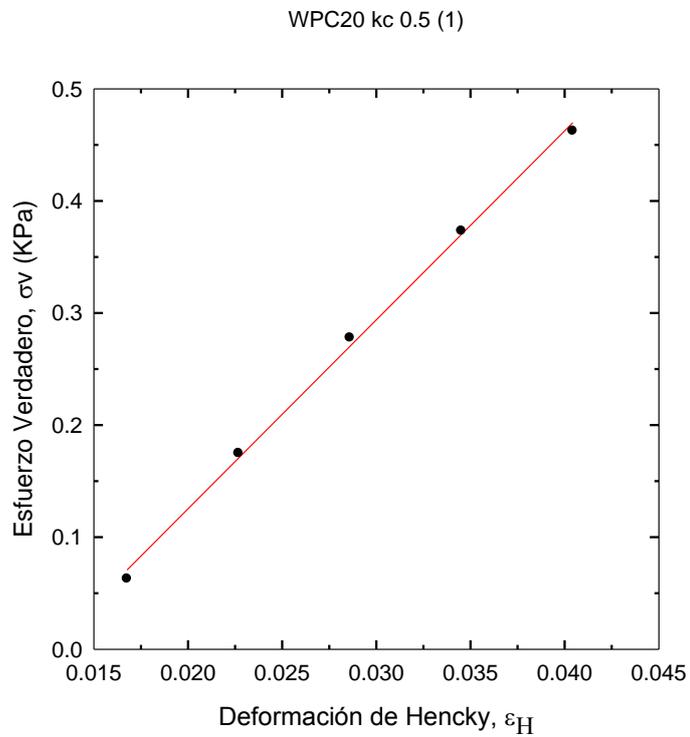


**Figura 19.** Determinación del Módulo de Young a partir de la curva esfuerzo-deformación. En este caso  $E = 13252 \text{ Pa}$  con un coeficiente de correlación  $r^2 = 0.8017$ .

Para el cálculo de el Modulo de Young se realizó una regresión polinomial a cada curva (esfuerzo-deformación), con la finalidad de obtener los datos que caen dentro de ésta curva y eliminar el error para así obtener una pendiente con un  $r^2$  más aceptable (Figura 20 y 21), y como consecuencia de esto, y como se puede observar (Apéndice B, Cuadro B3), los módulos calculados directamente de la curva fueron diferentes de los calculados con la curva suavizada. Sin embargo, Estos resultados se consideraron aceptables y por lo tanto se reportan aquí como módulos de Young de cada mezcla.



**Figura 20.** Determinación del módulo de Young por suavización de la curva experimental.



**Figura 21.** Curva graficada para determinar pendiente.  $E = 16859 \text{ Pa}$ ;  $r^2 = 0.9979$

En los geles de WPC con GBA y  $\kappa$ C hubo un aumento de los módulos de Young al aumentar la concentración de polisacárido (Apéndice B, Cuadro B3). Dicho de otra forma, al tener en los geles una mayor concentración de polisacárido se pueden aplicar mayores esfuerzos y el gel volver a su estado inicial al retirar la fuerza. Al sobrepasar estos valores, la estructura del gel es modificada internamente y por lo tanto es imposible regresar a su forma original. Sin embargo, para 30% de WPC, E fue menor lo cual muestra que estos geles fueron más débiles debido probablemente a la competencia por el disolvente que se favorece en estos sistemas. En el caso del gel con 30% de WPC y 0.8% de GBA, E fue menor que con 20% de WPC y la misma concentración de polisacárido; 6.57 kPa y 8.92 kPa, respectivamente. Para los geles con WPC y GAA sucede lo mismo; los valores de E son mayores para aquellos que contienen 20% de WPC, pero en este caso al aumentar la concentración de polisacárido, E disminuyó (Apéndice B, Cuadro B3). Además, los geles con GAA, tienen valores de E menores que aquellos geles con GBA y  $\kappa$ C y disminuyen más al aumentar la velocidad de compresión para la cual sí hubo fractura (Apéndice B, Cuadro B2). Estos geles son muy flexibles y soportan mayores deformaciones que los demás, y por lo tanto el valor de sus módulos de Young es más pequeño que aquellos geles más rígidos, es decir, los geles de GAA tienen menor dificultad para ser deformados que los geles con GBA y  $\kappa$ C y con mayor razón si se aumenta la velocidad de compresión.

## **PROPIEDADES REOLÓGICAS**

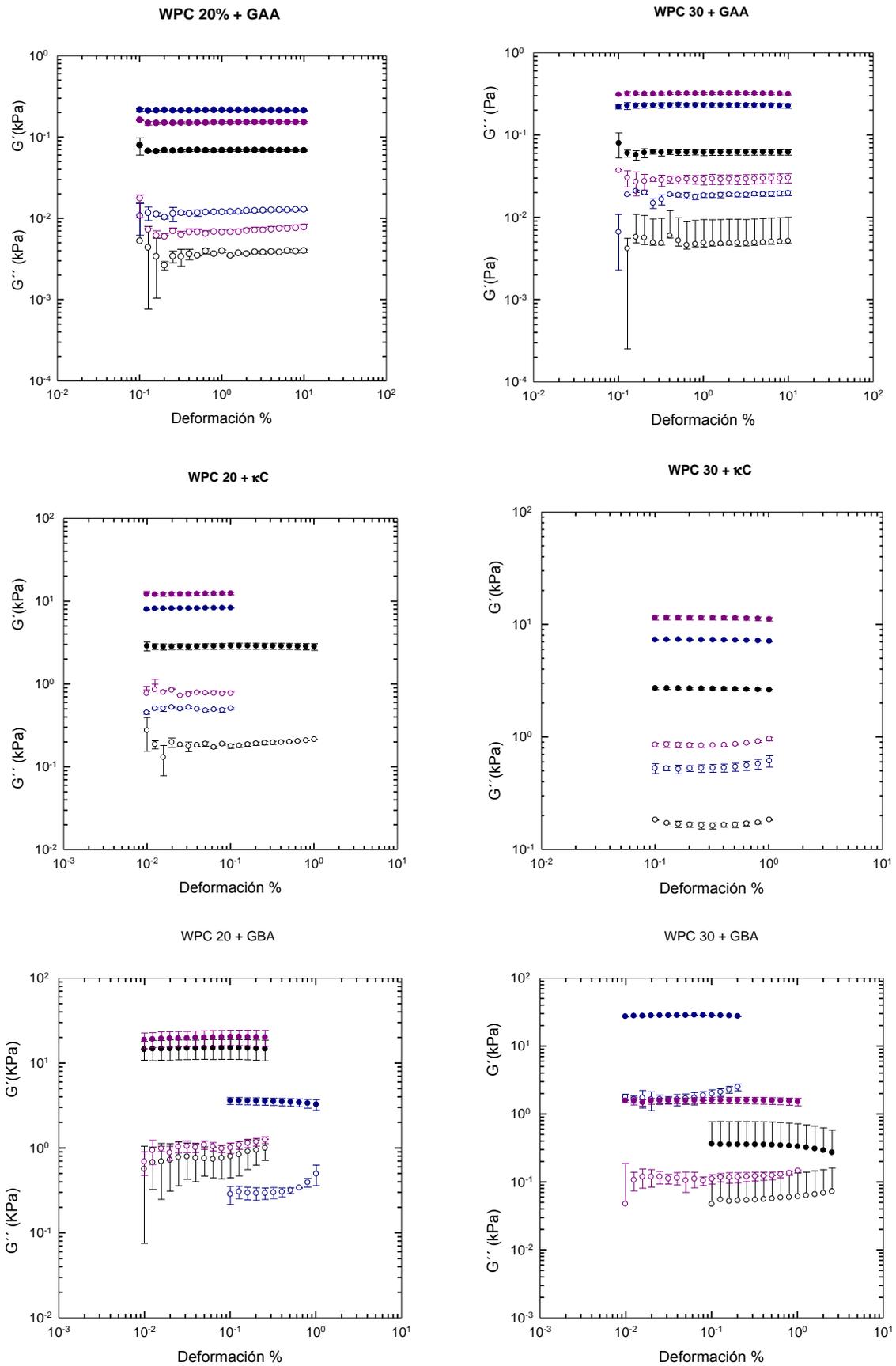
### **Barridos de deformación y de frecuencia**

Los barridos de deformación permiten distinguir los geles “fuertes” de los “débiles”. En ambos el espectro que se obtiene es esencialmente el mismo, con  $G'$  (módulo de almacenamiento) mayor que  $G''$  (módulo de pérdida). Sin embargo, la dependencia de estos módulos con la deformación es muy diferente para cada tipo de gel. El barrido de deformación es utilizado también para determinar la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL), zona en la cual la relación esfuerzo-deformación es lineal y por tanto las funciones materiales no dependen de dichas variables.

En la Figura 22, se muestran los barridos de deformación de cada mezcla de WPC/polisacárido. Los geles con 20% de WPC y 0.5 y 1.0% de GBA mostraron una amplia ZVL, pero para deformaciones menores que el gel con 0.8 % de GBA el cual a pesar de soportar deformaciones mayores, tuvo una ZVL más estrecha que no fue

más allá de 1%. Después, ambos módulos comenzaron a depender fuertemente de la deformación, con valores menores por debajo de los módulos de los geles de las otras mezclas. Esto muestra que los geles con un carácter más elástico son más sensibles a la deformación que aquellos que soportan mayores deformaciones. Para este mismo polisacárido con 30% de WPC, el gel con 1% de GBA mostró una ZVL más amplia que para los geles con 0.5 y 0.8%. En este caso sucedió lo contrario para el gel con 0.8% de GBA, ya que es el que soportó menores deformaciones teniendo una ZVL entre 0.01 a 0.1%. Sin embargo, sus módulos fueron 10 veces mayores que para el gel con 0.5 y 1.0% de GBA en los cuales la ZVL fue de 0.1 a 1% de deformación. Por lo tanto, los comportamientos reológicos de estas mezclas fueron muy variados y no se observó una tendencia hacia un aumento de la concentración ya sea de WPC o bien de polisacárido.

En los sistemas con  $\kappa$ C, los geles con menor concentración de WPC tuvieron una ZVL desde 0.01 hasta 0.1% de deformación con 0.8 y 1% de polisacárido. El gel con 0.5% de  $\kappa$ C mostró una mayor resistencia a la deformación. En los geles con 30% de WPC, la ZVL fue la misma para las tres concentraciones de  $\kappa$ C. En general, la ZVL es del mismo orden de magnitud para ambas concentraciones de WPC, pero su límite se extiende hacia mayores deformaciones al tener una mayor cantidad de WPC y por lo tanto, al soportar deformaciones más altas su carácter elástico es menor que para menores concentraciones de WPC. La ZVL para los geles formados con GAA además de ser muy amplia, 0.1 a 10%, fue igual para ambas concentraciones de WPC y las diferentes concentraciones de polisacárido. Además, estos geles soportaron mayores deformaciones que los de las mezclas anteriores, esto quiere decir que son geles más débiles que los anteriores al tener una ZVL amplia y a mayores deformaciones.



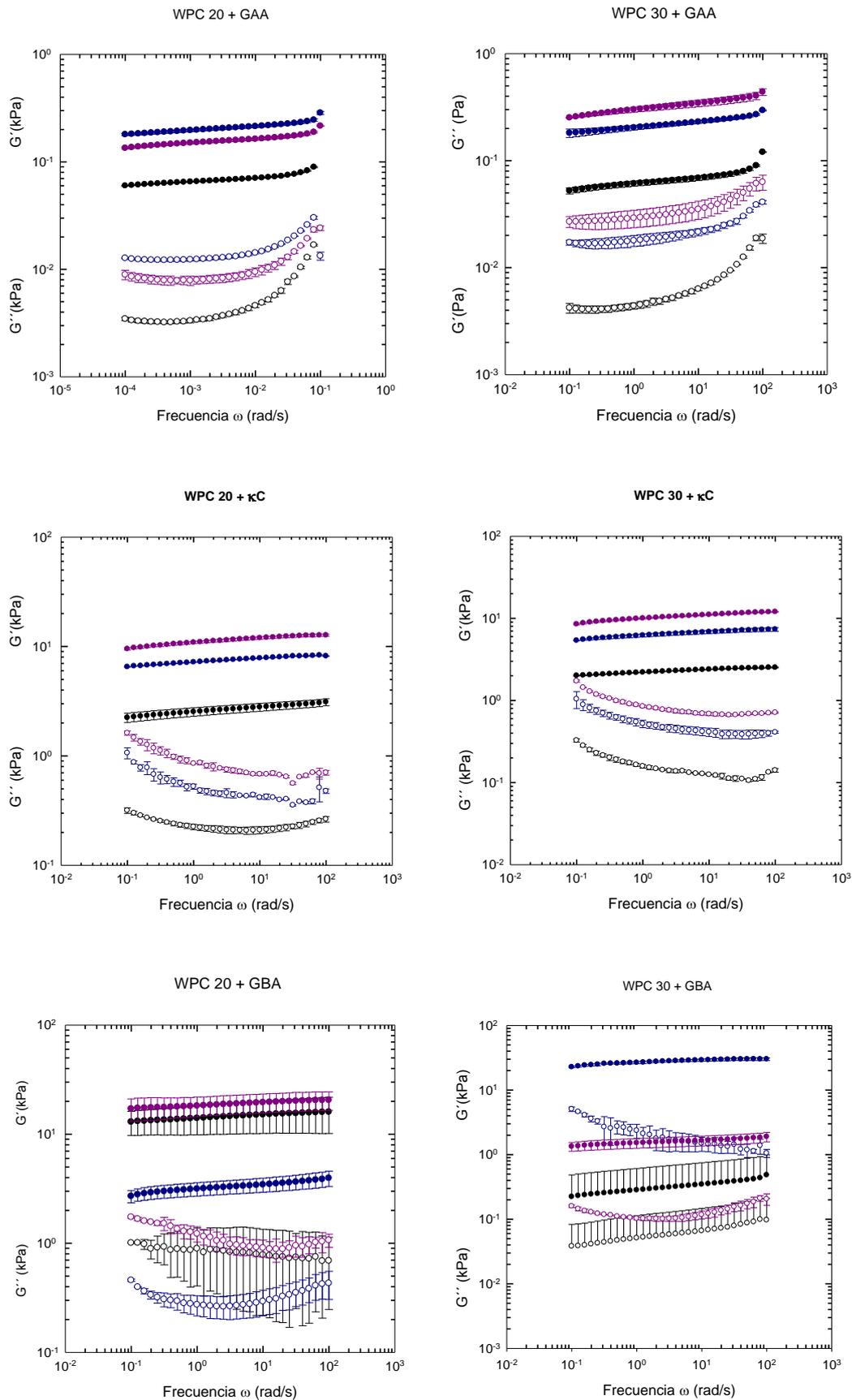
●  $G'$  WPC + 0.5 % P, ○  $G''$  WPC + 0.5 % P; ●  $G'$  WPC + 0.8 % P, ○  $G''$  WPC + 0.8 % P;  
 ●  $G'$  WPC + 1 % P, ○  $G''$  WPC + 1 % P. (P = Polisacárido.)

**Figura 22.** Barridos de deformación de los sistemas analizados de WPC/Polisacáridos

En la Figura 23, se muestran los barridos de frecuencia para las mismas mezclas. Como se observó en los barridos de deformación, en todos los sistemas  $G'$  fue mayor que  $G''$ , lo cual es característico de un gel, sin embargo, cada sistema tuvo un comportamiento diferente y no en todos los casos los módulos  $G'$  y  $G''$  fueron independientes de la frecuencia

Los geles con GBA tuvieron módulos con valores superiores de 1 KPa. El barrido de deformación de los geles con 0.5 y 1.0% de GBA mostró que son más fuertes ya que son más sensibles a la deformación. Esto es congruente con el valor de sus módulos, ya que son más grandes que los del gel con 0.8% de GBA cuyo  $G'$  es más dependiente de la frecuencia. En el caso de los geles con 30% de WPC sucedió lo contrario, esto es, el gel con 0.8% de GBA mostró valores de módulos más altos ( $> 1$  KPa) lo cual no sucedió con 20% de WPC. Sin embargo, sí es característico que siguió siendo altamente dependiente de la frecuencia y por otro lado los geles con 0.5 y 1% de GBA resultaron tener módulos con valores menores. No se logra identificar algún comportamiento característico de estos geles con la concentración ya sea de suero de leche o de polisacárido. Además, es destacable también, sobre todo con este polisacárido la variación entre los datos obtenidos con respecto a la repetición de las pruebas ya que el análisis estadístico de las pruebas realizadas muestra una desviación grande entre cada repetición. Esto se debe a la heterogeneidad de los geles, que además influye altamente en el comportamiento reológico de los mismos el cual es muy variable resultando ser un sistema demasiado complejo para analizar.

En los geles con  $\kappa$ C, se observó que para ambas concentraciones de WPC el valor de los módulos aumentó al ser mayor la concentración del polisacárido. Esto es, a mayores concentraciones de  $\kappa$ C, los geles mostraron un comportamiento más elástico. Para frecuencias menores de 1 rad/s, se observó cierta dependencia de  $G'$ , pero comienza a ser independiente al aumentar la frecuencia. Para ambas concentraciones de WPC los valores de los módulos son prácticamente similares, por lo tanto el comportamiento reológico en estas mezclas depende más de la concentración de polisacárido tomando en cuenta que de acuerdo con sus barridos de deformación una mayor concentración de WPC produjo geles más débiles. Esto es congruente con su comportamiento mecánico.



●  $G'$  WPC + 0.5 % P, ○  $G''$  WPC + 0.5 % P; ●  $G'$  WPC + 0.8 % P, ○  $G''$  WPC + 0.8 % P;  
 ●  $G'$  WPC + 1 % P, ○  $G''$  WPC + 1 % P. (P = Polisacárido.)

**Figura 23.** Espectros mecánicos de los sistemas analizados de WPC/polisacáridos

En los geles con WPC y GAA, también se observa, que los módulos para la menor concentración de WPC son similares a los que tienen 30% de WPC y en esta última aumentan al ser mayor la concentración de polisacárido ya que al tener 20% de WPC los módulos para el gel con 0.8% de GAA están por arriba que el de 1% de GAA. Comparado con los geles de los sistemas anteriores, estos muestran módulos por debajo de 1000 Pa e incluso  $G'$  llega a tener valores menores de 10 Pa para el caso de la menor concentración de GAA. Además, se observa que a partir de 1 rad/s muestran una mayor dependencia de la frecuencia lo cual es más característico en los geles con menor concentración de WPC, en sí estos geles se consideran débiles y más aún al tener 20% de WPC, ya que además no son geles que puedan autosostenerse.

## FUERZA IÓNICA

El comportamiento funcional de las proteínas de suero de leche al igual que de los polisacáridos se ve afectado por una serie de fuerzas intrínsecas y extrínsecas. Factores intrínsecos son por ejemplo, la composición de aminoácidos, la conformación, el tamaño molecular, la flexibilidad, la carga neta y la hidrofobicidad de las moléculas de proteína o bien del polisacárido. Entre los factores extrínsecos se encuentran la temperatura, el pH, las sales y la concentración de macromolécula. Por lo tanto la información acerca de la relación entre las propiedades intrínsecas y extrínsecas es de gran importancia para comprender la conducta funcional de sistemas en donde se encuentran mezclados proteínas y polisacáridos. Dado que los iones presentes en una disolución determinan en gran medida las propiedades de aquellos iones participantes en un equilibrio químico, es necesario establecer cuantitativamente la presencia de los iones en una disolución. Lewis y Randall propusieron el concepto de fuerza iónica:

$$I = \frac{1}{2} \sum z_i^2 C_i$$

donde  $C$  es la concentración del elemento en mol/L y  $z$  la carga del elemento. Según la ecuación anterior una disolución presenta un valor elevado de fuerza iónica si la concentración de iones es muy grande o su carga lo es también y viceversa, por lo que el valor de la fuerza iónica se asocia con una abundancia relativa de especies iónicas. Se calculó la fuerza iónica para los sistemas WPC/polisacárido estudiados, determinando el contenido iónico en cada uno de los sistemas (Apéndice B, Cuadros

10, 11 y 12) y se usó la ecuación propuesta por Lewis y Randall. En el Cuadro 5 se muestran los valores de fuerza iónica para cada sistema.

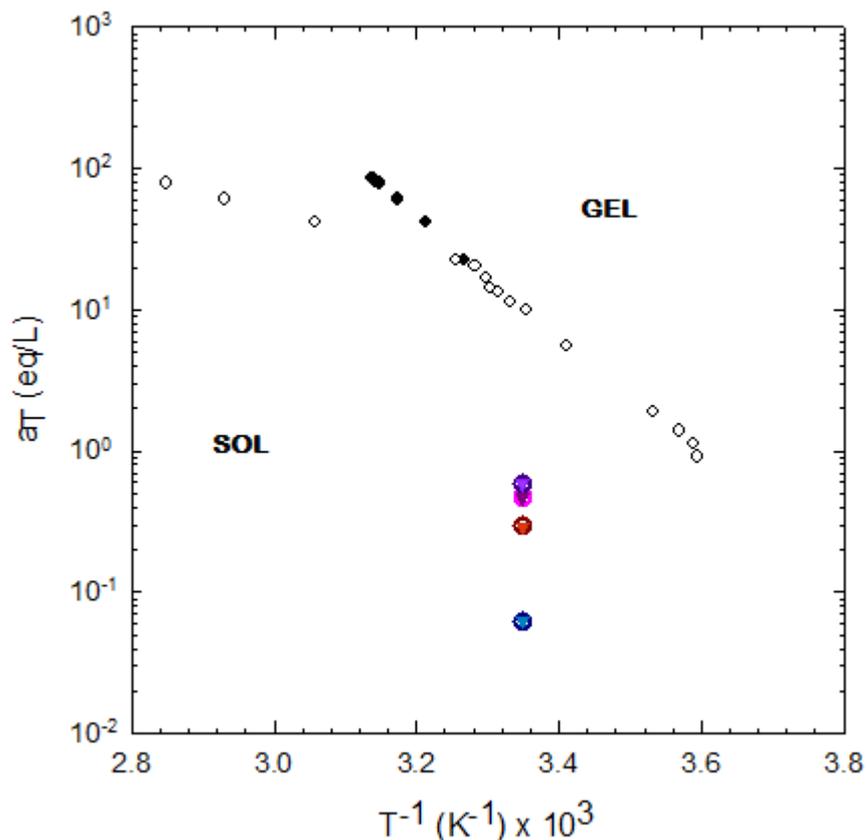
**Cuadro 5.** Fuerza iónica (mol/l x10<sup>3</sup>) de los sistemas WPC-Polisacárido.

Polisacárido (%)	GBA		GAA		κC	
	WPC 20%	WPC 30%	WPC 20%	WPC 30%	WPC 20%	WPC 30%
0.1	4.217	6.331	4.217	6.291	4.218	8.832
0.5	4.217	6.331	4.217	6.331	4.277	8.832
0.8	4.217	6.331	4.217	6.332	4.218	8.832
1.0	4.217	6.331	4.218	6.332	4.218	8.833

Se observa un ligero aumento de la fuerza iónica al utilizar diferentes polisacáridos. Las mezclas con 20% de WPC tuvieron la menor fuerza iónica sin importar el polisacárido. Las mezclas con 30% de WPC y κC tuvieron la mayor fuerza iónica. El contenido de WPC aumentó la fuerza iónica considerablemente, sin embargo, el aumento de la concentración de polisacárido produjo prácticamente la misma fuerza iónica. Esto significa que las proteínas del suero tienen mayor influencia debido a que su contenido de iones modificó notablemente la fuerza iónica. De esta forma, el cambio en el contenido de proteína afectará en mayor medida las propiedades mecánicas y reológicas de los geles. Este efecto es más notable en las mezclas con κC, para las cuales una mayor concentración de WPC condujo a la formación de geles más débiles debido a la inestabilidad que se presentó en estas mezclas. Este comportamiento puede atribuirse al efecto de un exceso de concentración de WPC. Estudios anteriores han reportado que al aumentar la fuerza iónica en estos sistemas se induce una mayor inestabilidad (Antonov et al. 1996, Picullel et al. 1995). Es probable que para los geles con GAA, este sistema sea mayormente afectado por la interacción proteína-polisacárido, lo mismo puede suceder el caso de los geles con GBA en donde además su comportamiento mecánico y reológico es muy variado, sin embargo, para poder confirmar esto, se deben realizar más estudios.

Se utilizaron los diagramas de transición sol-gel de los polisacáridos GBA y κC (Apéndice B, Cuadros 8 y 9, respectivamente), con la finalidad de poder confirmar de alguna manera qué tipo de interacciones son las que afectan estos sistemas. En la Figura 24 se muestra el diagrama de transición sol-gel de GBA para la sal de potasio en el cual se incluyeron los valores de actividad total  $a_T$  en el sistema WPC-GBA (Apéndice B, Cuadro B10) a la temperatura de 25 °C. Se observa que los valores

incluidos caen en la zona del diagrama que corresponde a la fase “SOL”, fase en la cual para estos valores de  $a_T$  y 25 °C no hay formación de gel. Por ello se puede decir que la GBA es más afín a las proteínas que al ión potasio para la formación de geles y por tanto esta afinidad con las proteínas le confiere cierto comportamiento mecánico y reológico.

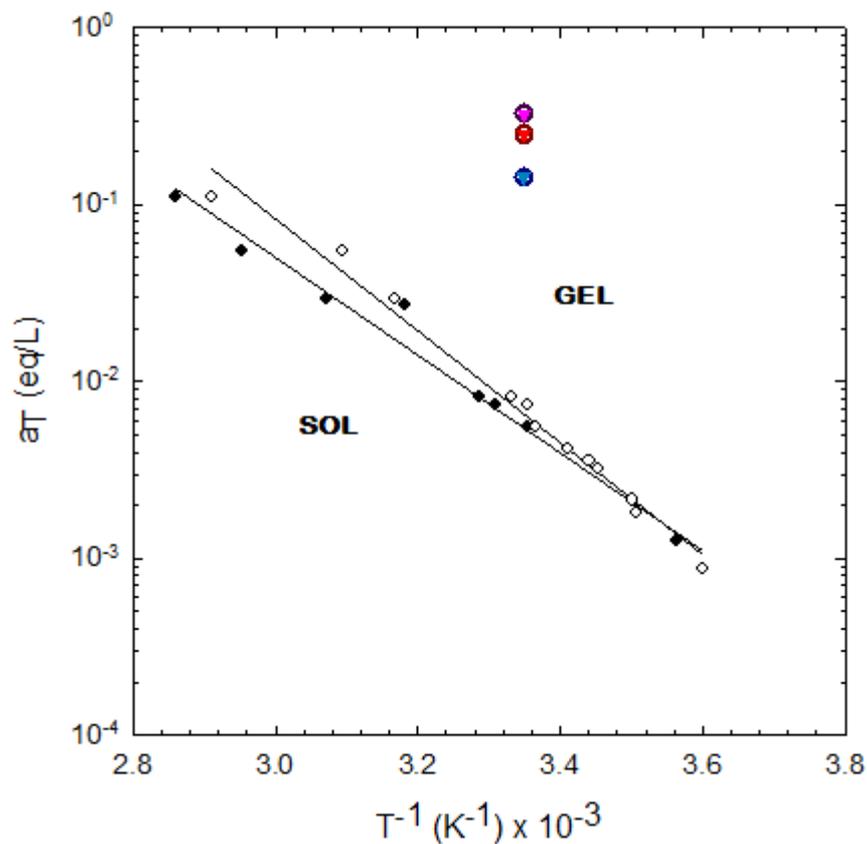


- Calentamiento ○ Enfriamiento, ○ WPC 20 + GBA 0.1, ○ WPC 20 + GBA 0.5, ○ WPC 20 + GBA 0.8, ○ WPC 20 + GBA 1, ▼ WPC 30 + GBA 0.1, ▼ WPC 30 + GBA 0.5, ▼ WPC 30 + GBA 0.8, ▼ WPC 30 + GBA 1

**FIGURA 24.** Diagrama de transición sol-gel de la Gelana de Bajo Acilo para la sal de potasio. Se muestran también las intersecciones de los valores de Concentración iónica total de los sistemas WPC-GBA. (Shi X., 1984).

En la Figura 25 se muestra el diagrama de transición sol-gel de la  $\kappa$ -carragenina con las inclusiones correspondientes a la actividad total  $a_T$  de los sistemas WPC- $\kappa$ C a 25 °C (Apéndice B, Cuadro B11). En este caso estos valores sí caen en la zona correspondiente a la fase “GEL”, por lo tanto a estos valores de  $a_T$ , los sistemas de WPC- $\kappa$ C forman geles, lo que indica que la afinidad hacia el ión potasio es predominante en este sistema y además como se observó en los valores de fuerza

iónica, es en estos geles donde se observa un mayor aumento de la fuerza iónica al aumentar la concentración de WPC lo cual confirma aún más el efecto de los iones en este sistema. Es importante destacar que los geles formados con GBA fueron más homogéneos que los geles con  $\kappa$ C. Esta mayor homogeneidad se atribuye a una mayor afinidad de GBA con las proteínas para la formación del gel. En el caso de  $\kappa$ C hubo menor homogeneidad y esto podría atribuirse al mayor efecto de los iones para la formación de gel lo cual conduce también a una mayor incompatibilidad termodinámica.



- Calentamiento, ○ Enfriamiento, ○ WPC 20 +  $\kappa$ C 0.5, ○ WPC 20 +  $\kappa$ C 0.8, ○ WPC 20 +  $\kappa$ C 1,
- ▼ WPC 30 +  $\kappa$ C 0.5, ▼ WPC 30 +  $\kappa$ C 0.8, ▼ WPC 30 +  $\kappa$ C 1.

**Figura 23.** Diagrama de transición sol-gel de  $\kappa$ -carragenina para la sal de potasio. Se muestran también las intersecciones de los valores de Concentración iónica total de los sistemas WPC- $\kappa$ C. (Shi X., 1984).

## APLICACIONES

En general, el estudiar el comportamiento reológico de las mezclas de proteínas del suero de leche y polisacáridos gelificantes nos permite obtener mayor información para su adecuada y eficiente aplicación en la industria alimentaria. Los sistemas de WPC y  $\kappa$ C son los más conocidos en esta industria, sin embargo es aun necesario seguir estudiando más a fondo estos sistemas, para lograr una mejor interacción con otros componentes (azúcares simples, lípidos y otros aditivos), al ser utilizado en la formulación de un producto alimenticio, como lo es en productos cárnicos (carnes procesadas: carne molida para hamburguesas, embutidos de res, pollo o bien de pescad, productos para congelar, etc.), en dónde se busca estabilizar emulsiones, mejorar textura, evitar sinéresis, así como lograr disminuir el contenido de grasa sin afectar la textura y sabor del producto; en panadería, bebidas lácteas, helados, sopas y aderezos también se puede utilizar para estabilizar emulsiones, impartir textura y debido a su alto contenido proteico, se aumenta el valor nutricional. En si la  $\kappa$ C, puede ser utilizada por si sola y llevar acabo las funciones anteriormente mencionadas, sin embargo, al ser utilizada en conjunto con WPC, se puede tener una mayor efectividad de dichas funciones al igual que encontrar nuevas aplicaciones. En los sistemas con WPC y GBA no se conoce hasta ahora estudios sobre su comportamiento reológico ni tampoco que este tipo de sistema sea utilizado para la elaboración de algún producto alimenticio. Además de ser geles firmes, tiene la ventaja der tener mayor estabilidad que los geles con WPC y  $\kappa$ C y pueden ser utilizados con la misma finalidad y en el mismo tipo de productos e incluso si se llegara a un sistema más estable podría ampliarse sus aplicaciones. De acuerdo a los resultados en este trabajo, una desventaja que presentan estos sistemas, es que al tener una mayor concentración de WPC el sistema se vuelve más inestable, lo cual puede limitar sus aplicaciones. Las características débiles y suaves de los geles con WPC y GAA, pueden ser muy bien aprovechados en la elaboración de postres tipo natillas, rellenos para pasteles e incluso postres y bebidas lácteas en donde se sustituya en gran parte la leche por el WPC, ya que son geles muy estables y además resultaría en un alimento altamente nutritivo debido a la calidad de las proteínas presentes en el WPC. La flexibilidad que exhibe estos geles, puede ser aprovechada para su posterior estudio en biopelículas.

## CONCLUSIONES

- El concentrado de proteínas de suero de leche en polvo no posee propiedades gelificantes bajo las diferentes condiciones de temperatura, pH y fuerza iónica. Sin embargo mediante estas pruebas se estableció la temperatura de 90 °C y pH de 7, condiciones en las cuales tanto la  $\alpha$ -lactoalbumina y la  $\beta$ -lactoglobulina están sometidas a una extensa desnaturalización y de esta forma pueden interactuar estando con otro componente. Así también se eligieron las concentraciones de 20 % y 30 % de WPC, ya que a partir de estas concentraciones comienza la formación de agregados de proteínas, lo cual es un paso clave para la formación de geles.
- Las pruebas mecánicas y reológicas permitieron hacer una distinción entre los geles obtenidos de las mezclas de WPC/GAA, WPC/GBA y WPC/ $\kappa$ C.
- Las mezclas de WPC/GBA y WPC/ $\kappa$ C producen geles firmes, quebradizos y tanto en su comportamiento mecánico como reológico, muestran soportar bajas deformaciones debido a su firmeza.
- Son geles heterogéneos debido a que son sistemas termodinámicamente inestables y más aun a las condiciones de temperatura y pH en las que se trabajó. Un aumento de la concentración de WPC favorece una mayor inestabilidad ya que da lugar a una competencia de ambos biopolímeros por el disolvente produciendo así geles más débiles. Esto es más visible en su comportamiento mecánico.
- Los geles formados con GAA son débiles, suaves y flexibles, lo cual es característico de este polisacárido. Son geles homogéneos, esto se atribuye que puede ser debido a la estructura de la GAA (el grupo glicerol tiene sus efectos estabilizadores en la estructura de la doble hélice) lo cual permite sea más estable al interactuar con las proteínas del suero.
- El efecto del aumento en la concentración del polisacárido es más distinguible en los sistemas de WPC/ $\kappa$ C y WPC/GAA, para cada caso al aumentar la cantidad del polisacárido, en su comportamiento mecánico hay un aumento de los valores de fractura y del módulo de Young y en su comportamiento reológico se muestra un aumento de los valores de los módulos  $G'$  y  $G''$ .

- En los sistemas con WPC/GBA no es posible distinguir este efecto ya que tanto su comportamiento reológico como su comportamiento mecánico es muy alterno.
- El contenido de WPC aumenta la fuerza iónica de estos sistemas considerablemente, este efecto es más destacable en los sistemas WPC/ $\kappa$ C. El aumento de la concentración de polisacárido no afecta el valor de la fuerza iónica en ninguno de los 3 sistemas, se tienen valores prácticamente iguales.
- La utilización de los diagramas sol-gel de los polisacáridos GBA y  $\kappa$ C permitió determinar que la GBA tiene mayor afinidad por las proteínas para la formación de geles tiene mayor afinidad por el ión potasio para la formación de geles, en el caso de los geles con  $\kappa$ C predomina la afinidad hacia el ión potasio.
- Conocer el tipo de afinidad en estos sistemas, nos ayuda a entender aún más la homogeneidad y heterogeneidad. Esto es que posiblemente para la formación de geles en estos sistemas, la afinidad hacia proteínas favorezca sistemas termodinámicamente más estables y por el contrario la afinidad hacia los iones favorecen una inestabilidad termodinámica.

## • REFERENCIAS

1. Alais, C. (1985). *Ciencia de la Leche. Principios de Técnica Lechera*, Reverté, Barcelona, pp. 106-150.
2. Rosenthal, A.J. (1999). *Food Texture. Measurement and Perception*. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland.
3. Antonov Y. A., Lashko, N. P., Glotova, Y. K., Malovikova. A. & Markovich. O. (1996). Effect of the structural features of pectins and alginates on their thermodynamic compatibility with gelatin in aqueous media. *Food Hydrocolloids*, 10, 1-9.
4. Aymard, P., Durand., D., Nicolai, T. (1996). The effect of temperature and ionic strength on the dimerization of  $\beta$ -lactoglobulin, *International Journal of Biological Macromolecules*, 19, 213-221.
5. Barnes, H. A., Hutton, J. F. & Walters, K. (1992). *An Introduction to Rheology. Rheology Series, 3*. Elsevier. The Netherlands.
6. Bottomley. R. C., Evans, M. T. A. & Parkinson, C. V. (1990). Whey Proteins. En *Food Gels*, Harris, P. (ed.) Elsevier Science, New York, 201-231.
7. De wit, J.N. (1981). Structural and functional behaviour of whey proteins. *Neth. Milk Dairy J.*, 35, 47-64.
8. Dickinson, E. (1995). Emulsion stabilization by polysaccharides and protein-polysaccharide complexes. In A. M. Stephen (Ed.), *Food polysaccharides and their application* (pp. 501–515). New York: Marcel Dekker Inc.
9. Egelanddal, B. (1980). Heat-induced gelling un solutions of ovalbumin. *Journal of Food Science*, 45, 570-573.
10. Fennema, O. R. (1995). *Química de Alimentos. Segunda Edición. España*. pp. 1013-1016.
11. Ferry, J. D. (1948). Protein gels. *Advances un Protein Chemistry*, 4, 1-78.
12. Ferry, J. D. (1980). *Viscoelastic Properties of Polymers*. John Wiley & Sons, Inc, New York.
13. Goh, K. K. T., Haisman, D. R. & Singh, H. (2006). Characterization of a high acyl gellan polysaccharide using ligh scattering and rheological techniques. *Food Hydrocolloids*, 20, 176-183.
14. Hemar, Y., Tamehana, M., Munro, P. A. & Singh, H. (2001). Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 15, 565–574.
15. Hoffmann, M. A. M., Sala, G., Olieman, C., & de kruif, K. G. (1997). Molecular mass distributions of heat-induced  $\beta$ -lactoglobulin aggregates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 3182-3190.
16. Huang, Y., Singh, P.P., Tang, J. & Swanson, B.G. (2004). Gelling temperatures of high acyl gellans affected by monovalent and divalent cations with dynamic rheological analysis. *Carbohydrate Polymers*, 56, 27-33.

17. Huang, Y., Tang, J., Swanson, B. G., Cavinato, A.G., Lin, M. & Rasco, B. (2003a). Near infrared Spectroscopy a new tool for studying physical and chemical properties of polysaccharide gels. *Carbohydrate Polymers*, 53, 281-288.
18. Jay, A. J., Colquhoun, I. J., Rodout, M. J., Brownsey, G. J., Morris, V. J., Fialho, A., Leitão, J. H. & Sá-Correia, I. (1998). Analysis of structure and function of gellans with different substitution patterns. *Carbohydrate Polymers*, 35, 179-188.
19. Joyce I. Boye, I. A., Ashraf A. I., Bernard F. G. & Yasuo K. (1994). Factors Affecting Molecular Characteristics of Whey Protein Gelation. *International Dairy Journal*, 5, 337-353.
20. Kasapis, S., Giannouli, P., Hember, M. W. N., Evageliou, V., Polard, C., Tort Bourgeois, B. & Sworn, G. (1999). Structural aspects and phase behavior in deacylated and high acyl gellan systems. *Carbohydrate Polymers*, 38, 145-154.
21. Kelly L. Flett, Corredig, M. (2008). Whey protein aggregate formation during heating in the presence of  $\kappa$ -carrageenan. *Food Chemistry*, 115, 1479-1485.
22. Kojima, E. & Nakamura, R. (1985). Heat gelling properties of hen's egg yolk low density lipoprotein. (LDL) in the presence of other proteins. *Journal of Food Science*, 50, 63-66.
23. Mao. R., Tang, J. & Swanson, B. G. (2000). Texture Properties of high and low acyl mixed gellan gels. *Carbohydrate Polymers*, 41, 331-338.
24. Ould Eleya, M.M. & Turgeon, S.L. (2000). Rheology of  $\kappa$ -carrageenan and  $\beta$ -lactoglobulin mixed gels. *Food Hydrocolloids*, 14, 29-49.
25. Pérez, O.E., Wargon, V. & Pilosof, A.M.R. (2006). Gelation and structural characteristics of incompatible whey proteins/hydroxypropylmethylcellulose mixtures. *Food Hydrocolloids*, 20, 966 – 974.
26. Perez, C. S. J. (2008). Propiedades reológicas dinámicas de dispersiones acuosas de gelana: efecto de la concentración de iones calcio en la formación de geles. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias.
27. Picullel. L., Bergfeldt, K. & Nilsson, S. (1995). Factors determining phase behavior af multi component biopolymer systems. In S. E. Harding, S. E. Hill & J. R. Mitchell (Eds.). *Biopolymer mixtures* (pp. 13-35). Nottingham. UK: Nottingham University Press.
28. Piculell, L. & Lindman, B. (1992). Association and segregation in aqueous polymer/polymer, polymer/surfactant, and surfactant/surfactant mixtures. Similarities and differences. *Advances in Colloid and Interface Science*, 41, 149–178.
29. Rochas, C. & Rinaudo, M. (1980). Activity coefficients and counterions and conformation in  $\kappa$ -carrageenan system. *Biopolymers*, 19, 1675-1687.

30. Rodríguez Hernández, A. I. (1997). Propiedades reológicas dinámicas de geles formados por mezclas gelana-xantana y gelana-k-carragenina. Tesis de Maestría, F.Q. - UNAM, pp. 72-80.
31. Sanderson, G.R. (1990). Gellan Gum. En Food Gels, Harris, P. Editor. Elsevier Science, New York, pp. 201-231.
32. Sedlmeyer, F., Daimer, K., Rademacher, B. & Kulozik, U. (2003). Influence of the composition of milk-protein  $\kappa$ /I-hybrid-carrageenan gels on product properties. *Colloids and Surfaces*, 31, 13-20.
33. Shimada, K. & Matsushita, S. (1980). Thermal coagulation of egg albumin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 28, 409-413.
34. Damodaran, A. & Paraf, A. (1997). Food proteins and their applications. Board. Marcel Dekker, New York, pp. 225-248.
35. Shi Xiaodan (1984). Relation entre la conformation et les propriétés d' un polysaccharide bactérien le gellanne. Thèse de doctorat, Université Joseph-Fourier, Grenoble.
36. Steffe, J. F. (1992). Rheological Methods in Food Process Engineering. Freeman Press, second edition, United States of America.
37. Syrbe, A., Bauer, W. J. & Klostermeyer, H. (1998). Polymer science concepts in dairy systems – An overview of milk protein and Food hydrocolloids interaction. *International Dairy Journal*, 8, 179-193.
38. Tolzdoguzov, V. (1991). Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. *Food Hydrocolloids*, 4, 429 – 468.
39. Trautman, J. C. (1966). Effect of temperature and pH on the soluble proteins of ham. *Journal of Food Science*, 31, 409-18.
40. Ye, A. (2008). Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction; principles and applications – a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 406 – 415.

## APÉNDICE A

### TRATAMIENTO DE DATOS

#### Determinaciones mecánicas

Los datos primarios obtenidos de la máquina de pruebas mecánicas son fuerza (lbf) y tiempo (min). Con estos datos se calculó el esfuerzo normal verdadero,  $\sigma_v$ , en Pascales y la deformación relativa normal verdadera,  $\varepsilon_v$ , que es adimensional. Para ello fue necesario considerar que para la fuerza (F) o carga aplicada a cierto objeto se divide entre el área transversal inicial (A) del material que opone un esfuerzo normal, ecuación (1), y a su vez el objeto sufre una deformación normal absoluta que se expresa en relación con su longitud inicial ( $\Delta L$ ) por medio de la ecuación (2).

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (1)$$

$$\Delta L = L_0 - L \quad (2)$$

donde  $L_0$  es la longitud inicial del objeto y  $L$  es la longitud del objeto al tiempo  $t$  durante o en cualquier instante de la deformación. El esfuerzo normal nominal ( $\sigma$ ) se calculó con la ecuación (3) y la deformación relativa nominal ( $\varepsilon$ ) con la ecuación (4).

$$\sigma = \frac{F}{\pi R^2} \quad (3)$$

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0} \quad (4)$$

donde  $R$  es el radio del objeto. La deformación dada por la ecuación (4) es llamada de ingeniería o deformación de Cauchy. EL esfuerzo normal verdadero ( $\sigma_v$ ) se calculó con la ecuación (6) y la deformación relativa normal de Hencky ( $\varepsilon_H$ ) con la ecuación (8).

$$\sigma_v = \frac{\sigma(L_0 - \Delta L)}{L_0} = \sigma \left[ 1 - \frac{\Delta L}{L_0} \right] \quad (5)$$

$$\sigma_v = \sigma(1 - \varepsilon) \quad (6)$$

$$\varepsilon_H = -\ln \left[ 1 - \frac{\Delta L}{L_0} \right] \quad (7)$$

$$\varepsilon_H = -\ln(1 - \varepsilon) \quad (8)$$

La deformación de Hencky, ecuación (8), es una medida más conveniente de la deformación porque toma en cuenta el cambio de área transversal durante la compresión. Sin embargo, está basada en la consideración de que el volumen del objeto permanece constante durante la compresión (Escamilla – Loeza, 2006).

### **Concentración iónica total**

La concentración iónica total esta dad por:

$$C_T = C_S + \gamma C_P \quad (9)$$

donde  $C_T$  es la concentración iónica total,  $C_S$  es la concentración total de iones, los presentes en el polisacárido, más los presentes en el polímero,  $\gamma$  es el coeficiente de actividad promedio,  $(\gamma_{orden} + \gamma_{desorden})/2$ , cuyo valor depende del ión y del polímero. El coeficiente de actividad promedio es 0.76 para GAA y 0.55 para  $\kappa C$ , ambos para la sal de potasio, y  $C_P$  es la concentración de polímero. En el diagrama de trasnción sol-gel,  $C_T$  se grafica en escala logarítmica. La temperatura en grados Celsius se expresa en Kelvin y se grafica su inverso, según la siguiente ecuación:

$$T^{-1}(K^{-1}) = \frac{1}{T^{\circ}C + 273.15} \quad (10)$$

## APÉNDICE B

### Análisis estadístico

En los siguientes cuadros se muestra el análisis estadístico para los resultados de las pruebas mecánicas. Este análisis se hizo para los esfuerzos de fractura, deformación de fractura y módulo de Young. Se calculó la desviación estándar y el coeficiente de varianza, mostrando con estos valores la dispersión de los datos obtenidos entre cada repetición realizada a los diferentes sistemas WPC/polisacáridos.

Los valores obtenidos de la repetición 2 son los utilizados para el análisis de los resultados de los sistemas WPC/polisacáridos, ya que estos valores fueron obtenidos a partir de la parte de los geles donde se observó físicamente una mayor interacción de las proteínas del suero y los diferentes polisacáridos. Para el análisis de los módulos de Young, se utilizaron los valores obtenidos por medio de la regresión polinomial realizada a las curvas esfuerzo-deformación.

**Cuadro B1.** Análisis estadístico de los valores de esfuerzo de fractura de las mezclas WPC/polisacárido.

Mezcla	$\sigma_v$ (kPa)		$X \sigma_v$ (kPa)	DS (kPa)	CV (%)
	1	2			
WPC 20% + GAA 0.8%	8.44	23.3	15.9	10.5	66.2
WPC 20% + GAA 1.0%	9.00	11.75	10.4	1.94	18.7
WPC 30% + GAA 0.8%	9.40	8.17	8.79	0.873	9.93
WPC 30% + GAA 1.0%	2.65	4.39	3.52	1.23	34.8
WPC 20% + GAA 0.8% (VM)	0.557	0.332	0.445	0.159	35.7
WPC 20% + GAA 1.0% (VM)	0.685	0.531	0.608	0.109	18.0
WPC 30% + GAA 0.8% (VM)	0.363	0.625	0.494	0.185	37.5
WPC 30% + GAA 1.0% (VM)	0.541	0.443	0.492	0.699	14.2
WPC 20% + GBA 0.5%	6.39	8.33	7.36	1.37	18.6
WPC 20% + GBA 0.8%	7.81	13.80	10.80	4.23	39.2
WPC 20% + GBA 1.0%	11.5	14.2	12.8	1.88	14.73
WPC 30% + GBA 0.8%	18.4	8.40	13.4	7.07	52.8
WPC 30% + GBA 1.0%	20.3	12.8	16.6	5.31	32.1
WPC 20% + $\kappa$ C 0.5%	6.24	6.19	6.21	0.04	0.68
WPC 20% + $\kappa$ C 0.8%	16.7	18.70	17.7	1.40	7.90
WPC 20% + $\kappa$ C 1.0%	26.4	19.9	23.2	4.56	19.6
WPC 30% + $\kappa$ C 0.8%	4.07	7.63	5.85	2.52	43.1
WPC 30% + $\kappa$ C 1.0%	27.2	23.9	25.5	0.22	0.86

**Cuadro B2.** Análisis estadístico de la deformación de fractura de las mezclas WPC/polisacárido.

Mezcla	$\epsilon_H$		$X \epsilon_H$	DS	CV (%)
	1	2			
WPC 20% + GAA 0.8%	1.327	1.341	1.334	0.009758	0.730
WPC 20% + GAA 1.0%	1.363	1.365	1.364	0.001131	0.083
WPC 30% + GAA 0.8%	1.233	1.368	1.300	0.09546	7.34
WPC 30% + GAA 1.0%	1.354	1.294	1.324	0.04207	3.18
WPC 20% + GAA 0.8% (VM)	1.396	1.352	1.374	0.03076	2.24
WPC 20% + GAA 1.0% (VM)	1.352	1.461	1.407	0.07693	5.47
WPC 30% + GAA 0.8% (VM)	1.309	1.500	1.385	0.1063	7.68
WPC 30% + GAA 1.0% (VM)	1.409	1.412	1.411	0.001980	0.140
WPC 20% + GBA 0.5%	0.1198	0.1598	0.1398	0.02828	20.2
WPC 20% + GBA 0.8%	0.0721	0.1542	0.1132	0.05805	51.3
WPC 20% + GBA 1.0%	0.1303	0.1094	0.1199	0.01480	12.3
WPC 30% + GBA 0.8%	0.1599	0.0908	0.1254	0.04886	39.0
WPC 30% + GBA 1.0%	0.1395	0.0994	0.1195	0.02836	23.7
WPC 20% + $\kappa$ C 0.5%	0.2957	0.3003	0.2980	0.003253	1.09
WPC 20% + $\kappa$ C 0.8%	0.3855	0.4139	0.3997	0.02008	5.02
WPC 20% + $\kappa$ C 1.0%	0.4503	0.3663	0.4083	0.05940	14.5
WPC 30% + $\kappa$ C 0.8%	0.2852	0.2824	0.2838	0.001980	0.698
WPC 30% + $\kappa$ C 1.0%	0.4008	0.4940	0.4474	0.06590	14.7

**Cuadro B3.** Análisis estadístico del módulo de Young de las mezclas WPC/polisacáridos.

Mezcla	E (kPa)		$X E$ (kPa)	DS (kPa)	CV (%)
	1	2			
WPC 20 % + GAA 0.8%	0.858	2.76	1.81	1.34	74.4
WPC 20 % + GAA 1.0%	1.28	0.897	1.09	0.270	24.9
WPC 30 % + GAA 0.8%	1.47	1.41	1.44	0.0428	2.97
WPC 30 % + GAA 1.0%	1.38	0.592	0.987	0.558	56.6
WPC 20 % + GAA 0.8% (VM)	0.377	0.332	0.355	0.0315	8.88
WPC 20 % + GAA 1.0% (VM)	0.422	0.464	0.443	0.0294	6.64
WPC 30 % + GAA 0.8% (VM)	0.517	0.884	0.700	0.259	37.0
WPC 30 % + GAA 1.0% (VM)	0.718	0.267	0.492	0.319	64.8
WPC 20 % + GBA 0.5%	68.6	32.5	50.6	25.6	50.6
WPC 20 % + GBA 0.8%	71.0	65.7	68.4	3.71	5.43
WPC 20 % + GBA 1.0%	69.4	138.2	104	48.7	46.9
WPC 30 % + GBA 0.8%	118.6	89.2	104	20.8	20.1
WPC 30 % + GBA 1.0%	172	99.9	136	50.7	37.3
WPC 20 % + $\kappa$ C 0.5%	15.1	16.9	16.0	1.25	7.82
WPC 20 % + $\kappa$ C 0.8%	35.30	21.4	28.4	9.81	34.6
WPC 20 % + $\kappa$ C 1.0%	21.0	29.2	25.1	5.82	23.2
WPC 30 % + $\kappa$ C 0.8%	20.1	7.84	14.0	8.68	62.1
WPC 30 % + $\kappa$ C 1.0%	17.0	41.5	29.2	17.3	59.2

**Cuadro B4.** Contenido iónico de la materia prima.

Concentrado de suero de leche (WPC 80)			
ión	%	mg/kg	eq/mg
K <sup>+</sup>	4.27	42656	1.09*10 <sup>-6</sup>
Na <sup>+</sup>	0.625	6250	2.71*10 <sup>-7</sup>
Ca <sup>++</sup>	0.516	5162	2.57*10 <sup>-7</sup>
Mg <sup>++</sup>	0.0966	966.3	7.95*10 <sup>-7</sup>
Gelana de alto Acilo (GAA)			
K <sup>+</sup>	1.36	40600	1.04*10 <sup>-6</sup>
Na <sup>+</sup>	4.06	13600	5.91*10 <sup>-7</sup>
Ca <sup>++</sup>	3.45	34500	1.72*10 <sup>-6</sup>
Mg <sup>++</sup>	0.59	5900	4.85*10 <sup>-7</sup>
Gelana de bajo Acilo (GBA)			
K <sup>+</sup>	1.56	15600	4.01*10 <sup>-7</sup>
Na <sup>+</sup>	0.43	4300	1.88*10 <sup>-7</sup>
Ca <sup>++</sup>	0.0897	897	4.48*10 <sup>-8</sup>
Mg <sup>++</sup>	0.0151	151	1.25*10 <sup>-8</sup>
κ-carragenina (κC)			
K <sup>+</sup>	6.44	64422	1.65*10 <sup>-7</sup>
Na <sup>+</sup>	1.58	15806	6.87*10 <sup>-7</sup>
Ca <sup>++</sup>	0.28	2871	1.39*10 <sup>-7</sup>
Mg <sup>++</sup>	0.0253	253.5	2.08*10 <sup>-8</sup>

**Cuadro B5.** Contenido iónico en las mezclas WPC-GBA.

WPC 30% - GBA								
% GBA	K <sup>+</sup>		Na <sup>+</sup>		Ca <sup>++</sup>		Mg <sup>++</sup>	
	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol
0.1	264.8	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
0.5	264.8	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
0.8	264.8	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
1.0	264.8	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
WPC 20% - GBA								
% GBA	K <sup>+</sup>		Na <sup>+</sup>		Ca <sup>++</sup>		Mg <sup>++</sup>	
	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol
0.1	176.6	4.52	25.9	1.13	21.4	0.53	3.99	0.16
0.5	176.6	4.52	25.9	1.13	21.4	0.53	3.99	0.16
0.8	176.6	4.52	25.9	1.13	21.4	0.53	3.99	0.16
1.0	176.6	4.52	25.9	1.13	21.4	0.53	3.99	0.16

**Cuadro B6.** Contenido iónico en las mezclas WPC-GAA.

WPC 30% - GAA								
% GAA	K <sup>+</sup>		Na <sup>+</sup>		Ca <sup>++</sup>		Mg <sup>++</sup>	
	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol
0.1	264.83	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
0.5	264.83	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
0.8	264.83	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
1.0	264.83	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
WPC 20% - GAA								
% GAA	K <sup>+</sup>		Na <sup>+</sup>		Ca <sup>++</sup>		Mg <sup>++</sup>	
	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol
0.1	176.6	4.52	25.9	1.13	21.36	0.53	3.99	0.16
0.5	176.6	4.52	25.9	1.13	21.36	0.53	3.99	0.16
0.8	176.6	4.52	25.9	1.13	21.36	0.53	3.99	0.16
1.0	176.6	4.52	25.9	1.13	21.36	0.53	3.99	0.16

**Cuadro B7.** Contenido iónico en las mezclas WPC- κC.

WPC 30% - κC								
% κC	K <sup>+</sup>		Na <sup>+</sup>		Ca <sup>++</sup>		Mg <sup>++</sup>	
	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol
0.1	264.8	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
0.5	264.8	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
0.8	264.8	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
1.0	264.8	6.79	38.8	1.69	32.0	0.80	5.99	0.24
WPC 20% - κC								
% κC	K <sup>+</sup>		Na <sup>+</sup>		Ca <sup>++</sup>		Mg <sup>++</sup>	
	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol	mg	mmol
0.1	176.6	4.52	25.9	1.13	21.3620	0.533	3.99	0.165
0.5	176.6	4.52	25.9	1.13	21.3650	0.533	3.99	0.165
0.8	176.6	4.52	25.9	1.13	21.3672	0.533	3.99	0.165
1.0	176.6	4.52	25.9	1.13	21.3687	0.533	3.99	0.165

**Cuadro B8.** Concentración iónica total y temperaturas para el diagrama sol-gel de la sal de potasio de gelana de bajo acilo.

$C_T (eq^{-1}) = C_s + \bar{\gamma}C_p * 10^3$	Calentamiento (T °C)	Enfriamiento (T°C)	$a_T$ (eq/L)	1/T Calentamiento	1/T Enfriamiento
0.91	5.00	5.00	$6.9 \times 10^{-4}$	$3.60 \times 10^{-3}$	$3.60 \times 10^{-3}$
1.14	5.50	5.50	$8.6 \times 10^{-4}$	$3.59 \times 10^{-3}$	$3.59 \times 10^{-3}$
1.39	7.00	7.00	$1.0 \times 10^{-3}$	$3.57 \times 10^{-3}$	$3.57 \times 10^{-3}$
1.88	10.0	10.0	$1.4 \times 10^{-3}$	$3.53 \times 10^{-3}$	$3.53 \times 10^{-3}$
5.56	20.0	20.0	$4.2 \times 10^{-3}$	$3.41 \times 10^{-3}$	$3.41 \times 10^{-3}$
9.96	25.0	25.0	$7.6 \times 10^{-3}$	$3.35 \times 10^{-3}$	$3.35 \times 10^{-3}$
11.40	27.0	27.0	$8.6 \times 10^{-3}$	$3.33 \times 10^{-3}$	$3.33 \times 10^{-3}$
13.31	28.5	28.5	0.01	$3.32 \times 10^{-3}$	$3.32 \times 10^{-3}$
14.26	29.5	29.5	0.010	$3.30 \times 10^{-3}$	$3.30 \times 10^{-3}$
16.93	30.0	30.0	0.012	$3.30 \times 10^{-3}$	$3.30 \times 10^{-3}$
20.45	31.5	31.5	0.015	$3.28 \times 10^{-3}$	$3.28 \times 10^{-3}$
22.41	34.0	33.0	0.017	$3.26 \times 10^{-3}$	$3.27 \times 10^{-3}$
42.19	54.0	38.0	0.032	$3.06 \times 10^{-3}$	$3.21 \times 10^{-3}$
60.76	68.0	42.0	0.046	$2.93 \times 10^{-3}$	$3.17 \times 10^{-3}$
78.44	78.0	44.5	0.059	$2.85 \times 10^{-3}$	$3.15 \times 10^{-3}$
80.72		45.0	0.061		$3.14 \times 10^{-3}$
86.42		45.5	0.065		$3.14 \times 10^{-3}$

**Cuadro B9.** Valores de concentración iónica total y temperaturas para el diagrama sol-gel de la sal potasio de  $\kappa$ -carragenina.

$C_T (eq^{-1}) = C_s + \bar{\gamma}C_p * 10^3$	Calentamiento (T °C)	Enfriamiento (T°C)	$a_T$ (eq/L)	1/T (K <sup>-1</sup> ) Calentamiento	1/T (K <sup>-1</sup> ) Enfriamiento
1.6	4.5	4.5	$8.8 \times 10^{-4}$	$3.60 \times 10^{-3}$	$3.60 \times 10^{-3}$
2.3	7.5	-----	$1.2 \times 10^{-3}$	$3.56 \times 10^{-3}$	-----
3.3	12	12	$1.8 \times 10^{-3}$	$3.51 \times 10^{-3}$	$3.51 \times 10^{-3}$
3.9	12.5	12.5	$2.1 \times 10^{-3}$	$3.50 \times 10^{-3}$	$3.50 \times 10^{-3}$
5.8	16.5	16.5	$3.2 \times 10^{-3}$	$3.45 \times 10^{-3}$	$3.45 \times 10^{-3}$
6.4	17.5	17.5	$3.5 \times 10^{-3}$	$3.44 \times 10^{-3}$	$3.44 \times 10^{-3}$
7.6	-----	20	$4.2 \times 10^{-3}$	-----	$3.41 \times 10^{-3}$
10.1	25	24	$5.5 \times 10^{-3}$	$3.35 \times 10^{-3}$	$3.37 \times 10^{-3}$
13.4	29	25	$7.4 \times 10^{-3}$	$3.31 \times 10^{-3}$	$3.35 \times 10^{-3}$
15	31	27	$8.2 \times 10^{-3}$	$3.29 \times 10^{-3}$	$3.33 \times 10^{-3}$
50.4	41	-----	0.027	$3.18 \times 10^{-3}$	-----
53	52.5	42.5	0.029	$3.07 \times 10^{-3}$	$3.17 \times 10^{-3}$
100	65.5	50	0.055	$2.95 \times 10^{-3}$	$3.09 \times 10^{-3}$
200	76.5	70.5	0.11	$2.86 \times 10^{-3}$	$2.91 \times 10^{-3}$

**Cuadro B10.** Valores de Actividad Total ( $a_T$ ) para los sistemas WPC-GBA.

<b>WPC 20 % + GBA</b>				
$[GBA]$	$C_S$ (eq/L)* $10^3$	$\gamma C_P$	$a_T$ (eq/L)	Zona del diagrama Sol-Gel
0.1	4.52	0.076	0.0611	SOL
0.5	4.52	0.38	0.2918	SOL
0.8	4.52	0.608	0.4658	SOL
1	4.52	0.76	0.5806	SOL
<b>. WPC 30 % + GBA</b>				
$[GBA]$	$C_S$ (eq/L)* $10^3$	$\gamma C_P$	$a_T$ (eq/L)	Zona del diagrama Sol-Gel
0.1	6.79	0.076	0.0629	SOL
0.5	6.79	0.38	0.2938	SOL
0.8	6.79	0.608	0.4671	SOL
1	6.79	0.76	0.5821	SOL

**Cuadro B11.** Valores de Actividad Total ( $a_T$ ) para los sistemas WPC-κC.

<b>WPC 20 % + κ-C</b>				
$[\kappa C]$	$C_S$ (eq/L)* $10^3$	$\gamma C_P$	$a_T$ (eq/L)	Zona del diagrama Sol-Gel
0.1	4.52	0.055	- 0.0485	-----
0.5	4.52	0.275	0.1412	GEL
0.8	4.52	0.44	0.2493	GEL
1	4.52	0.55	0.3254	GEL
<b>. WPC 30 % + κ-C</b>				
$[\kappa C]$	$C_S$ (eq/L)* $10^3$	$\gamma C_P$	$a_T$ (eq/L)	Zona del diagrama Sol-Gel
0.1	6.79	0.055	- 0.0453	-----
0.5	6.79	0.275	0.1427	GEL
0.8	6.79	0.44	0.2508	GEL
1	6.79	0.55	0.3270	GEL