



**UNIVERSIDAD NACIONAL ATÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**REOLOGÍA DILATACIONAL Y ADSORCIÓN EN INTERFASE FLUIDA DE
PROTEÍNAS LÁCTEAS EN MEZCLA CON ALMIDONES MODIFICADOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

IVONNE AURORA ROSAS GARCÍA

**ASESORAS: DRA. MARÍA GUADALUPE SOSA HERRERA
DRA. LAURA PATRICIA MARTÍNEZ PADILLA**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



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

UNAM
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
 PRESENTE

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

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

Reología dilatacional y adsorción en interfase fluida de
proteínas lácteas en mezcla con almidones modificados.

Que presenta la pasante Ivonne Aurora Rosas García

Con número de cuenta: 303310136 para obtener el título de:
Ingeniera en Alimentos

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

ATENTAMENTE
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 25 de febrero de 2011

PRESIDENTE	<u>IQ. Guadalupe Franco Rodríguez</u>	
VOCAL	<u>IBQ. Norma Beatriz Casas Alencaster</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. María Guadalupe Sosa Herrera</u>	
1er SUPLENTE	<u>MC. Julieta González Sánchez</u>	
2º SUPLENTE	<u>IA. Verónica Romero Arreola</u>	

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a dios, por que día a día me permite y me da la fuerza para llevar a cabo mis proyectos y concluirlos.

Gracias mamá y papá por su apoyo incondicional, confianza, consejos, amistad y por siempre estar ahí cuando más los necesito, los quiero mucho.

Gracias Mónica y Daniela por su apoyo y tolerancia en los momentos de exámenes y cuando trabajaba en la tesis día y noche. Termine!!!

Gracias Edgar por que tu apoyo fue uno de los mas importantes en el trayecto universitario, por tus consejos y por estar en los momentos en los que necesite la mano de un amigo. TE AMO.

Gracias amigas preparatorias (Paty, Gisela, Karla), por su comprensión y brindarme su incondicional amistad, las quierooo!.

Gracias amigas universitarias (Ingdris, Vanessa, Gina, Mariana, Karla, Luisa, Caro, Ilse, Bibi, Wendy, Pao) por su apoyo, amistad y por esos buenos momentos que siempre estarán en mi corazón, las quiero mucho.

Gracias a las Dras. Lupita Sosa y Paty Martínez por su asesoramiento, consejos y ayuda en mi trabajo de tesis.

Gracias a las Profras. Norma Casas y Edith Fuentes, por que ellas fueron las responsables de mi gran interés en las propiedades funcionales y aplicación de biopolímeros, que es a lo que me dedico hoy en día.

Un agradecimiento muy especial a la DGAPA-UNAM, debido a que parte del estudio fue financiado por el proyecto PAPIIT IN119110 (Efecto de la proteína láctea sola y en mezcla con polisacáridos sobre la estabilidad y reología de sistemas dispersos), de forma igual a mis profesores de universidad y a la universidad misma, GRACIAS UNAM.

ÍNDICE GENERAL

	Página
Índice general	i
Índice de cuadros	iii
Índice de figuras	iv
Resumen	1
Introducción	2
Capítulo I	
Antecedentes	4
1.1 Proteínas lácteas	4
1.1.1 Caseínas	4
1.1.2 Proteína de suero de leche	6
1.1.3 Propiedades de superficie de proteínas lácteas	8
1.2 Almidón	10
1.2.1 Amilosa y amilopectina	11
1.2.2 Gelatinización y retrogradación del gránulo	13
1.2.3 Almidones modificados	15
Pregelatinización	15
Entrecruzamiento	16
Estabilización	18
Propiedades de superficie de almidones modificados	19
1.3 Interacciones proteína-polisacárido	20
1.4 Fenómenos en la interfase	23
1.4.1 Interfase líquido-aire	23
1.4.2 Tensión en la interfase	23
1.4.2.1 Definición termodinámica de la tensión en la interfase	25
1.4.3 Tensión dinámica en la interfase	26
1.4.4 Adsorción	27
1.5 Reología de interfase	31

1.5.1 Deformación dilatacional cerca del equilibrio	33
Capítulo II	
Metodología de investigación	38
2.1 Objetivos	38
2.2 Materiales	39
2.3 Métodos	39
2.3.1 Preparación de las muestras	39
2.3.2 Determinación de densidad	41
2.3.3 Adsorción en interfase	42
2.3.5 Reología dilatacional	44
Capítulo III	
Análisis y discusión de resultados	46
3.1 Densidad relativa	46
3.2 Adsorción en interfase y concentración crítica de adsorción	49
3.3 Reología dilatacional	73
Conclusiones	87
Recomendaciones	88
Referencias	89

ÍNDICE DE CUADROS

	Pagina
1.1 Propiedades de los cuatro tipos de caseínas.	6
1.2 Propiedades de las proteínas de suero de leche.	8
2.1 Valores de amplitud de la deformación para los biopolímeros.	45
3.1 Valores de densidad relativa para los sistemas acuosos de las proteínas solas (a) caseinato de sodio y (b) concentrado de suero lácteo.	46
3.2 Valores de densidad para los sistemas acuosos de los almidones solos.	47
3.3 Valores de densidad para las mezclas de las proteínas y los almidones. (a) Almidón de maíz céreo entrecruzado (b) Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.	48
3.4 Valores de tensión en la interfase para los sistemas acuosos de las proteínas solas.	53
3.5 Valores de concentración crítica de adsorción para el caseinato de sodio y el concentrado de suero lácteo.	56
3.6 Valores de tensión en la interfase para los sistemas acuosos de caseinato de sodio solo y en mezcla con los almidones	65
3.7 Valores concentración crítica de adsorción para el caseinato de sodio y sus mezclas con los polisacáridos.	66
3.8 Valores de tensión en la interfase para los sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo solo y en mezcla con los almidones.	70
3.9 Valores de concentración crítica de adsorción para el concentrado de suero lácteo sus mezclas con los polisacáridos.	72
3.10 Valores de elasticidad dilatacional para el caseinato de sodio y el concentrado de suero lácteo a una frecuencia 0.04 Hz.	76
3.11 Valores de elasticidad dilatacional promedio para los almidones y	79

proteínas.

3.12 Valores de elasticidad dilatacional para el caseinato de sodio y sus mezclas con los almidones a una frecuencia 0.04 Hz. 83

3.13 Valores de elasticidad dilatacional para el concentrado de suero lácteo y sus mezclas con los almidones a una frecuencia 0.04 Hz. 85

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pagina
1.1 Conformación de proteínas. Estructura (a) rígida y (b) flexible.	10
1.2 Estructura química de la amilosa.	11
1. 3 Estructura química de la amilopectina.	12
1. 4 Representación de una porción de una molécula de amilopectina.	13
1.5 Curva representativa que muestra los cambios de viscosidad de una suspensión de almidón en función de la temperatura y el tiempo.	14
1.6 Figura comparativa de un gránulo de almidón nativo y pregelatinizado.	16
1.7 Estructura de un gránulo de almidón entrecruzado.	17
1.8 Reacción química del entrecruzamiento de un almidón con ácido anhídrido adipico.	17
1.9 Reacción química de la estabilización con anhídrido acético de un almidón.	18
1.10 Representación esquemática de los fenómenos que pueden ocurrir en la adsorción de proteína y polisacárido en la interfase líquido-aire	22
1.11 Fuerzas de atracción entre las moléculas entre la superficie y el	23

interior del líquido.

1.12 Esquema de la disminución espontánea de una gota de agua a causa de la tensión superficial.	24
1. 13 Estructura molecular de la interfase líquido-aire.	25
1.14 Representación esquemática del fenómeno de adsorción.	27
1. 15 (a) Representación esquemática de la adsorción y (b) Representación de la tensión dinámica en la interfase respecto al tiempo.	29
1. 16 Isoterma de adsorción de LiCl (cloruro de litio), SDS (dodecilsulfato sódico) y pentanol.	30
1.17 Isoterma de adsorción de un biopolímero. CCA es la concentración crítica de adsorción.	30
1. 18 Deformaciones en la interfase (a) dilatación o (b) compresión cizalla.	32
1. 19 Respuesta de una interfase a una perturbación. Las flechas indican la dirección del líquido interfacial y del seno de la disolución.	33
2.1 Diagrama esquemático de la gota colgante del tensiómetro.	42
2.2 Representación esquemática de la tensión en la interfase contra el inverso de la raíz cuadrada del tiempo.	43
2.3 Gráfico representativo para la obtención de la concentración micelar crítica.	44
3.1 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones caseinato de sodio	50
3.2 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo (a) y del inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de concentrado de suero lácteo.	52
3.3 (a) Curva para la obtención la de concentración crítica de adsorción las proteínas solas (b) Curva para la obtención de concentración crítica de adsorción para el concentrado de suero lácteo.	54
3.4 Esquema de las moléculas de caseinato de sodio y concentrado de	57

suero lácteo adsorbidas en la interfase líquido-aire a pH neutro.

3.5 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de almidón de maíz céreo entrecruzado	58
3.6 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.	59
3.7 Curva de concentración crítica de adsorción de los sistemas de estudio.	61
3.8 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de las mezclas de caseinato de sodio	62
3.9 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de las mezclas de caseinato de sodio.	63
3.10 Curva de concentración crítica de adsorción de las mezclas de caseinato de sodio en medio acuoso.	66
3.11 Propuesta de representación esquemática de adsorción de disoluciones de caseinato de sodio en mezcla con a) AP y b) A en medio acuoso.	67
3.12 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de las mezclas de concentrado de suero lácteo.	68
3.13 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de las mezclas de concentrado de suero lácteo	69
3.14 Curva de concentración crítica de adsorción para las mezclas de concentrado de suero lácteo en medio acuoso.	71
3.15 Propuesta de representación esquemática de adsorción de disoluciones de concentrado de suero lácteo en mezcla con los almidones de estudio en medio acuoso.	72

3.16 (a) Elasticidad dilatacional y (b) viscosidad dilatacional para las disoluciones de las proteínas de estudio.	74
3.17 (a) Elasticidad dilatacional y (b) viscosidad dilatacional para las disoluciones de las proteínas y los polisacáridos de estudio.	78
3.18 (a) Elasticidad dilatacional y (b) viscosidad dilatacional para las disoluciones de caseinato de sodio en mezcla con los almidones de estudio.	81
3.19 (a) Elasticidad dilatacional y (b) viscosidad dilatacional para las disoluciones de concentrado de suero lácteo en mezcla con los almidones de estudio.	84
3.20 Propuesta de representación esquemática de adsorción durante la perturbación de la superficie de disoluciones de las mezclas de (a) Caseinato de sodio – AP y (b) Concentrado de suero lácteo – A en medio acuoso.	86

RESUMEN

En la presente investigación se estudiaron las propiedades de adsorción y viscoelásticas en la interfase líquido-aire de sistemas elaborados con caseinato de sodio y concentrado de suero lácteo y sus mezclas con almidón de maíz céreo entrecruzado y almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado, a través de mediciones de tensión interfacial dinámica. El caseinato de sodio fue el que mostró una mayor capacidad para adsorberse en interfase manifestándose en un valor de concentración crítica de adsorción menor al del concentrado de suero lácteo, lo que se atribuyó a la estructura flexible y desplegada que posee, que le dio la capacidad de formar monocapas menos rígidas. Por el contrario el concentrado de suero lácteo fue el biopolímero que mostró la mayor elasticidad. Para el caso de las mezclas, se encontró que las proteínas dominan la interfase y que el almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado (0.03%) sobre la monocapa de concentrado de suero lácteo (2%), produjo una interfase menos elástica que la formada solamente con la proteína. En el caso del caseinato de sodio (0.005%) la presencia de almidón de maíz céreo entrecruzado (0.03% y 0.3%) favoreció la disminución de la tensión en la interfase del sistema, mientras que la presencia de su equivalente en la forma pregelatinizada (0.03% y 0.3%) en la monocapa adsorbida mostró un mayor módulo elástico que la proteína sola.

INTRODUCCIÓN

Dentro de los biopolímeros más reconocidos por tener la capacidad de difundirse hacia la interfase líquido-aire se encuentran las proteínas lácteas. Este tipo de proteínas se clasifican en caseínas (α_{s1} , α_{s2} , β , κ) y proteínas solubles (β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina) (Cheftel y col., 1989, Fennema, 1995). La precipitación de las caseínas en la leche se produce a un pH de 4.6, las cuales pueden ser redisueltas por una neutralización, y dar lugar a los caseinatos de sodio, potasio y cálcico (Damodaran y Paraf, 1997). Las proteínas solubles pueden someterse a procesos de concentración, produciéndose de esta manera los concentrados de suero lácteos (Fennema, 1995; Charalambous y Doxastakis, 1989).

El almidón es también un biopolímero de alto peso molecular que está conformado por dos moléculas principalmente, amilosa y amilopectina (Prochaska y col., 2007). Existen distintos tipos de almidones, dependiendo su origen biológico, uno de ellos es el almidón de maíz céreo, que tiene un contenido de amilopectina del 99% (Whistler y col., 1984). El alto peso molecular de este polisacárido que va desde 10^7 hasta 5×10^8 Daltons (Fennema, 1995) y su carácter hidrofílico no le dan mucha tendencia a adsorberse en interfases (Pérez y col., 2009a). Sin embargo, las propiedades del almidón pueden ser mejoradas o adaptadas a las necesidades específicas al modificar la estructura del gránulo mediante procesos físicos y/o químicos (Belitz y Grosch, 1988, Heeres y col., 1998). Una de las funciones más importantes de la modificación de los almidones es que se puedan crear sistemas como emulsiones o espumas por tener la capacidad de bajar la tensión superficial en interfases líquido-aire. Prochaska y col. (2007) estudiaron la actividad de superficial de almidones modificados y observaron que la capacidad para bajar la tensión en la superficie depende del tipo de modificación al que se somete.

Se ha visto que las interacciones que existen a nivel interfase entre las proteínas y los polisacáridos presentes tienen repercusión sobre la formación, estabilidad, textura, vida de anaquel y calidad final de muchos alimentos tal como emulsiones y espumas, debido a que están constituidos por dos fases inmiscibles (Pérez y col., 2009a,b; Sánchez y col., 2005). Ejemplos de sistemas constituidos con las características antes mencionadas son crema líquida, crema para batir, helados, aderezos, malvaviscos, merengues, entre otros (Carrera y Rodríguez, 2005).

Asimismo, la competencia entre los biopolímeros por ocupar la interfase (Dickinson, 2003) y el lugar que ocupen en ella, son factores que determinan la composición de equilibrio en la superficie (Damodaran y Razumovsky, 2003). La competitividad por ocupar la interfase entre proteínas lácteas y distintos polisacáridos con diferentes propiedades de superficie se ha estudiado midiendo la adsorción dinámica en la interfase utilizando el tensiómetro de gota colgante (Pérez y col., 2009a, Pérez y col., 2007, Pérez y col., 2009b, Pérez y col., 2009c y Simeone y col., 2004). En trabajos anteriores se ha observado que la concentración de los biopolímeros y la estructura molecular que posee cada uno influyen directamente sobre las interacciones entre ambos, las cuales se manifiestan en una determinada magnitud de adsorción reflejada en la concentración crítica de adsorción, que tiene una influencia directa sobre las propiedades reológicas dilatacionales de la película formada.

Estudios acerca de la adsorción y de las propiedades viscoelásticas en interfase líquido-aire de proteínas lácteas son escasos y más aún en mezcla con polisacárido por lo que se realizó un estudio que permitió conocer el efecto que tiene el almidón modificado sobre la película interfacial formada por las proteínas y determinar si la presencia de almidón en el sistema tiene un impacto significativo en las propiedades de la interfase a estudiar.

Capítulo I

ANTECEDENTES

1.1 Proteínas lácteas

La leche contiene 30-36 g/L de proteína total. Éstas a su vez se clasifican en dos grupos: caseínas y proteínas de suero de leche, de acuerdo a la estructura que presentan (Creamer y MacGibbon, 1996; Cheftel y col., 1989; Fennema, 1995). Este tipo de proteínas cada vez se usan más como ingredientes en un número creciente de alimentos formulados, por las excelentes propiedades nutricionales y su singular capacidad para contribuir a las propiedades funcionales de los alimentos finales. La funcionalidad de los biopolímeros está ligada directamente con la estructura que poseen.

1.1.1 Caseínas

La caseína constituye el 80% de las proteínas de la leche, la cual contiene cuatro tipos de proteínas individualizadas (α_{s1} , α_{s2} , β , κ). Su concentración en la leche es de 25 g/L, éstas se encuentran en forma de complejos macromoleculares con fosfato de calcio llamadas micelas (Damodaran y Paraf, 1997). La estructura de la micela consiste de subunidades de las caseínas α_{s1} , α_{s2} , β unidas por fosfato de calcio coloidal y estabilizadas por una capa externa de κ -caseína que se proyecta hacia afuera de la micela. Las caseínas carecen de estructura terciaria (Krastanka y col., 2009); sin embargo, debido a su estructura primaria son objeto de fosforilación con una intensidad variable al nivel de los residuos de serina y de treonina. Tal modificación origina la formación de agregados aniónicos en las caseínas α_{s1} , α_{s2} , β (sensibles al calcio), mientras que la κ -caseína (insensible al calcio) sólo tiene un residuo fosforilado. Las caseínas sensibles al calcio son denominadas de esa manera por que tienen una baja solubilidad en presencia de Ca^{2+} (Creamer y MacGibbon, 1996; Cheftel y col., 1989; Fennema, 1995).

Las secuencias de aminoácidos en las caseínas tienen un gran número de residuos de prolina y de regiones que incluyen residuos de fosfoserina, lo que le da la característica de prevenir la formación de estructuras secundarias (Creamer y MacGibbon, 1996). No obstante, sus estructuras primarias revelan una característica singular de estas proteínas, concretamente la distribución de secuencia de cargas y de residuos polares e hidrófobos (Fennema, 1995). La concentración de estos grupos en regiones separadas de la molécula le confiere una estructura desordenada, anfipática (Carrera y Rodríguez, 2005) y flexible, por lo que también son llamadas proteínas flexibles (Krastanka y col., 2009; Dickinson y Krishna, 2001; Damodaran y Paraf, 1997; Fennema, 1995; Cheftel y col., 1989). Esto origina que al estar la proteína en disolución existan pequeñas fuerzas que causan que las moléculas de proteína adopten la mejor conformación que se adapte a las circunstancias (Damodaran y Paraf, 1997; Nahrungbauer, 1995; Pérez y col 2007).

El conocimiento de las características estructurales de las caseínas permite saber sus propiedades físicas y fisicoquímicas (Cuadro 1.1). Las fracciones mayoritarias de caseína son la α_{s1} y β , representando el 75% del total de la caseína (Dickinson, 1999), las cuales no tienen la capacidad de formar enlaces disulfuro inter e intramoleculares, sin embargo, las caseínas minoritarias al tener dos residuos de cisteína por molécula forma enlaces disulfuro intermoleculares (Damodaran y Paraf, 1997). Asimismo, los dominios polares de las caseínas sensibles al calcio están dominados por los residuos fosfoserilo y en consecuencia portan una gran carga negativa, la caseína α_{s1} tiene una carga neta de -20.9 mV, lo que representa casi la carga neta total de la molécula. Las β -caseínas, por otra parte, son las caseínas más hidrófobas (Dickinson, 1999). La proteína posee un dominio polar de 40-50 residuos iniciales con una carga neta de -12.8 mV, el resto de la molécula es hidrófoba, por tanto esta molécula es muy anfipática, con un dominio polar que comprende la décima parte de los residuos totales de la cadena, propiedad que hace que a esta caseína se le considere como un excelente agente de superficie (surfactante) y un polímero estabilizador (Dickinson y Krishna, 2001; Damodaran y Paraf, 1997; Fennema, 1995), además, al igual que para las caseínas α_{s1} y α_{s2} la localización de las cargas y de las cadenas laterales hidrófobas es

muy irregular. Esto le confiere a la molécula un comportamiento dipolar con un polo globular mucho más hidrófobo y un polo cargado. Contrariamente, la κ -caseína tiene la característica de poseer una estructura ordenada.

Cuadro 1.1: *Propiedades de los cuatro principales tipos de caseínas* (Charlambous y col., 1989; Cheftel y col., 1989; Fennema, 1995).

Proteína	%Total	Concentración (g/L)	PM (Daltons)	Carga (mV)	Hidrofobicidad (kJ residuo ⁻¹)	Punto isoeléctrico
α_{s1} -caseína	34	12-15	23551 ^a	-20.9	4.89	4.93
α_{s2} -caseína	8	3-4	25238 ^b	-13.8	4.64	5.34
β -caseína	25	9-11	24028	-12.8	5.58	5.24
κ -caseína	9	3-4	19038 ^c	-3.0	5.12	5.76

Carga a pH de 6.6, a. Con 8 fosfatos de serina, b. Con 11 fosfatos de serina, c.Sin glucosilación

El complejo micelar se puede someter a una precipitación utilizando un pH de 4.6 (se baja el pH hasta su punto isoeléctrico), el cual al ser redisolto por una neutralización con el apropiado álcali da lugar a los caseinatos de sodio, potasio y calcio, siendo al final, en todos los casos, una mezcla de las proteínas individuales de la caseína (Damodaran y Paraf, 1997; Charlambous y Doxastakis, 1989; Abascal y Fadrique, 2009), en las que su funcionalidad está gobernada por las fracciones que se encuentran mayoritariamente α_{s1} y β caseínas (Rodríguez y col., 1999).

1.1.2 Proteína de suero de leche

El restante 20% de las proteínas lácteas está conformado por la fracción no sedimentable, llamadas proteínas de suero o proteínas solubles, constituidas a su vez por proteínas globulares como la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina, además contiene albúmina sérica e inmunoglobulinas que proceden de la sangre y por una fracción peptídica formada por las proteoso-pectonas que provienen de una proteólisis limitada de la caseína β (Fennema, 1995; Cheftel y col., 1989). El 70% de las proteínas de suero está conformado por las proteínas globulares, por lo que también se le conoce

a esta fracción proteínica de leche, como proteína globular (Krastanka y col., 2009; Pérez y col., 2009a; Hong y col., 2002).

La composición en aminoácidos de las proteínas de suero es muy diferente al de las caseínas, contiene menos ácido glutámico y prolina (lo que le da la característica de poseer una estructura secundaria definida), pero son más ricos en aminoácidos azufrados como cisteína y metionina (Cheftel y col., 1989; Elofsson y col., 1997). A partir de las estructuras primarias que presentan este tipo de proteínas ha sido posible conocer algunas de sus propiedades y hacer más fácil la comprensión de su estudio (Cuadro 1.2). La β -lactoglobulina es el constituyente mayoritario de la proteína de suero, cuenta con dos enlaces disulfuro y un residuo de cisteína libre. Su estructura terciaria contiene una parte superficial corta en α -hélice y otra en β -paralela. El centro de esta última forma una región hidrófoba, existiendo un bolsillo superficial entre las dos partes (Hill y col., 1998). La funcionalidad de la β -lactoglobulina está gobernada por estos bolsos hidrófobos y por la presencia de enlaces disulfuro y un grupo sulfidrilo parcialmente enterrado. Las dos uniones disulfuro y un grupo tiol libre que posee, le impone una estructura espacial rígida (Cheftel y col., 1989; Hill y col., 1998; Belitz y Grosch, 1988).

El segundo componente más abundante de la proteína de suero es la α -lactoalbúmina. Ésta es una proteína globular pequeña y compacta, la cual se estabiliza por cuatro enlaces disulfuro. Esto le da una estructura secundaria ordenada que incluye cuatro secciones de α -hélice y una sección irregular β -antiparalela, además de una estructura terciaria muy compacta, que a diferencia de la β -lactoglobulina no contiene un grupo tiol libre (Hill y col., 1998; Brew y Grobler, 1992; Krastanka y col., 2009). La α -lactoalbúmina contiene importantes cantidades de triptófano, lo que presupone una estructura compacta globular estable, debido a la existencia de enlaces entre los radicales de este aminoácido (Cheftel y col., 1989; Hill y col., 1998).

Cuadro 1.2: *Propiedades de las proteínas de suero de leche* (Charlambous y col., 1989; Cheftel y col., 1989; Fennema, 1995; Hong y col., 2002).

Proteína	% Total	Concentración (g/L)	PM (Daltons)	Carga (mV)	Hidrofobicidad (kJ residuo ⁻¹)	Punto isoeléctrico
β- lactoglobulina	9	2-4	18300	-11	5.03	-
α-lactoalbúmina	4	1-1.5	14000	-2.6	4.68	5.1
Inmunoglobulinas	2	0.6-1	15000- 100000	-	-	5.5-6.8
Seroalbúmina	1	0.1-0.4	69000	-	-	4.7
Proteosomas peptonas	4	0.6-1.8	4100- 40800 ^a	-	-	-

Carga a pH de 6.6, a. incluye las caseínas residuales y las proteínas minoritarias

Este tipo de proteínas, a diferencia de las caseínas, tienen una repartición de los residuos polares y no polares de manera uniforme. Consecuentemente, estas proteínas se pliegan intramolecularmente para alojar en el interior de su estructura la mayoría de sus residuos hidrófobos, lo que limita las asociaciones o interacciones con el medio en el que se encuentran (Fennema, 1995; Cheftel y col., 1989).

El suero de leche se puede someter a procesos en los cuales se concentra, lo que da lugar a los concentrados de proteína de suero (Fennema, 1995; Charlambous y Doxastakis, 1989). La funcionalidad del concentrado de suero lácteo está regida por β-lactoglobulina y la α-lactoalbúmina que representan el 70% de la proteína total de suero (Pérez y col., 2009a; Santos y col., 2006).

1.1.3 Propiedades de superficie de las proteínas lácteas

Las propiedades funcionales de las proteínas de leche están relacionadas con su estructura. Su naturaleza anfipática se debe a una mezcla de residuos de aminoácidos polares y no polares, lo que les da la capacidad de concentrarse en interfases líquido-aire, al orientarse los segmentos hidrófobos hacia la fase no polar (aire) y la

parte hidrofílica hacia la fase acuosa (Clyde, 1997; Pérez y col., 2009a; Mohanty y col., 1988; Fennema, 1995; Cheftel y col., 1989), dando lugar a que la energía libre del sistema descienda y ser utilizados como ingredientes formadores de sistemas como espumas y emulsiones, por lo que son denominados surfactantes poliméricos (Pérez y col., 2007). Cuanto más hidrófoba sea la proteína, más elevada será la concentración proteínica en la interfase y menor la tensión en la interface y por lo tanto más estable el sistema (Cheftel y col., 1989).

El caseinato de sodio está conformado por proteínas pequeñas (Figura 1.1a) y flexibles que rápidamente se difunden en la interfase (Abascal y Gracia, 2009). Las caseínas son agregados que tienen múltiples regiones hidrofóbicas con una alta carga negativa y algunas regiones con carga positiva (Creamer y MacGibbon, 1996). Este tipo de proteínas se les considera que tienen las mejores propiedades de superficie, porque poseen además de su fuerte solubilidad, una estructura disociada y desplegada naturalmente, al mismo tiempo que una hidrofobicidad global relativamente elevada (ligeramente superior a la mayoría de las proteínas globulares) con una separación neta de las zonas hidrofílicas e hidrofóbicas de la cadena polipeptídica (Cheftel y col., 1989), por lo que el número de segmentos o monómeros que están en contacto con el medio es mayor para interactuar con la interfase (Damodaran y Paraf, 1997).

Por otro lado, las proteínas de suero de leche que conforman los concentrados de dicha proteína carecen de una conformación anfipática como la de las caseínas, son incapaces de desdoblarse a menos que sean desnaturalizadas, no exponiendo sus grupos hidrofóbicos para orientarse con las fases no polares (Charlambous y col., 1989), lo que les da la característica de ser una proteína con una estructura rígida (Clyde, 1997; Pérez y col., 2009c). Asimismo, una vez que se adsorben en la interfase conservan su estructura molecular globular por los enlaces sulfuro de la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina (Krastanka y col., 2009; Schokker y col., 2000). En la Figura 1.1(b) se esquematiza la conformación posible de la proteína propuesta por Boss y Vliet (2001).

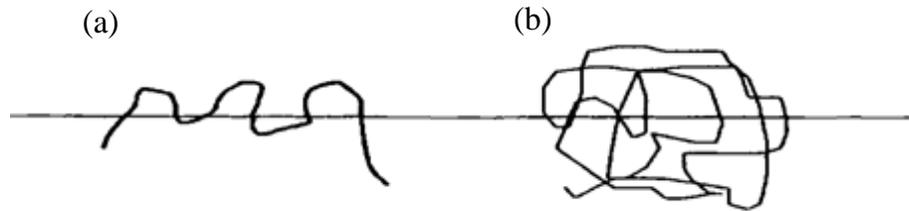


Figura 1.1 Conformación de proteínas. Estructura (a) flexible y (b) rígida (Boss y Vliet, 2001).

1.2 Almidón

El almidón es el principal carbohidrato de reserva sintetizado por las plantas y es una fuente de energía esencial para el ser humano (Svenson y col., 1996). Los almidones se obtienen a partir de raíces y tubérculos, particularmente papa, batata y tapioca, de varios tipos de arroz y de las semillas de cereales, como el trigo, maíz ya sea rico en amilosa o maíz céreo. Prochaska y col. (2007) atribuyen las propiedades fisicoquímicas y características funcionales que posee un almidón a su origen biológico, botánico y al tipo de modificación química que pueda tener. Los tipos de modificaciones químicas que existen son la estabilización sin entrecruzamiento vía éter o éster, la conversión y el entrecruzamiento de cadenas de polímero utilizando agentes bi o polifuncionales (Fennema, 1995; Thomas y Atwell, 1999).

Este carbohidrato es un biopolímero de alto peso molecular que va desde 10^7 hasta 5×10^8 Daltons (Fennema, 1995), que se diferencia de todos los demás en que en la naturaleza se presenta como partículas llamadas gránulos. Los gránulos de almidón son relativamente densos e insolubles y se hidratan muy mal en agua fría. La mayoría de los gránulos de almidón están conformados por una mezcla de dos polímeros: uno esencialmente lineal denominado amilosa y otro muy ramificado llamado amilopectina, que están ordenados en una forma radial desde el centro hacia el exterior, las cuales, asociadas dan lugar a zonas cristalinas y amorfas (Fennema, 1995). Esta distribución resulta evidente al observar el gránulo de almidón en un microscopio bajo luz

polarizada, todos los almidones nativos muestran una cruz denominada “cruz de malta”, a este fenómeno se le llama birrefringencia.

1.2.1 Amilosa y amilopectina

Amilosa

La mayor parte de la amilosa es una cadena lineal de 200 a 2500 unidades de α -D-glucopiranosilo unidas por enlaces (1 \rightarrow 4), aunque existen también moléculas que poseen unas pocas ramificaciones en posición (1 \rightarrow 6), alrededor de cada 180-320 unidades. Las ramificaciones de la amilosa pueden ser muy largas o muy cortas (Figura 1.2), pero los puntos de ramificación están separados por largas distancias, de manera que las propiedades físicas de las moléculas de amilosa son esencialmente las de las moléculas lineales. Las moléculas de amilosa tienen pesos moleculares alrededor de 10^6 Daltons.

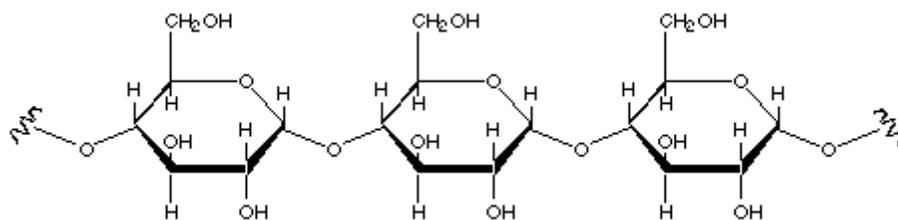


Figura 1.2 Estructura química de la amilosa (Wong, 1995).

El acoplamiento de la posición axial-ecuatorial de las unidades de α -D-glucopiranosilo con enlaces (1 \rightarrow 4) en las cadenas de amilosa, da a las moléculas una forma de hélice o espiral con giro a la derecha. En el interior de la hélice contiene sólo átomos de hidrógeno; y es por tanto lipofílico, mientras que los grupos hidroxilo están situados en el exterior de la hélice. La mayoría de los almidones contiene un 25% de amilosa.

Amilopectina

La amilopectina es una molécula altamente ramificada, con enlaces de ramificación que constituyen alrededor del 4-5% del total de los enlaces. Este polisacárido está constituido por unidades repetidas de glucosa unidas por enlaces α -1,4, y ramificado a través de enlaces α -1,6 (Figura 1.3).

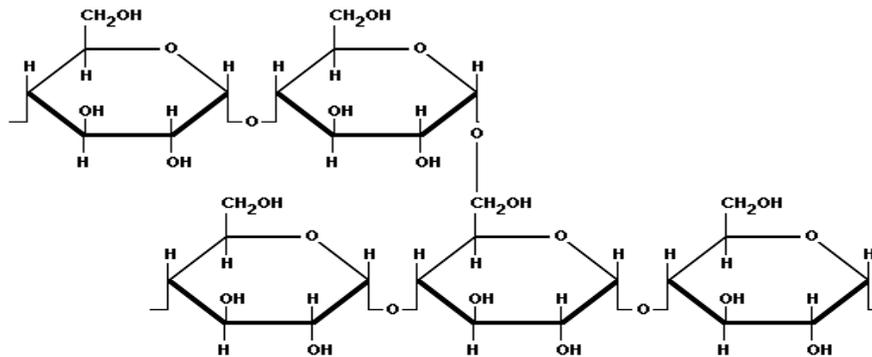


Figura 1.3 Estructura química de la amilopectina (Wong, 1995).

Las ramas de la molécula de amilopectina toman la forma de un racimo y se presentan como dobles hélices, es este empaquetamiento de las estructuras lo que forma las muchas pequeñas áreas cristalinas muy densas que alternan con las menos densas y amorfas, hallándose ramificadas al azar, teniendo una disposición como la que se muestra en la Figura 1.4, con todos los puntos de ramificación orientados hacia el extremo reductor (Wong, 1995).

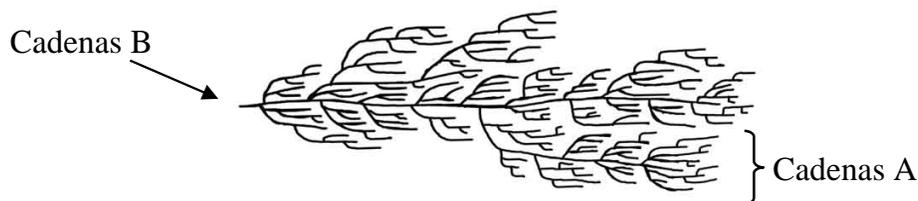


Figura 1.4 Representación de una porción de una molécula de amilopectina (Fennema, 1995).

En la Figura 1.4 se muestran los racimos de cadenas que constituyen la unidad básica de la molécula, en donde se definen dos grupos principales, llamados cadenas A (insustituidas) y cadenas B (sustituidas por otras cadenas). La cadena B forma la columna de la molécula de amilopectina y se extiende sobre dos o más racimos. Cada racimo contiene de dos a cuatro cadenas A, estrechamente asociadas. Los racimos asociados de cadenas A, son principalmente responsables de las regiones cristalinas dentro del gránulo (Belitz y Grosch, 1988). El peso molecular de la amilopectina va desde 10^7 hasta 5×10^8 Daltons, lo que hace que este polímero se encuentre entre los más grandes, si no son los más grandes, de entre las moléculas existentes en la naturaleza (Fennema, 1995).

La amilopectina está presente en todos los almidones, constituyendo alrededor del 75% de la mayoría de los almidones más comunes. Algunos almidones están formados casi exclusivamente por amilopectina y se les conoce como almidones céreos. El maíz céreo es el primer grano reconocido como tal y en el que el almidón está formado en un 99% por amilopectina (Whistler y col., 1984), el tamaño del gránulo de este tipo de almidón oscila entre los 5 y 30 μm , encontrándosele con una forma poligonal y con una temperatura de gelatinización que va de 63 a 72 °C (Thomas y Atwell, 1999; Fennema, 1995). Esta variedad se llama así por que cuando se corta el grano la superficie que aparece es de aspecto vítreo o céreo. Las soluciones de almidón de maíz céreo al ser calentadas forman sistemas de alta viscosidad y de aspecto claro. Este tipo de dispersiones no tienen casi tendencia a retrogradarse ni a envejecer, aunque la concentración sea muy alta (Belitz y Grosch, 1988).

1.2.2 Gelatinización y retrogradación del gránulo

Los gránulos de almidón no dañados son insolubles en agua fría debido a que la amilopectina está asociada por medio de enlaces de hidrógeno con cadenas lineales de amilosa formando micelas cristalinas (Wong, 1995); sin embargo, pueden embeber agua de manera reversible, es decir pueden hincharse ligeramente con el agua y volver

luego al tamaño original al secarse. Cuando los gránulos se ponen en agua lo suficientemente caliente como para proporcionarle la energía necesaria para romper los enlaces débiles establecidos entre las micelas cristalinas, los gránulos de almidón se hidratan y se hinchan (Figura 1.5) hasta alcanzar un tamaño varias veces superior al original forzándolos a presionarse unos contra otros hasta llenar el recipiente que los contiene en forma de una pasta altamente viscosa. Este fenómeno es llamado gelatinización, que consiste en la desorganización de las moléculas. Evidencias de este fenómeno son la pérdida de orden, el hinchamiento irreversible del gránulo, la pérdida de la cristalinidad y de la birrefringencia. La totalidad de este proceso se produce dentro de un intervalo de temperatura, siendo los gránulos más grandes los que primero gelatinizan. La temperatura inicial aparente de gelatinización y el intervalo dentro del cual tiene lugar dependen del método de medida y de la relación almidón-agua.

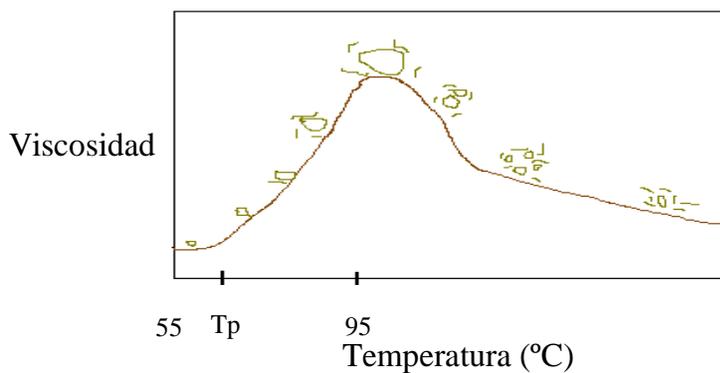


Figura 1.5 Curva representativa que muestra los cambios viscosidad de una suspensión de almidón en función de la temperatura y el tiempo (Fennema, 1995).

Cuando se alcanza el pico de máxima viscosidad, algunos gránulos ya han sido rotos por la agitación. Si se continúa agitando, más gránulos se rompen y fragmentan, causando entonces una disminución de la viscosidad y una lixiviación de los componentes solubles (principalmente amilosa). Al enfriar, algunas moléculas de almidón se reasocian parcialmente para formar un precipitado o un gel. Este proceso se denomina retrogradación.

1.2.3 Almidones modificados

En el procesado de alimentos se prefieren en general almidones con mejores propiedades que las que poseen los almidones nativos. Las propiedades de los almidones se pueden mejorar por una modificación química o física de los grupos funcionales de la molécula (Fennema, 1995; Singh y col., 2007), esta modificación produce cambios en las propiedades del almidón. Durante este proceso tienen lugar reacciones primarias en las cuales se asocian los grupos hidroxilo del almidón con los agentes químicos empleados para la modificación (Thomas y Atwell, 1999).

La modificación química de los gránulos de almidón se lleva a cabo usualmente en un medio acuoso, con un contenido de 30-45% de sólidos; el almidón es tratado con un agente químico bajo agitación, temperatura y un determinado pH. Cuando la reacción se completa el almidón se neutraliza y purifica a través de un lavado con agua. La modificación química se expresa con base en el grado de sustitución, cuando los grupos sustituyentes reaccionan con los grupos hidroxilo del gránulo de almidón (Thomas y Atwell, 1999; Whistler y col., 1984). Las propiedades químicas y funcionales de los almidones modificados dependen de la sustitución química, de las condiciones de reacción (concentración de reactante, tiempo de reacción, pH y presencia de algún catalizador), del tipo de sustituyente, grado de sustitución y de la distribución del sustituyente en la molécula del gránulo (Hirsch y Kokini, 2002).

Los tipos de modificación llevados a cabo, a veces de manera única, pero a menudo en combinación, son la estabilización sin entrecruzamiento vía éter o éster, la conversión, la pregelatinización y el entrecruzamiento de cadenas de polímero utilizando agentes bi o polifuncionales (Fennema, 1995; Thomas y Atwell, 1999).

- Pregelatinización del gránulo de almidón

El almidón pregelatinizado es un almidón instantáneo que ha sido gelatinizado, y que por tanto se hincha al estar en presencia de agua sin la aplicación de calor, debido a que

los grupos hidroxilo se encuentran libres para interactuar con la molécula de agua. Este tipo de almidón se caracteriza por perder la integridad del gránulo, es decir, los gránulos son fragmentados y disociados en su forma física (Thomas y Atwell, 1999) (Figura 1.6).



Almidón nativo



Almidón pregelatinizado

Figura 1.6 Figura comparativa de un gránulo de almidón nativo y pregelatinizado (Wong, 1995).

- Entrecruzamiento del gránulo de almidón

El entrecruzamiento se produce cuando los gránulos de almidón se hacen reaccionar con agentes di o polifuncionales, los cuales reaccionan con dos grupos hidroxilo de distintas moléculas del mismo gránulo. Los agentes di o polifuncionales utilizados con mayor frecuencia son los anhídridos adípicos, la mezcla de ácido adípico y cloruro de vinil, el trimetafosfato de sodio, el oxiclورو de fósforo, el fosfato de monosodio, el tripolifosfato de sodio, el cloruro de fosforilo y la epiclorhidrina (Wattanchant, 2003; Heeres y col., 1998). El proceso de entrecruzamiento refuerza los enlaces de hidrógeno en el gránulo con uniones químicas (Figura 1.7) que actúan entre los puentes de las moléculas, es decir se crean enlaces covalentes inter, además de intramoleculares entre los polímeros del almidón, lo que le permite conservar su integridad (Wurzberg, 1986).

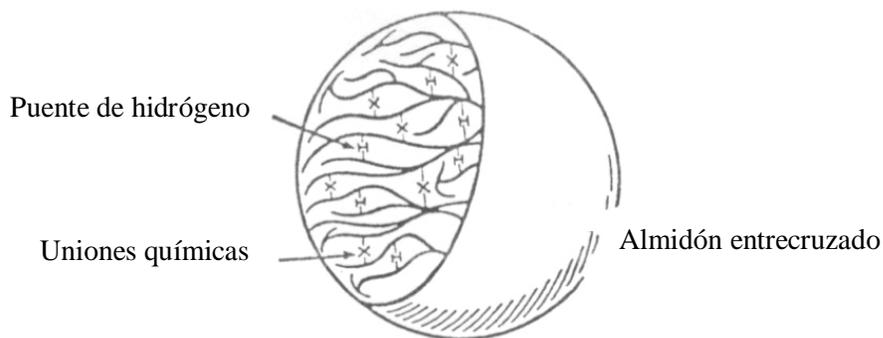


Figura 1.7: Estructura de un gránulo de almidón entrecruzado (Thomas y Atwell, 1999).

En consecuencia, los gránulos exhiben una sensibilidad reducida a las condiciones del procesado (alta temperatura y tiempos de cocción, bajo pH, fuerzas de cizalla en el mezclado, molido, homogeneización y/o bombeado) (Fennema, 1995).

El empleo de ácido anhídrido adipico bajo condiciones alcalinas (Figura 1.8) da lugar al dialmidón adipato (Thomas y Atwell, 1999; Jaspreet y col., 2007; Wurzburg, 1986). Este tipo de entrecruzamiento hace que se formen enlaces éster unidos a los grupos hidroxilo del almidón (Thomas y Atwell, 1999; Wong, 1995). El dialmidón adipato se caracteriza por tener bajos niveles de sustitución (Wurzburg, 1986; Dickinson, 2003).

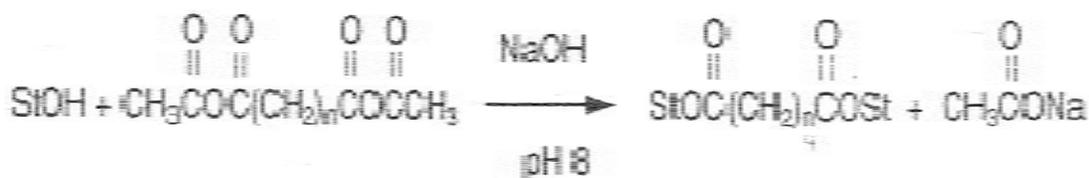


Figura 1.8 Reacción química del entrecruzamiento de un almidón con ácido anhídrido adipico (Thomas y Atwell, 1999).

- Estabilización del gránulo de almidón

La estabilización o sustitución de almidón se basa en la adición de grupos acetilo, hidroxipropilo (presencia de grupos polares carboxil) y fosfato, los cuales una vez introducidos en las cadenas de almidón son capaces de alterar los enlaces inter e intramoleculares de hidrógeno con lo que se produce el debilitamiento de la estructura granular que conduce a un aumento de la libertad de movimiento de las cadenas del polisacárido en las regiones amorfas, lo que permite que el almidón permanezca hidratado formando disoluciones limpias y estables, evitando la retrogradación del sistema (Seow y Thevamalar, 1993; Wong, 1995; Prochaska y col., 2007; Thomas y Atwell, 1999).

El empleo de anhídrido acético en un pH de 7.5-9 del sistema, da lugar al almidón acetilado. Este almidón se caracteriza por tener de 0.5-2.5% de grupos acetilo no polares en su estructura, los cuales están distribuidos en 7 grupos hidroxilo cada 100 unidades de anhidroglucosa (Prochaska y col., 2007; Thomas y Atwell, 1999). En la Figura 1.9 se muestra la reacción química de la estabilización con anhídrido acético de un almidón.

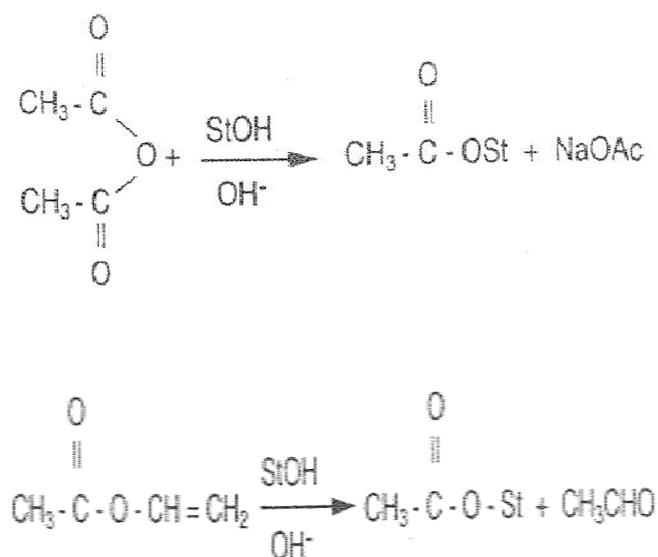


Figura 1.9 Reacción química de la estabilización con anhídrido acético de un almidón (Thomas y Atwell, 1999).

En general, las modificaciones químicas se ajustan para desarrollar, incrementar o reforzar las propiedades del gránulo de almidón, las cuales se basan en el grado de sustitución. Muchos almidones modificados son especialmente diseñados para usos específicos, sus propiedades pueden ser controladas a través de la combinación de distintos tratamientos (estabilización, pregelatinización y entrecruzamiento). Dentro de las aplicaciones se incluyen capacidad de formación de películas, incremento en la estabilidad de los sistemas en donde se encuentre, velocidad de hidratación, mejora de la interacción con otras sustancias, capacidad de reducir la energía de una interfase para crear sistemas como emulsiones y espumas, entre otras. En específico el adipato acetilado de dialmidón, tiene en su estructura grupos acetilados de carácter anfipático, que le confieren la estabilidad al gránulo. Sin embargo, la actividad de superficie que tiene es pobre en comparación con aquellos almidones específicamente modificados para reducir la tensión en la interfase y tener la funcionalidad de ser agentes tensoactivos.

- Propiedades de superficie de almidones modificados

Los almidones nativos se caracterizan por su carácter hidrofílico y por poseer un alto peso molecular, propiedades que no les permite adsorberse en interfases (Pérez y col., 2009a), por lo que no tienen la propiedad de emulsificar ni espumar.

Una función importante de los almidones modificados es que se puedan crear sistemas como emulsiones o espumas al tener la capacidad de bajar la tensión superficial en interfases aceite-agua y aire-agua (Dickinson, 2003; Prochaska y col., 2007). La actividad de superficie de estos hidrocoloides radica en el carácter no polar de los grupos anexos a la columna vertebral del polisacárido hidrofílico (Dickinson, 2009) al utilizar agentes químicos tal como el octenil succínico anhídrido, dodecenil succínico anhídrido o dodecil sulfato de sodio (Svenson y col., 1996; Nilsson y Bergenstahl, 2007).

Los almidones modificados hidrofóbicos tienen ciertas características funcionales generales parecidas a las que presentan otros agentes espumantes y emulsificantes, sin embargo al ser moléculas de polímero hidrofílico también difieren en algunos aspectos de esas otras especies. En una espuma o emulsión el factor que determina la estabilidad de los sistemas es la magnitud de las interacciones existentes entre la interface y los grupos hidrofóbicos del almidón. La adsorción de un almidón en una interfase es determinada principalmente por el espacio físico ocupado por las especies presentes en la monocapa adsorbida (Dickinson, 2009).

Un ejemplo de un almidón modificado es el adipato acetilado de dialmidón, que tiene en su estructura grupos no polares acetilo. Las moléculas de este polímero se pueden posicionar en la interfase de una emulsión o espuma. Cabe señalar que el carácter anfipático que posee es pobre en comparación con otros almidones modificados a los que se les introduce un grupo funcional específico (Prochaska y col., 2007; Fennema, 1995).

1.3 Interacciones proteína-polisacárido

Las interacciones proteína-polisacárido tienen un rol importante dentro de la formación y estabilidad de sistemas dispersos como emulsiones y espumas. Las propiedades funcionales de las proteínas lácteas como solubilidad, estabilidad conformacional y actividad de superficie, se pueden afectar por las interacciones que existan con los polisacáridos (Damodaran y Paraf, 1997). Estas macromoléculas al estar presentes en una formulación pueden interactuar de diferentes formas según sus respectivas estructuras químicas, temperatura y el resto de la composición (Dickinson, 1995). Estas interacciones pueden ser atractivas o repulsivas, débiles o fuertes y específicas o no específicas (Muñoz y col., 2007; Damodaran y Paraf, 1997).

La formación de complejos proteína-polisacárido estables frente a diferentes condiciones del medio (pH, fuerza iónica, conformación, densidad de carga y

concentración de los biopolímeros) requiere la formación de enlaces covalentes o interacciones electrostáticas normalmente tras un tratamiento térmico controlado bajo condiciones de actividad de agua baja (Muñoz y col., 2007; Dickinson, 2009; Damodaran y Paraf, 1997).

Las interacciones proteína-polisacárido tienen una influencia directa sobre las propiedades de adsorción de las proteínas en una interfase pudiéndose presentar tres fenómenos dependiendo de la magnitud de la interacción (Figura 1.10) (Pérez y col, 2009a; Baeza y col., 2005; Doublier y col., 2000; Damodaran y Paraf, 1997; Dickinson, 2003).

- a) Adsorción competitiva: El polisacárido compite con la proteína por ocupar un lugar en la interfase.
- b) Formación de complejos interfaciales: El polisacárido forma complejos con la proteína adsorbida a través de interacciones electrostáticas y puentes de hidrógeno (compatibilidad de biopolímeros), manifestándose en una disminución de la concentración crítica de adsorción (concentración en la cual las moléculas de un sistema saturan la superficie).
- c) Compatibilidad termodinámica limitada o incompatibilidad termodinámica, entre el polisacárido y la proteína, ejerciendo esta última una exclusión del volumen del polisacárido.

Si se consideran los casos en que las interacciones proteína-polisacárido son débiles o inexistentes, habrá que concluir que no se puede aceptar la existencia de complejos estables (Muñoz y col., 2007). La incompatibilidad termodinámica surge cuando la proteína está en presencia de un polisacárido neutro o aniónico teniendo una carga del mismo signo como la proteína, cerca de la neutralidad (Doublier y col., 2000). Un ejemplo lo constituyen las interacciones repulsivas entre biopolímeros, que son no específicas y transitorias, se producen a partir de efectos de exclusión de volumen (el

concepto consiste en que el volumen ocupado por uno de los biopolímeros no puede ser ocupado por el otro, que se encontrará “concentrado” en el resto de volumen disponible) e interacciones electrostáticas (Figura 1.10) (Grosberg y Khokhlov, 1997). Se sabe que en fases de sistemas líquidos las interacciones entre proteínas y polisacáridos que contienen grupos carboxilo tienen una limitada compatibilidad (Hill y col., 1998).

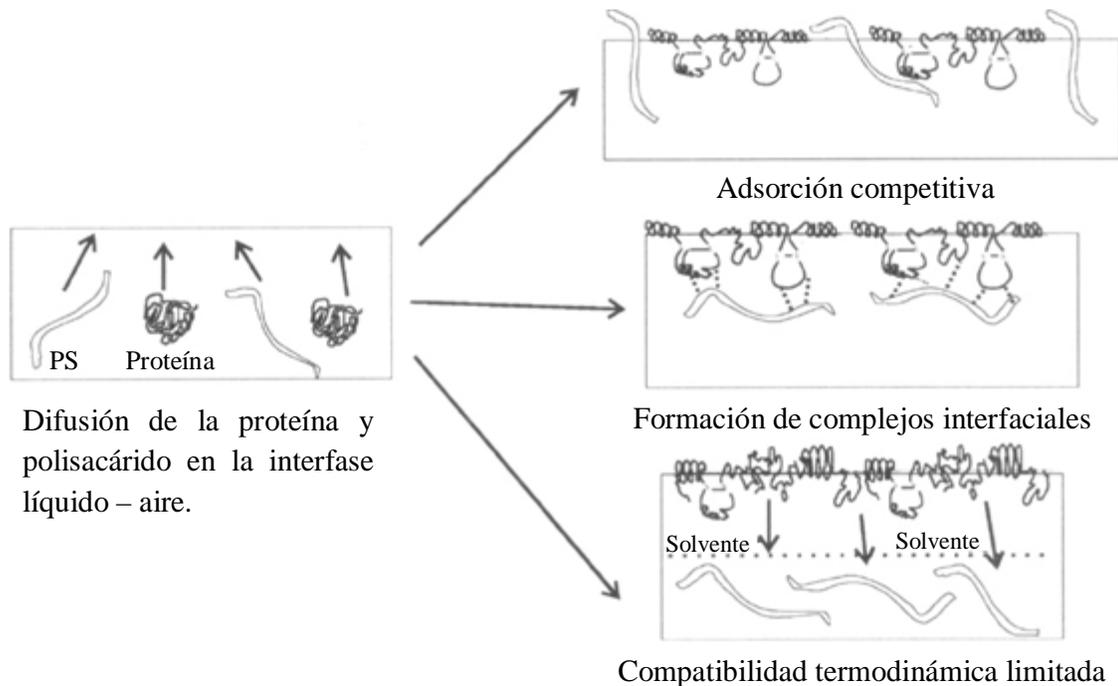


Figura 1.10 Representación esquemática de los fenómenos que pueden ocurrir en la adsorción de proteína y polisacárido en la interfase líquido-aire (Baeza y col., 2005.).

Los efectos del fenómeno de exclusión de volumen pueden tener las siguientes manifestaciones (Hill y col., 1998):

- Reducción de la solubilidad
- Mejora en la asociación de las macromoléculas
- Mejora en la adsorción de las proteínas en la interfase líquido-aire
- Incremento en el módulo elástico en la interfase líquido-aire

Contrariamente, la existencia de fuertes interacciones proteína-polisacárido requiere la existencia de enlaces covalentes o interacciones electrostáticas atractivas. Éstas se dan entre proteínas cargadas positivamente (a $\text{pH} < \text{punto isoelectrico}$) y polisacáridos aniónicos (Muñoz y col., 2007).

1.4 Fenómenos en la interfase

1.4.1 Interfase líquido-aire

Cuando hay dos fases inmiscibles en contacto (líquido-aire), la superficie límite entre las dos se llama interfase o intercara. A través de los fenómenos que ocurren en ella se estudian los procesos que se llevan a cabo en los sistemas caracterizados por tener una razón superficie/volumen grande. En estos sistemas, llamados “dispersos”, los fenómenos en la interfase son tan manifiestos que confieren a las superficies propiedades especiales, cuyas aplicaciones están relacionadas directamente con su formación y estabilidad (Torral, 1973; Norde, 2003).

1.4.2 Tensión en la interfase

La tensión superficial es una propiedad común a todas las interfases, se define como la fuerza perpendicular a la superficie del líquido y dirigida hacia el seno de éste (Figura 1.11).

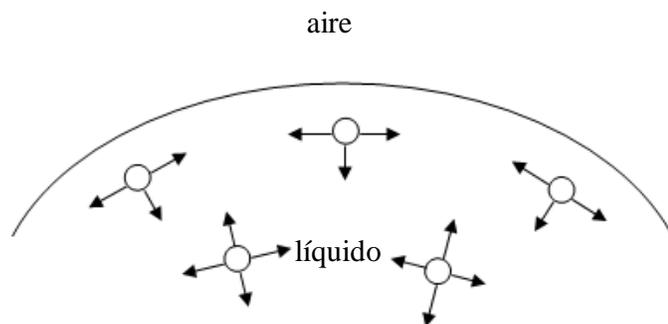


Figura 1.11 Fuerzas de atracción entre las moléculas entre la superficie y el interior del líquido (Torral, 1973).

En la interfase líquido-aire la acción de la tensión en la interfase se manifiesta como la forma que el sistema adopta, es decir, esta fuerza tiende a hacer que el líquido asuma el estado de energía mínima (Torral, 1973; Norde, 2003; Barnes y Gentle, 2005).

El fenómeno de tensión en la interfase se debe a las fuerzas de atracción intermoleculares en el seno del líquido. Como consecuencia de estas fuerzas de atracción resulta una fuerza neta perpendicular a la superficie, que provoca una disminución espontánea del volumen (Figura 1.12) (Torral, 1973, Barnes y Gentle, 2005).



Figura 1.12 Esquema de la disminución espontánea de una gota de agua a causa de la tensión superficial (Barnes y Gentle, 2005).

Las moléculas que se encuentran en el seno del líquido son atraídas en todas las direcciones por otras moléculas en su vecindad inmediata, por lo que la fuerza neta que actúa en el centro de la molécula es cero. Contrariamente, las moléculas que se encuentran en la interfase tienen un campo de fuerzas asimétricas (Figura 1.13), es decir, las fuerzas de atracción actúan únicamente hacia el lado del líquido, éstas son atraídas por la fase que tiene una fuerza de atracción cohesiva (fuerza que mantiene a moléculas de la misma naturaleza unidas) ya que no hay moléculas que permitan un balance desde el lado opuesto (la acción del aire es muy débil), existiendo una alta energía libre en la superficie (Norde, 2003; Jirgensons y Straumanis, 1965; Butt y col., 2006; Barnes y Gentle, 2005).

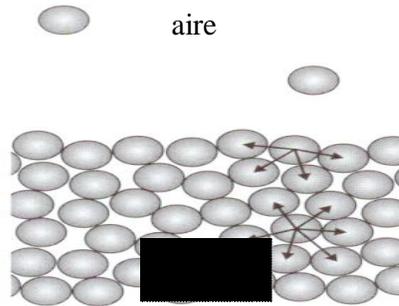


Figura 1.13 Estructura molecular de la interfase líquido-aire (Butt y col., 2006).

La disminución de la energía libre de la superficie ocurre cuando moléculas con actividad superficial se posicionan en la interfase, manifestándose en un descenso en la tensión del sistema. Estas interacciones son favorables desde el punto de vista energético, por el contacto directo entre las fases inmiscibles.

1.4.2.1 Definición termodinámica de la tensión en la interfase

Por el hecho de adquirir el estado de mínima energía libre, la superficie de una gota de líquido tiende a contraerse espontáneamente. Si se llama γ_0 a la fuerza por centímetro, que tiende a contraer la superficie y entropía (S), temperatura (T), presión (P), volumen (V), área interfacial (A), potencial químico de i (μ) y número de moléculas de i en el sistema (n), respectivamente:

$$dU = TdS - PdV + \gamma_0 dA + \sum_i \mu_i dn_i$$

En donde U es la energía interna del sistema. El término TdS equivale al calor adsorbido del sistema desde su entorno y las demás condiciones en el lado derecho representan un trabajo realizado en el mismo. Con S y V y para un número n de moles fijos al despejar γ_0 se obtiene:

$$\gamma_0 = \left(\frac{\delta U}{\delta A} \right)_{S, V, n_i}$$

Por lo que la tensión se define termodinámicamente como el incremento de energía cuando la superficie se extiende reversiblemente por unidad de área a entropía, volumen y composición del sistema constantes, teniendo unidades de energía/área (Jm^{-2}) que son equivalentes a fuerza/longitud (Nm^{-1}).

Para sistemas conformados por interfases, tomando en cuenta el volumen restante del sistema se considera que el cambio en la función de Gibbs representa la energía del mismo. Considerando la función termodinámica de la energía libre de Gibbs y que en la práctica, usualmente P y T son las variables que se mantienen constantes, es más conveniente definir a la γ_o de la siguiente manera:

$$dG = -SdT - VdP + \gamma_o dA + \sum_i \mu_i dn_i$$

Donde G es la energía de Gibbs del sistema, de tal manera que lo que se obtiene al despejar γ_o es:

$$\gamma_o = \left(\frac{\delta G}{\delta A} \right)_{T,P,n}$$

Por lo que la tensión en la interfase se define termodinámicamente como el incremento de energía de Gibbs cuando la superficie se extiende reversiblemente por unidad de área a temperatura, presión y composición del sistema constante (Norde, 2003; Jaycock y Parfitt, 1986; Toral, 1973).

1.4.3 Tensión dinámica en la interfase

La tensión en la interfase es una propiedad de equilibrio que puede ser determinada en un sistema relajado durante algún tiempo específico. Esto es a lo que se le llama tensión dinámica en la interfase o dependiente del tiempo. La interpretación de este fenómeno es en términos de un nuevo arreglo de la superficie por los componentes que poseen

actividad superficial que se orientan y adsorben en la interfase. La tensión se determina midiendo el tiempo necesario para que la distribución de las moléculas en la interfase lleguen al equilibrio (Norde, 2003). El tiempo que toma alcanzar este equilibrio puede ser desde segundos hasta horas dependiendo de la concentración y los grupos que se encuentren dentro de la estructura de las moléculas.

1.4.4 Adsorción

La adsorción es la acumulación espontánea de materia de naturaleza anfipática en la interfase, de tal manera que al ocupar un lugar en ella se produce una disminución de la energía libre bajando la tensión en la superficie. La adsorción de moléculas da lugar a la formación de monocapas (Figura 1.14), al posicionarse los grupos hidrofóbicos hacia la fase no polar (aire) y la parte hidrofílica hacia la polar (líquido) (Norde, 2003; Clyde, 1997; Dukhin y col., 1995). La sustancia que se adsorbe se llama adsorbato y el material en el cual ocurre la adsorción es el adsorbente (Norde, 2003; Butt y col., 2006). Una de las características que tienen las proteínas es la rápida adsorción en la superficie, en comparación con los polisacáridos (Dickinson, 2009).

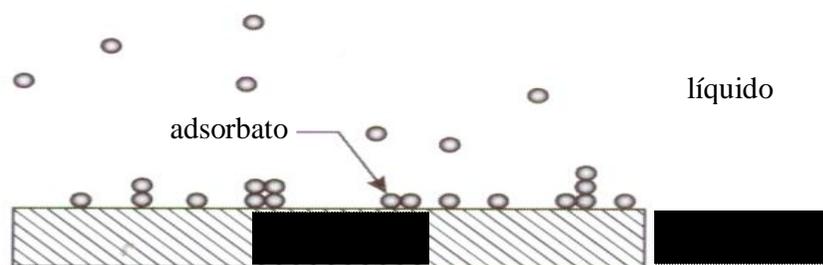


Figura 1.14 Representación esquemática del fenómeno de adsorción (Butt y col., 2006).

La adsorción de las moléculas en solución es un proceso competitivo. Este proceso ocurre por la interacción entre las moléculas del soluto y el material adsorbente. Aquellas moléculas que tengan una mayor afinidad con el adsorbente serán las que logren adsorberse en la interfase (Norde, 2003).

Distintos tipos de interacciones se involucran durante este proceso:

- a) Interacciones Van der Waals
- b) Puentes de hidrógeno. Son muy efectivas en aquellos adsorbatos que presentan grupos hidroxilo y amino.
- c) Interacciones hidrófobas. Son efectivas cuando los grupos no polares del adsorbente y adsorbato interactúan en medio acuoso.

La adsorción de los surfactantes de bajo peso molecular en la interfase líquido-aire se lleva a cabo siguiendo tres etapas, en la que la fuerza motriz de tal adsorción es el efecto hidrófobo de las moléculas (Norde, 2003; Pérez y col., 2007; Pérez y col., 2009b; Beverung y col., 1999; Kralchevsky y col., 2008) (Figura 1.15):

- I. Los residuos hidrófobos del surfactante se transportan hacia la interfase (periodo de inducción), lo que provoca un decremento de la tensión superficial (Patino y col., 2008; Krastanka y col., 2009). Los mecanismos de transporte hacia la superficie pueden ser difusión y convección, ya sea en flujo laminar o turbulento. Se empiezan a posicionar las moléculas en la interfase.
- II. La concentración del surfactante en la interfase aumenta hasta alcanzar el estado de equilibrio cuando la superficie se satura irreversiblemente por las moléculas adsorbidas.
- III. Las moléculas adsorbidas se colapsan y empiezan a interactuar entre ellas, formando agregados llamados micelas.

Las proteínas contienen múltiples regiones polares y no polares en su estructura además de otros grupos (Beverung y col., 1999) que le dan características específicas a cada una, lo que hace que la adsorción de los mismos en una interfase pueda ser más compleja, en comparación con la presentada para surfactantes de bajo peso molecular. Cabe mencionar que la organización conformacional del biopolímero en una superficie es rápida si ésta es flexible y es lenta para aquellas que tienen estructura rígida.

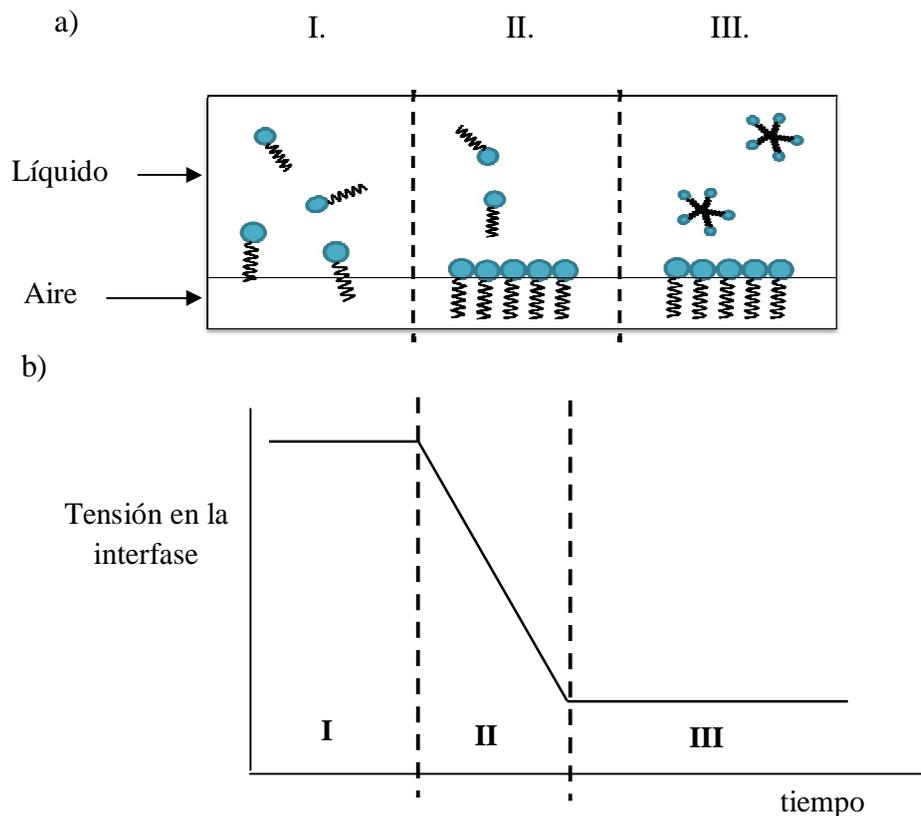


Figura 1.15 (a) Representación esquemática de la adsorción y (b) Representación de la tensión dinámica en la interfase respecto al tiempo (Norde, 2003, Beverung y col., 1999).

Una propiedad característica de los surfactantes es que forman estructuras bien definidas al interactuar espontáneamente entre ellos, este fenómeno ocurre por una atracción entre los grupos hidrófobos de la molécula anfipática y una repulsión entre las partes hidrofílicas, una vez que la interfase se ha saturado. La concentración a partir de la cual se inicia la formación de estos complejos de moléculas de la misma naturaleza es denominada concentración crítica micelar CCM, este valor está asociado a las contribuciones del número de grupos polares como no polares que constituyen a la molécula anfipática. Aquellos sistemas que tengan una mayor contribución de la parte hidrófoba serán los que obtengan un menor valor, contrariamente, los que posean un menor número de grupos hidrófilos expuestos para interactuar, les corresponderá una CCM mayor (Butt y col., 2006; Norde, 2003; Tadros, 2007). Los biopolímeros no

forman micelas por lo que la concentración a la cual saturan la interfase es llamada concentración crítica de adsorción CCA.

A través del comportamiento de la tensión en la interfase frente a la concentración de una determinada sustancia se obtiene la curva que se muestra en la Figura 1.16 y 1.17, a partir de ellas, es posible conocer la CCM o la CCA según sea el caso de un sistema, así como su comportamiento que está directamente relacionado con la estructura que posee (Butt y col., 2006).

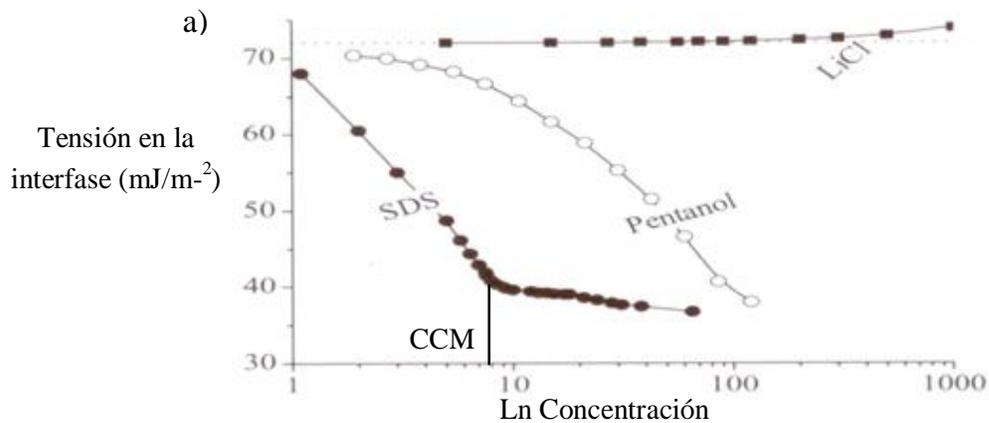


Figura 1.16 Isoterma de adsorción de LiCl (cloruro de litio), SDS (dodecilsulfato sódico) y pentanol. . CCM es la concentración crítica micelar (Butt y col., 2006).

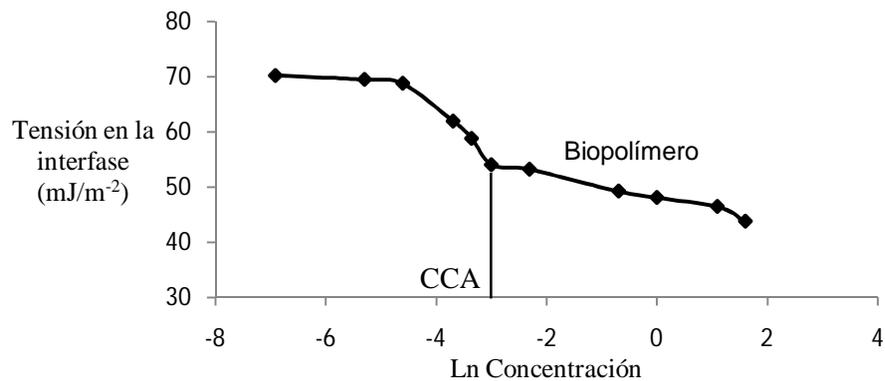


Figura 1.17 Isoterma de adsorción de un biopolímero. CCA es la concentración crítica de adsorción.

En la Figura 1.16 se muestran tres curvas que pertenecen a tres diferentes tipos de adsorción. La isoterma de adsorción del pentanol es propia de una sustancia liofóbica, los grupos que poseen son de naturaleza hidrofóbica. Contrariamente, la isoterma de una sustancia de naturaleza hidrofílica es la que se muestra para el LiCl (cloruro de litio). Asimismo la isoterma de adsorción del dodecilsulfato sódico (SDS) es característica de una sustancia anfipática.

En la Figura 1.17 se presenta la isoterma de adsorción correspondiente a un biopolímero con carácter anfipático en la cual se aprecia que a partir de la CCA los valores de tensión en la interfase no cambian significativamente debido a que se forman multicapas que interaccionan entre sí, con lo que se ve favorecida la disminución de la tensión en la interfase (Butt y col., 2006).

1.5 Reología de interfase

Las interfases existen como resultado de poner dos fases inmiscibles en contacto. La interfase y las fases adyacentes están mecánicamente asociadas, lo que implica que cualquier esfuerzo aplicado a la interfase tendrá una repercusión sobre cualquiera de las fases y viceversa (Norde, 2003).

La reología de interfase estudia la relación entre la fuerza aplicada a una superficie y su correspondiente deformación como una función del tiempo (Murray, 2002; Norde, 2003; Boss y Vliet, 2001). Ésta es de dos dimensiones y es más o menos análoga a la reología macroscópica (Miller y col., 1996). Esta disciplina se caracteriza por contemplar fenómenos como la adsorción de moléculas para la formación de monocapas, por lo que es de gran relevancia para varios procesos técnicos y biológicos (Miller y col., 1996; Boss y Vliet, 2001; Norde, 2003). A través de ella es posible conocer las características viscoelásticas de la interfase adsorbida por moléculas anfipáticas como los biopolímeros, esto tiene un papel crucial en la elaboración de sistemas dispersos, ya que estas moléculas son la base de productos alimenticios. La

formación de este tipo de sistemas depende en gran medida del desarrollo y características de las interfases durante el procesado y su interacción mutua que está relacionado con la presencia de las moléculas que constituyen la superficie (Miller y col., 1996).

En interfases líquidas existen distintos tipos de deformaciones que se utilizan como técnicas de medición, éstas son: dilatación o compresión, cizalla y deformación flexible. En la deformación dilatacional el área de la superficie del líquido se incrementa o disminuye, considerando que la forma de la superficie sigue siendo la misma. Por el contrario, en la deformación de cizalla la forma de la superficie cambia, mientras el área de la interfase se mantiene constante (Figura 1.18); y por último en la deformación flexible se toca el plano normal de la interfase para doblarlo de forma esférica. Las fuerzas son dadas en unidades de fuerza sobre longitud (Boss y Vliet, 2001; Norde, 2003). Es importante distinguir entre los distintos tipos, porque si el cambio de área ocurre, el equilibrio de adsorción entre la interfase y el volumen se interrumpe y la composición interfacial puede variar durante la deformación (Murray y col., 2001, Dickinson, 1999b).

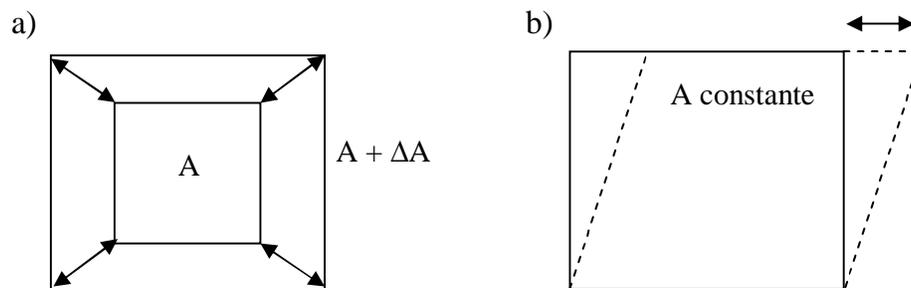


Figura 1.18 Deformaciones en la interfase (a) dilatación o compresión (b) cizalla (Norde, 2003).

Para definir las características reológicas en la interfase se utilizan dos categorías de definiciones y una relación de técnicas de medición:

- Cerca del equilibrio mediante una medición dinámica
- Lejos del equilibrio mediante medidas estacionarias o no estacionarias

1.5.1 Deformación dilatacional cerca del equilibrio

Esta clase de deformaciones se aplica a interfases fluidas. En la reología en la interfase se produce un incremento del área (la tensión en la interfase γ , se registra continuamente) que da lugar a una zona en la cual la tensión en la superficie aumenta ($\Delta\gamma > 0$) utilizando la amplitud y frecuencias deseadas. Las áreas de alta tensión en la interfase tienden a contraerse a expensas de las áreas de menor tensión con el fin de reducir la energía de superficie de exceso del sistema (Figura 1.19). Por lo que el gradiente de tensión produce movimiento de la interfase hacia la región de alta tensión, para ello la superficie y el seno de la disolución se mueven para contrarrestar la perturbación. Este fenómeno producido por un gradiente de tensión en la interfase se le conoce como efectos de Marangoni (Valderrama, 2006; Norde, 2003; Butt y col., 2006; Miller y col., 1996; Pérez y col., 2009a).

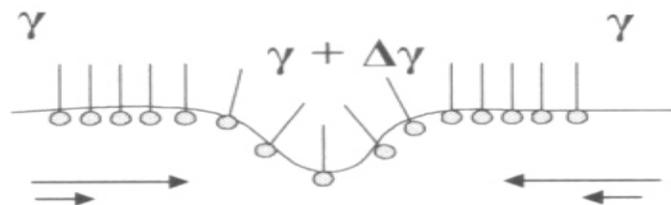


Figura 1.19 Respuesta de una interfase a una perturbación. Las flechas indican la dirección del líquido interfacial y del seno de la disolución (Valderrama, 2006).

El cambio aplicado en el área puede ser oscilatorio, continuo y compresión o expansión. La deformación dilatacional aplicada en condiciones cerca del equilibrio, es una medida

dinámica del cambio relativo infinitesimal en el área de la superficie, $\frac{dA}{A} = d\ln A$ como resultado de aplicar una compresión sinusoidal, lo que conduce a un cambio en la tensión en la superficie $d\gamma$. A través de la relación de $d\gamma$ con $d\ln A$ se obtiene el módulo dilatacional de superficie (Boss y Vliet, 2001), que se define como el cambio en la tensión superficial por unidad de cambio relativo de área en la interfase a temperatura constante:

$$E = \left[\frac{d\gamma}{d\ln A} \right]_T$$

El módulo dilatacional (E) es una medida de la resistencia total a la deformación, muestra el carácter viscoelástico de una interfase. Asimismo puede ser presentado como un número complejo $E = E_T + E_i$ donde la parte real se llama módulo de almacenamiento que es igual a la elasticidad dilatacional (E_T) y la parte imaginaria es el módulo de pérdida y representa el comportamiento viscoso dilatacional (E_i), las cuales son descritas por las siguientes ecuaciones (Fainerman y col., 2009a,b; Pérez y col., 2009a).

$$E_T = |E| \cos\phi \quad E_i = |E| \sin\phi$$

Los parámetros reológicos de la superficie, módulo elástico (E) y sus componentes elástico (E_T) y viscoso (E_i) son un reflejo de las propiedades de la interfase (las propiedades que posee una estructura dependen de las interacciones de las moléculas que lo constituyen en la monocapa adsorbida) (Miller y col., 1996; Santini y col., 2007). Cada uno de los parámetros dilatacionales contiene información diferenciada, por ello una manera de facilitar la interpretación de los datos es evaluar cada uno de los parámetros dilatacionales separadamente.

La elasticidad de un material es una medida de la resistencia que opone una interfase a la creación de regiones de alta tensión interfacial y de la velocidad a la que los gradientes de tensión interfacial desaparecen una vez que cesa la perturbación sobre la interfase, que a su vez está acompañada por una rápida respuesta a la deformación, es decir, hay una reorientación de las moléculas en la monocapa (especialmente en biopolímeros), la presencia de esta propiedad en una interfase refleja el carácter rígido de la misma (Miller y col., 1996; Norde, 2003). Por otro lado la viscosidad dilatacional es el reflejo de una interfase que no opone resistencia alguna ante una deformación ya que en este parámetro existen procesos de relajación en la interfase, debido a que el trabajo que se le aplica lo transforma en energía y lo disipa (Ivanov y col., 2005, Miller y col., 1996).

Cuando la deformación de la superficie se realiza con frecuencias altas, las moléculas tienen menos tiempo para alcanzar un nuevo equilibrio, debido a que no está ocurriendo un reordenamiento (Ivanov y col., 2005), mientras que cuando la frecuencia es baja la monocapa tiene el tiempo suficiente para alcanzar el equilibrio (Santini y col., 2007).

El estudio de la reología de interfase es importante, ya que a través de estas pruebas es posible conocer los cambios que ocurren en la estructura interna de sistemas compuestos por interfases fluidas (emulsiones y espumas), debido a que, de ello depende la estabilidad y textura final del producto (Rodríguez y col., 2007). En la mayoría de los casos, las aplicaciones tecnológicas que presentan las proteínas en la interfase no se pueden explicar exclusivamente en términos de los valores de equilibrio de la tensión en la interfase. En casos como la formación de emulsiones, por ejemplo, la capacidad de respuesta de la interfase a una perturbación o la manera en la que alcanza un nuevo estado de equilibrio son en general, más importantes que el estado de equilibrio mismo.

Carrera y col. (2005) y Rodríguez y col. (2004) estudiaron las características de interfase durante y después de la formación de espumas elaboradas con caseinato de sodio. Ellos vieron que la elasticidad dilatacional, depende de la capacidad de adsorción de la proteína en la interfase. Cuando la concentración de proteína era alta, la adsorción de las moléculas fue rápida, presentando una elasticidad dilatacional alta y por tanto había una buena capacidad de formación del sistema, fenómeno que se reflejaba directamente sobre la estabilidad del mismo. Por otro lado, Abascal y Gracia (2009) estudiaron la tensión en interfase y la estabilidad de espumas elaboradas con esta misma proteína. Concluyeron que al utilizar la concentración crítica de adsorción o concentraciones cercanas a ella, se obtenía el mayor rendimiento del sistema (incremento en la formación de espuma). Asimismo, Krastanka y col. (2009) observaron que existe un gran impacto negativo sobre la adsorción de moléculas de caseinato de sodio en la interfase líquido-aire al utilizar un pH del sistema cercano al punto isoeléctrico de la proteína (pH 4.5), como consecuencia de la precipitación de la misma, que se reflejó en una menor elasticidad que al utilizar un pH neutro en el medio. En contraste, con lo obtenido para el concentrado de suero de leche que mostró una mayor adsorción de las moléculas, así como una mayor elasticidad cuando el sistema tuvo un pH cercano al punto isoeléctrico de esta proteína (pH 4.2), debido a que bajo estas condiciones se dejan expuestos los grupos no polares de la proteína para interaccionar.

Pérez y col. (2009a,c), estudiaron las propiedades dilatacionales del concentrado de suero lácteo en la interfase líquido-aire y observaron que a mayor concentración de la proteína en el sistema (no pasando de la concentración crítica de adsorción) se producía un alto valor de elasticidad dilatacional, reflejando con ello el carácter elástico de las interfases compuestas por concentrado de suero lácteo. Comportamiento asociado con la adsorción de las moléculas del biopolímero en la interfase. Los altos valores del módulo elástico tienden a hacer que el fenómeno de drenado (inestabilidad en espumas) se disminuya, debido a los efectos de Marangoni (movimiento de moléculas anfipáticas desde las zonas de menor tensión en la interfase, con dirección hacia donde existe un

gradiente en la tensión de la misma), estabilizando las lamelas con lo que resulta una espuma estable (Garofalakis y Murray, 2001; Bouaouina y col., 2006).

Krastanka y col. (2009), Acharya y col. (2005), Croguennec y col. (2006) y Martín y col. (2002) han concluido que apenas existe una relación directa entre la elasticidad dilatacional, la estabilidad y la capacidad de formación de un sistema disperso como una espuma. Sin embargo, se ha encontrado que es posible controlar los factores que contribuyan a la elasticidad de las superficies (adición de sal y cambio en el pH), mejorando con ello la capacidad de aireación de las moléculas adsorbidas (Krastanka y col., 2009), es decir, la relación entre las propiedades viscoelásticas de una interfase adsorbida por una molécula anfipática y su capacidad como agente formador y de estabilidad en un producto final, dependen de las condiciones en las que se encuentre (naturaleza del surfactante, concentración del mismo, temperatura, pH, adición de sal, en el medio, etc.).

Dickinson (2009) estudió a los hidrocoloides como agentes estabilizadores y emulsificantes, observando que la actividad de superficie de los almidones radica en los grupos químicos con carácter no polar añadidos a la molécula con características puramente hidrofílicas (Dickinson, 2009; Svensson y col., 1996). Asimismo, Prochaska y col. (2007), investigaron la actividad de superficie de almidones modificados hidrofóbicos y concluyeron que las moléculas mencionadas tienen la capacidad de reducir la tensión superficial en la interfase líquido-aire (de 70 mN/m a 55mN/m). Sin embargo, el tipo de modificación es lo que determina el comportamiento anfipático, y por tanto la facilidad de formación y estabilización durante y después de la emulsificación o espumado de un sistema (Dickinson, 2009).

Capítulo II

METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

2.1 Objetivos

Objetivo general: Evaluar las propiedades reológicas dilatacionales de superficie así como la adsorción de proteínas lácteas en mezcla con almidón modificado en interfases fluidas, mediante pruebas de tensión superficial dinámica para ver el efecto del tipo de polisacárido sobre la película interfacial formada.

Objetivo particular 1: Analizar la adsorción en interfase líquido-aire de disoluciones de proteína láctea sola y en mezcla con almidón de maíz céreo entrecruzado y almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado, mediante la tensión dinámica en la superficie determinando el efecto del tipo de almidón sobre la concentración crítica de adsorción.

Objetivo particular 2: Analizar el módulo elástico y la viscosidad dilatacional de la interfase líquido-aire de disoluciones de proteína láctea sola y en mezcla con almidón de maíz céreo entrecruzado y almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado, mediante la tensión superficial bajo deformación sinusoidal, determinando el efecto del tipo de almidón sobre la película interfacial formada.

2.2 Materiales

Las proteínas y polisacáridos empleados fueron caseinato de sodio (Lactonat, lote 31023, Lactoprot, Alemania) con $6.73\% \pm 0.09$ de humedad en concentraciones de 0.0001-0.05% (p/p base seca), concentrado de suero lácteo (Dairygold, lote WPC34, Mitchelstown, Reino Unido) con $4.87\% \pm 0.9$ de humedad en concentraciones de 0.25-5% (p/p base seca), almidón de maíz céreo entrecruzado (MakyMat, lote R5A174A, Naucalpan, Edo. de México) con 10.58 ± 0.25 de humedad en concentraciones de 0.0001-5% (p/p base seca), almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado (Cargill gel, lote H6N494-0025, Mineapolis, E.U.) con $9.69\% \pm 0.25$ de humedad en concentraciones de 0.0001-5% (p/p base seca).

Los almidones comerciales con los que se trabajó poseen modificaciones con ácido anhídrido adipico y anhídrido acético, añadiéndole grupos acetilo a las cadenas de azúcar que forman el almidón de maíz céreo (Wurzberg y M.S., 1986; Prochaska y col., 2007; Seow y Thevamalar, 1993; Wong, 1995). Ambos almidones difieren solamente en la pregelatinización. Cabe mencionar que los grupos acetilados que le confieren la estabilización la gránulo tienen un carácter no polar; sin embargo, su actividad superficial es pobre en comparación con almidones específicamente modificados para bajar la tensión superficial y ser utilizados como agentes tensoactivos.

Nota: La simbología que se utilizó para llamar a los sistemas de estudio fue C: caseinato de sodio, S: concentrado de suero lácteo, A: almidón de maíz céreo entrecruzado y AP: almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.

2.3 Métodos

2.3.1 Preparación de las muestras

Previo a la elección de las concentraciones de estudio para las proteínas y los polisacáridos solos, se realizaron pruebas en el tensiómetro para conocer la tensión en la

interfase bajo distintas concentraciones de moléculas presentes en el sistema. Se eligieron aquellas en las cuales se mostró el fenómeno dinámico de adsorción (Figura 1.16). En el caso del concentrado de suero lácteo se evaluaron concentraciones de 0.00097% a 5%, de las cuales se tomaron únicamente de 0.25% a 5%.

Cabe mencionar que cada molécula se adsorbió en diferente magnitud por lo cual las concentraciones y los intervalos entre ellas fueron distintos para cada tipo de sistema, con excepción de los polisacáridos.

En el caso de las disoluciones acuosas en mezcla, se eligieron las concentraciones en base a las utilizadas en los sistemas solos, tomando en cuenta la concentración crítica de adsorción, en el caso de las proteínas; y en los almidones tomando en cuenta las concentraciones en las cuales se obtuvieron los menores valores de tensión en la interfase.

Las muestras de caseinato de sodio de 0.0001-0.05%, concentrado de suero lácteo de 0.25-5% y almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado de 0.0001-5%, se prepararon adicionando la muestra en polvo en agua destilada a 25 °C, utilizando agitación magnética por espacio de 25 minutos para las proteínas y agitación mecánica durante 60 minutos para el almidón. La adición de los biopolímeros se realizó lentamente para evitar la formación de grumos.

Las disoluciones de almidón de maíz céreo entrecruzado de 0.0001-5%, se prepararon disolviendo el almidón en agua destilada a 25 °C bajo agitación mecánica. Posteriormente se sometió la dispersión a calentamiento hasta una temperatura de 85 °C. Este proceso se llevó a cabo en un tiempo de 60 minutos.

Las muestras de proteína láctea con almidón se prepararon mezclando partes iguales de las disoluciones correspondientes conteniendo el doble de la concentración requerida. Las mezclas se realizaron a 25 °C, empleando agitador magnético por un tiempo de 25 minutos.

Los sistemas acuosos se prepararon en agua destilada a pH neutro. Se les adicionó 0.03% de azida de sodio (NaN_3) como conservador, para prevenir contaminación fúngica y bacteriana. Todas las muestras se dejaron reposar durante 24 horas bajo refrigeración y se acondicionaron a temperatura ambiente en un baño maría previo a las pruebas.

2.3.2 Determinación de densidad

Se utilizó el densímetro digital DMA-38 marca Anton Paar. Este instrumento cuenta con un tubo de vidrio hueco en forma de U que se hace vibrar con ayuda de un electroimán. El tubo de vidrio vibra con un determinado número de oscilaciones por segundo. Éstas se modifican si el tubo se llena con una sustancia líquida. Cuanto mayor es el peso del líquido introducido, menor es el número de oscilaciones, es decir, que aumenta el tiempo necesario para una oscilación. Se mide así el tiempo necesario para el movimiento de vaivén de una oscilación y a través de una ecuación algebraica que está programada en el instrumento, con lo que es posible conocer la densidad del líquido a partir de los tiempos necesarios para las oscilaciones (Anton Paar, 2010; Mettler-Toledo, 2010).

Las pruebas se llevaron a cabo a una temperatura de 25 °C, en las cuales se obtuvo la densidad relativa de las disoluciones, que posteriormente se multiplicó por la densidad absoluta del agua pura a 25 °C, para conseguir la densidad absoluta de los sistemas acuosos. Cabe mencionar que los resultados obtenidos de esta prueba fueron indispensables para el estudio de interfase.

2.3.3 Adsorción en interfase

Para el estudio de la tensión en la interfase se empleó el tensiómetro de gota colgante PAT-1 (Sinterface Technologies, Berlin, Alemania), en el que una gota se encuentra suspendida en el extremo de un capilar, a partir del cual es posible conocer la tensión superficial a través del cálculo de diversos parámetros geométricos, tales como el diámetro máximo o ecuatorial de la gota (DE), diámetro del cuello (DS), y radio de la curvatura media en el ápice de la gota (Ro), como se aprecia en la Figura 2.1.

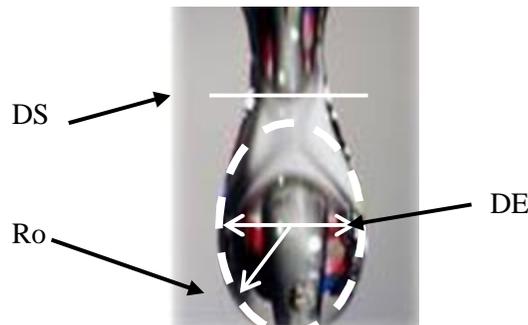


Figura 2.1: Diagrama esquemático de la gota colgante del tensiómetro (Fainerman y col., 2009a; Yeung y Zhang, 2006).

Utilizando el método de integración numérica de Kutta-Merson con un paso de integración variable, en el programa del equipo se resuelve la ecuación de Young-Laplace. El perfil de cada gota generada se mide matemáticamente mediante la determinación del diámetro de la gota (DE) y el diámetro del ápice de la gota (DS). A partir de ellos se correlaciona la tensión superficial con el factor de forma $\sigma=DS/DE$, obteniendo:

$$\beta = \frac{\Delta\rho g R_o^2}{\gamma}$$

Donde γ es la tensión en la superficie, g es la aceleración de la gravedad y $\Delta\rho$ la diferencia de densidad entre las fases. La silueta de la gota se capturó y digitalizó con

una cámara CCD. Las imágenes digitalizadas de la gota se grabaron en función del tiempo (Fainerman y col., 2009a; Yeung y Zhang, 2006).

Se realizaron gráficos de la tensión en la interfase contra el inverso de la raíz cuadrada del tiempo, para todas las concentraciones empleadas. En la Figura 2.2 se ilustra un ejemplo de ésta gráfica.

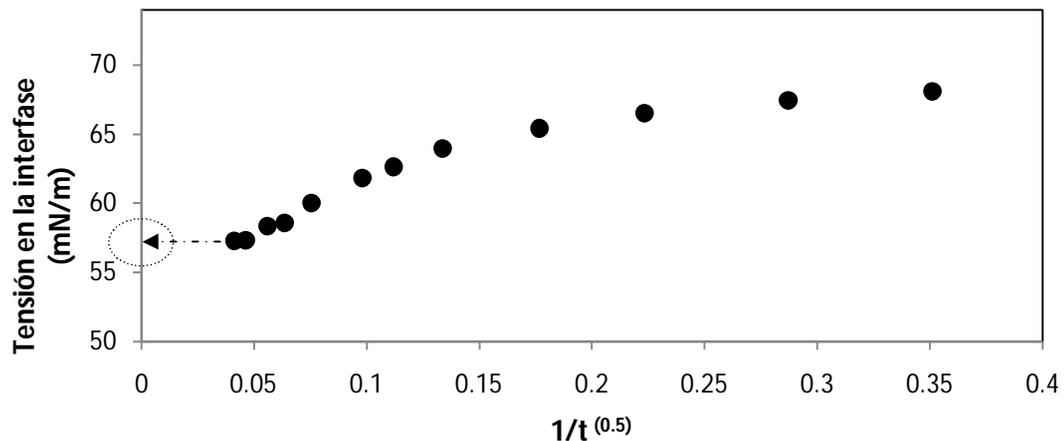


Figura 2.2: Representación esquemática de la tensión en la interfase contra el inverso de la raíz cuadrada del tiempo.

Del gráfico anterior se obtuvo la tensión en la interfase al equilibrio, extrapolando gráficamente al tiempo cero. Con los valores al equilibrio de cada una de las concentraciones, se construyó el gráfico presentado en la Figura 2.3, de tensión en la superficie contra el logaritmo natural de la concentración y se estimó el valor de la concentración crítica de adsorción (punto en el cual se da un cambio en la pendiente de la curva y posterior a él, la tensión se mantiene ligeramente constante), que se define como la concentración a partir de la cual se satura la interfase. El dato de la concentración crítica de adsorción se determina aplicando el antilogaritmo al valor obtenido de la curva:

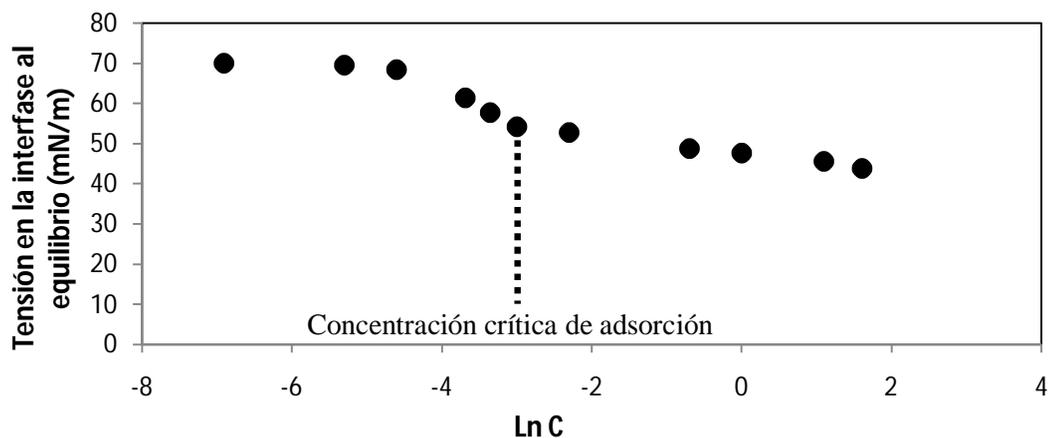


Figura 2.3 Gráfico representativo para la obtención de la concentración crítica de adsorción.

La prueba se llevó a cabo a 25 °C utilizando un volumen de gota de 10 μ L.

2.3.5 Reología dilatacional

Para esta determinación también se usó el tensiómetro de gota colgante PAT-1, que cuenta con un sistema de dosificación controlado por computadora, el cual se empleó para generar oscilaciones a diferentes frecuencias. Los parámetros viscoelásticos se midieron como una función de la frecuencia de oscilación obteniéndose mediante un análisis de Fourier de las señales medidas, empleando el programa incluido en el equipo para el tratamiento de los datos. El método consiste en someter una gota a procesos de compresión-expansión sinusoidal controlada automáticamente, a la frecuencia y amplitud deseadas.

Previamente a la realización de la prueba de reología en la interfase se hizo un barrido de amplitud para identificar la zona lineal para cada uno de los sistemas de estudio, modificando la amplitud de trabajo y utilizando una frecuencia constante (0.1Hz) para todos los sistemas, en donde se eligieron aquellos valores de amplitud en los que se mostraba un comportamiento gráficamente constante. Es por ello que no es la misma

amplitud para todos los sistemas. Las condiciones para cada biopolímero se presentan en la Cuadro 2.1.

Cuadro 2.1 *Valores de amplitud de la deformación para los biopolímeros.*

Biopolímero	Amplitud de deformación (mm³)
Caseinato de sodio 0.05%	1.4
Concentrado de suero lácteo 2%	0.9
Almidón de maíz céreo entrecruzado 0.03%	0.9
Almidón de maíz céreo entrecruzado 0.3%	1.5
Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.03%	1.4
Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.3%	1.4

El barrido de frecuencia se realizó variando la frecuencia de 5 hasta 100 Hz en intervalos de 5 unidades. El volumen de la gota también fue de 10 μL . Las mediciones se realizaron a una temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$.

Una vez suspendida la gota de la muestra en estudio y antes de comenzar con las perturbaciones de la interfase, se esperó durante 5 minutos para conseguir la adsorción de las macromoléculas sobre la interfase aire-agua y garantizar el equilibrio (Rodríguez y col., 2002).

Las concentraciones de estudio para esta prueba se determinaron con base en la concentración crítica de adsorción de las proteínas. Para el caso de los polisacáridos se eligió a partir de la concentración a la cual se disminuía más la tensión en la interfase.

Las pruebas se realizaron por triplicado y a los resultados obtenidos se les calcularon la media y medidas de dispersión (desviación estándar y coeficiente de variación).

Capítulo III

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Densidad relativa

En los Cuadros 3.1, 3.2 y 3.3, se muestran los valores de densidad para las proteínas solas, los almidones solos y las mezclas proteína-almidón.

Cuadro 3.1 *Valores de densidad relativa para los sistemas acuosos de las proteínas solas (a) caseinato de sodio y (b) concentrado de suero lácteo.*

(a)

Concentración (%)	Caseinato de sodio	
	Densidad relativa	CV (%)
0.0001	0.999	0
0.0005	0.999	0
0.001	1.000	0
0.0025	1.000	0
0.0035	1.000	0
0.005	1.000	0
0.01	1.000	0
0.05	1.000	0
0.1	1.000	0
0.3	1.000	0
0.5	1.001	0

(b)

Concentración (%)	Concentrado de suero lácteo	
	Densidad relativa	CV (%)
0.25	0.998	0.001
0.5	0.999	0
1	1.001	0
2	1.004	0.001
2.5	1.005	0.001
3	1.007	0
3.5	1.008	0.019
4	1.011	0
4.5	1.013	0.019
5	1.015	0.001

Cuadro3.2 Valores de densidad para los sistemas acuosos de los almidones solos.

Concentración (%)	Almidón de maíz céreo entrecruzado		Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado	
	Densidad relativa	CV (%)	Densidad relativa	CV (%)
0.0001	1.000	0	0.999	0
0.0005	1.000	0	0.999	0
0.001	1.000	0	0.999	0
0.003	1.000	0	0.999	0
0.005	1.000	0	0.999	0
0.008	1.000	0	0.999	0
0.01	1.000	0	0.999	0
0.03	1.000	0	1	0
0.05	1.000	0.001	1	0.001
0.08	1.000	0	1.000	0
0.1	1.000	0	1.000	0.003
0.3	1.001	0	1.001	0
0.5	1.002	0	1.001	0
1	1.004	0	1.003	0.001
5	1.018	0	1.020	0

Cuadro 3.3 *Valores de densidad para las mezclas de las proteínas y los almidones.*
 (a) Almidón de maíz, céreo entrecruzado (b) Almidón de maíz, céreo entrecruzado
 (a) pregelatinizado.

Concentración (%)	Caseinato de sodio- Almidón de maíz céreo entrecruzado		Caseinato de sodio- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado	
	Densidad relativa	CV (%)	Densidad relativa	CV (%)
0.00125-0.00497	1.000	0	1.000	0
0.0025-0.00995	1.000	0	1.000	0
0.005-0.0199	1.000	0	1.000	0
0.0075-0.03	1.000	0	1.000	0
0.01875-0.075	1.000	0	1.000	0
0.0375-0.15	1.000	0	1.000	0
0.075-0.3	1.001	0.003	1.001	0
0.125-0.5	1.002	0	1.002	0
0.25-1	1.005	0	1.004	0
0.5-2	1.010	0	1.009	0

(b)

Concentración (%)	Concentrado de suero lácteo- Almidón de maíz céreo entrecruzado		Concentrado de suero lácteo- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado	
	Densidad relativa	CV (%)	Densidad relativa	CV (%)
0.0375-0.015	1.000	0	1.000	0
0.075-0.03	1.000	0	1.000	0
0.1875-0.075	1.000	0	1.001	0
0.375-0.15	1.001	0.001	1.001	0
0.75-0.3	1.003	0.001	1.004	0
1-0.4	1.005	0	1.005	0
2-0.8	1.010	0.001	1.011	0
2.5-1	1.013	0	1.014	0
5-2	1.021	0	1.028	0

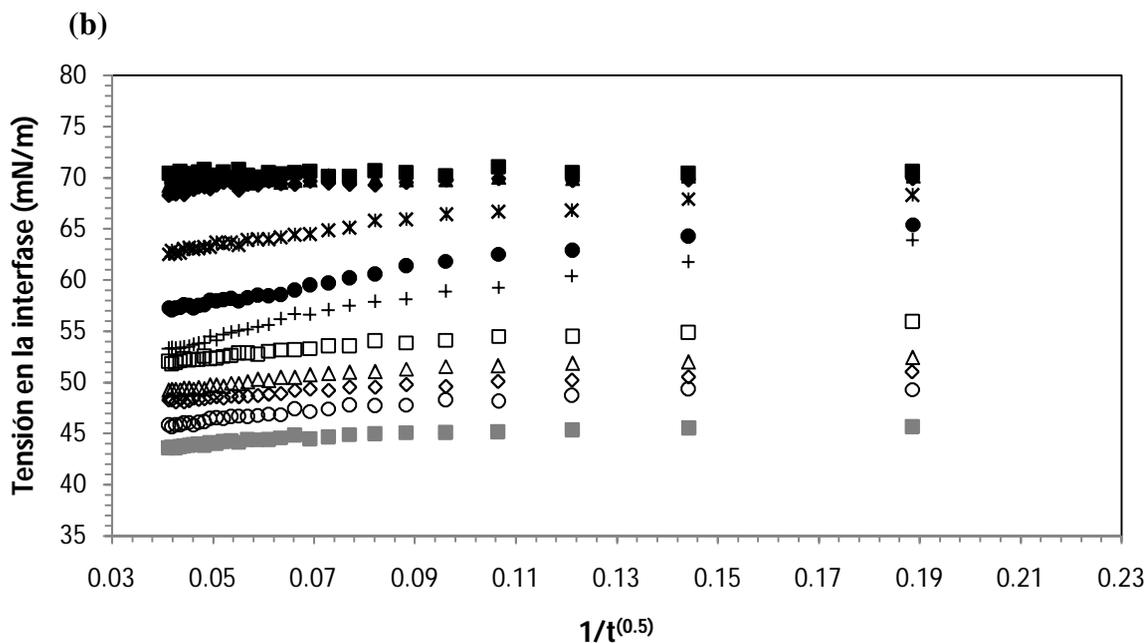
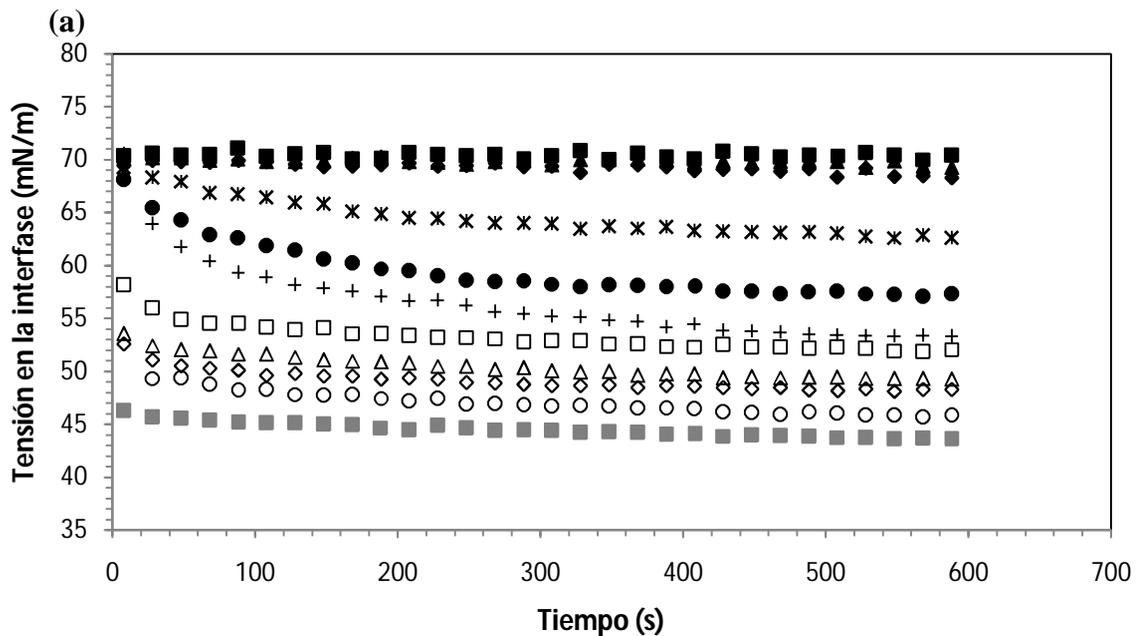
Como se puede observar en los cuadros 3.1, 3.2 y 3.3 respectivamente, a medida que aumenta la concentración de proteína y polisacárido, la densidad también lo hacia debido a que se iba incrementando el número de moléculas presentes en el sistema. La densidad relativa es con relación al agua pura a 20°C.

3.2 Adsorción en interfase y concentración crítica de adsorción

En las Figuras 3.1 y 3.2 se muestran los valores de tensión en la interfase en función del tiempo y de $1/t^{(0.5)}$ para el caseinato de sodio y para el concentrado de suero lácteo.

Se observó para los dos tipos de proteínas, Figura 3.1(a) y 3.2(a), que inician con valores de tensión superficial menores a 72 mN/m (tensión superficial del agua pura) y que a medida que fue transcurriendo el tiempo la energía libre del sistema fue disminuyendo hasta alcanzar un comportamiento casi constante, ya que el tiempo transcurrido hasta ese punto es el suficiente para que la proteína se adsorba en la interfase. Patiño y col. (2008) y Krastanka y col. (2009) observaron que conforme se aumenta la concentración de proteína en disolución existe un decremento de la tensión en la interfase, lo cual coincide con lo observado en las proteínas de estudio. Este comportamiento se debe a que al haber un mayor número de moléculas que interaccionen en la superficie se da lugar a que la energía libre del sistema descienda reflejándose en una disminución de la tensión en la interfase (Pérez y col., 2007).

En el caso del caseinato de sodio al utilizar concentraciones de 0.0001-0.001% del biopolímero se aprecia que el fenómeno dinámico de adsorción únicamente pasó de la fase de inducción hacia la etapa dos, en la cual las moléculas apenas logran ocupar un lugar en la superficie, lo cual se debe a la poca presencia de la proteína en el sistema manifestándose en una baja disminución de la tensión en la interfase que se mantuvo constante durante todo el tiempo de estudio como lo reportan Beverung y col. (1999), por el contrario al utilizar concentraciones en intervalos de 0.01-0.5% se obtuvo un notable decremento de la tensión en la interfase con relación a la tensión superficial del



- 0.0001% ▲ 0.0005% ◆ 0.001% × 0.0025% ● 0.0035% + 0.005%
- 0.01% △ 0.05% ◇ 0.1% ○ 0.3% ■ 0.5%

Figura 3.1 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones caseinato de sodio.

agua, pero al igual que las anteriores concentraciones se mantuvo un comportamiento casi constante. Lo anterior se debe a que en este punto el porcentaje de moléculas de proteína presentes, alcanzaron la etapa 2, en la que ya existe una superficie totalmente ocupada por la alta concentración del biopolímero casi desde el inicio del proceso (80-120 segundos). Nahrungbauer (1995) y Pérez y col. (2007) atribuyen este comportamiento a la estructura disociada y desplegada que posee el caseinato de sodio, el cual tiene un número determinado de segmentos de biopolímero (interacciones hidrófobas) que están en contacto con la superficie, llegando un punto en el cual la satura, manifestándose en un decremento de la tensión en la interfase. Sin embargo, al utilizar concentraciones de 0.0025%, 0.0035% y 0.005% (principalmente las dos últimas) se aprecia claramente la adsorción dinámica del caseinato de sodio, en la que se observa en la Figura 3.1(a) que la etapa de inducción se alcanzó antes de los 20 segundos, lo que sugiere que la adsorción de la molécula en la interfase es casi inmediata. Asimismo la saturación de la superficie por el biopolímero se dio entre 160-200 segundos (etapa 2), reflejando su actividad de superficie en la interfase líquido-aire.

En el caso del concentrado de suero lácteo no se reflejó un cambio tan marcado entre una concentración y otra (Figura 3.2a), a diferencia del caseinato de sodio, lo que se atribuye a los distintos porcentajes utilizados en cada una y a la estructura globular que posee. Pero de igual manera se aprecia el fenómeno de adsorción. En este caso el transporte de moléculas hacia la superficie (Figura 3.2a) se llevó a cabo antes de los 20 segundos (evidenciando el mismo comportamiento que el caseinato de sodio, durante la etapa de inducción). El posicionamiento de las moléculas de concentrado de suero lácteo y saturación de la interfase con ellas se dio entre 180-240 segundos (etapa 2). Al comparar el comportamiento entre una proteína y otra, se aprecia que el caseinato de sodio fue el que logró adsorberse y saturar la superficie en un menor tiempo, reflejando con ello su alto carácter hidrófobo (Norde, 2003; Pérez y col., 2007; Pérez y col., 2009b; Beverung y col., 1999).

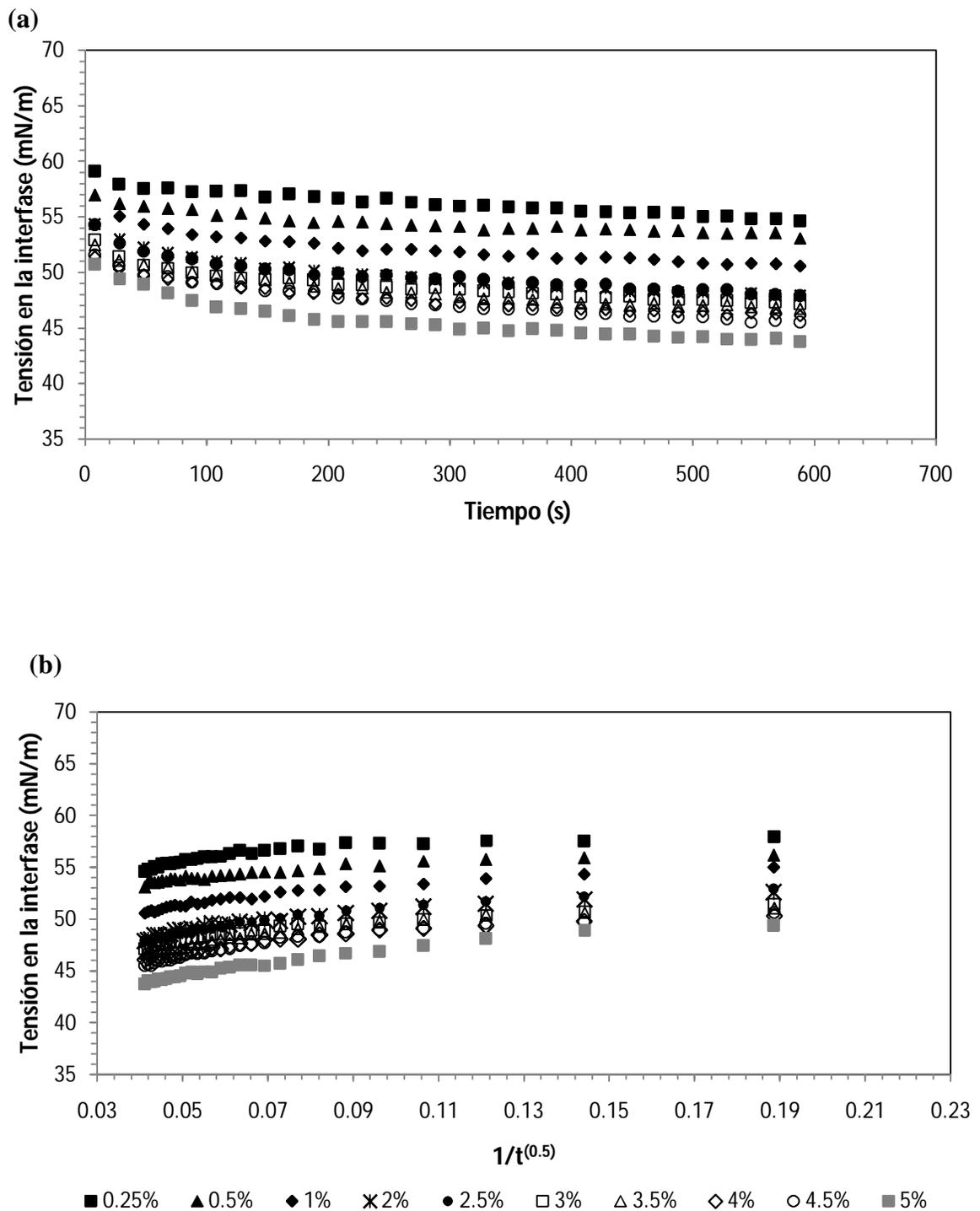


Figura 3.2: (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de concentrado de suero lácteo.

En el Cuadro 3.4 se muestran los valores de tensión en la interfase inicial y en el equilibrio obtenidas para las dos proteínas de estudio a una misma concentración, de 0.5%, en donde se observa que para ambos biopolímeros la tensión inicial fue mayor en comparación con la del equilibrio, lo que sugiere que a medida que fue transcurriendo el tiempo las moléculas se adsorbían en la interfase, fenómeno que se vio reflejado con la disminución de energía libre del sistema. Asimismo, el concentrado de suero lácteo fue el que redujo menos la tensión en la superficie debido a la estructura rígida que posee, que impide que sus grupos hidrofóbicos interaccionen con la fase no polar del sistema reafirmando con ello lo dicho anteriormente.

Cuadro 3.4 *Valores de tensión en la interfase para los sistemas acuosos de las proteínas solas.*

	Tensión en interfase (mN/m) Concentración 0.5%	
	Caseinato de sodio	Concentrado de suero lácteo
Tensión en la interfase inicial	46.27	56.96
Tensión en la interfase equilibrio	43.81	53.42

De esta forma, se obtuvieron los valores de la tensión en la interfase al equilibrio para el caseinato de sodio y para el concentrado de suero lácteo a partir de las curvas que se presentan en las Figuras 3.1(b) y 3.2(b) respectivamente, en las cuales se constata lo antes explicado sobre las propiedades de superficie de ambas proteínas. Estos resultados son el reflejo de la adsorción de los biopolímeros en la interfase, a las diversas concentraciones de estudio, en la que la fuerza motriz es el efecto hidrófobo de las moléculas (Norde, 2003; Pérez y col., 2007; Pérez y col., 2009c). Cabe mencionar que para el caso del concentrado de suero lácteo en la gráfica (Figura 3.3a) se decidió tomar todos los valores de las concentraciones que se evaluaron previamente para definir únicamente las de estudio, con el fin de apreciar de mejor manera la comparación.

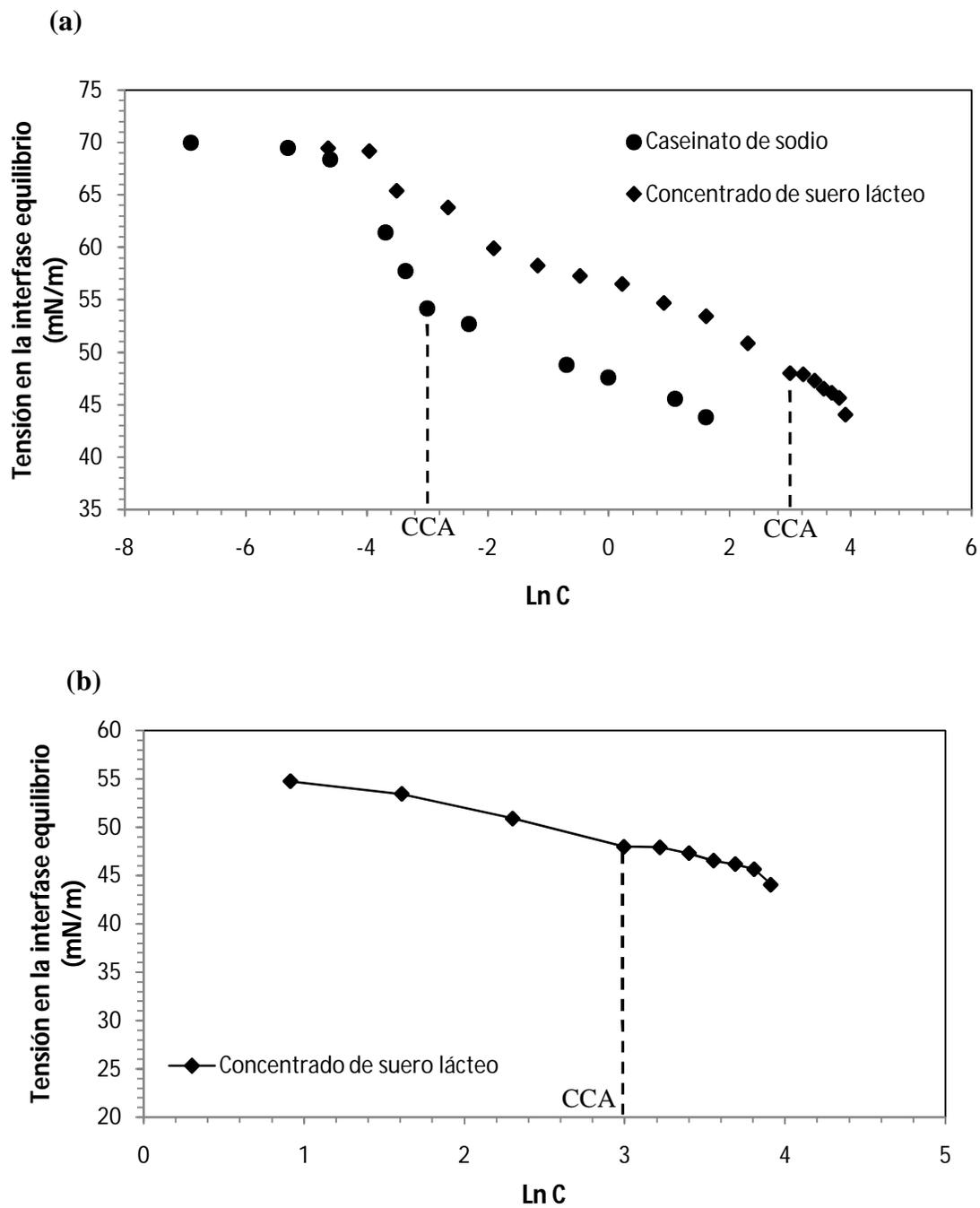


Figura 3.3 (a) Curva para la obtención la de concentración crítica de adsorción las proteínas solas (b) Curva para la obtención de concentración crítica de adsorción para el concentrado de suero lácteo.

En la Figura 3.3(a) se observa que el efecto hidrófobo de las moléculas fue mayor para el caseinato de sodio, quien redujo más la energía libre del sistema en comparación con el concentrado de suero lácteo, aún cuando se utilizó en concentraciones similares al primero, lo que se vio reflejado en el valor de la concentración crítica de adsorción (Cuadro 3.5), la cual está asociada al número de contribuciones de grupos polares como no polares que constituyen a la molécula anfipática (Tadros, 2007), mostrando que se requirió de 0.05g/L de moléculas de caseinato de sodio para poder saturar la interfase. Lo explicado anteriormente se atribuye a las diversas regiones hidrófobas y a la estructura desplegada que posee (Creamer y MacGibbon, 1996; Cheftel y col., 1989), que hace que en disolución se exponga posicionando sus grupos no polares en la interfase (Damodaran y Paraf, 1997; Nahrungbauer, 1995; Pérez y col., 2007).

En la Figura 3.3(b) se presentan los valores en los cuales se manifiesta la adsorción para el concentrado de suero lácteo. Cabe mencionar que los resultados correspondientes a esta proteína se pusieron en otra gráfica aparte y en una escala distinta por que las concentraciones son mayores que las del caseinato de sodio y en la Figura 33(a) no se aprecia claramente este punto.

Los valores de tensión al equilibrio mostraron que el concentrado de suero lácteo se adsorbe más lentamente, al requerir de un mayor número de moléculas del biopolímero para saturar la interfase y obtener una concentración crítica de adsorción de 20 g/L (Cuadro 3.5). Algunos autores han reportado una concentración crítica de adsorción cercana a 2% cuando la proteína se encuentra en la interfase líquido-aire (Pérez y col., 2009b). Tadros (2007) atribuye esta conducta a las contribuciones del número de grupos polares como no polares que constituyen a la molécula anfipática, lo que significa que la hidrofobicidad del concentrado de suero lácteo es menor a la del caseinato de sodio bajo las condiciones de estudio en este trabajo. Estos resultados pueden interpretarse por el tipo de estructura globular que posee la proteína, alojando en

su interior la mayoría de sus grupos hidrófobos, lo que restringe las interacciones con la fase hidrófoba (aire) (Fennema, 1995; Cheftel y col., 1989).

Cuadro 3.5 *Valores de concentración crítica de adsorción para el caseinato de sodio y el concentrado de suero lácteo.*

Concentración crítica de adsorción (g/L)	
Caseinato de sodio	Concentrado de suero lácteo
0.05	20

Asimismo, se puede observar en las Figuras 3.3(a) y 3.3(b), que una vez pasando la concentración crítica de adsorción de ambas proteínas, los valores de tensión en la interfase disminuyen, debido a que las moléculas de los biopolímeros forman multicapas bajo la capa interfacial que interaccionan entre sí, con lo que se ve favorecido el decremento de la tensión en la interfase (Butt y col., 2006).

Krastanka y col. (2009) estudiaron la capacidad como sistemas aireantes del caseinato de sodio y concentrado de suero lácteo bajo distintas condiciones de pH, sal y concentración de proteína en el sistema y observaron que al estar en un pH neutro, el concentrado de suero de leche no logra disminuir la energía libre del sistema en comparación con el caseinato de sodio, lo que se vio reflejado sobre la baja capacidad de espumar de la primera proteína. Los investigadores atribuyeron este comportamiento a la estructura que posee cada uno. Esta diferencia la representaron de manera esquemática (Figura 3.4), con la cual se confirma lo dicho anteriormente. En el esquema se observa que la molécula del concentrado de suero lácteo permanece casi intacta sin adsorberse en su totalidad en la interfase, mientras que el caseinato de sodio se despliega completamente ocupando toda la superficie.

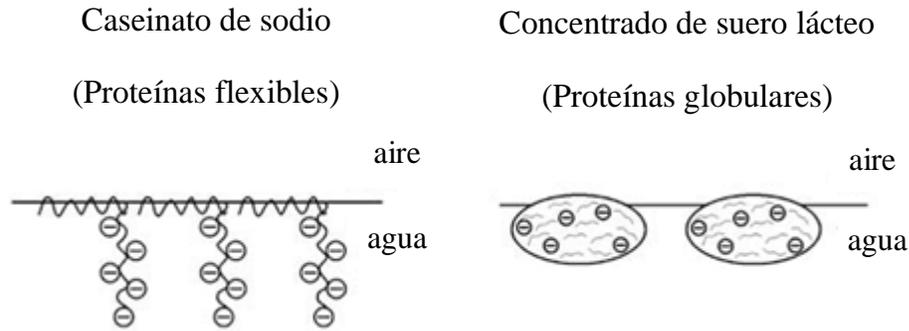


Figura 3.4 Esquema de las moléculas de caseinato de sodio y concentrado de suero lácteo adsorbidas en la interfase líquido-aire a pH neutro (Krastanka y col., 2009).

En las Figuras 3.5(a) y 3.6(a) se presentan los resultados obtenidos para los polisacáridos en los que se aprecia el bajo carácter hidrofóbico de los mismos. Este tipo de almidones se caracterizan por tener un bajo grado de sustitución (Wurzburg, 1986), es decir el número de grupos no polares contenidos en su estructura le confiere un insuficiente carácter anfipático (Dickinson, 2003), el cual se ve reflejado en la tensión de la interfase que presentan (cerca de 72 Nm/m, valor del agua pura).

El comportamiento de las curvas para los dos tipos de almidones en general se mantuvo constante (Figura 3.5a y 3.6a), lo que sugiere que no hay adsorción en función del tiempo, es decir, que una vez posicionados los primeros gránulos de almidón en la interfase y debido al tamaño que presentan (Thomas y Atwell, 1999) (etapa 1 del fenómeno de adsorción), obstaculizan a los demás para que tomen una posición en la superficie al mantener un volumen fijo en ella (Piech y Walz, 2000). Es por esto que la diferencia de tensión en la superficie es de máximo 3 mN/m entre una concentración y otra, aún cuando se utilizaron concentraciones de 0.0001% ó 5%. Aunado a lo anterior, la débil fuerza de atracción (interacciones hidrófobas) entre las moléculas de almidón y la interfase por el carácter hidrofílico que presentan (Wurzburg, 1986) dificultó que los almidones ocuparan un lugar en la superficie (Norde, 2003; Pérez y col., 2007; Pérez y col., 2009c) reflejando casi un nulo decremento en la tensión en la interfase

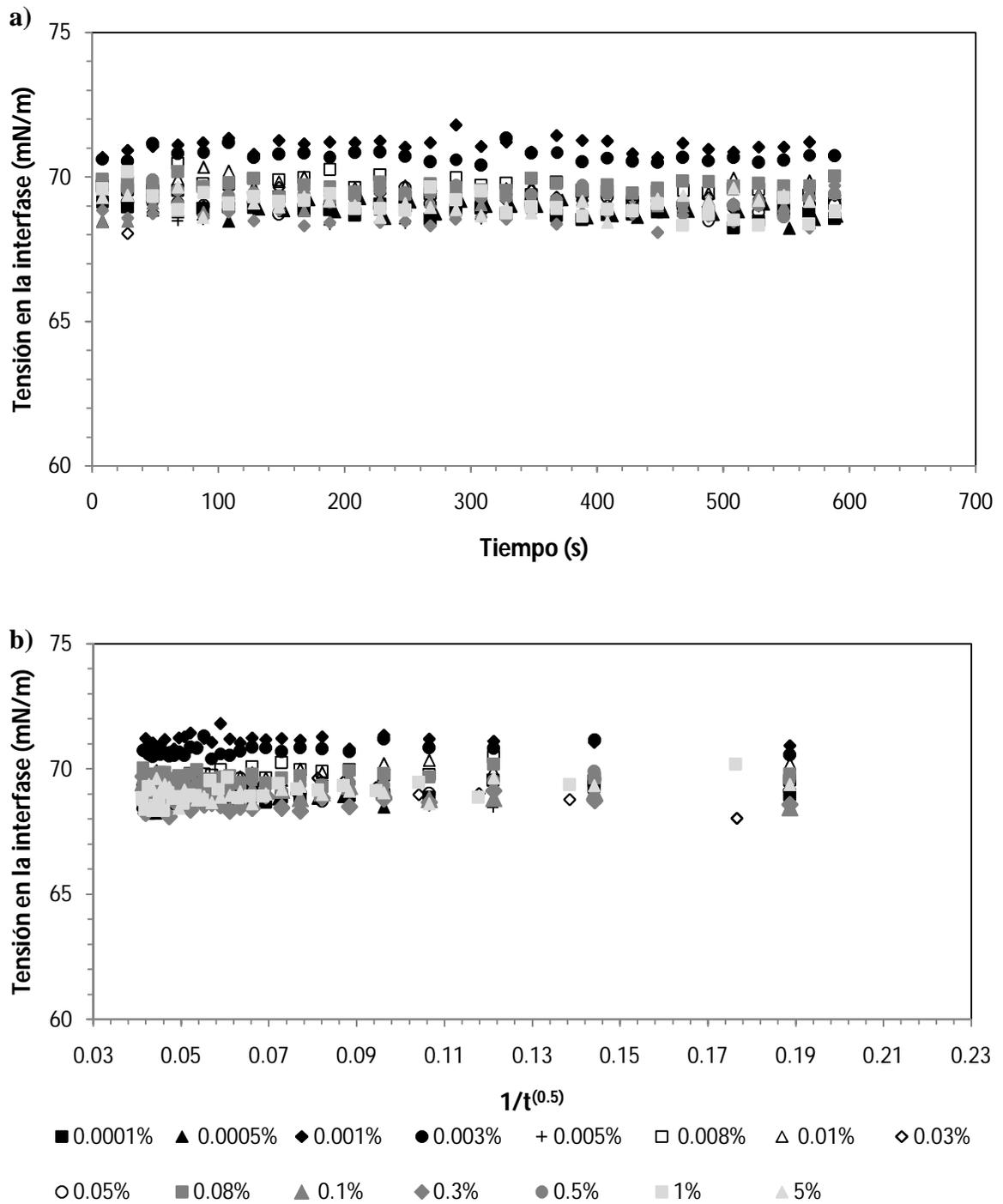


Figura 3.5 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de almidón de maíz céreo entrecruzado.

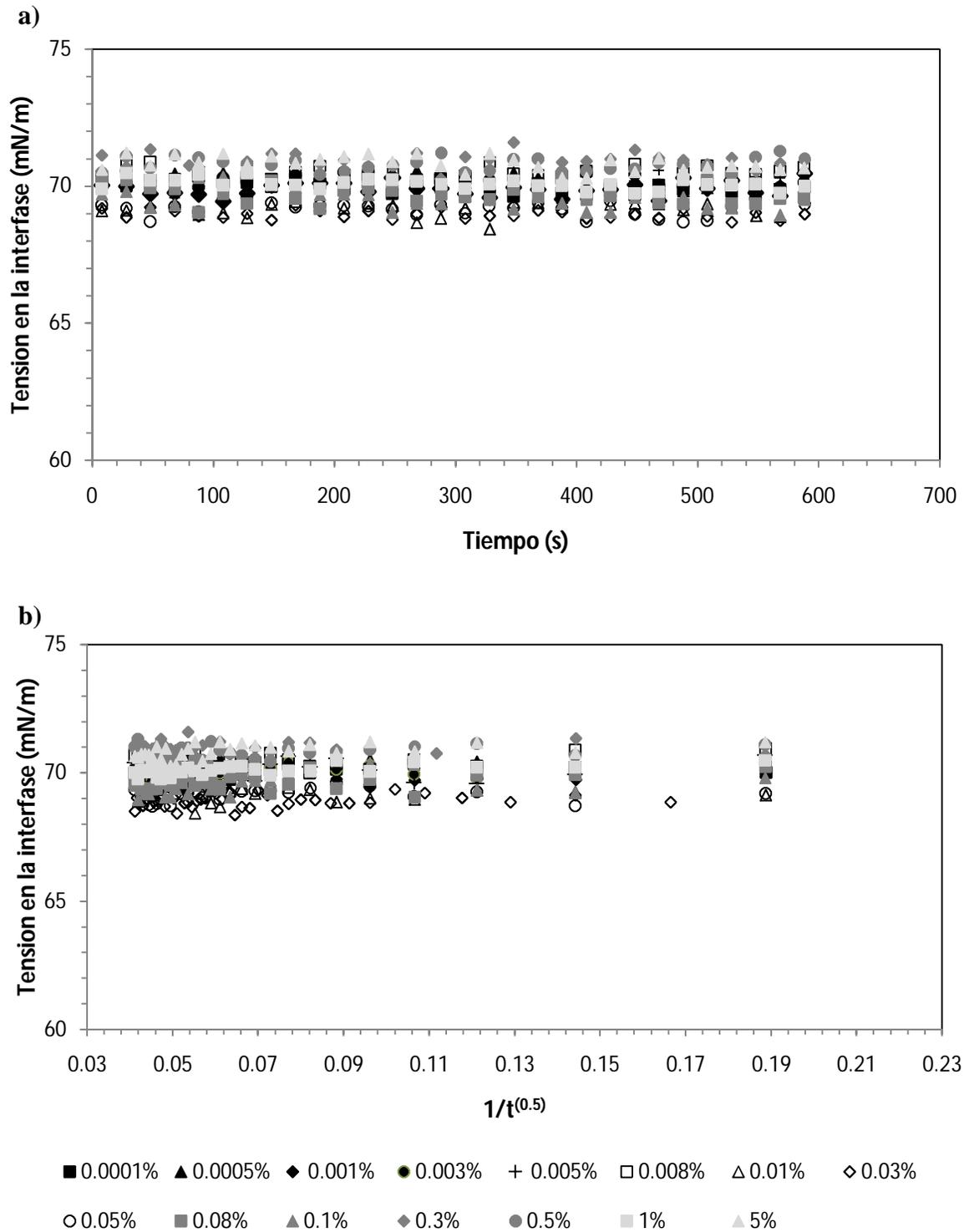


Figura 3.6 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.

líquido-aire. De esta forma, al ver el comportamiento que tienen las curvas presentadas en las Figuras 3.5(b) y 3.6(b), se reafirma lo antes dicho acerca de la actividad de superficie que exhiben este tipo de almidones.

En la Figura 3.7 se muestra la tensión al equilibrio en la interfase alcanzada a distintas concentraciones (Butt y col., 2006), en la que se puede apreciar que para el caso de los dos polisacáridos en las distintas concentraciones de estudio, se obtuvieron valores similares debido a que corresponden a una misma naturaleza, ya que al transportarse sus residuos hidrófobos hacia la interfase y debido al tamaño e hidrofobicidad que tienen no lograron saturarla, por lo que no presentan concentración crítica de adsorción. Lo que sugiere que no influye la concentración de moléculas presentes en el sistema sobre la disminución de la energía libre del mismo, mostrada en esta curva.

Al observar las cuatro curvas correspondientes a cada uno de los bipolímeros de estudio (Figura 3.7), se aprecia claramente la diferencia existente entre las proteínas y los polisacáridos, lo cual es una consecuencia de la naturaleza anfipática que posee el concentrado de suero lácteo y el caseinato de sodio, por lo cual son denominados surfactantes poliméricos (Pérez y col., 2007). Prochaska y col. (2007), estudiaron la actividad de superficie de almidones modificados químicamente y observaron que al hacer una comparación entre almidones entrecruzados (dialmidón adipato acetilado) contra un almidón nativo la tendencia de los primeros estaba muy apegada a la del almidón sin modificar. El anterior comportamiento los investigadores lo atribuyeron al bajo grado de sustitución y a los grupos acetyl relativamente no polares del almidón modificado. Por lo que la actividad surfactante que posee este tipo de almidones es baja y más aún al compararla con las proteínas lácteas.

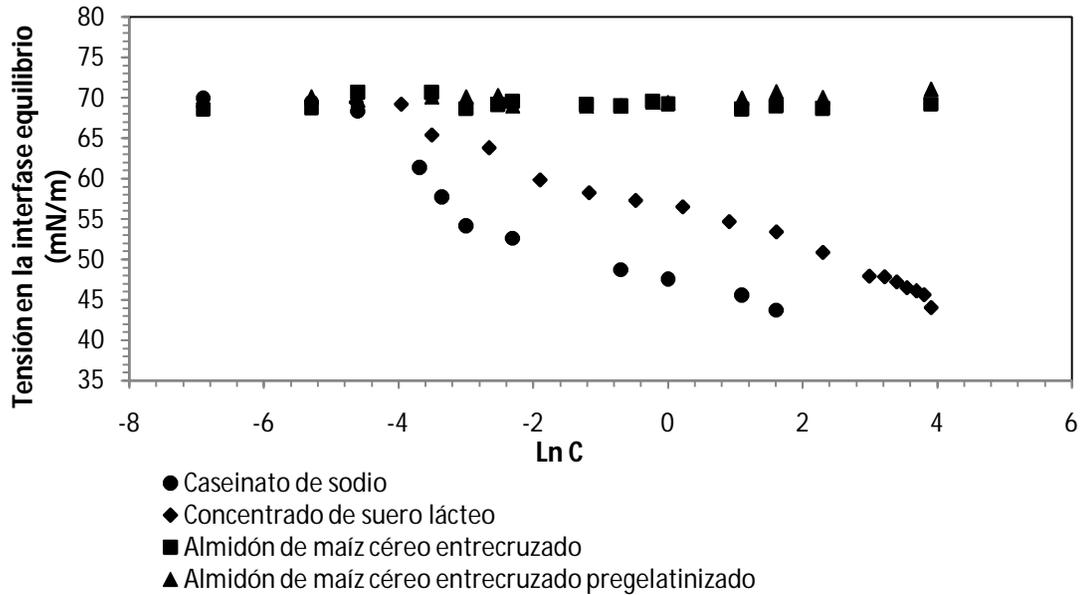


Figura 3.7 Curva para la obtención de la concentración crítica de adsorción de los sistemas de estudio.

Con la finalidad de analizar el efecto de los polisacáridos sobre la adsorción de las proteínas, se estudió el fenómeno en interfase fluida de las mezclas de proteínas lácteas y almidones modificados. Este proceso se le considera de competitividad, por lo que aquellos adsorbatos que tuvieron una mayor afinidad con la superficie fueron los que ocuparon un lugar en ella (Norde, 2003).

Al emplear en conjunto caseinato de sodio con almidón de maíz céreo entrecruzado y almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado (Figura 3.8a,b y 3.9a,b) respectivamente, se observa que conforme transcurre el tiempo y aumenta la concentración de ambos biopolímeros en mezcla, los valores de tensión en la interfase fueron disminuyendo, hasta llegar a un punto en el que se aprecia una ligera variación con el tiempo.

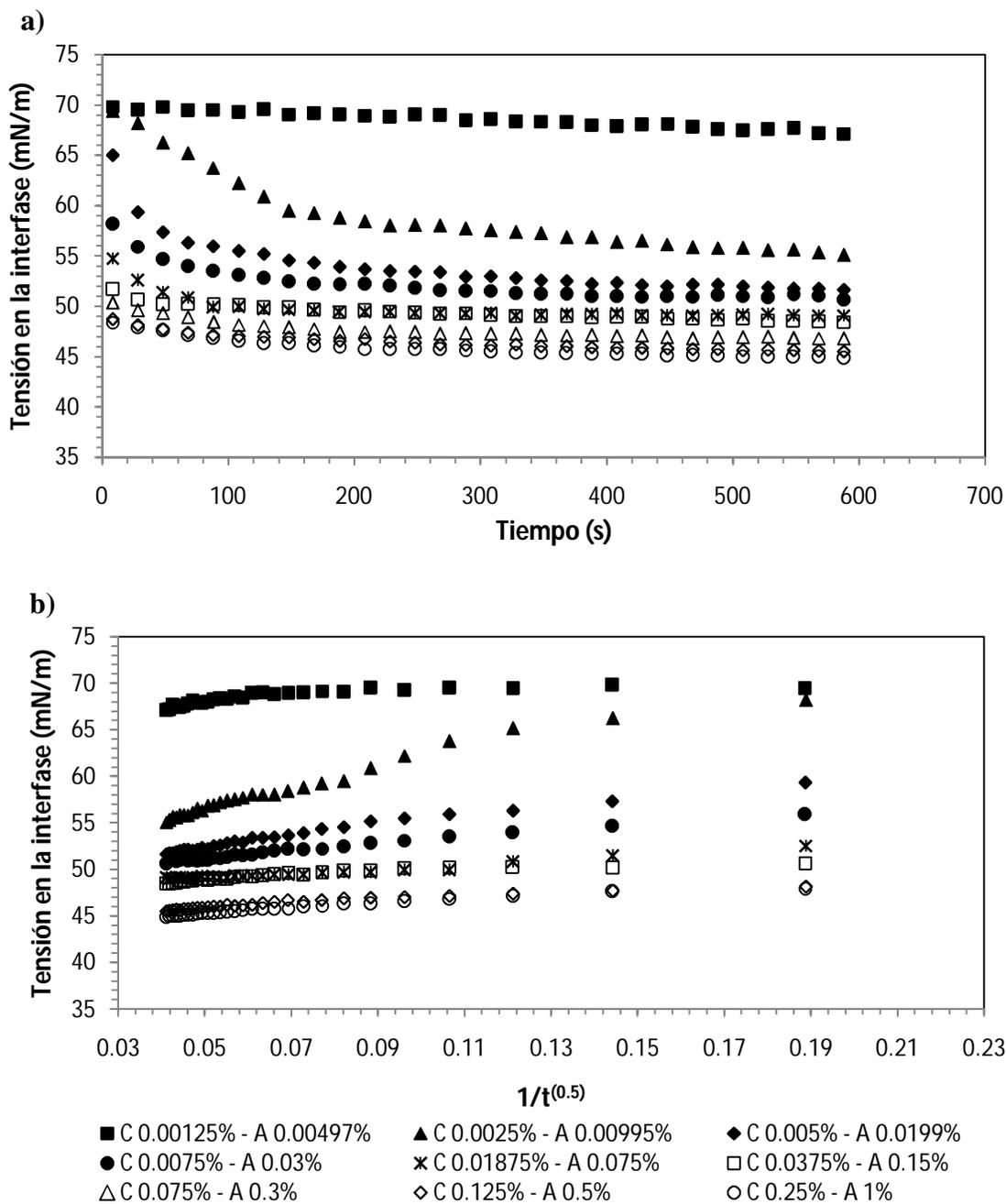


Figura 3.8 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de las mezclas de caseinato de sodio C: caseinato de sodio A: almidón de maíz céreo entrecruzado.

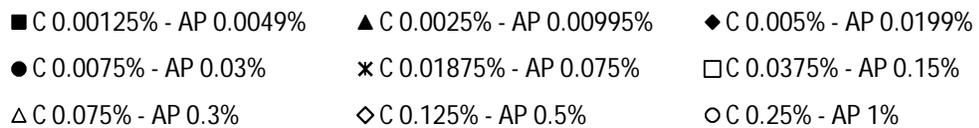
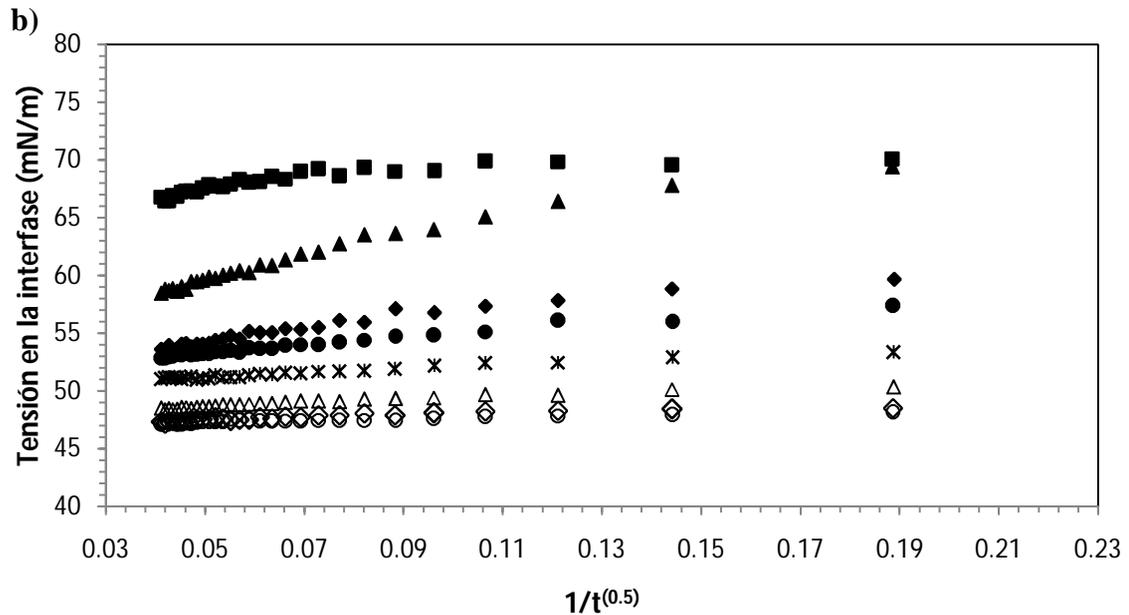
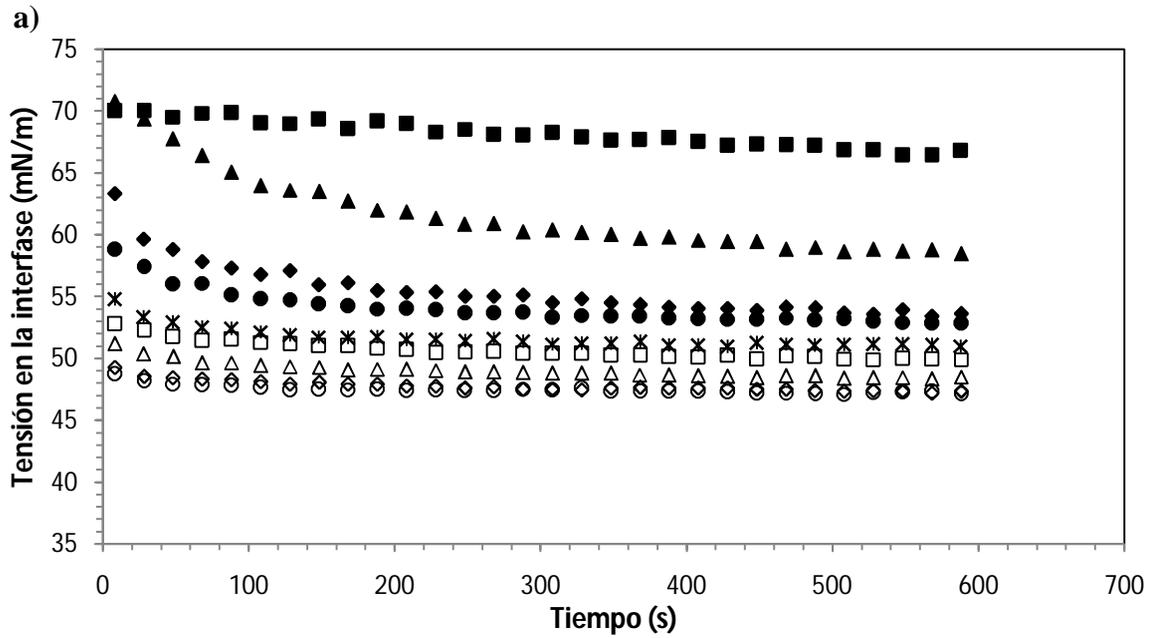


Figura 3.9 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de las mezclas de caseinato de sodio. C:caseinato de sodio AP: almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.

Además de que se observa (Figuras 3.8a y 3.9a) que la etapa de inducción se llevó a cabo en antes de 20 segundos para las concentraciones de 0.0025%-0.25%, y a su vez la etapa 2 se alcanzó en 160-200 segundos para 0.0025%-0.0075% y en 80-120 segundos al utilizar concentraciones de 0.01875%-0.25% de proteína, para ambos almidones. Para el caso de la concentración de 0.00125% de caseinato de sodio la curva mantuvo un comportamiento casi constante, lo que sugiere que pocas moléculas apenas alcanzaron a depositarse en la interfase (etapa de inducción), y que la cantidad de las mismas no fue suficiente para reducir la tensión en la superficie, con relación a la del agua pura. Esta dinámica de adsorción es semejante a la que presentó el caseinato de sodio al utilizarlo solo en disolución (Figura 3.1a,b). Por lo que se puede decir que la proteína domina la interfase y que la presencia del almidón no tuvo efecto en la adsorción percibida en estas curvas.

En el Cuadro 3.6 se muestran los valores de tensión en la interfase obtenidos de la dinámica de adsorción para el caseinato de sodio y sus mezclas con los dos almidones de estudio utilizando la misma concentración de proteína en el sistema. Para los tres casos se observa que la tensión en la interfase al equilibrio es menor a la inicial, lo que indica que la adsorción de las proteínas y polisacáridos es dependiente del tiempo. Asimismo, se aprecia que el valor de tensión en la interfase inicial para las mezclas es menor al de la proteína sola, lo que sugiere que los grupos acetilo contenidos en la estructura de los almidones modificados contribuyeron a reducir la energía libre del sistema, llegando a un punto en el cual la proteína dominaba la interfase, lo que se vio reflejado en el valor de tensión al equilibrio, ya que son muy similares al caseinato de sodio solo.

Cuadro 3.6 *Valores de tensión en la interfase para los sistemas acuosos de caseinato de sodio solo y en mezcla con los almidones.*

	Tensión en interfase (mN/m)		
	Caseinato de sodio 0.005%	Caseinato de sodio 0.005%- Almidón de maíz céreo entrecruzado 0.0199%	Caseinato de sodio 0.005%- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.0199%
Tensión en la interfase, inicial	70.49	65	63.36
Tensión en la interfase, equilibrio	54.06	52.51	54.85

Este comportamiento se aprecia de mejor manera en la Figura 3.10, en la cual se ve que no existe diferencia alguna al emplear la proteína sola y en mezcla con almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado. Diversos investigadores estudiaron las interacciones proteína-polisacárido que se presentan en disolución y su influencia directa sobre las propiedades de adsorción de las proteínas (Pérez y col, 2009b; Baeza y col., 2005; Doublier y col., 2000; Damodaran y Paraf, 1997; Dickinson, 2003). Ellos atribuyen este comportamiento a la inexistencia de interacciones entre los dos tipos de biopolímeros, que se conoce como compatibilidad termodinámica limitada. El almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado tiene dentro de su estructura grupos hidroxilo libres, lo que sugiere que las partes polares del almidón interaccionan entre sí y con el medio afín, dando lugar a que las fuerzas de atracción entre la interfase y los grupos acetilo del polisacárido sean débiles por el bajo grado de sustitución que presentan y al estar en mezcla con la proteína dominen las propiedades de superficie del caseinato de sodio, bajo las condiciones de trabajo en los sistemas de estudio. Por lo que probablemente se produjo un efecto de exclusión de volumen por parte de las proteínas, de acuerdo con lo reportado por Grosberg y Khokhlov (1997). En la Figura 3.11(a), se presenta una propuesta de lo que está ocurriendo en la superficie, inspirada en las representaciones esquemáticas que han hecho Bos y Vliet (2001) y Dickinson (2009).

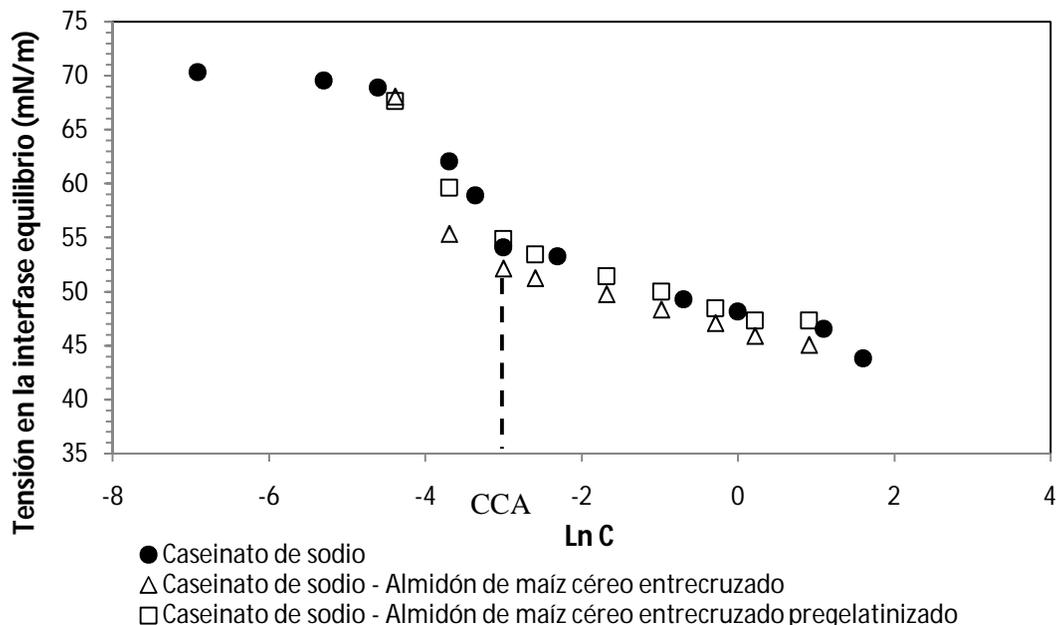


Figura 3.10 Curva para obtener la concentración crítica de adsorción de las mezclas de caseinato de sodio en medio acuoso.

Esto sucede por la rápida adsorción de las proteínas en la interfase, debido a la actividad de superficie que presentan tal como lo reportan Dickinson (2009) y Raikos (2009). Otro hecho que reafirma lo mencionado es el valor de la concentración crítica de adsorción (Figura 3.10), el cual se mantiene igual a la del caseinato de sodio solo, debido a que no se están formando agregados proteína-polisacárido (Cuadro 3.7), requiriendo de la misma concentración para lograr saturar la interfase aún en presencia de los dos tipos de almidón.

Cuadro 3.7 Valores concentración crítica de adsorción para el caseinato de sodio y sus mezclas con los polisacáridos.

Concentración crítica de adsorción (g/L)		
Caseinato de sodio	Caseinato de sodio- Almidón de maíz céreo entrecruzado	Caseinato de sodio- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado
0.05	0.05	0.05

Sin embargo, al ver el comportamiento de la mezcla caseinato de sodio-almidón de maíz céreo entrecruzado se aprecia que está ligeramente por debajo de la del caseinato de sodio solo (Figura 19), lo que sugiere que las moléculas del polisacárido ocuparon un lugar en la superficie, favoreciendo a la disminución de la tensión en la interfase. Este fenómeno se muestra en la Figura 3.11(b). Aunque de igual manera que con la anterior mezcla, quién predomina en la interfase es la proteína, ya que se difunde de manera rápida al tener múltiples regiones hidrofóbicas en su estructura adoptando la conformación más conveniente en la superficie, lo que se manifiesta en el valor de la concentración crítica de adsorción que es igual al de la proteína sola (Cuadro 3.7), lo que sugiere que cada biopolímero actúa de manera independiente.

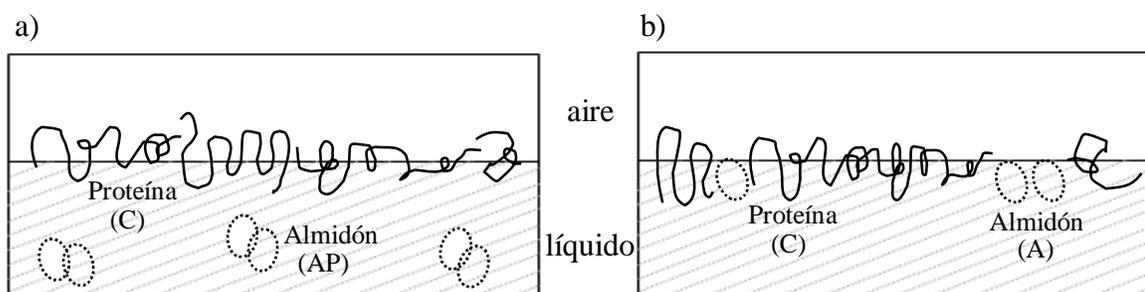


Figura 3.11 Propuesta de representación esquemática de adsorción de disoluciones de caseinato de sodio en mezcla con a) AP y b) A en medio acuoso. C: caseinato de sodio A: Almidón de maíz céreo entrecruzado AP: Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.

En el caso de las mezclas de concentrado de suero lácteo-almidón de maíz céreo entrecruzado y concentrado de suero lácteo-almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado se observa en las Figuras 3.12(a,b) y 3.13(a,b) el mismo proceso de adsorción presentado por las mezclas de caseinato de sodio en el que quién domina la adsorción en interfase líquido-aire es la proteína, ya que el transporte de moléculas a la superficie se llevó a cabo antes de 20 segundos para todas las concentraciones de estudio y se difundieron en 180-220 segundos para una concentración de 0.0375%-0.375%, 180 segundos para 0.75%-1% y 160-180 segundos al utilizar concentraciones de 2-5%, dinámica de adsorción similar a la de la proteína sola.

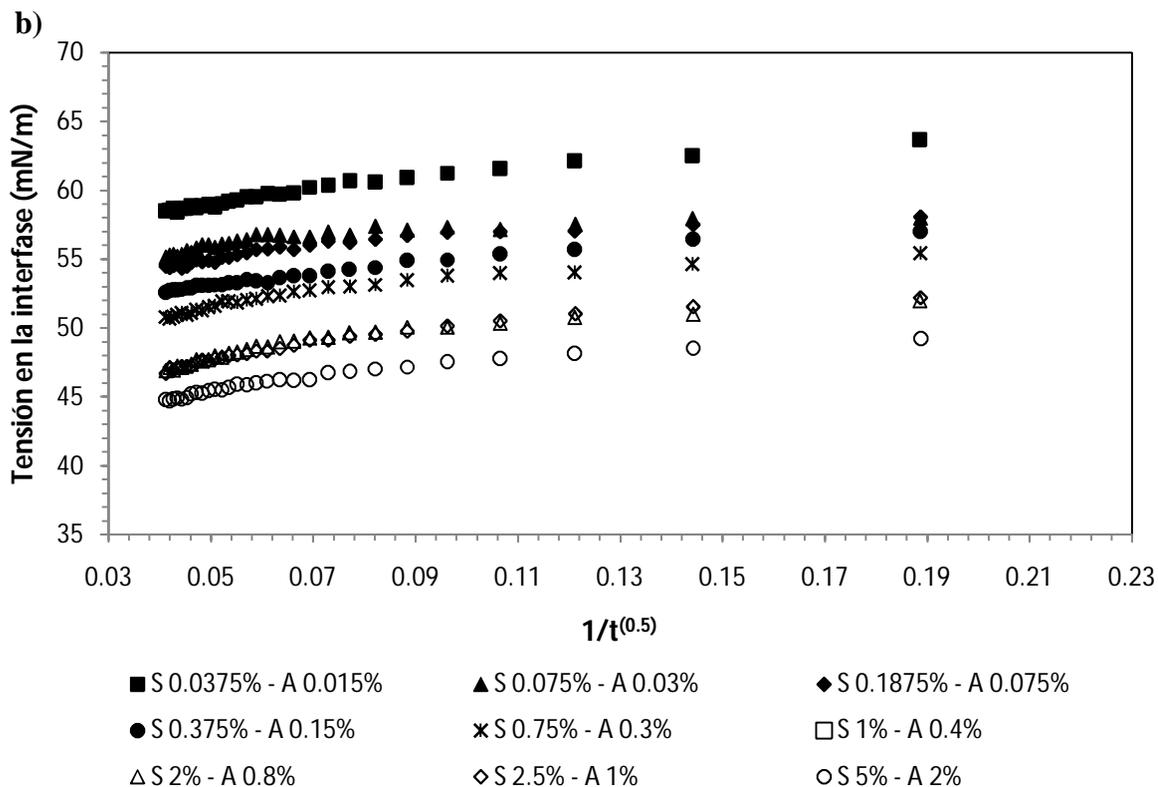
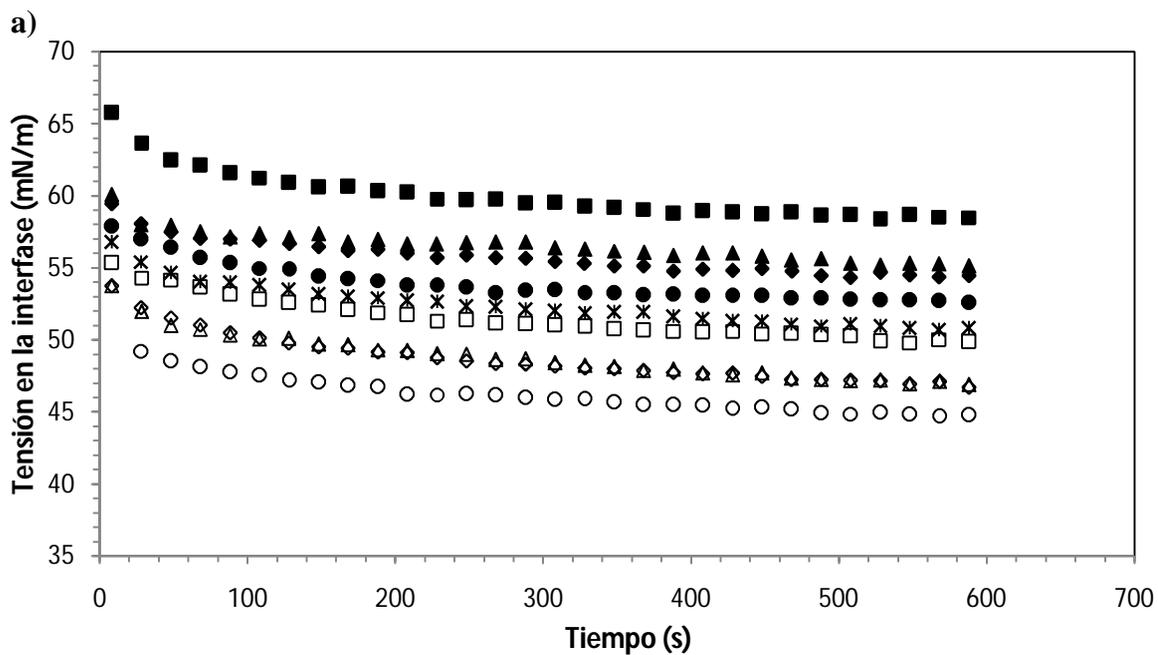


Figura 3.12 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de las mezclas de concentrado de suero lácteo. S: concentrado de suero lácteo A: almidón de maíz céreo entrecruzado.

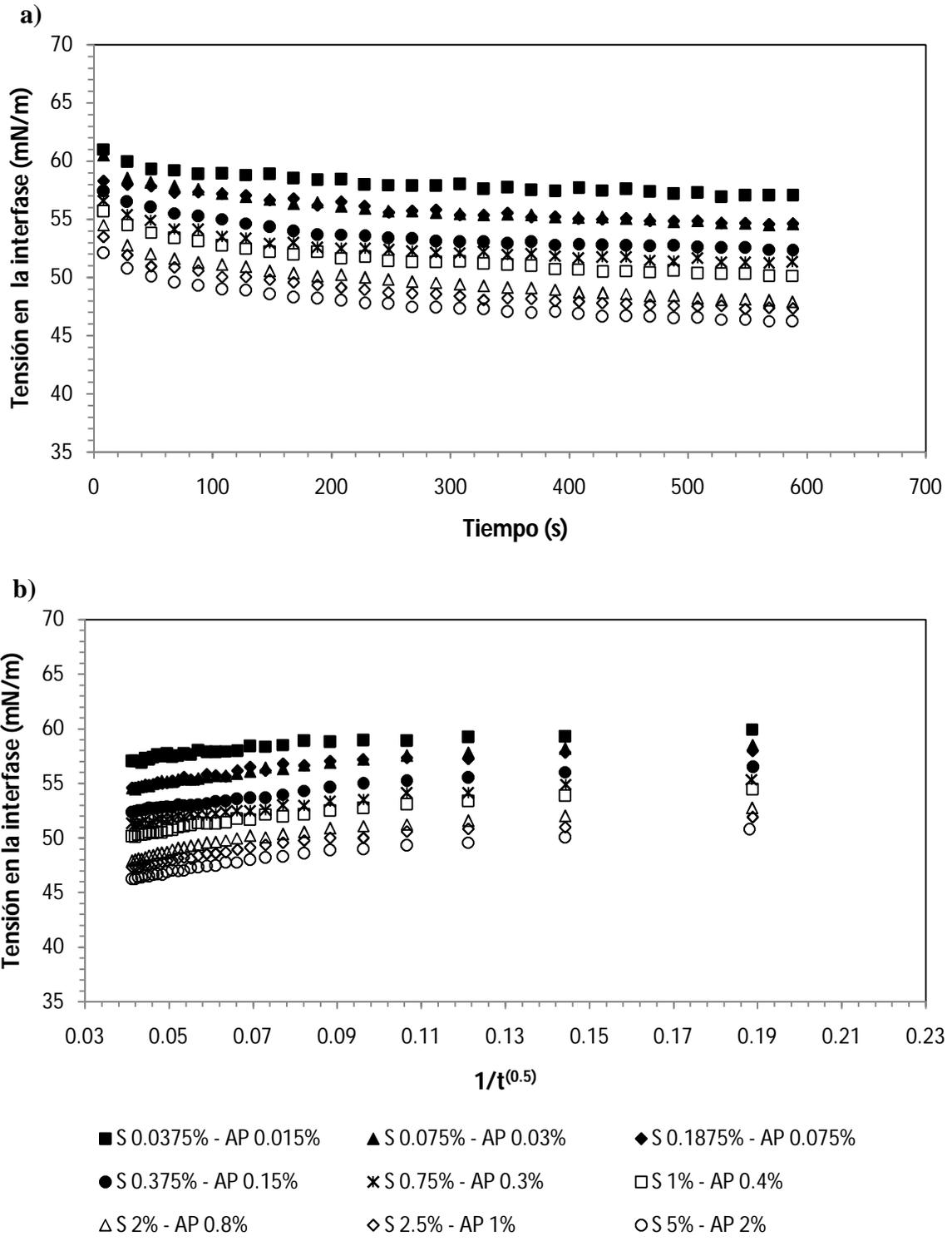


Figura 3.13 (a) Curva de tensión en la interfase en función del tiempo y del (b) inverso de la raíz cuadrada del tiempo de disoluciones de las mezclas de concentrado de suero lácteo. S: concentrado de suero lácteo AP: almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.

Asimismo, en las Figura 3.13(a) se observa que la curva correspondiente a las concentraciones menores de almidón y proteína al inicio del proceso aparentemente la tensión en la interfase del sistema fue más baja que cuando se utilizó la proteína sola, pero conforme fue transcurriendo el tiempo, el valor al equilibrio al que se llegaba era muy similar al del concentrado de suero lácteo, lo que alude a que los grupos acetilo del almidón durante la etapa de inducción contribuían a la disminución de la tensión, pero al haber un mayor número de interacciones hidrofóbicas en el sistema existía una más alta fuerza de atracción entre las moléculas de la proteína presentes en la mezcla y la interfase que se vio reflejada en la etapa 2 del proceso, en donde el biopolímero con mayor carácter anfipático se posicionó en ella (Norde, 2003; Pérez y col., 2007; Pérez y col., 2009c; Beverung y col., 1999).

En el Cuadro 3.8 se muestran los valores de tensión inicial y al equilibrio obtenidos al utilizar el concentrado de suero lácteo solo y en mezcla a la misma concentración. En donde se observa que tanto el primer valor registrado como el último de tensión en la interfase para las mezclas son muy similares al de la proteína sola, lo que sugiere que la adsorción en la superficie estuvo dominada por la proteína y que los almidones no tuvieron contribución a la disminución de la tensión en la interfase liquido-aire del sistema, debido a la estructura rígida que presenta esta proteína.

Cuadro 3.8 Valores de tensión en la interfase para los sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo solo y en mezcla con los almidones.

	Tensión en interfase (mN/m)		
	Concentrado de suero lácteo 2%	Concentrado de suero lácteo 2%- Almidón de maíz céreo entrecruzado 0.8%	Concentrado de suero lácteo 2%- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.8%
Tensión en la interfase, inicial	54.28	53.73	54.5
Tensión en la interfase, equilibrio	47.98	46.9	47.89

En la Figura 3.14 se presentan los valores al equilibrio obtenidos de la dinámica de adsorción para todas las concentraciones de estudio en donde se observa que para el caso del concentrado de suero lácteo ninguno de los dos tipos de almidón tuvo efecto sobre la adsorción en la superficie de la proteína. Este comportamiento se debe al plegamiento y rigidez de su estructura, la cual conserva después de haber sido adsorbida (Krastanka y col., 2009; Schokker y col., 2000) (Figura 3.15). Esto no sucedió con las mezclas con caseinato de sodio, ya que durante su proceso de adsorción la estructura flexible que posee se acomoda (Damodaran y Paraf, 1997; Nahringbauer, 1995; Pérez y col., 2007).

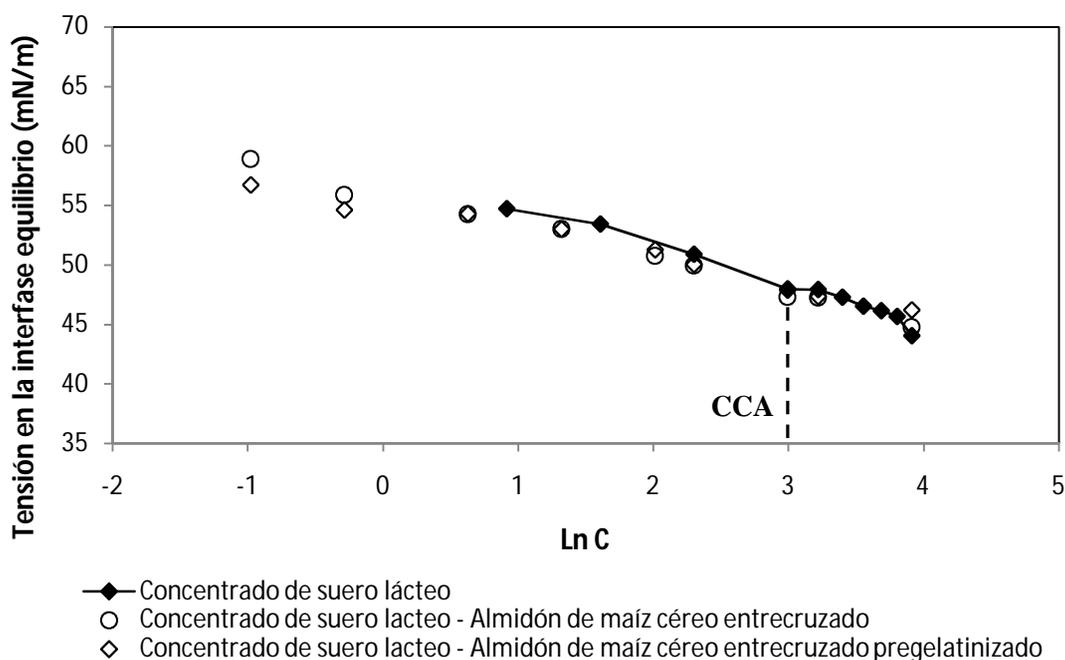


Figura 3.14 Curva de concentración crítica de adsorción para las mezclas de concentrado de suero lácteo en medio acuoso.

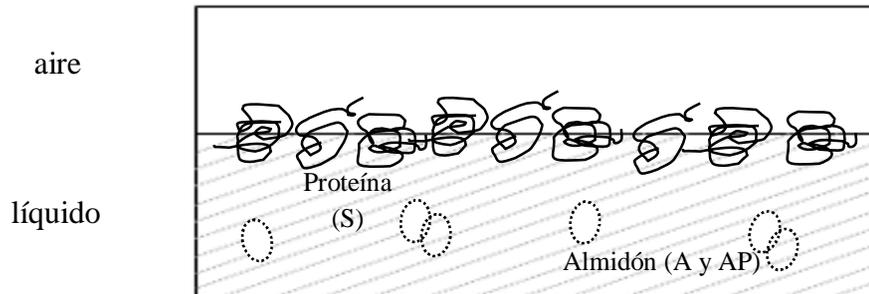


Figura 3.15: Propuesta de representación esquemática de adsorción de disoluciones de concentrado de suero lácteo en mezcla con los almidones de estudio. S: concentrado de suero lácteo A: Almidón de maíz céreo entrecruzado AP: Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado

En el Cuadro 3.9 se presentan los valores de concentración crítica de adsorción, que constatan lo mencionado, ya que el valor del concentrado de suero lácteo no se modifica al emplear almidón de maíz céreo entrecruzado y almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado en disolución.

Cuadro 3.9 Valores de concentración crítica de adsorción para el concentrado de suero lácteo sus mezclas con los polisacáridos.

Concentración crítica de adsorción (g/L)		
Concentrado de suero lácteo	Concentrado de suero lácteo- Almidón de maíz céreo entrecruzado	Concentrado de suero lácteo- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado
20	20	20

El comportamiento mostrado por este tipo de moléculas en conjunto sugiere que en la aplicación para la formación de un sistema, los almidones no van a interferir en la adsorción en la superficie del caseinato de sodio ni del concentrado de suero lácteo, al momento de llevar a cabo el espumado de un producto pudiendo ser los polisacáridos los agentes estabilizantes del mismo.

3.3 Reología dilatacional

Se estudiaron las características reológicas dilatacionales en la interfase líquido-aire de las películas adsorbidas por moléculas anfipáticas como una función de la frecuencia, a través de mediciones de tensión dinámica en la interfase como respuesta al cambio de área.

Los valores obtenidos de elasticidad para el caseinato de sodio y el concentrado de suero lácteo se muestran en la Figura 3.16(a), en la cual se observa que para el caso de la primera proteína a bajas frecuencias de oscilación (0.01-0.02 Hz) la respuesta de la capa adsorbida ante la perturbación se manifestó en un comportamiento casi constante, debido a las interacciones hidrófobas y puentes de hidrógeno que existen entre éstas y la superficie, teniendo la película en la interfase tiempo suficiente para responder al cambio de área, tal como lo reportan Boss y Vliet (2001) y Norde (2003). Por el contrario, la elasticidad del concentrado de suero lácteo bajo estas mismas condiciones mostró un comportamiento no homogéneo, lo que sugiere que la amplitud seleccionada no correspondió a la zona lineal al utilizar una frecuencia de 0.01-0.024Hz.

Pero en general, para las dos proteínas a medida que se incrementó la frecuencia, los valores de elasticidad se mantuvieron constantes, debido a que el tiempo entre cada ciclo era menor, hasta llegar a un punto en el cual las moléculas tuvieron menos tiempo para alcanzar un nuevo equilibrio, manifestándose en una disminución del módulo elástico al igual que lo reportado por Ivanov y col. (2005). Asimismo el comportamiento viscoso de la interfase complementa lo dicho anteriormente, ya que a medida que aumentó la frecuencia se presentó una disminución en los valores de viscosidad (Figura 3.16b), aún en aquellas regiones en las que se manifestó una decremento de la elasticidad. Volviéndose despreciable en comparación con el componente elástico en las interfases compuestas por proteínas lácteas, reflejando

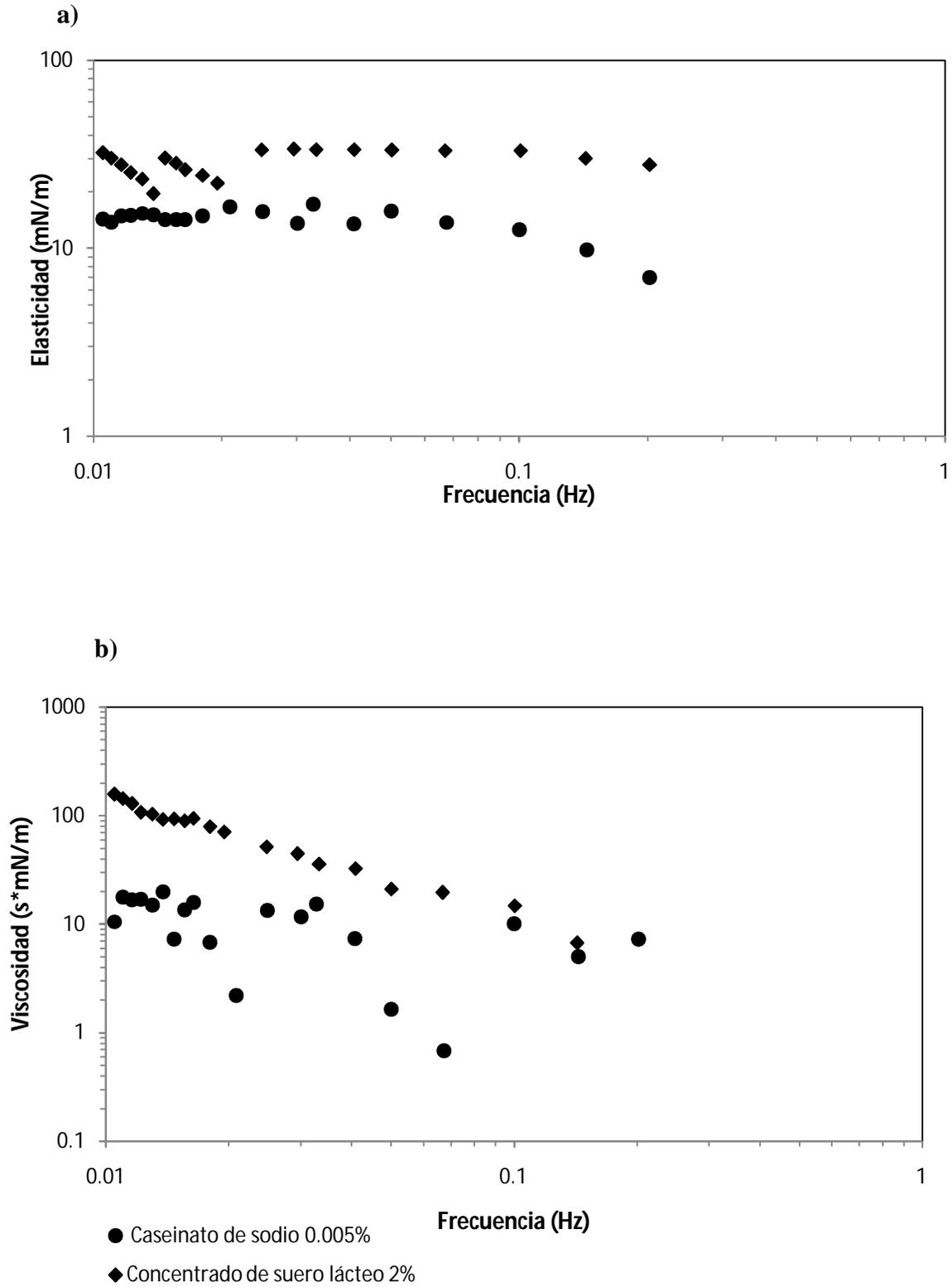


Figura 3.16 (a) Elasticidad dilatacional y (b) viscosidad dilatacional para las disoluciones de las proteínas de estudio.

con ello la dependencia de los parámetros de la interfase con la frecuencia de estudio. Cabe mencionar que las gráficas se presentan en escala logarítmica, ya que con ello se logra una mayor claridad de los puntos (Garofalakis y Murray 2001).

Al comparar la conducta entre ambas proteínas, se observa que el concentrado de suero lácteo presentó mayor resistencia a la deformación en la superficie y que a su vez la pérdida de elasticidad comenzaba a ser presente a una frecuencia de 0.1 Hz, lo que sugiere que no estaba ocurriendo un reordenamiento de las moléculas en la interfase bajo esa condición de trabajo. Se ha reportado que la alta frecuencia impuesta en una interfase aire-agua limita la elasticidad del sistema (Santini y col., 2007), lo cual coincide con los resultados obtenidos en este estudio.

La curva de viscosidad Figura 3.16(b) constata lo explicado, ya que a medida que se aumentaba la frecuencia, la parte imaginaria que alude a procesos de relajación en la interfase se hacía menos presente, fenómeno atribuido al efecto que tienen la repartición de los residuos polares y no polares de manera uniforme en la β -lactoglobulina y la α -lactoalbúmina (Krastanka y col., 2009; Schokker y col., 2000) que hacen que la proteína guarde su plegamiento intermolecular, manifestándose en el carácter rígido de la interfase (Perez y col., 2009a).

En el Cuadro 3.10 se muestran los valores de elasticidad dilatacional obtenidas para los dos tipos de proteína a una misma frecuencia (0.04Hz), en donde se observa que a esa condición de trabajo la interfase compuesta por concentrado de suero lácteo opuso más resistencia a la deformación en comparación con el caseinato de sodio, lo que sugiere que los efectos de Marangoni fueron mayores al utilizar el concentrado de suero lácteo, al contrarrestar el gradiente de tensión en la superficie por el cambio de área, lo que se refleja en la elasticidad dilatacional del sistema. Garofalakis y Murray (2001) estudiaron las propiedades de aireación de la β -lactoglobulina y su influencia sobre los parámetros viscoelásticos dilatacionales, en donde encontraron que la película

adsorbida en interfase líquido-aire por moléculas de proteína posee un carácter elástico. Resultado que coincide con lo obtenido en esta investigación. Cabe mencionar que los datos presentados en el Cuadro 3.10 se obtuvieron gráficamente y luego se les sacó el antilogaritmo base 10 para poder obtener los valores.

Cuadro 3.10 *Valores de elasticidad dilatacional para el caseinato de sodio y el concentrado de suero lácteo a una frecuencia 0.04Hz.*

Elasticidad dilatacional (mN/m)	
Caseinato de sodio	Concentrado de suero lácteo
13.42	33.46

En el caso del caseinato de sodio, se observa una menor resistencia a la deformación (Figura 3.16a), además de que la disminución de la elasticidad se inició con una frecuencia de 0.07 Hz, evidenciando de esta manera la correlación existente entre la estructura molecular de la proteína y las características reológicas de la interfase, es decir, la conformación desplegada de la proteína (Cheftel y col., 1989), sugiere que durante la perturbación de la superficie las moléculas se movían continuamente con el objeto de reacomodarse y adsorberse para alcanzar el equilibrio en menor medida que con el concentrado de suero lácteo, reflejándose en una menor resistencia ante la deformación. Este comportamiento se muestra en el Cuadro 3.10, en donde se aprecia un valor menor de elasticidad dilatacional por parte del caseinato de sodio, el cual se hizo más evidente a medida que se incrementaba la frecuencia en la superficie mostrada en la Figura 3.16(a) (Ravera y col., 2009). Al ver el comportamiento de viscosidad dilatacional de esta proteína se aprecia que la curva tiene muchos valores dispersos, que se explican, debidos a la readaptación de las moléculas adsorbidas (Garofalakis y Murray, 2001). Se ha reportado que la presencia de proteínas globulares en una interfase líquido-aire le proporciona una mayor elasticidad dilatacional al sistema en comparación con las proteínas flexibles (Barnes y Gentle, 2005), con lo que se reafirma los resultados obtenidos en esta investigación.

En la sección 3.2 se vio que aunque fue el concentrado de suero lácteo el biopolímero que se adsorbió más lentamente en comparación con el caseinato de sodio, la primera proteína fue quien reaccionó mejor ante el cambio de área en la superficie, que se reflejó en los altos valores de elasticidad dilatacional en comparación con la proteína flexible, comportamiento que se sugiere fue debido a la estructura globular compacta que posee el concentrado de suero lácteo aún adsorbido en la superficie. Asimismo, en el caso del caseinato de sodio la estructura desplegada que posee que provocó que se saturara la interfase con una menor concentración en comparación con la otra proteína y que a su vez se adsorbieran de manera más rápida, le confirió a las superficies constituidas por las mismas una menor resistencia a la deformación.

De la misma manera que con las proteínas, también se estudió la reología de interfase del almidón de maíz céreo entrecruzado y almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado a dos concentraciones distintas, el comportamiento obtenido para cada uno de los polisacáridos se presenta en la Figura 3.17, en la cual se aprecia que a pequeñas perturbaciones la interfase no tenía respuesta manifestándose con una tendencia constante. Sin embargo, para los dos casos a partir de 0.02 Hz los datos de elasticidad dilatacional mostraron un comportamiento no homogéneo que se sugiere fue debido al bajo grado de sustitución de los hidrocoloides (Wurzburg, 1986), que provocó que la superficie se manifestara con un movimiento pronunciado de las moléculas adsorbidas al existir una baja fuerza de atracción entre los grupos acetilo del almidón y la interfase.

Al comparar los dos tipos de polisacáridos (Figura 3.17a), el almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado a las dos concentraciones fue el que presentó un ligero incremento en la elasticidad cuando las frecuencias en la interfase eran mayores, que alude a que durante la oscilación de la superficie se llevaba a cabo la adsorción de moléculas del hidrocoloide, comportamiento atribuido a la estructura que posee (Miller

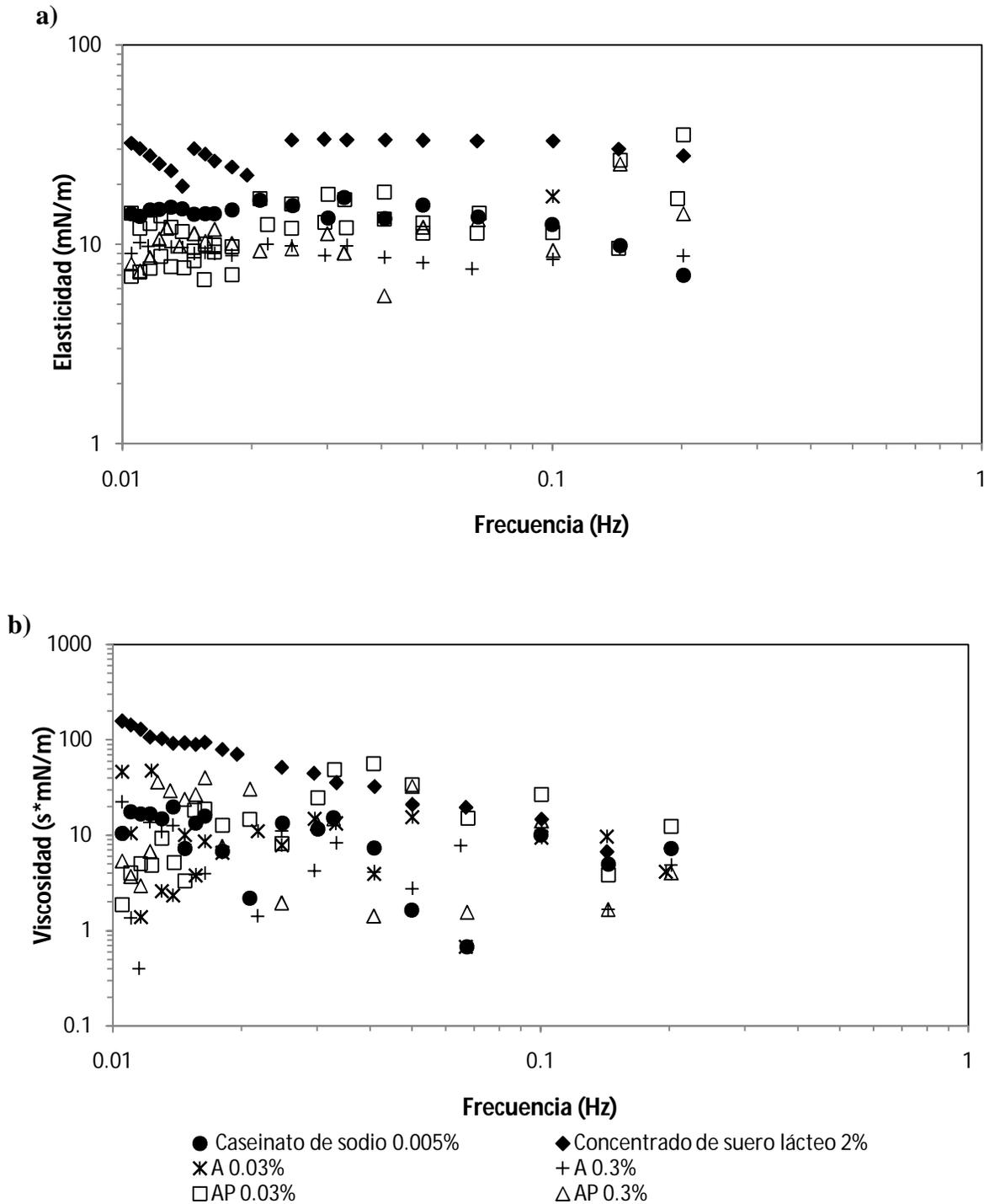


Figura 3.17 (a) Elasticidad dilatacional y (b) viscosidad dilatacional para las disoluciones de las proteínas y los polisacáridos de estudio. A: Almidón de maíz céreo entrecruzado AP: Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.

y col., 1996; Santini y col., 2007), lo que se reflejó en una mayor resistencia ante la deformación favoreciendo el carácter elástico del sistema.

En la Figura 3.17(b) se muestra la viscosidad dilatacional de ambos almidones a las dos concentraciones, en la que se aprecia que no existe una tendencia clara de los puntos que se explica probablemente a la desorción de las moléculas de hidrocoloide en la superficie. Por lo que se puede decir que las superficies compuestas por almidones poseen un carácter viscoso y elástico al mismo tiempo.

Se obtuvieron los valores promedio de los datos correspondientes a la elasticidad de los almidones a las dos concentraciones de estudio para poder tratar y ver de manera clara el comportamiento de los polisacáridos y poderlo comparar con las proteínas (Cuadro 3.11). En el que se aprecia que el empleo de distintas concentraciones de estudio trajo consigo una ligera diferencia en los parámetros viscoelásticos dilatacionales de cada disolución (Figura 3.17a). A bajas concentraciones en disolución se alcanzaron valores mayores de elasticidad para ambos almidones.

Cuadro 3.11 Valores de elasticidad dilatacional promedio para los almidones y proteínas.

Promedio elasticidad dilatacional (mN/m)		
	Concentración	Elasticidad
Almidón de maíz céreo entrecruzado	0.03%	12.07
	0.3%	9.18
Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado	0.03%	12.24
	0.3%	10.93
Caseinato de sodio	0.05%	14.06
Concentrado de suero lácteo	2%	29.08

Con base en lo reportado por Dickinson (2009) y Fennema (2005), sugiere que al haber un mayor número de gránulos en el sistema y debido al tamaño macromolecular que poseen se producía una obstrucción para la formación de la

monocapa, por lo que se obtenía una superficie menos rígida que al utilizar una menor concentración.

En general, los almidones a las dos concentraciones presentaron una interfase menos rígida en comparación con las dos proteínas (Figura 17a y Cuadro 3.11), comportamiento atribuido al carácter anfipático que presentan estas últimas revelando de esta manera la alta fuerza de atracción entre la superficie y las proteínas, como se vio en la sección 3.2. Sin embargo, a medida que se iban aumentando las frecuencias de trabajo el comportamiento del caseinato de sodio y los almidones se mostró semejante, lo que se sugiere es debido al carácter flexible que posee la proteína.

Se estudió también la influencia del almidón de maíz céreo entrecruzado y almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado sobre el comportamiento viscoelástico dilatacional del caseinato de sodio y del concentrado de suero lácteo a dos concentraciones distintas del hidrocoloide.

En el caso de las mezclas de caseinato de sodio (Figura 3.18a) se aprecia que en general, el comportamiento estuvo dominado por la proteína, ya que las curvas correspondientes a las mezclas en disolución siguen una tendencia muy similar al de la proteína sola (como se vio en la sección 3.2, que la proteína es quien predomina en la interfase), debido a las características anfipáticas que posee, que le confieren una mayor fuerza de atracción con la interfase que sugiere que hubo un desplazamiento por parte del caseinato de sodio de las moléculas de los almidones por la incompatibilidad termodinámica entre ambos biopolímeros (Pérez y col, 2009a; Baeza y col., 2005; Doublier y col., 2000; Damodaran y Paraf, 1997; Dickinson, 2003), presentando las monocapas adsorbidas por las disoluciones de las mezclas un carácter elástico similar al del caseinato de sodio (Hill y col., 1998).

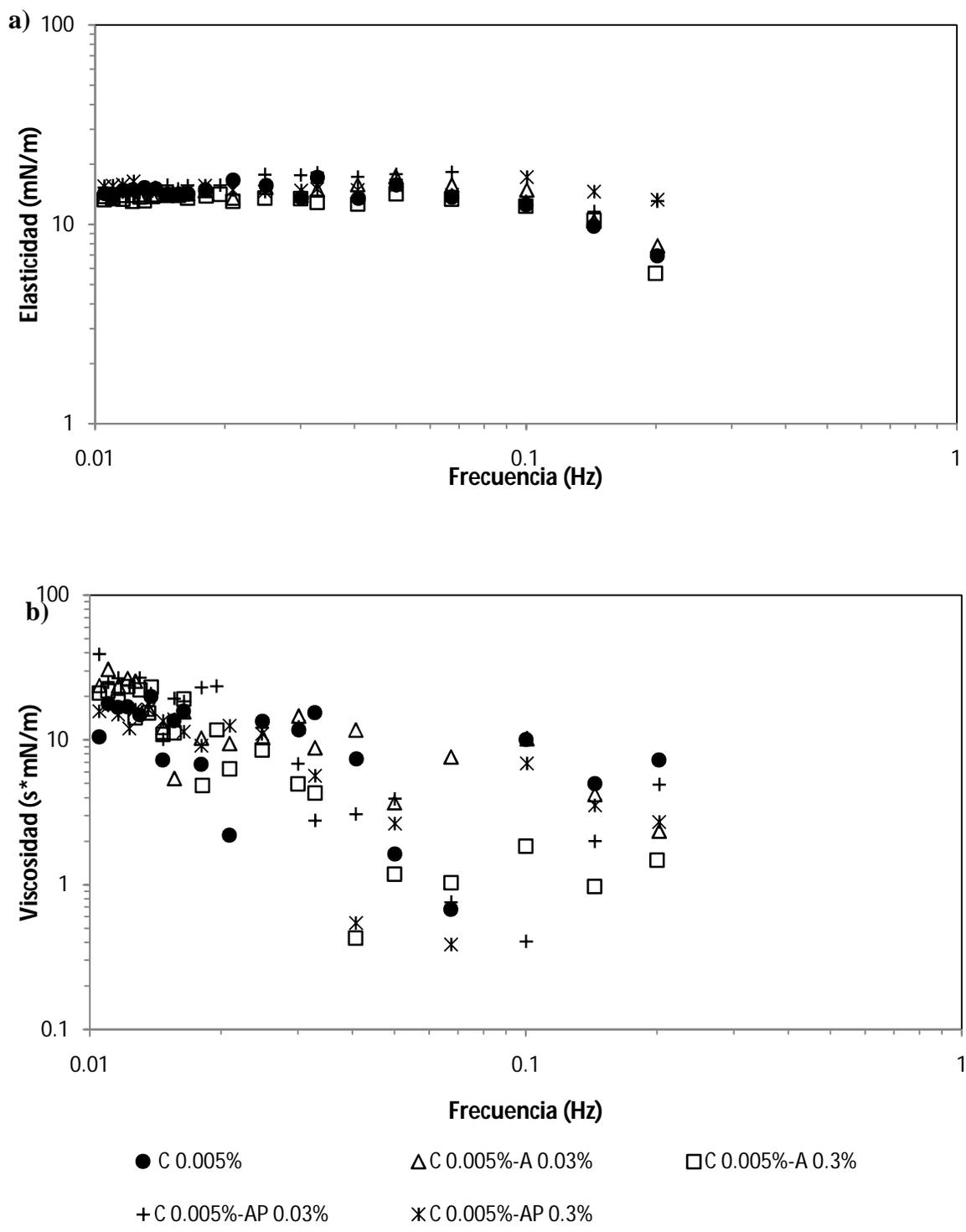


Figura 3.18 (a) Elasticidad dilatacional y (b) viscosidad dilatacional para las disoluciones de caseinato de sodio en mezcla con los almidones de estudio. C: Caseinato de sodio A: Almidón de maíz céreo entrecruzado AP: Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado

Al observar el comportamiento de la curva perteneciente a la mezcla de caseinato de sodio con almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado (Figura 3.18a), se aprecia que a medida que se incrementaba la frecuencia de la interfase, la monocapa adsorbida iba oponiendo una ligera mayor resistencia a la deformación en comparación con el caseinato de sodio solo y su mezcla con almidón de maíz céreo entrecruzado reflejándose en una mayor elasticidad. Este comportamiento alude a que durante la oscilación de la interfase los gránulos de almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado ocuparon un lugar en la superficie, contribuyendo a la elasticidad de la misma. Este comportamiento se presenta en la Figura 3.20(a), la cual es una propuesta del acomodo de las moléculas adsorbidas de la mezcla caseinato de sodio con almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado, basada en los trabajos de Dickinson (2009) y Baeza y col. (2005).

El carácter elástico de las monocapas adsorbidas por las mezclas de caseinato de sodio con los polisacáridos a las dos concentraciones se constata con los valores obtenidos de viscosidad que se presentan en la Figura 3.18(b), los cuales muestran una disminución hasta la frecuencia de 0.03 Hz, pasando de la misma se aprecia una dispersión de los puntos, el primer fenómeno refleja la ausencia de un proceso de relajación y el segundo la presencia del fenómeno de adsorción en la superficie durante la perturbación de la misma.

Asimismo en el Cuadro 3.12 se muestran los valores de elasticidad dilatacional correspondientes al caseinato de sodio solo y en mezcla con los almidones a las dos concentraciones de estudio, todas tomadas a la frecuencia de 0.04Hz, en donde se aprecia que las interfases compuestas por la mezcla de proteína y los dos tipos de almidón en una concentración de 0.3% tuvieron un valor de elasticidad similar al del caseinato de sodio solo. Por el contrario, al utilizar una concentración de 0.03% de polisacárido se obtuvo una ligera mayor elasticidad dilatacional. La superficie constituida por la mezcla con almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado a la

menor concentración fue la que tuvo el mayor carácter elástico en comparación con la interfase constituida únicamente por la proteína (Figura 3.20a). Lo que sugiere que la presencia del almidón en la interfase líquido-aire contribuyó a la disminución del gradiente de tensión.

Cuadro 3.12 Valores de elasticidad dilatacional para el caseinato de sodio y sus mezclas con los almidones a una frecuencia 0.04Hz.

Elasticidad dilatacional (mN/m)	
Caseinato de sodio	13.42
Caseinato de sodio 0.005%- Almidón de maíz céreo entrecruzado 0.03%	15.13
Caseinato de sodio 0.005%- Almidón de maíz céreo entrecruzado 0.3%	12.66
Caseinato de sodio 0.005%- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.03%	17.85
Caseinato de sodio 0.005%- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.3%	13.95

De la misma manera que con el caseinato de sodio, se estudió la influencia de los polisacáridos a dos concentraciones sobre las propiedades reológicas dilatacionales del concentrado de suero lácteo.

En la Figura 3.19(a) se muestran los resultados obtenidos, en los cuales se observa que el comportamiento que tuvieron las mezclas es similar al del concentrado de suero lácteo solo, lo que indica que la adsorción de la interfase está dominada por la proteína y por consiguiente el comportamiento viscoelástico dilatacional también, que para este caso muestra un carácter rígido. Lo cual se confirma al observar la Figura 3.19(b), que muestra una clara disminución del módulo de pérdida a medida que aumentó la frecuencia de trabajo, que refleja la ausencia del carácter viscoso en el sistema. Garofalakis y Murray (2001) encontraron que la proteína aún cuando está en presencia de otro componente de distinta naturaleza, es la que domina el comportamiento elástico en la interfase, lo cual atribuyen a las características surfactantes del biopolímero.

a)

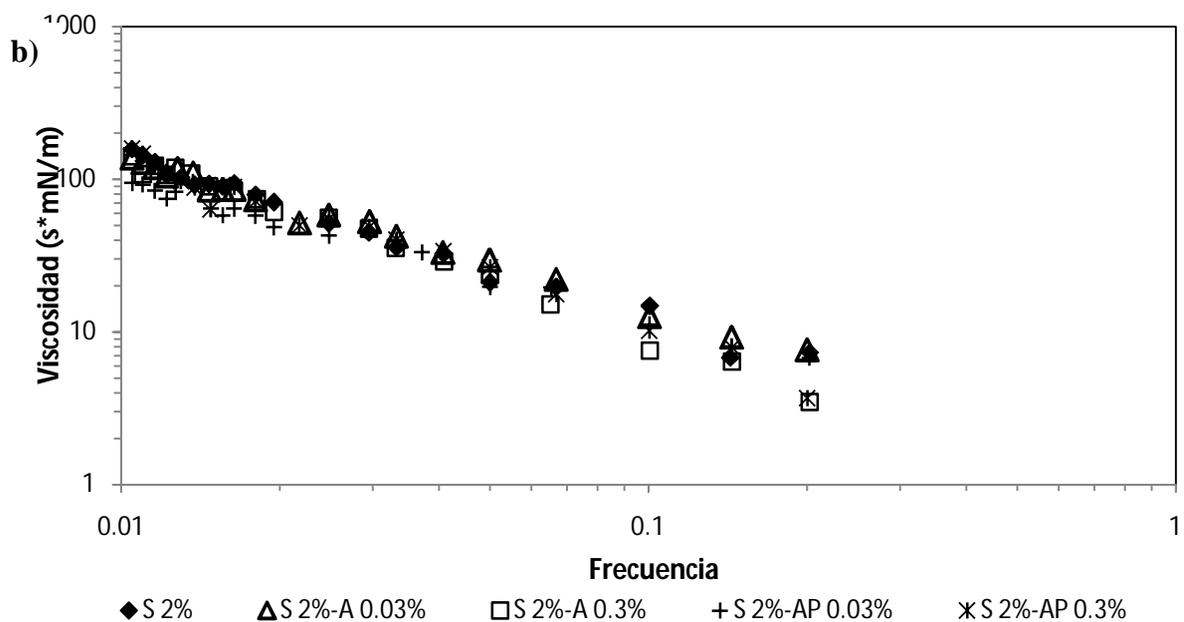
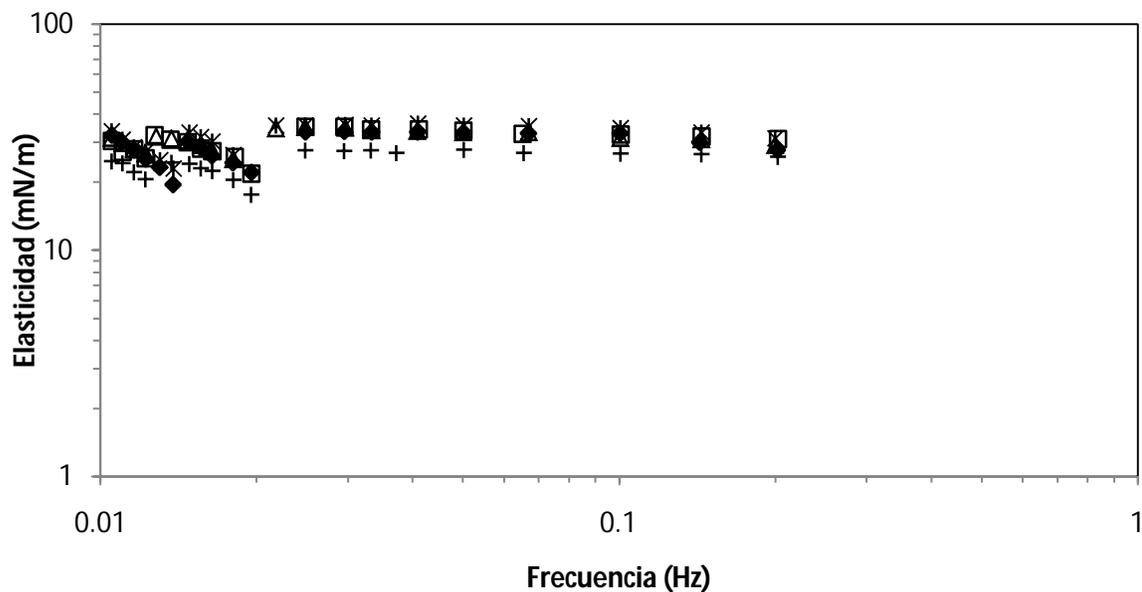


Figura 3.19 (a) Elasticidad dilatacional y (b) viscosidad dilatacional para las disoluciones de concentrado de suero lácteo en mezcla con los almidones de estudio. S: Concentrado de suero lácteo; Almidón de maíz céreo entrecruzado AP: Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.

En el Cuadro 3.13 se muestran los valores de elasticidad dilatacional pertenecientes al concentrado de suero lácteo y las mezclas de proteína con los almidones a las dos concentraciones, en las que se aprecia que en este caso la presencia de ninguno de los dos tipos de almidón a las dos concentraciones de estudio tuvo un efecto a favor de los parámetros reológicos dilatacionales, ya que los valores del módulo elástico pertenecientes a las mezclas es semejante al de la proteína sola. Este fenómeno, se sugiere es debido a la repartición de los residuos polares y no polares de manera uniforme que le confieren al concentrado de suero lácteo una estructura rígida (Fennema, 1995; Cheftel y col., 1989) y a la incompatibilidad termodinámica que existe entre esta proteína y los dos tipos de almidones estudiados (Sección 3.2), siendo la proteína quien domina la adsorción en interfase, fenómeno que se reflejó en la elasticidad dilatacional similar a la de la proteína sola (Figura 19a).

Cuadro 3.13 *Valores de elasticidad dilatacional para el concentrado de suero lácteo y sus mezclas con los almidones a una frecuencia 0.04Hz.*

Elasticidad dilatacional (mN/m)	
Concentrado de suero lácteo	33.46
Concentrado de suero lácteo 2%- Almidón de maíz céreo entrecruzado 0.03%	33.67
Concentrado de suero lácteo 2%- Almidón de maíz céreo entrecruzado 0.3%	33.9
Concentrado de suero lácteo 2%- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.03%	27.11
Concentrado de suero lácteo 2%- Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.3%	34.15

Sin embargo, en la Figura 3.19(a) y en el Cuadro 3.13 se aprecia que la mezcla concentrado de suero lácteo-almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.03% mostró un carácter menos elástico incluso que la proteína sola, esta tendencia se sugiere es atribuida a la estructura del almidón, que alude a que una vez adsorbido en la superficie a través de interacciones hidrofílicas atraía a más gránulos del polisacárido a su alrededor, obstaculizando el reacomodo de las moléculas de proteína en ella, manifestándose en una menor oposición a la deformación. En la Figura 3.20(b) se presenta una propuesta de acomodo en la superficie del sistema de estudio. Este comportamiento no se presentó en el caseinato de sodio, que se sugiere fue debido a la

estructura flexible que posee permitiendo que se adsorbieran los gránulos de almidón, favoreciendo con ello el carácter elástico del sistema.

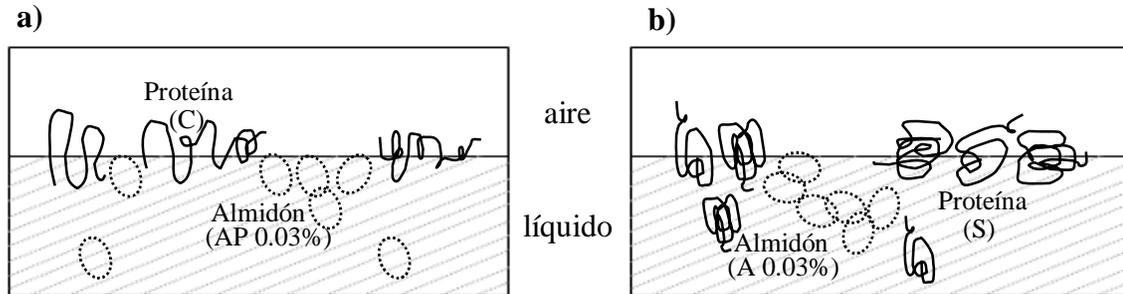


Figura 3.20 Propuesta de representación esquemática de adsorción durante la perturbación de la superficie de disoluciones de las mezclas de (a) Caseinato de sodio – AP y (b) Concentrado de suero lácteo – A en medio acuoso. *S*: concentrado de suero lácteo *C*: caseinato de sodio *A*: Almidón de maíz céreo entrecruzado *AP*: Almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado.

Al evaluar la elasticidad de las proteínas lácteas en mezcla con los almidones modificados (adipato acetilado de dialmidón) se encontró que las proteínas dominan en la interfase líquido-aire, debido a que son las que se adsorben primero y a su vez las superficies compuestas por ellas poseen un carácter elástico. Lo que indica que al tener en un sistema en conjunto estas proteínas con los polisacáridos de estudio, los almidones no van a interferir en la formación y van a contribuir a la estabilidad del sistema. Sin embargo en el caso de la mezcla de concentrado de suero lácteo con almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado al 0.03% se obtuvo una superficie ligeramente menos elástica en comparación con las demás mezclas correspondientes a esta misma proteína. Pero de igual manera el carácter elástico es el que predomina en la superficie.

CONCLUSIONES

Se estudiaron las propiedades de superficie del caseinato de sodio y del concentrado de suero lácteo, en las cuales se encontró que el caseinato de sodio es una proteína con una mayor capacidad para reducir la tensión en la interfase líquido-aire, en comparación con el concentrado de suero lácteo, que se reflejó en el valor de la concentración crítica de adsorción, el cual indica que se requiere de una mayor concentración para saturar la superficie compuesta por esta última proteína.

Asimismo se observó que el almidón de maíz céreo entrecruzado y el almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado poseen un bajo carácter anfipático al utilizarlos solos y en mezcla con las proteínas de estudio, siendo estas últimas quienes dominan la adsorción en la interfase, por lo que el comportamiento de las mezclas es similar al que presentaron las proteínas, lo que se manifestó en una concentración crítica de adsorción igual a la de las proteínas solas. Sin embargo, con la mezcla caseinato de sodio-almidón de maíz céreo entrecruzado, se observó una ligera disminución de la tensión en la interfase, aunque mostrando al igual que las anteriores mezclas una concentración crítica de adsorción igual a la de la proteína presente, reflejando la incompatibilidad termodinámica también para esta mezcla.

En el estudio de la reología en la interfase se observó que la película formada con concentrado de suero lácteo fue la que presentó la mayor elasticidad dilatacional, seguida de la del caseinato de sodio. Asimismo al evaluar las propiedades dilatacionales de las mezclas de caseinato de sodio y concentrado de suero lácteo con almidón de maíz céreo entrecruzado y el almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado respectivamente, se vio que el comportamiento está dominado por las proteínas, reflejando las películas interfaciales un carácter elástico. Sin embargo, el empleo de la mezcla caseinato de sodio-almidón de maíz céreo entrecruzado pregelatinizado 0.03%, produjo una monocapa con características ligeramente más elásticas, incluso que la

formada con la proteína sola. Por el contrario la presencia de este almidón a la misma concentración en la interfase formada con concentrado de suero lácteo mostró una menor elasticidad en comparación con la proteína sola.

Por lo que se puede decir que al utilizar las moléculas de estudio para la formación de un sistema (espuma) las proteínas tendrán el papel de agente formador al disminuir la tensión de la superficie, mientras que los almidones serán los agentes estabilizantes al no interactuar con la interfase, concentrándose en la fase continua manteniendo la estructura homogénea y proporcionando la textura del sistema disperso. Características que se verán reflejadas directamente sobre la reología y textura final del alimento, así como en la estabilidad a largo plazo del producto.

RECOMENDACIONES

Formar espumas con los sistemas estudiados en el presente trabajo con el fin de estudiar la aplicación de los mismos, sobre la formación, rendimiento y estabilidad del sistema.

Realizar el estudio de un almidón modificado químicamente para adquirir características anfipáticas, con el objeto de ver la influencia que tiene sobre las características de adsorción y de reología dilatacional de las proteínas lácteas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abascal D. M., Gracia-Fadrique J., (2009). Surface tension and foam stability of commercial calcium and sodium caseinates. *Food Hydrocolloids*, 23, 1848–1852.
- Acharya D. P., Gutierrez J. M., Aramaki K., Aratani, K., Kunieda, H., (2005). Interfacial properties and foam stability effect of novel gemini-type surfactants in aqueous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 291, 236–243.
- Anton Paar, (2010), Documentación técnica. Consultado 21 Noviembre, 20010. Disponible en http://www.wolflabs.co.uk/Catalogue/Anton_Paar_Density_Meter_DMA38.pdf
- Baeza R. I., Carrera C., Pilosof, A. M. R., Patino R. J. M., (2005). Interactions of polysaccharides with β -lactoglobuline adsorbed films at the air–water interface. *Food Hydrocolloids*, 19, 239–248.
- Barnes G. T., Gentle J. R., (2005). *Interfacial science, an introduction*. New York, E.U.A. Oxford.
- Belitz, H. D., Grosch W., (1988). *Química de los alimentos*. Zaragoza, España. Acribia.
- Beverung C.J., Radke C.J., Blanch H.W., (1999). Protein adsorption at the oil/water interface: characterization of adsorption kinetics by dynamic interfacial tension measurements. *Biophysical Chemistry*, 81, 59-80.
- Brew K., Grobler J. A. (1992). *α -Lactalbumin, London: Elsevier applied science, Advanced dairy chemistry: Proteins*. Fox.
- Bouaouina H., Desrumaux A., Loisel C., Legrand J., (2006). Functional properties of whey proteins as affected by dynamic high-pressure treatment, *International Dairy Journal*, 16, 275–284.
- Boss A. M., Vliet B., (2001). Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: a review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 91, 437-471.
- Butt H. J., Graf K., Kappl M., (2006). *Physics and chemistry of interfaces*. 2^a. Republic federal, Germany. Wiley-VCH.
- Carrera S. C., Rodríguez P. J. M., (2005). Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocolloids*, 19, 407–416.

- Charlambous G., Doxastakis G., (1989). *Food emulsifiers, chemistry, technology, functional properties and applications*. New York E.U.A. Elsevier.
- Cheftel J. C., Jean L., Lorient D. (1989). *Proteínas alimentarias, bioquímica-propiedades funcionales, valor nutricional, modificaciones químicas*. Zaragoza, España. Acribia.
- Clyde E. S., (1997). *Emulsifiers*. Eagan Press. E.U.A.
- Creamer, L. K., MacGibbon, A. K. H., (1996). Some recent advances in the basic chemistry of milk proteins and lipids. *International Dairy Journal*, 6(6), 539–568.
- Croguennec T., Renault A., Bouhallab S., Pezennec S., (2006). Interfacial and foaming properties of sulfhydryl-modified bovine b-lactoglobulin. *Journal of Colloid and Interface Science*, 302(1), 32–39.
- Damodaran S., Paraf A., (1997). *Food proteins and their applications*. New York, E.U.A. Marcel Dekker.
- Damodaran S., Razumovsky L., (2003). Competitive adsorption and thermodynamic incompatibility of mixing of beta-casein and gum arabic at the air-water interface. *Food Hydrocolloids*, 17, 355-363.
- Dickinson E., (1995). *Emulsions stabilization by polysaccharides and protein-polysaccharide complexes* A.M. Stephen. *Food Polysaccharides and their applications*. New York, E.U.A. Marcel Dekker.
- Dickinson E., (1999). Caseins in emulsions: interfacial properties and interactions. *International Dairy Journal*, 9, 305-312.
- Dickinson E., Krishna S., (2001). Aggregation in a concentrated model protein system: a mesoscopic simulation of b-casein self-assembly. *Food Hydrocolloids*, 15, 107-115.
- Dickinson E., (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25–39.
- Dickinson E., (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23, 1473–1482.
- Doublier J. L., Garnier L., Renarda D., Sanchez D., (2000). Protein-polysaccharide interactions. *Current Opinion in Colloid e Interface Science*, 5, 202-214.
- Dukhin, S. S., Kretzschmar, G., Miller, R., (1995). *Dynamics of adsorption at liquid interfaces*. Amsterdam: Elsevier.

- Elofsson U. M., Paulsson M. A., Arnebrant T., (1997). Adsorption of β -lactoglobulin A and B: effects of ionic strength and phosphate ions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 8, 163-169.
- Fainerman V.B., Aksenenko E.V., Lylyk S.V., Makievski A.V., Ravera F., Petkov J.T., Yorke J., Miller R., (2009a). Adsorption layer characteristics of Tritons surfactants 1. Dilational visco-elasticity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemistry engineering aspects*, 334, 1-7.
- Fainerman V.B., Aksenenko E.V., Lylyk S.V., Makievski A.V., Ravera F., Petkov J.T., Yorke J., Miller R., (2009b). Adsorption layer characteristics of Tritons surfactants 3. Dilational visco-elasticity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemistry engineering aspects*, 334, 16–21.
- Fennema O.R., (1995). *Química de los Alimentos*. Zaragoza, España. Acribia.
- Garofalakis G., Murray B.S., (2001). Dilatational rheology and foaming properties of sucrose monoesters in the presence of β -lactoglobulin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 21, 3–17.
- Grosberg A.Y., Khokhlov A. R., (1997). *Giant Molecules*. San Diego, E.U.A. Academic.
- Heeres A., Van Doren H. A., Gotlieb K. F., Bleeker I. P., R.M. Kellogg, (1998). Cross-linking of starch with bifunctional precursors of nitroalkenes. *Carbohydrate Research*, 310, 191-201.
- Hill S. E., Ledward D. A., Mitchel J. R., (1998). *Fuctional properties of food macromolecules*. Aspen publication. Gran Bretaña.
- Hirsch J. B., Kokini J. L., (2002). Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP, and EPI) through swelling behaviour and pasting properties of cross-linked waxy maize starches. *Cereal Chemistry*, 79, 102–107.
- Hong Y-H, Creamerb L. K., (2002). Changed protein structures of bovine β -lactoglobulin B and α -lactalbumin as a consequence of heat treatmentInternational. *Dairy Journal*, 12, 345–359.
- Ivanov I. B., Danov K. D., Ananthapadmanabhan K. P., Lips A., (2005). Interfacial rheology of adsorbed layers with surface reaction: On the origin of the dilatational surface viscosity. *Advances in Colloid and Interface Science*, 114– 115 ,61 – 92.

- Jaspreet S., Lovedeep K., McCarthy O. J., (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids* 21, 1–22.
- Jaycock M. J., Parfitt G. D., (1986). *Chemistry of interfaces*. Chichester, Inglaterra. Ellis Horwood Limited.
- Jirgensons B., Straumanis E. M., (1965). *Compendio de química coloidal*. D.F., México. Continental.
- Joos, P., (1999). *Dynamic surface phenomena*. The Netherlands: VSP BV, AH Zeist.
- Krastanka G. M., Basheva S. E., Nenova B., Temelska M., Mirarefi A. Y., Campbell B., Ivanov I. B., (2009). Physico-chemical factors controlling the foamability and foam stability of milk proteins: Sodium caseinate and whey protein concentrates. *Food Hydrocolloids*, 23, 1864–1876.
- Kralchevsky P. A., Danov K. D., Denkov N. D., (2008). *Chemical physics of colloid systems and interfaces*. In K.S. Birdi *Handbook of Surface and Colloid Chemistry* 3ra. New York, E.U.A. CRC Press.
- Martin A. H., Grolle K., Bos M. A., Cohen Stuart M. A., Van Vliet T., (2002). Network forming properties of various proteins adsorbed at the air/water interface in relation to foam stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 254(1), 175–183.
- Mettler-Toledo, (2010), Documentación técnica. Consultado 21 Noviembre, 2010. Disponible en http://www.es.mt.com/es/es/home/supportive_content/magazines/Cosmetics_eNews_Laboratory.z2vUzxjPy0vKAxrVCMLHBfbHCI41nZKZ.CosmeticsNews_2.MediaFileComponent.html/cosmetics_2_sp.pdf
- Miller R., Wfistneck R., Krfigel J., Kretzschmar G., (1996). Dilational and shear rheology of adsorption layers at liquid interfaces. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 111, 75-118.
- Mohanty B., Mulvihill D. M., Fox P. F., (1988). Emulsifying and foaming properties of acidic caseins and sodium caseinate. *Food Chemistry*, 28, 17-30.
- Muñoz J., Alfaro M. C., Zapata I., (2007). Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas y Aceites*, 58 (1), 64-73.

- Murray S. B., (2002). Interfacial rheology of food emulsifiers and proteins. *Current Opinion in Colloid e Interface Science*, 7, 426-431.
- Nahringbauer, I., (1995). Dynamic surface tension of aqueous polymer solutions, I: Ethyl (hydroxyethyl) cellulose (BERMOCOLL cst-103). *Journal of Colloid and Interface Science*, 176, 318–328.
- Nilsson, L. y Bergenstahl B. (2007). Adsorption of hydrophobically modified anionic starch at oppositely charged oil/water interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, 308, 508–513.
- Norde W., (2003). *Colloids and interfaces in life sciences*. New York, E.U.A. Marcel Dekker.
- Patiño, J. M. R., Sanchez, C. C., Niño, M. R. R., (2008). Implications of interfacial characteristics of food foaming agents in foam formulations. *Advances in Colloid and Interface Science*, 140(2), 95–113.
- Pérez E. O., Sánchez C. C., Pilosof M. R. A., Patiño R. J. M., (2007). Adsorption dynamics and surface activity at equilibrium of whey proteins and hydroxypropyl-methyl-cellulose mixtures at the air-water interface. *Food Hydrocolloids*, 21, 794-803.
- Pérez A., Carrara C. R., Sánchez C. C., Santiago L. G., Patiño R. J. M., (2009a). Interfacial dynamic properties of whey protein concentrate/polysaccharide mixtures at neutral pH. *Food hydrocolloids*, 23, 1253–1262.
- Pérez E. O., Sánchez C. C., Pilosof M. R. A., Patiño R. J. M., (2009b). Kinetics of adsorption of whey proteins and hydroxypropyl-methyl-cellulose mixtures at the air-water interface. *Journal of Colloid and Interface Science*, 336, 485-496.
- Pérez E. O., Sánchez C. C., Pilosof M. R. A., Patiño R. J. M., (2009c). Surface dilatational properties of whey protein and hydroxypropyl-methyl-cellulose mixed systems at the air-water interface. *Journal of Food Engineering*, 94, 274-282.
- Piech M., Walch J. Y., (2000). Analytical expressions for calculating the depletion interaction produced y charged spheres and spheroids. *Langmuir*, 16, 7895-7899.
- Prochaska K., Kędziora P., Le Thanh J., Lewandowicz G., (2007). Surface activity of commercial food grade modified starches. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 60, 187–194.

- Raikos V., (2009). Effect of heat treatment on milk protein functionality at emulsion interfaces. A review. *Food Hydrocolloids* xxx, 1–7.
- Ravera F., Liggieri L., Loglio D., (2009). Dilational rheology of adsorbed layers by oscillating drops and bubbles. En *Interfacial Rheology* (Miller R., Liggieri L. eds.) Progress in Colloid and Interface Science, vol. 1 . Brill, Leiden.
- Rodríguez N. M., Carrera S. C., Rodríguez P. J. M., (1999). Interfacial characteristics of β -casein spread films at the air-water interface. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 12, 161–173.
- Rodríguez N. M., Carrera S. C., Rodríguez P. J. M., (2002). Efecto de la temperatura sobre películas de un aislado proteico del suero bovino (WPI) adsorbidas sobre la interfase aceite-agua. *Grasas y Aceites*, 53, 3340-351.
- Rodríguez N. M., Carrera S. C. Pizones V., Rodríguez P. J.M., (2004). Milk and soy Proteins films at the air–water interface. *Food Hydrocolloids*. in this issue, doi:10.1016/j.foohyd.2004.10.008.
- Rodríguez P. J. M., Fernández C. M., Carrera S. C., Rodríguez N., (2007). Structural and shear characteristics of adsorbed sodium caseinate and monoglyceride mixed monolayers at the air-water interface. *Journal of Colloid and Interface Science* 313, 141-151.
- Sánchez C., Rodríguez N. M. R., Caro A. L., Rodríguez P. J. M., (2005). Biopolymers and emulsifiers at the air-water interface. Implications in food colloid formulations. *Journal of Food Engineering*, 67, 225–234.
- Santini E., Ravera F., Ferrari M., Stubenrauch C., Makievski A., Kr̄agel J., (2007). A surface rheological study of non-ionic surfactants at the water-air interface and the stability of the corresponding thin foam films. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Engineering aspects*, 298, 12–21.
- Santos O., Nylander T., Paulsson M., Trāgārdh C., (2006). Whey protein adsorption onto steel surfaces—effect of temperature, flow rate, residence time and aggregation. *Journal of Food Engineering*, 74, 468–483.
- Seow C. C., Thevamalar K., (1993). Internal plasticization of granular rice starch by hydroxypropylation: Effects on phase transitions associated with gelatinization. *Starch*, 45, 85–88.

- Simeone M., Alfani A., Guido S., (2004). Phase diagram, rheology and interfacial tension of aqueous mixtures of Na-caseinate and Na-alginate. *Food Hydrocolloids*, 18, 463-470.
- Singh J., Kaur L., McCarthy O. J., (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications. A review *Food Hydrocolloids*, 21, 1–22.
- Schokker E. P., Singh H., Creamer L. K., (2000). Heat-induced aggregation of β -lactoglobulin A and B with α -lactalbumin. *International Dairy Journal*, 10, 843–853.
- Svenson E., Gudmundsson M., Eliasson A. C., (1996). Binding of sodium dodecylsulphate to starch polysaccharides quantified by surface tension measurements. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 6, 227-233.
- Tadros T. F., (2007). *Colloid stability. The role of surface forces-part 1*. Republic federal, Germany. Wiley-VCH.
- Thomas J. D., Atwell A. W., (1999). *Starches*. E.U.A. Eagan press.
- Toral M. T., (1973). *Fisicoquímica de superficies y sistemas dispersos*. Bilbao. URMO.
- Valderrama M. J., (2006). Caracterización interfacial de proteínas y tensoactivos: Aplicación a dispersiones alimenticias. Grupo de física de fluidos y biocoloides, Universidad de Granada, Granada. Consultado 23 Enero, 2010. Disponible en http://www.google.com.mx/search?sourceid=navclient&hl=es&ie=UTF-8&rlz=1T4ADRA_esMX402MX402&q=caracterizacion+de+proteinas+y+tensoactivos%2c+aplicacion+a+dispersiones+alimentarias
- Wattanchant S., Muhammad K., Hashim D., Rahman R. A., (2003). Effect of cross-linking reagents and hydroxypropylation levels on dual-modified sago starch properties. *Food Chemistry*, 80, 463-471.
- Whistler L.R., BeMiller N. J., Paschall F. E., (1984). *Starch, chemistry and technology*. 2ª. Florida E.U. Academic.
- Wong W. S. D., (1995). *Química de los alimentos: mecanismos y teoría*. Zaragoza, España. Acribia.
- Wurzburg O. B., (1986). *Modified starches: properties and uses*. Florida, E.U.A. CRC.
- Yeung Y., Zhang L., (2006). Shear effects in interfacial rheology and their implications on oscillating pendant drop experiments. *Langmuir*, 22, 693-701.