



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PROPIEDADES DE FLUJO, REGÍMENES DE
CONCENTRACIÓN Y VISCOSIDAD INTRÍNSECA DE
SOLUCIONES DE GELANA DE ALTO ACILO SIN
CONTRAIONES EXTERNOS**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

PRESENTA

JOSÉ RODRIGO MEJÍA VELÁZQUEZ



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** Joaquín Palacios Alquisira

VOCAL: **Profesor:** Agustín Reyó Herrera

SECRETARIO: **Profesor:** Alberto Tecante Coronel

1er. SUPLENTE: **Profesora:** Argelia Sánchez Chinchillas

2° SUPLENTE: **Profesora:** Verónica García Saturnino

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Departamento de Alimentos y Biotecnología. Laboratorio 313, Conjunto E, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Alberto Tecante Coronel

SUPERVISOR TÉCNICO:

I. A. Mariana Ramírez Gilly

SUSTENTANTE (S):

José Rodrigo Mejía Velázquez

*No bird soars too high
if he soars with his own
wings*

William Blake

Índice

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Objetivo.....	3
Objetivos específicos.....	4
Hipótesis.....	4
Capítulo 1. Gelana de alto acilo.....	5
1.1 Estructura.....	6
1.2 Propiedades funcionales.....	7
1.3 Estudios previos sobre reología y propiedades en disolución acuosa de la GAA.....	8
Capítulo 2. Materiales y métodos.....	15
2.1 Materiales.....	15
2.2 Preparación de disoluciones de GAA.....	16
2.3 Determinación de humedad.....	16
2.4 Concentración de GAA por el método de Fenol-Sulfúrico.....	16
2.5 Proteína soluble por el método de Lowry.....	16
2.6 Determinación de viscosidades.....	17
2.7 Determinación de la concentración crítica y cálculo de la viscosidad intrínseca.....	17
2.8 Ajuste de datos a modelos empíricos.....	18
2.9 Análisis estadístico.....	18
Capítulo 3. Resultados y discusión.....	19
3.1 Propiedades de flujo en cizalla estacionaria angular.....	19
3.2 Descripción de las propiedades de flujo mediante modelos empíricos (Carreau-Yasuda, Cross y Ley de Potencia).....	22
3.3 Regímenes de concentración.....	26
3.4 Viscosidad intrínseca.....	28
Conclusiones.....	36
Referencias.....	37
Anexo A Pruebas estadísticas t de Student y ANOVA de dos factores.....	39
Anexo B Composición general de la GAA.....	42

Índice de figuras

Figura 1. Estructuras primarias ideales de la gelana de alto (arriba) y de bajo acilo (abajo). _____	6
Figura 2. Doble extrapolación de datos experimentales ajustados por las ecuaciones de Huggins (arriba) y de Kraemer (abajo). _____	11
Figura 3. Concentración crítica de GBA (Jampen et al., 2000). _____	12
Figura 4. Ejemplo de los cambios de la viscosidad aparente, $\eta(\dot{\gamma}) = \sigma/\dot{\gamma}$, en función de la rapidez de deformación de un polímero biológico (Rao, 2007). _____	13
Figura 5. Diagrama general de experimentación. _____	15
Figura 6. Comportamiento de flujo de disoluciones de GAA para determinar C^* . _____	19
Figura 7. Comportamiento de flujo de disoluciones de GAA para determinar $[\eta]$. _____	21
Figura 8. Curvas de flujo de disoluciones de GAA para la determinación de C^* . _____	22
Figura 9. Curvas de flujo de disoluciones de GAA para la determinación de $[\eta]$. _____	24
Figura 10. Ajuste del comportamiento de flujo de disoluciones con diferentes concentraciones de GAA a los modelos de Ley de Potencia (línea marrón), Carreau-Yasuda (línea rosa) y Cross (línea roja). _____	22
Figura 11. Ajuste de los comportamientos de flujo con el modelo de Cross de disoluciones con diferente concentración de GAA. _____	24
Figura 12. Ajuste de los comportamientos de flujo con el modelo de Carreau-Yasuda de disoluciones con diferente concentración de GAA. _____	24
Figura 13. Ajustes de los comportamientos de flujo con el modelo de Ley de Potencia de disoluciones con diferente concentración de GAA. _____	26
Figura 14. Determinación de C^* usando las condiciones primarias a partir de η_0 (a) y η a 15.9 s^{-1} (b) y en condiciones secundarias con η a 15.0 s^{-1} (c). _____	27
Figura 15. Determinación de $[\eta]$ por doble extrapolación de datos de viscometría capilar. _____	28
Figura 16. Gráfico de doble extrapolación obtenido por viscometría rotacional en condiciones primarias. _____	29
Figura 17. Gráfico de doble extrapolación obtenido por viscometría rotacional en condiciones secundarias. _____	30

Figura 18. Determinación de $C^*[\eta]$ para las condiciones primarias con η_0 y $[\eta]$ obtenidas por viscosimetría capilar (a) y viscosimetría angular en condiciones primarias (b) y secundarias (c).

_____ 34

Figura 19. Determinación de $C^*[\eta]$ para las condiciones primarias con η a $\gamma = 15.9 \text{ s}^{-1}$ y $[\eta]$ obtenida por viscosimetría capilar (a) y viscosimetría angular en condiciones primarias (b) y secundarias (c).

_____ 33

Figura 20. Determinación de $C^*[\eta]$ para las condiciones primarias con η a $\gamma = 15.0 \text{ s}^{-1}$ y $[\eta]$ obtenida por viscosimetría capilar (a) y viscosimetría angular en condiciones primarias (b) y secundarias (c).

_____ 34

Índice de cuadros

Cuadro 1. Parámetros obtenidos de los ajustes a modelos de los datos de las disoluciones en las condiciones primarias. _____	23
Cuadro 2. Parámetros obtenidos de los ajustes a modelos de los datos de las disoluciones en las condiciones secundarias. _____	25
Cuadro A.1. Datos obtenidos para las comparaciones efectuadas por pruebas t de student _____	39
Cuadro B.1. Porcentajes de los componentes principales de la GAA _____	42

RESUMEN

Se determinaron los regímenes de concentración en disolución acuosa de la forma comercial del polisacárido bacteriano gelana de alto acilo (GAA), a partir de datos de comportamiento de flujo capilar y de cizalla estacionaria angular con dos diferentes condiciones de trabajo. Aun para bajas concentraciones (13.7 ppm) de GAA, se observó un comportamiento no newtoniano, adelgazado por cizalla. La dependencia de la viscosidad con la rapidez de deformación se ajustó con los modelos empíricos de la ley de potencia, Carreau-Yasuda y Cross. Los dos últimos mostraron los mejores ajustes en ese orden. Se determinó la concentración crítica, C^* , y la viscosidad intrínseca, $[\eta]$, del polisacárido. C^* se determinó mediante el cambio de la pendiente de la relación entre la viscosidad específica y la concentración, mientras que $[\eta]$ se determinó por medio de las ecuaciones de Huggins y Kraemer. Se observó una diferencia de aproximadamente 100 unidades entre los valores de $[\eta]$ en dL/g, obtenidos por ambos tipos de viscosimetría y entre las dos condiciones de trabajo para la viscosimetría estacionaria angular.

Mediante el uso de estas técnicas fue posible determinar los parámetros mencionados que caracterizan el comportamiento en medio acuoso de la GAA. Los datos así obtenidos pueden servir para entender mejor la capacidad de interacción de la gelana con el disolvente y entre cadenas del polisacárido y los niveles de concentración para los cuales dichas interacciones ocurren y son importantes para que el polímero exprese su viscosidad.

ABSTRACT

Solution regimes in aqueous solution of a commercial form of the bacterial polysaccharide high acyl gellan (HAG) were determined from data in capillary and rotational flow under two different working conditions. Even for low concentrations (13.7 ppm), solutions showed Non-newtonian shear-thinning behavior. Power law, Carreau-Yasuda and Cross models fitted the dependence of viscosity with shear rate, with the latter two models giving the best correlations. The critical concentration, C^* , and intrinsic viscosity, $[\eta]$, of HAG were also determined. C^* was determined from the change in slope of the specific viscosity vs HAG concentration, while $[\eta]$ was determined from double extrapolation to zero concentration using Huggins and Kraemer equations. A difference of about 100 units was observed between $[\eta]$ (dL/g) obtained from both types of viscometry and the two working conditions for rotational viscometry.

By means of these techniques it was possible to determine the parameters that characterize the behavior of HAG in aqueous medium. The data obtained allow the capacity of interaction of the polysaccharide with the solvent and with itself, to be better understood together with the concentration levels for which such interactions take place and are important for the polysaccharide to express its viscosity.

INTRODUCCIÓN

A lo largo de los años la industria de alimentos ha tenido que adaptarse a los cambios que el mercado le ha exigido, así como a la demanda de los consumidores por nuevos productos de calidad con características sensoriales y nutricionales similares a las de los alimentos recién preparados. Para ello ha tenido que investigar nuevas, mejores y adecuadas formas de uso de las materias primas, los procesos y la aplicación de aditivos alimentarios. Dentro de estos últimos, se encuentran los hidrocoloides y al interior de estos está la gelana de alto acilo (GAA); polisacárido objeto de este estudio. La GAA tiene actualmente aplicaciones comerciales como gelificante en alimentos y las propiedades viscoelásticas de los geles han sido objeto de numerosos estudios, aunque todavía en mucho menor grado que la forma comercial denominada de bajo acilo. Para la selección de un hidrocoloide es importante conocer sus propiedades reológicas y las condiciones del medio ambiente acuoso, e.g. presencia de contraiones externos, pH y temperatura que pudieran tener un efecto sobre las mismas. En particular los hidrocoloides obtenidos por fermentación microbiana presentan la gran ventaja de tener una amplia disponibilidad ya que su producción no es estacional y por ende no depende de factores climáticos. No obstante, deben cuidarse otros aspectos, como por ejemplo, las condiciones de operación del biorreactor donde se producen, las condiciones de la fermentación y el adecuado manejo de la cepa que produce el polisacárido para mantener la productividad necesaria para estandarizar la producción.

Objetivo

Determinar los regímenes de concentración de la gelana de alto acilo en disolución acuosa mediante el estudio de la dependencia de la viscosidad con la concentración de polisacárido para conocer los parámetros que caracterizan las interacciones polímero-disolvente y polímero-polímero.

Objetivos específicos

Determinar la viscosidad intrínseca de la GAA por medio de flujo de cizalla estacionaria axial capilar y angular para conocer las condiciones bajo las cuales el polisacárido interacciona con el disolvente y con él mismo.

Determinar la concentración crítica C^* (ver página 11), por medio de flujo de cizalla estacionaria angular para conocer el parámetro de traslape y distinguir el régimen diluido del semidiluido.

Hipótesis

En la mayoría de los polímeros naturales en disolución acuosa la transición del régimen diluido al semidiluido ocurre cuando $C^*[\eta] = 4$ y la viscosidad específica, η_{esp} , es aproximadamente 10. Sin embargo, las diferentes condiciones y velocidades de deformación usadas en este trabajo, afectarán esta relación, y mostrarán que esto no es constante.

CAPITULO 1

GELANA DE ALTO ACILO

La GAA, es un polisacárido excretado por la bacteria *Sphingomonas elodea* (ATCC 31461) producido a nivel comercial por la compañía CPKelco (Morris et al., 2012). Su uso como aditivo alimentario está autorizado en distintos países como Australia, Canadá, Estados Unidos, México, Chile, Japón, Corea del Sur y Filipinas (Milani & Maleki, 2012). La GAA se utiliza como agente gelificante, espesante y estabilizante de alimentos y posee un gran potencial para resolver problemas existentes en la industria de alimentos. Una de sus principales ventajas es que sus disoluciones presentan un amplio intervalo de propiedades funcionales y reológicas que dependen de la estructura, la concentración y la presencia de cationes externos. Comercialmente existen dos tipos de gelana: la GAA y la gelana de bajo acilo (GBA) y ambas son conocidas comercialmente como “goma gelana”. Su forma nativa, es decir, aquella que no ha sido sometida a ningún tipo de tratamiento químico, se conoce como GAA; en ella se encuentran presentes un grupo acetato y uno glicerato unidos a uno de los dos residuos de glucosa que forman parte del tetrasacárido que constituye la unidad repetitiva del polisacárido. En comparación con la forma de bajo acilo, la GAA ha sido poco estudiada y por ello es importante continuar investigando su comportamiento en disolución acuosa para fomentar su aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica (Huang et al., 2004). Cuando la GAA se pone en contacto con un medio alcalino (pH 10) que contiene NaOH o KOH y se calienta a 80–90°C, tiene lugar la desacilación de la cadena principal y ello modifica la fuerza y el aspecto del gel formado; los geles de GAA son suaves y elásticos, mientras que los geles de GBA son duros y quebradizos (Chandrasekaran et al., 1995).

1.1 Estructura

La GAA está formada por una cadena lineal cuya unidad repetitiva consiste en un tetrasacárido cuya secuencia es $\rightarrow 3)$ - β -D-glucosa-(1 \rightarrow 4)- β -D-ácido glucurónico-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucosa-(1 \rightarrow 4)- α -L-Ramnosa-(1 \rightarrow), como se ilustra en la Figura 1.

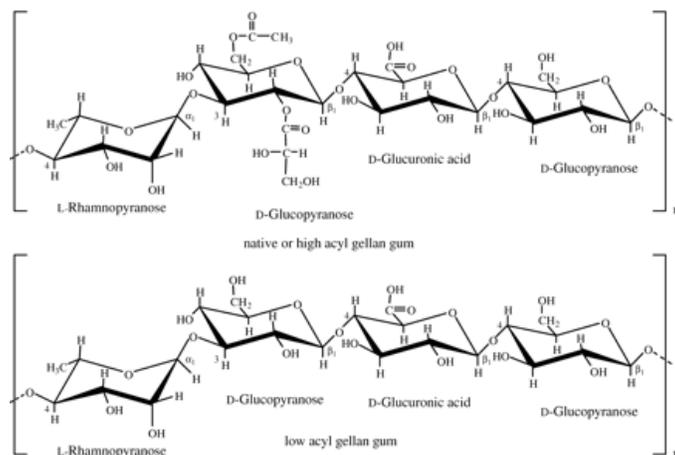


Figura 1. Estructuras primarias ideales de la gelana de alto (arriba) y de bajo acilo (abajo).

Hay dos grupos acilo en el mismo residuo de glucosa ubicado entre la L-ramnosa y el ácido glucurónico; un grupo glicerato en el oxígeno del carbono 2 y un grupo acetato en el oxígeno del carbono 6. Debido a ello los geles de GAA son suaves, elásticos y no presentan sinéresis. La estructura secundaria de la GAA, es una doble hélice entrelazada “a izquierda”, paralela, escalonada, estabilizada por puentes de hidrógeno. Los grupos acetato no cambian la conformación fundamental, pero los grupos glicerato provocan una rotación de aproximadamente 14° del grupo carboxilo en el ácido glucurónico adyacente en relación con el enlace entre los carbonos 5 y 6 y con ello se logra una separación del grupo glicerato debida a la rotación del residuo de glucuronato de $17 \pm 3^\circ$ con respecto al enlace glicosídico que lo liga a los dos residuos de glucosa adyacentes. Esto produce un cambio en el patrón de acomodo de las interacciones por puentes de hidrógeno dentro de las hebras que conforman la doble hélice (Chandrasekaran et al., 1995; Morris et al., 1996; Morris et al., 2012).

En el mecanismo de gelificación de la GAA las hebras distribuidas aleatoriamente, se entrelazan primero para formar una doble hélice, por medio de los grupos carboxilo presentes en la cadena y posteriormente estas dobles cadenas forman agregados tridimensionales, es decir, una estructura terciaria. Los cationes presentes, sean mono o divalentes, estabilizan la superestructura, aunque actúan de distinta forma; con los iones monovalentes las interacciones son del tipo doble hélice–H₂O–M⁺–H₂O–doble hélice, mientras que con los cationes divalentes son doble hélice–M²⁺–doble hélice (Huang et al., 2004).

1.2 Propiedades funcionales

La GAA posee una amplia variedad de funciones, puede actuar como agente gelificante, estabilizante, espesante e inclusive como agente formador de películas (CP Kelco, 2007). Los agentes gelificantes son usados para espesar y estabilizar distintos alimentos, como jaleas y postres, por medio de la formación de redes tridimensionales. Como ya se ha mencionado, debido a su estructura, la GAA forma geles suaves y elásticos, los cuales son termorreversibles, esta última propiedad es de importancia, tanto tecnológica, como económica, debido a que un gel termorreversible puede ser reprocesado de una manera más simple. También es importante la temperatura de transición sol-gel de la red formada por el polisacárido ya que esta repercute en los costos de consumo de energía; la GAA presenta una temperatura de transición cercana a 70 °C (Huang et al., 2004), aunque dicha temperatura depende de la presencia de contraiones externos así como del tipo de estos.

Los estabilizantes, hacen posible que una dispersión de dos o más componentes se mantenga estable y aunque no son necesariamente emulsionantes, ayudan a estabilizar las emulsiones. Los agentes espesantes, al ser agregados al sistema, aumentan su viscosidad sin modificar sus otras propiedades. En el caso de la GAA las funciones como estabilizante y espesante aplicadas a sistemas acuosos están relacionadas debido a que el polisacárido aumenta la viscosidad del sistema, por lo que el esfuerzo requerido para que las partículas en suspensión sedimenten o

coalescan es mayor y por ello el sistema se mantendrá estable más tiempo, además de que la red entrelazada formada por el hidrocoloide dificulta la ocurrencia de estos fenómenos (Pandey & Upadhyay, 2012).

1.3 Estudios previos sobre reología y propiedades en disolución acuosa de la GAA

La GBA ha sido objeto de numerosos estudios ya que fue la primera forma comercial de la gelana. La GAA no ha sido estudiada de manera tan intensa porque su uso en alimentos es mucho más reciente que el de la forma desacilada. Por ello, es necesario llevar a cabo un mayor número de estudios para poder darle una mayor y mejor aplicación. Se ha estudiado el efecto de los grupos acetato y glicerato sobre la conformación de las dobles hélices. Para ello la GAA fue desacilada en distintos grados y se examinó el comportamiento reológico de muestras con distintos contenidos de acetato y un contenido equivalente de glicerato. Al enfriarlas y calentarlas, el módulo de almacenamiento, G' , de las muestras con un menor contenido de grupos acetato mostró una mayor histéresis y por ello se concluyó que estos grupos disminuyen las interacciones hélice-hélice. Sin embargo, las temperaturas de gelificación de dichas muestras fueron muy cercanas entre sí, lo que condujo a plantear que los grupos acetato no tienen gran influencia en la formación individual de las dobles hélices. Los análisis de calorimetría de barrido diferencial (DSC) realizados en muestras con diferente contenido de grupos glicerato muestran que éstos proveen a las dobles hélices de una mayor estabilidad térmica. Mediante la misma técnica se ha estudiado si las cadenas de GAA y GBA son capaces de entrecruzarse y se observó que no forman dobles hélices integradas por ambos tipos (Morris et al., 1996; Kasapis et al., 1999).

La viscosidad de un fluido es la medida de su resistencia al flujo. Formalmente es el cociente del esfuerzo de cizalla entre la rapidez de deformación de cizalla; $\eta = \sigma/\dot{\gamma}$ (Harding, 1998). La viscosidad de una disolución polimérica puede ser determinada por medio de distintas técnicas, entre ellas se encuentran el flujo de cizalla estacionaria axial capilar, cuyo principio es simple; se mide el tiempo de

flujo de un volumen de fluido a través de un capilar bien alineado verticalmente. Estas mediciones se hacen normalmente a temperatura constante en un viscosímetro capilar de vidrio. Se mide el tiempo de flujo del disolvente y el de disoluciones con diferente concentración de polímero. A partir de la ecuación de Poiseuille la viscosidad relativa puede ser expresada de forma simplificada como:

$$\eta_{\text{relativa}} = \frac{t\rho}{t_0\rho_0}$$

En esta ecuación t y ρ , son el tiempo de flujo y la densidad de la disolución, respectivamente, t_0 y ρ_0 son el tiempo de descarga y la densidad del disolvente, respectivamente (Harding, 1998). La viscosidad relativa también puede determinarse mediante flujo de cizalla estacionaria angular, la cual emplea el movimiento angular uniforme para aplicar la deformación. Cuando se alcanza una rapidez de cizalla estacionaria, se determina el esfuerzo de cizalla, σ , en función de la rapidez de deformación en cizalla, $d\gamma/dt$. La relación entre el esfuerzo y la rapidez de cizalla es la viscosidad. En general, las determinaciones se realizan sobre un amplio intervalo de rapidez de cizalla para estudiar la posible dependencia del comportamiento de flujo con dicha rapidez.

La viscosidad intrínseca $[\eta]$ es una propiedad que depende del peso molecular, la temperatura, la estructura y la conformación de las moléculas poliméricas, así como de la calidad del disolvente y con frecuencia de la rapidez de deformación de cizalla. Esta viscosidad es considerada como la propiedad característica de una sola molécula en disolución y sus unidades son volumen por unidad de masa. Por ello, con frecuencia se la refiere como una medida del volumen hidrodinámico ocupado por una macromolécula el cual está estrechamente relacionado con su tamaño y con la conformación de las cadenas macromoleculares en un disolvente en particular. La viscosidad intrínseca se determina experimentalmente a partir de la viscosidad de disoluciones con muy baja concentración de polímero. Si la viscosidad de la disolución y la del disolvente son η y η_s , respectivamente, $[\eta]$ está definida por las siguientes relaciones:

$$\eta_{\text{relativa}} = \frac{\eta}{\eta_s}$$

$$\eta_{\text{especifica}} = \eta_{\text{relativa}} - 1$$

$$\eta_{\text{reducida}} = \frac{\eta_{\text{especifica}}}{C}$$

$$\eta_{\text{inherente}} = \frac{\ln(\eta_{\text{relativa}})}{C}$$

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{\text{especifica}}}{C} \right)$$

La viscosidad intrínseca se obtiene extrapolando a concentración nula la viscosidad reducida en función de la concentración, según la ecuación de Huggins:

$$\frac{\eta_{\text{especifica}}}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2 C$$

También puede ser determinada extrapolando a concentración nula la viscosidad inherente en función de la concentración, según la ecuación de Kraemer:

$$\frac{\ln(\eta_{\text{relativa}})}{C} = [\eta] + k''[\eta]^2 C$$

A este método se le conoce como procedimiento gráfico de doble extrapolación y se ilustra en la Figura 2 (Higiro et al., 2006; Steffe et al., 1996). El método es muy usado y funciona razonablemente bien, pero una pequeña dispersión de datos puede dar como resultado que las rectas de regresión converjan en una concentración mayor que cero. Además debido a las bajas concentraciones, el método consume tiempo y diferentes técnicas no necesariamente producen los mismos resultados.

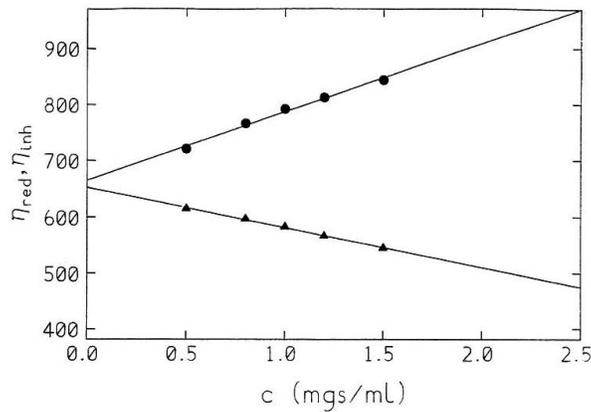


Figura 2. Doble extrapolación de datos experimentales ajustados por las ecuaciones de Huggins (arriba) y de Kraemer (abajo).

En disoluciones diluidas en reposo, se asume que las moléculas de una especie están lo suficientemente distanciadas entre sí, que hay una influencia nula de una sobre la otra y que pueden moverse libremente en la disolución. A esta condición se le llama normalmente régimen diluido. Sin embargo, al aumentar la concentración, las interacciones entre cadenas poliméricas son más frecuentes hasta el punto en el que existe una interacción continua entre las moléculas de tal forma que se alcanza una condición en la que las cadenas se entrecruzan, se empalman parcialmente, se penetran unas con otras y se enredan. A esta condición se le llama régimen semidiluido. La concentración en la cual ocurre este cambio de régimen se llama concentración crítica del polímero, C^* , y se la reconoce por un marcado incremento en la viscosidad específica como función de la concentración del polímero, según se muestra en la Figura 3 (Jampen et al., 2000).

En estudios anteriores se han investigado estas dos propiedades para distintos polímeros en disolución. Para la mayoría de ellos existe una relación entre ambas (Morris et al., 1981)

$$C^* \approx \frac{4}{[\eta]}$$

El parámetro de traslape (overlap parameter) es entonces $C^*[\eta] \approx 4$. No obstante, para GBA sin iones añadidos, con K^+ y Ca^{+2} añadidos, $C^*[\eta]$ está entre 1.1-5.7, 1-5 y 0.8-3.9, respectivamente (Nickerson et al., 2008).

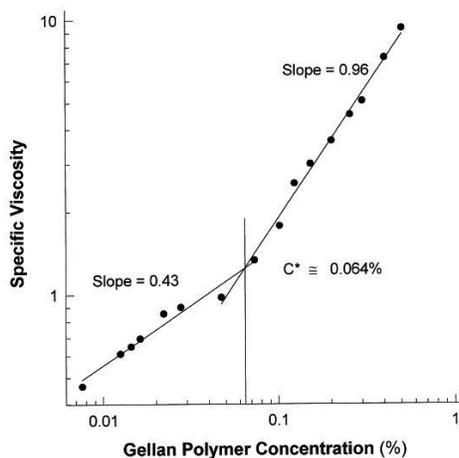


Figura 3. Concentración crítica de la GBA (Jampen et al., 2000).

Para describir el comportamiento de flujo de los polímeros en disolución se utilizan modelos empíricos que resultan ser convenientes y precisos para ajustar o correlacionar los datos experimentales. Existen diferentes modelos que pueden utilizarse para las distintas disoluciones poliméricas. Para alimentos, algunos de los más utilizados son el de la Ley de Potencia, Carreau-Yasuda y Cross. El modelo de la Ley de Potencia es capaz de describir la disminución o el aumento de la viscosidad con el aumento en la rapidez de deformación y se expresa de la siguiente forma:

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n$$

En esta ecuación empírica, K es el coeficiente de consistencia y n el índice de comportamiento de flujo el cual indica la cercanía al comportamiento de un fluido newtoniano ($n = 1$). Hay que notar que cuando $n = 1$, $K = \eta$. Los modelos de Cross y Carreau-Yasuda, correlacionan la viscosidad aparente con la rapidez de deformación. La mayoría de los hidrocoloides en disolución presentan tres zonas de comportamiento para una concentración suficiente (Figura 4). En la primera

zona, que ocurre a rapidez de deformación muy pequeñas, el comportamiento es newtoniano, la viscosidad es constante, η_0 , y es conocida como viscosidad a cizalla nula (zero-shear viscosity). Después hay una zona en la que la viscosidad disminuye con el aumento de la rapidez de cizalla y se la conoce como la región de la Ley de Potencia. Finalmente, para altas rapidez de cizalla aparece una zona en la que la viscosidad tiende a ser nuevamente constante, η_∞ , y es conocida como la viscosidad a cizalla infinita (infinite-shear viscosity) (Rao, 2007).

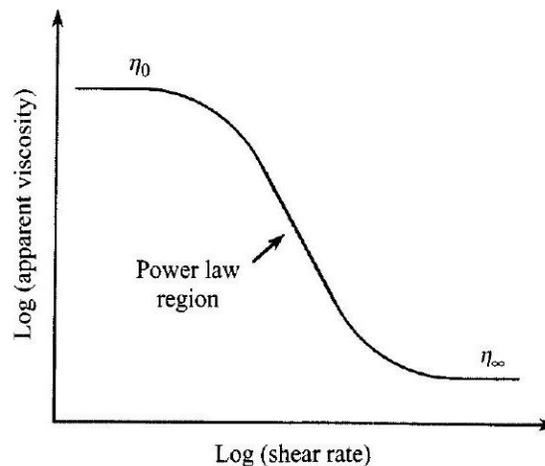


Figura 4. Ejemplo de los cambios de la viscosidad aparente, $\eta(\dot{\gamma}) = \sigma/\dot{\gamma}$, en función de la rapidez de deformación de un polímero biológico (Rao, 2007).

En la práctica es difícil observar la curva completa porque un solo viscosímetro no permite obtener un intervalo de rapidez de cizalla suficientemente amplio, e.g. $10^{-4} - 10^4 \text{ s}^{-1}$. Sin embargo, cuando se observan las dos primeras zonas, es posible ajustar los datos experimentales con modelos como el de Cross

$$\eta(\dot{\gamma}) = \eta_\infty + \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{1 + (\lambda\dot{\gamma})^n}$$

y el modelo de Carreau-Yasuda

$$\eta(\dot{\gamma}) = \eta_\infty + \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{[1 + (\lambda\dot{\gamma})^a]^{(n-1)/a}}$$

En estos modelos λ es una constante relacionada con el tiempo de relajación del polímero en disolución, n y a son exponentes adimensionales; n está relacionado con el parámetro homónimo del modelo de la Ley de Potencia. En el modelo de Cross cuando el valor η_{∞} es muy pequeño, n tiende a $(1 - m)$ siendo m el valor del índice de comportamiento de flujo de la Ley de Potencia. Cuando la viscosidad aparente es igual a $(\eta_0 + \eta_{\infty})/2$, $\lambda = 1/\dot{\gamma}_c$ y $\dot{\gamma}_c$ señala generalmente el valor de rapidez de cizalla en el cual termina el plateau o meseta newtoniana (Rao, 2007). Los estudios sobre las propiedades en disolución acuosa de la GAA, en los que se determina la concentración crítica, C^* , los regímenes de concentración y la viscosidad intrínseca, $[\eta]$, son muy limitados. Existen estudios similares a los de esta tesis que se han llevado a cabo bajo condiciones diferentes en los que se reportan resultados para $[\eta]$ y C^* con curvas de flujo ajustadas únicamente con el modelo de Cross (Goh et al., 2006).

CAPITULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

La Figura 5 muestra el diagrama general de experimentación.

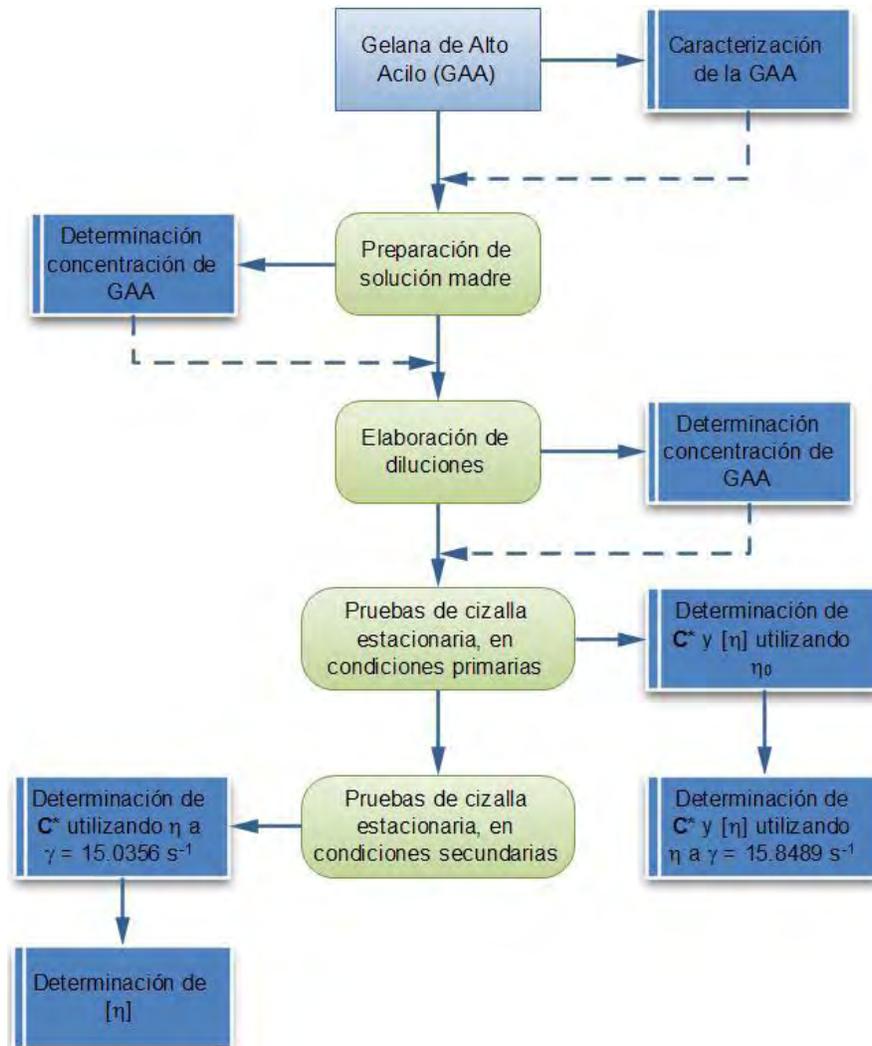


Figura 5. Diagrama general de experimentación.

2.1 Materiales

Se usó GAA comercial grado alimenticio (Kelcogel LT100; CPKelco, San Diego, EE.UU.) sin tratamiento alguno. Todas las disoluciones fueron preparadas en agua desionizada.

2.2 Preparación de disoluciones de GAA

Se prepararon disoluciones madre de GAA con concentraciones cercanas a 1000 ppm. Estas disoluciones se prepararon dispersando el polímero en agua desionizada a temperatura ambiente con agitación magnética. Una vez hidratada la GAA se calentaron las disoluciones a 70 °C por 20 minutos con agitación constante. Las diluciones se prepararon con la cantidad necesaria de disolución madre para obtener la concentración deseada con agitación magnética y calentamiento hasta 70 °C durante 15 minutos.

2.3 Determinación de humedad

La humedad de la GAA se determinó por el método rápido de termobalanza (OHAUS MB45-2A0, EE.UU.). Las determinaciones se realizaron por quintuplicado utilizando la prueba estándar de 10 minutos a 100 °C con 1.000 g de muestra.

2.4 Concentración de GAA por el método de Fenol-Sulfúrico

La concentración de GAA en las disoluciones se determinó por el método de fenol-sulfúrico (Dubois et al., 1956). Se usó una curva patrón de glucosa, con concentraciones en el intervalo de 5 a 100 µg/mL. La absorbancia se leyó en celdas de cuarzo a una longitud de onda de 480 nm en un espectrofotómetro digital (Thermo Electron, Modelo GENESYS 10UV, EE.UU.).

2.5 Proteína soluble por el método de Lowry

La concentración de proteína soluble en las disoluciones madre se determinó por el método de Lowry (Lowry et al., 1951) por referencia a una curva patrón de albumina bovina sérica, con concentraciones en el intervalo de 10 a 50 µg/mL. La absorbancia se leyó en celdas de cuarzo a una longitud de onda de 750 nm en un espectrómetro digital (Thermo Electron, Modelo GENESYS 10UV, EE. UU.).

2.6 Determinación de la viscosidad de las disoluciones

La viscosidad de las disoluciones se determinó a 25 °C mediante las dos formas siguientes:

- 1) Flujo de cizalla estacionaria axial en viscosímetros capilares de vidrio Cannon-Fenske tamaño 25 para trabajo de rutina y disoluciones translúcidas. Las disoluciones fueron filtradas en membranas Millipore de 0.4 μm colocadas en un modulo de filtración conectado a los viscosímetros. Se midió el tiempo de flujo a 25 °C entre las dos marcas volumétricas superior e inferior de los viscosímetros. El filtrado y llenado de los viscosímetros se hizo en un solo paso conectando directamente el filtro al viscosímetro e introduciendo las disoluciones con una jeringa.
- 2) Flujo de cizalla estacionaria angular en un reómetro (ARES-RFS III, TA Instruments, New Jersey, EE. UU.) con una geometría de cilindros concéntricos de doble pared (doble Couette) con un diámetro interior de la copa de 27.94 mm, diámetro interior del cilindro interno de 29.50 mm, diámetro exterior del cilindro externo 32.00 mm, diámetro exterior de la copa de 34.00 mm y un espacio anular de 1.00 mm en un intervalo de rapidez de cizalla de 0.01 hasta 300 s^{-1} . Las condiciones primarias consistieron de un tiempo de espera (time delay) para la recolección de datos de 10 s. Las condiciones secundarias, incluyeron el mismo reómetro y geometría a la misma temperatura, pero en un intervalo de rapidez de cizalla de 300 a 15 s^{-1} con un tiempo de espera (time delay) para la recolección de datos de 50 s.

2.7 Determinación de la concentración crítica y de la viscosidad intrínseca

La concentración crítica, C^* , se determinó localizando el punto de inflexión de la gráfica de viscosidad específica (adimensional) contra concentración de polisacárido (g/dL). El punto de inflexión fue tomado como la intersección de dos líneas rectas obtenidas por regresión de datos a baja y alta concentración como se muestra en la Figura 3.

La viscosidad intrínseca se determinó a partir de las ecuaciones de Huggins y Kraemer tomando en cuenta la viscosidad del disolvente y de las disoluciones para obtener la viscosidad relativa, la viscosidad específica, la viscosidad reducida (ver página 10) y la viscosidad inherente todas ellas adimensionales como se muestra en la Figura 2.

2.8 Ajuste de datos a modelos empíricos

Los ajustes de datos a los modelos de la Ley de Potencia, Cross y Carreau-Yasuda se hicieron usando el software TA Orchestrator Versión V7.2.0.4 Copyright © 2008 (TA Instruments – Waters LLC, EE.UU).

2.9 Análisis estadístico

El análisis estadístico, pruebas t de student y ANOVA de 2 factores, se llevó a cabo por medio del software Minitab Versión 15.1.20.0 © 2007 (Minitab Inc., EE.UU).

CAPITULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Propiedades de flujo en cizalla estacionaria angular

Las Figuras 6 y 7 muestran el comportamiento de flujo de las disoluciones de GAA examinadas bajo las condiciones primarias para la determinación de C^* y $[\eta]$, respectivamente.

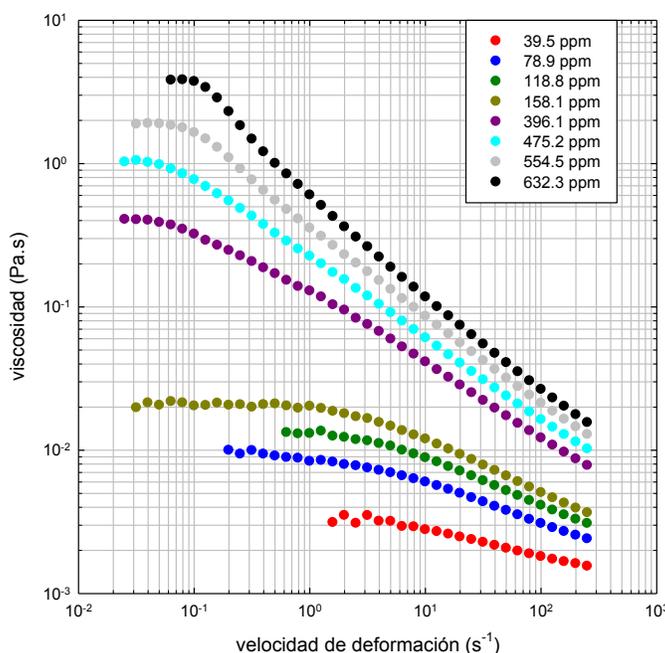


Figura 6. Comportamiento de flujo de disoluciones de GAA para determinar C^* .

El comportamiento es típicamente no newtoniano para todas las concentraciones examinadas. En la Figura 6 se puede apreciar un marcado aumento en la viscosidad a partir de la concentración de 396.1 ppm. En ambas figuras se observa el aumento de viscosidad al aumentar la concentración de GAA y cómo al aumentar la concentración, la extensión de la zona newtoniana se acorta y se desplaza hacia rapidezces de deformación más pequeñas. Sin embargo, para las concentraciones más bajas ya no es posible observar la zona newtoniana debido a la falta de sensibilidad del reómetro.

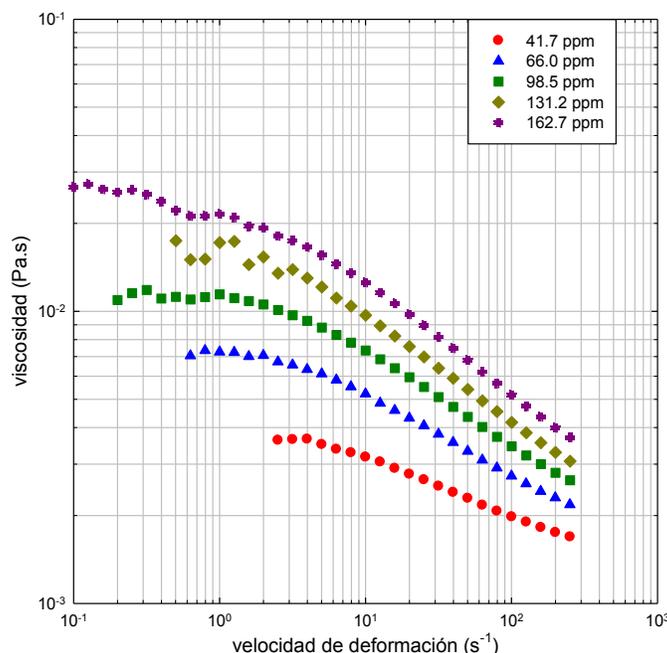


Figura 7. Comportamiento de flujo de disoluciones de GAA para determinar $[\eta]$.

En las Figuras 8 y 9 se muestran los comportamientos de flujo de las disoluciones de GAA a partir de los cuales se determinaron C^* y $[\eta]$, respectivamente, bajo las condiciones secundarias. Concentraciones de 399.8 ppm y mayores muestran un comportamiento de adelgazamiento por cizalla (Figura 8) sin la presencia de la zona newtoniana a bajas velocidades de deformación. Por ello, para esas concentraciones se consideraron las viscosidades a partir de una rapidez de deformación de 10 s^{-1} . Para concentraciones de 160.1 ppm y menores, se observa una muy breve zona newtoniana seguida de un débil comportamiento de adelgazamiento por cizalla. Se observa también una separación de aproximadamente un orden de magnitud entre las viscosidades aparentes para bajas y altas concentraciones. Esta gran separación puede ser atribuida a un cambio en el régimen de concentración de diluido a semidiluido. De esta forma, la capacidad espesante de la GAA queda bien diferenciada. Bajo las condiciones usadas, la GAA no forma geles, así que las diferencias observadas se deben a efectos de aumento de viscosidad. En la Figura 9 se observa que las viscosidades son muy cercanas entre sí; comportamiento esperado debido a la cercanía de las

concentraciones de GAA. Se observa el comienzo del comportamiento newtoniano para concentraciones de 13.7 ppm y menores.

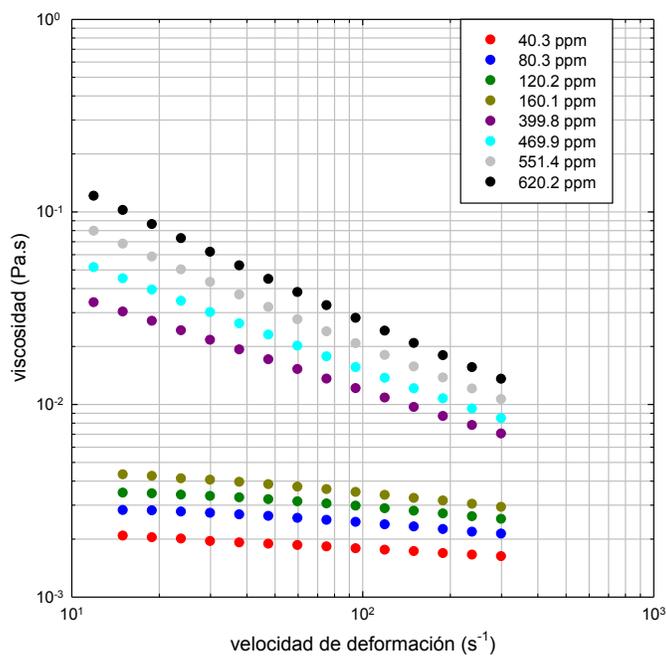


Figura 8. Curvas de flujo de disoluciones de GAA para la determinación de C^* .

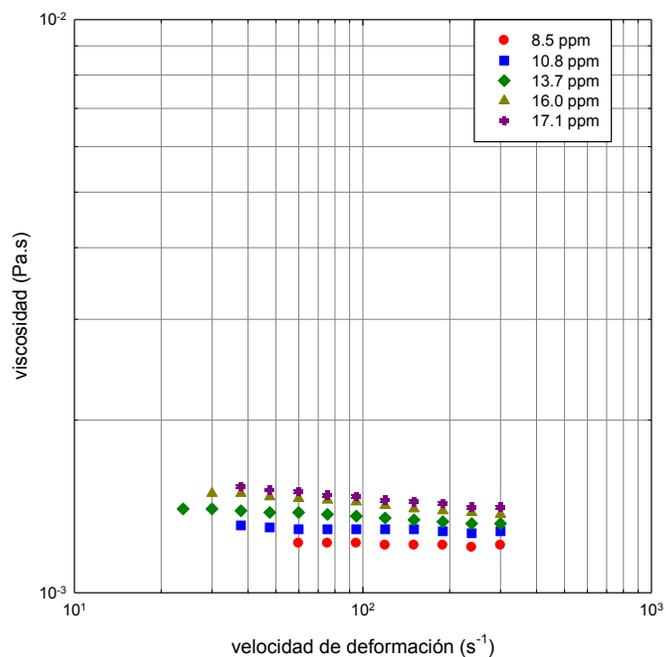


Figura 9. Curvas de flujo de disoluciones de GAA para la determinación de $[\eta]$.

3.2 Descripción del comportamiento de flujo mediante los modelos de Carreau-Yasuda, Cross y Ley de Potencia

La Figura 10 muestra el ajuste de algunos datos experimentales con distintos modelos empíricos y semiempíricos. La curva para una concentración de 8.5 ppm corresponde a un comportamiento newtoniano. Para la disolución con 620 ppm el comportamiento es de Ley de Potencia ($r^2 = 0.9992$). El comportamiento de flujo de la disolución con 66 ppm de GAA se ajusta muy bien con el modelo de Carreau-Yasuda ($r^2 = 0.9992$), mientras que el de la disolución con 475 ppm se ajusta mejor con el modelo de Cross ($r^2 = 0.9927$).

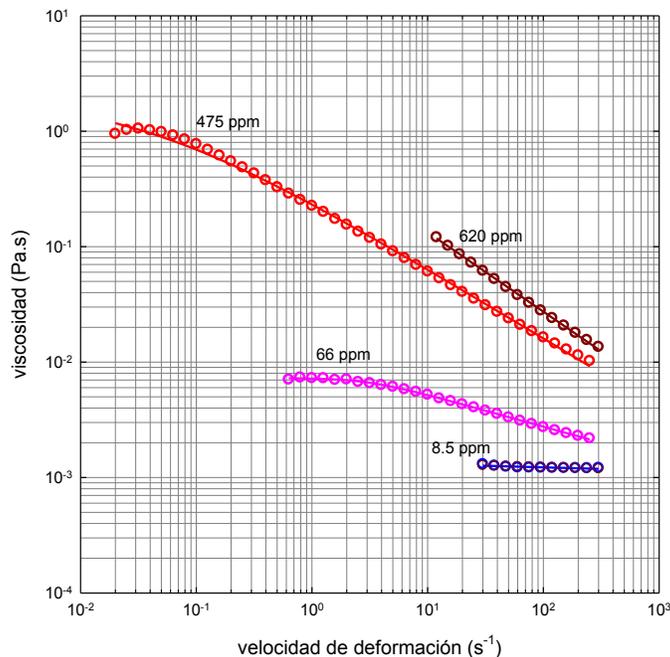


Figura 10. Ajuste del comportamiento de flujo de disoluciones con diferentes concentraciones de GAA a los modelos de Ley de Potencia (línea marrón), Carreau-Yasuda (línea rosa) y Cross (línea roja).

El Cuadro 1 muestra los parámetros de ajuste de los datos experimentales para los modelos de Carreau-Yasuda y de Cross para las condiciones primarias.

Cuadro 1. Parámetros de ajuste de los datos experimentales para las disoluciones examinadas bajo las condiciones primarias.

C (ppm)	Carreau-Yasuda					Cross			
	η_0 (Pa·s)	λ (s)	a	n	r^2	η_0 (Pa·s)	λ (s)	N	r^2
39.5	$6.65 \cdot 10^{-4}$	$8.23 \cdot 10^{-5}$	-0.301	0.81	0.9678	$4.68 \cdot 10^{-3}$	$3.48 \cdot 10^{-2}$	0.65	0.979
41.7	$5.97 \cdot 10^{-3}$	0.138	0.349	0.70	0.9966	$6.49 \cdot 10^{-3}$	0.13102	0.69	0.9966
66.0	$7.27 \cdot 10^{-3}$	0.333	2.21	0.72	0.9992	$9.71 \cdot 10^{-3}$	$7.76 \cdot 10^{-2}$	0.56	0.9944
78.9	$1.02 \cdot 10^{-2}$	0.340	0.762	0.67	0.9971	$1.16 \cdot 10^{-2}$	$9.03 \cdot 10^{-2}$	0.55	0.9965
98.5	$1.12 \cdot 10^{-2}$	0.367	2.08	0.68	0.9949	0.0126	$5.42 \cdot 10^{-2}$	0.44	0.9766
118.8	$1.35 \cdot 10^{-2}$	0.315	1.56	0.66	0.9981	$1.76 \cdot 10^{-2}$	0.103	0.50	0.9945
131.2	$1.64 \cdot 10^{-2}$	0.418	1.97	0.64	0.9850	$2.27 \cdot 10^{-2}$	0.180	0.49	0.9747
158.1	$2.09 \cdot 10^{-2}$	0.412	1.50	0.62	0.9976	$2.27 \cdot 10^{-2}$	$7.96 \cdot 10^{-2}$	0.41	0.989
162.7	$2.95 \cdot 10^{-2}$	0.346	0.607	0.54	0.9965	$3.07 \cdot 10^{-2}$	0.212	0.48	0.9966
396.1	0.557	13.4	0.748	0.47	0.9988	0.702	15.2	0.45	0.9985
475.2	1.02	14.7	3.22	0.44	0.9992	2.03	29.7	0.40	0.9927
554.5	1.81	13.1	9.98	0.38	0.9980	6.42	77.3	0.36	0.9814
632.3	3.32	10.8	8.60	0.31	0.9938	11.3	52.2	0.29	0.9492

En las Figuras 11 y 12 se observa que los comportamientos de flujo de las distintas disoluciones se ajustan apropiadamente con los modelos de Cross y Carreau-Yasuda, respectivamente. Con base en los Cuadros 1 y 2, en los cuales se muestran los coeficientes de regresión de cada uno de ellos, se observa que para la disolución con 554 ppm el modelo de Carreau-Yasuda muestra la mejor correlación. Las curvas que corresponden a las disoluciones con mayores concentraciones de GAA muestran una corta zona newtoniana y un cambio drástico en la pendiente, mientras que para concentraciones menores, la zona de comportamiento newtoniano es más amplia y el cambio en la pendiente hacia la zona regida por la ley de potencia es más suave. El modelo de Carreau-Yasuda correlaciona mejor el comportamiento de las disoluciones con una transición más suave, mientras que para aquellas disoluciones que muestran una transición más abrupta ambos modelos correlacionan adecuadamente los datos.

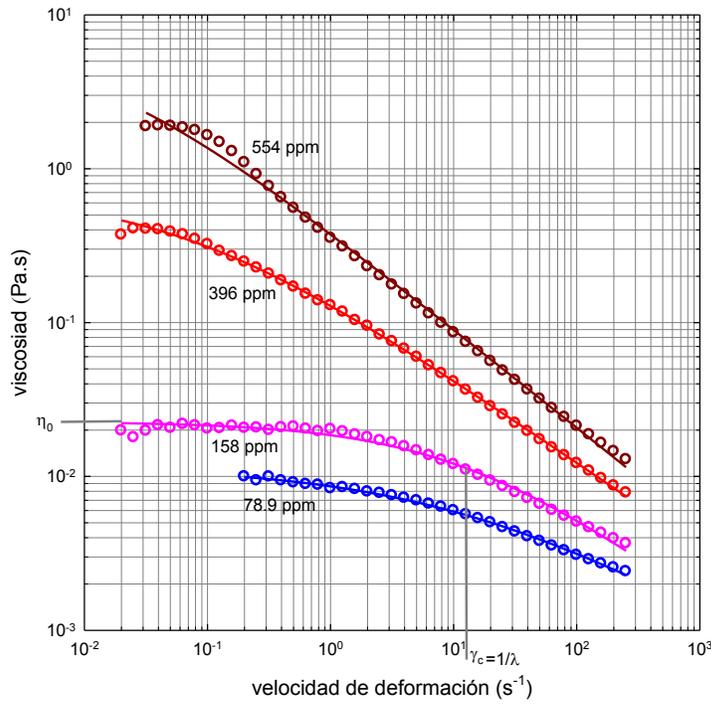


Figura 11. Ajuste de los comportamientos de flujo con el modelo de Cross de disoluciones con diferente concentración de GAA.

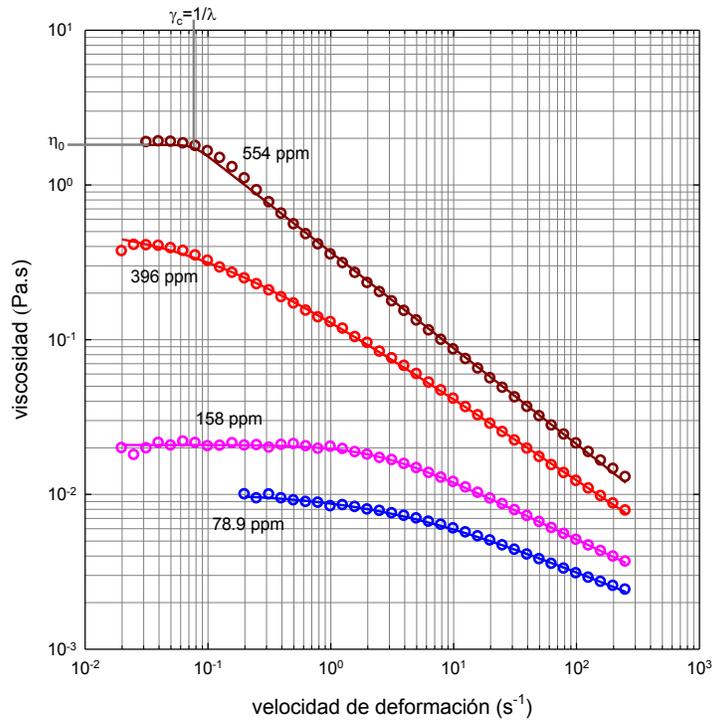


Figura 12. Ajuste de los comportamientos de flujo con el modelo de Carreau-Yasuda de disoluciones con diferente concentración de GAA.

Cuadro 2. Parámetros obtenidos de los ajustes a modelos de los datos de las disoluciones examinadas bajo las condiciones secundarias.

C (ppm)	Cross				Ley de Potencia		
	η_0 (Pa·s)	λ (s)	n	r^2	K (Pa·s ⁿ)	N	r^2
8.47					$1.28 \cdot 10^{-3}$	0.99	0.9699
10.8					$1.34 \cdot 10^{-3}$	0.99	0.9913
13.7					$1.52 \cdot 10^{-3}$	0.98	0.9845
16.0					$1.72 \cdot 10^{-3}$	0.96	0.9939
17.1					$1.78 \cdot 10^{-3}$	0.96	0.9975
40.3	$3.98 \cdot 10^{-3}$	$4.22 \cdot 10^{-2}$	0.85	0.9975	$2.58 \cdot 10^{-3}$	0.92	0.9986
80.3	$3.61 \cdot 10^{-3}$	$1.15 \cdot 10^{-3}$	0.68	0.9945	$3.89 \cdot 10^{-3}$	0.90	0.9877
120.2	$4.06 \cdot 10^{-3}$	$1.08 \cdot 10^{-3}$	0.56	0.9988	$4.76 \cdot 10^{-3}$	0.89	0.9794
160.1	$5.75 \cdot 10^{-3}$	$3.12 \cdot 10^{-3}$	0.64	0.9996	$6.26 \cdot 10^{-3}$	0.87	0.9908
399.8					0.116	0.51	0.9999
469.9					0.207	0.43	0.9996
551.4					0.374	0.37	0.9994
620.2					0.64887	0.31	0.9993

En el caso de las disoluciones con concentraciones muy bajas de GAA, e.g. 13.7 y 16.0 ppm, los modelos de Cross y Carreau-Yasuda no correlacionan de manera satisfactoria el comportamiento newtoniano, sino únicamente el modelo de Ley de Potencia. Como lo muestra el Cuadro 2, los valores de regresión del índice de flujo n son cercanos a 1, lo cual indica la tendencia al comportamiento newtoniano, mientras que para concentraciones mayores de GAA, e.g. 399.8 y 469.9 ppm, los valores de n son apreciablemente menores de 1, lo cual indica el predominio del comportamiento de adelgazamiento por cizalla. Para las disoluciones con 40.3 a 160.1 ppm, el programa de regresión predice una η_0 mayor que la experimental. Debido a que estas disoluciones solo se estudiaron en el intervalo de velocidades de deformación de 10 a 300 s⁻¹, no fue posible ajustar su comportamiento de flujo con los modelos de Carreau-Yasuda y Cross ya que en dicho intervalo solo se observó un comportamiento regido por el modelo de Ley de Potencia. El Cuadro 2 y la Figura 13 muestran de manera clara que n en el modelo de Ley de Potencia

disminuye a medida que aumenta la concentración de GAA, lo que indica que hay un cambio de un comportamiento prácticamente newtoniano a un comportamiento de adelgazamiento por cizalla.

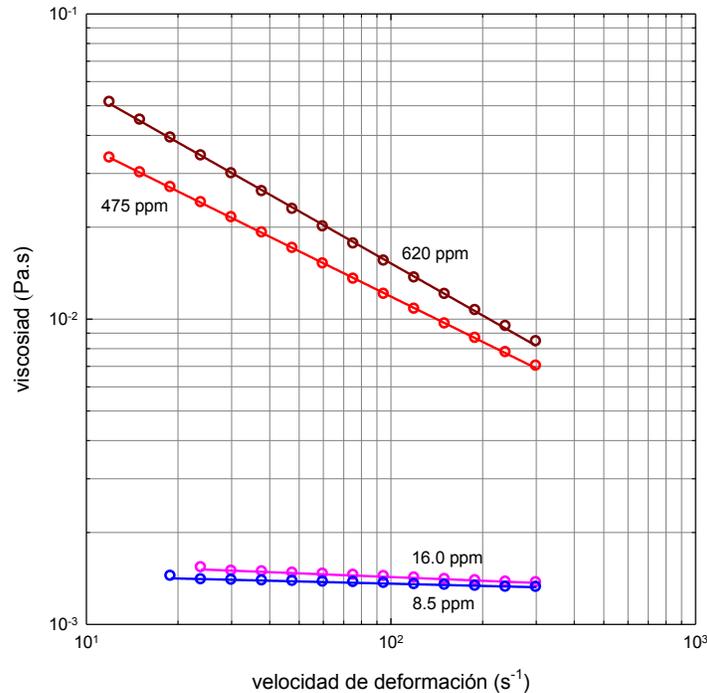


Figura 13. Ajustes de los comportamientos de flujo con el modelo de Ley de Potencia de disoluciones con diferente concentración de GAA.

3.3 Regímenes de concentración

En la Figura 14, se muestran los cambios de la viscosidad específica con la concentración de GAA para las condiciones primarias y secundarias. La C^* determinada en el punto de inflexión es 0.039 g/dL que corresponde a concentraciones en la zona newtoniana con η_0 . Aquellas determinadas a partir de la viscosidad a velocidades de deformación de 15.9 y 15.0 s^{-1} son 0.037 y 0.034 g/dL, respectivamente. Los valores de C^* no difieren entre sí más de 13%, lo cual pudiera interpretarse como que la interacción entre las cadenas de GAA que da lugar a la transición de regímenes cuando se alcanza C^* , puede detectarse independientemente de la rapidez de deformación y de la relativa dificultad para determinar la viscosidad en el reómetro a bajas concentraciones de GAA.

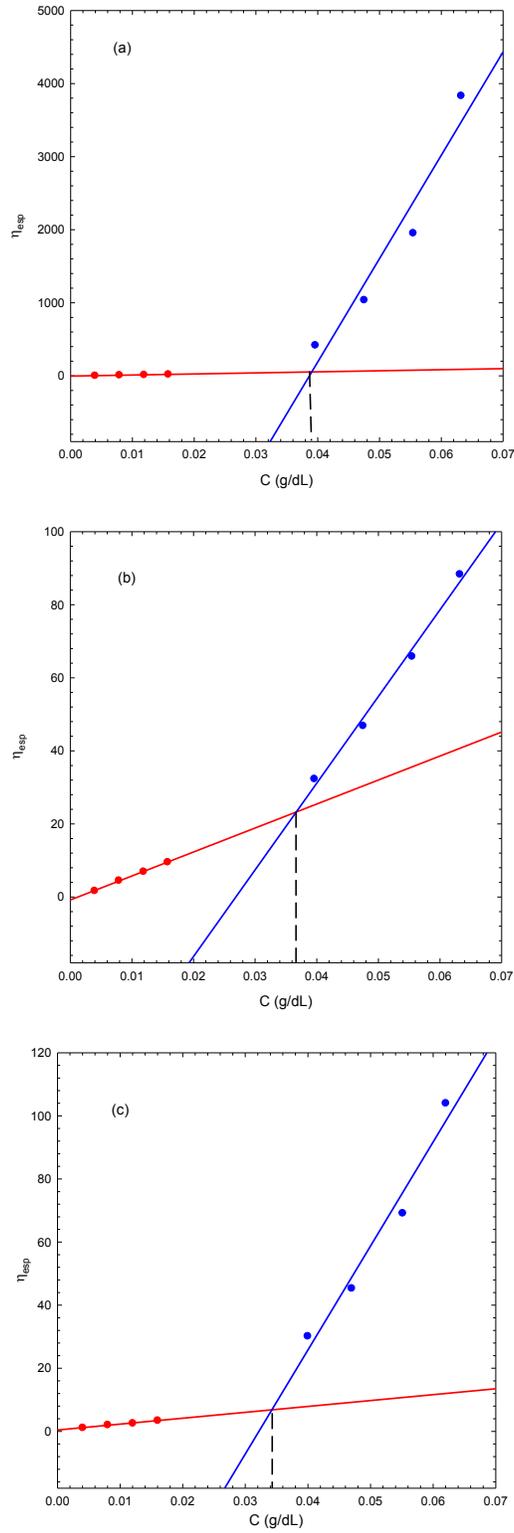


Figura 14. Determinación de C^* usando las condiciones primarias a partir de η_0 (a) y η a 15.9 s^{-1} (b) y en condiciones secundarias con η a 15.0 s^{-1} (c).

3.4 Viscosidad intrínseca

La Figura 15 muestra los gráficos de Huggins y Kraemer en el intervalo de concentraciones de 9 a 35 ppm obtenidos en cizalla axial estacionaria, i.e. en viscosimetría capilar. La viscosidad intrínseca fue el promedio de las ordenadas al origen de cada gráfico; 118.9 dL/g. Las constantes de Huggins y Kraemer son, respectivamente, $k' = 0.551$ y $k'' = -0.024$ y la suma es 0.528. Este valor se encuentra en el intervalo $0.5 \pm 10\%$, por lo que se considera que hay una buena interacción de la GAA con el disolvente y por lo tanto la viscosidad intrínseca es confiable.

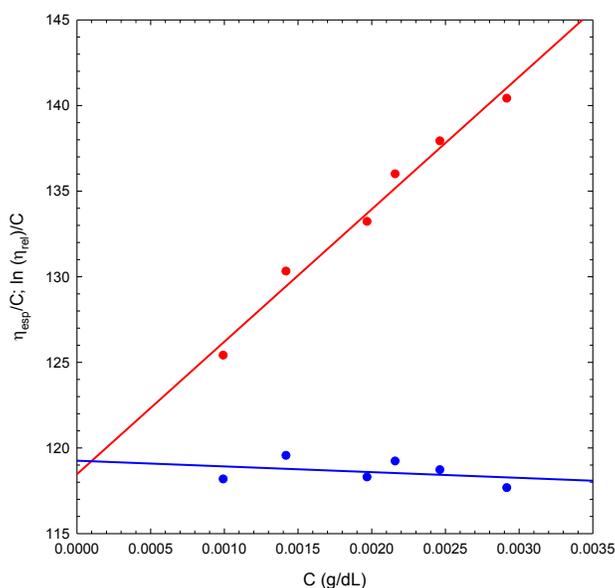


Figura 15. Determinación de $[\eta]$ por doble extrapolación de datos de viscosimetría capilar.

En la Figura 16 se muestran los gráficos de Huggins y Kraemer obtenidos en cizalla angular estacionaria, i.e. flujo angular, entre 40 a 170 ppm de GAA. La viscosidad intrínseca se determinó calculando el promedio del punto de intersección de la ordenada al origen de cada línea; el valor obtenido es 364.7 dL/g. Las constantes de Huggins y Kraemer, son $k' = 0.538$ y $k'' = -0.078$, respectivamente, y la suma de ambas es 0.460, el cual se encuentra en el intervalo de $0.5 \pm 10\%$, por lo que se considera que la viscosidad intrínseca determinada es confiable.

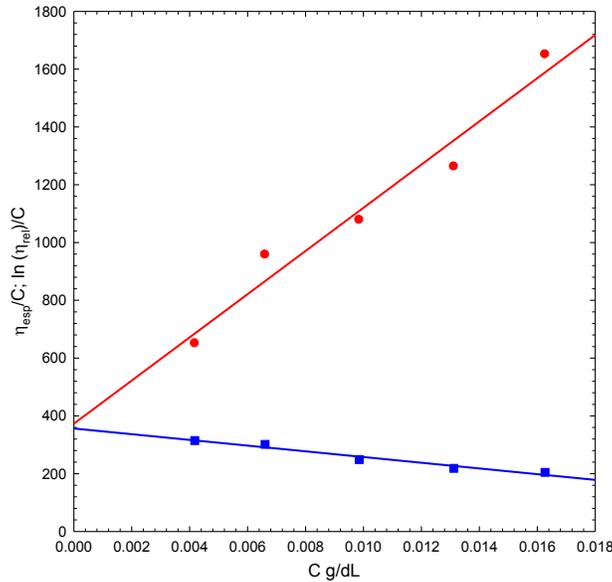


Figura 16. Gráfico de doble extrapolación obtenido por viscometría rotacional en condiciones primarias.

La Figura 17 muestra los gráficos de Huggins y Kraemer obtenidos mediante flujo angular para concentraciones entre 8 y 20 ppm. La viscosidad intrínseca determinada como ya se ha indicado es 270.8 dL/g y las constantes de Huggins y Kraemer son, respectivamente, $k' = 0.529$ y $k'' = -0.060$; la suma es 0.469 el cual se encuentra en el intervalo $0.5 \pm 10\%$, por lo que la viscosidad intrínseca determinada es confiable.

Los valores de $[\eta]$ para cada uno de los casos anteriores son distintos; la viscosidad intrínseca más pequeña fue obtenida por viscosimetría capilar y es casi una tercera parte de la obtenida con las primeras disoluciones y casi la mitad de la obtenida con las disoluciones finales con una diferencia cercana a 100 dL/g entre las dos determinaciones por viscosimetría rotatoria. Esta diferencia se debe probablemente a la diferencia en los intervalos de concentración, a pesar de que estos fueron establecidos para tener resultados confiables considerando la suma de k' y k'' , debido a que esta suma es sensible a dicho intervalo. Además se sabe que $[\eta]$ depende de la rapidez de deformación y en las condiciones secundarias las velocidades de deformación fueron mayores que las velocidades de deformación para las condiciones primarias.

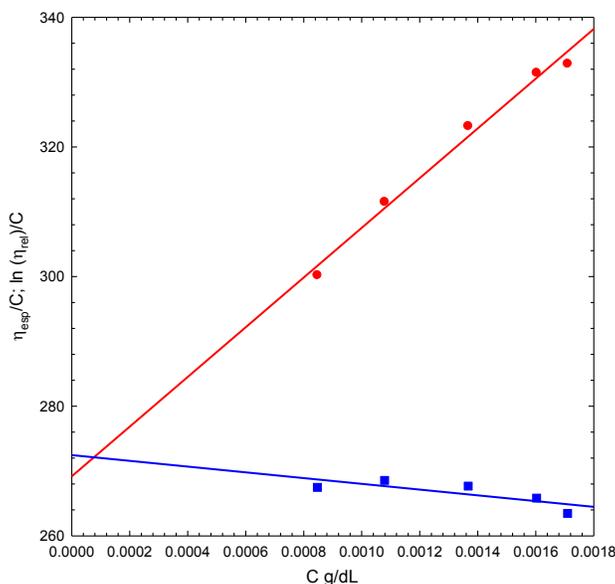


Figura 17. Gráfico de doble extrapolación obtenido por viscosimetría rotacional en condiciones secundarias.

Para analizar la relación $C^* = 4/[\eta]$ se prepararon gráficos como los propuestos en la literatura (Morris et al., 1981). La η_{esp} se grafica en escala logarítmica en función de $C[\eta]$. Debido a que en esta tesis $[\eta]$ y C^* se determinaron bajo tres condiciones distintas, el análisis se muestra en las Figuras 18, 19 y 20.

En la Figura 18 se observa el punto de inflexión de η_{esp} ; la pendiente cambia de 1.52 para las disoluciones diluidas a 4.57 para las disoluciones semidiluidas con un cociente de 3.00. El parámetro de traslape, $C^*[\eta]$, se observa cuando η_{esp} es aproximadamente 39. Morris et al. (1981) reporta para diferentes polisacáridos en disolución acuosa pendientes de aproximadamente 1.4 y 3.3 en la zona diluida y semidiluida, respectivamente, con un cociente de 2.36 y localiza $C^*[\eta]$ cuando η_{esp} es aproximadamente 10. Cuando $[\eta]$ fue determinada por viscosimetría capilar se obtuvo $C^*[\eta] = 2.83$, mientras que con $[\eta]$ determinada por viscosimetría angular en condiciones primarias y secundarias, $C^*[\eta] = 8.68$ y 6.44 , respectivamente. En todos los casos los valores de $C[\eta]$ son distintos a 4 reportado por Morris et al. (1981) para diferentes polisacáridos.

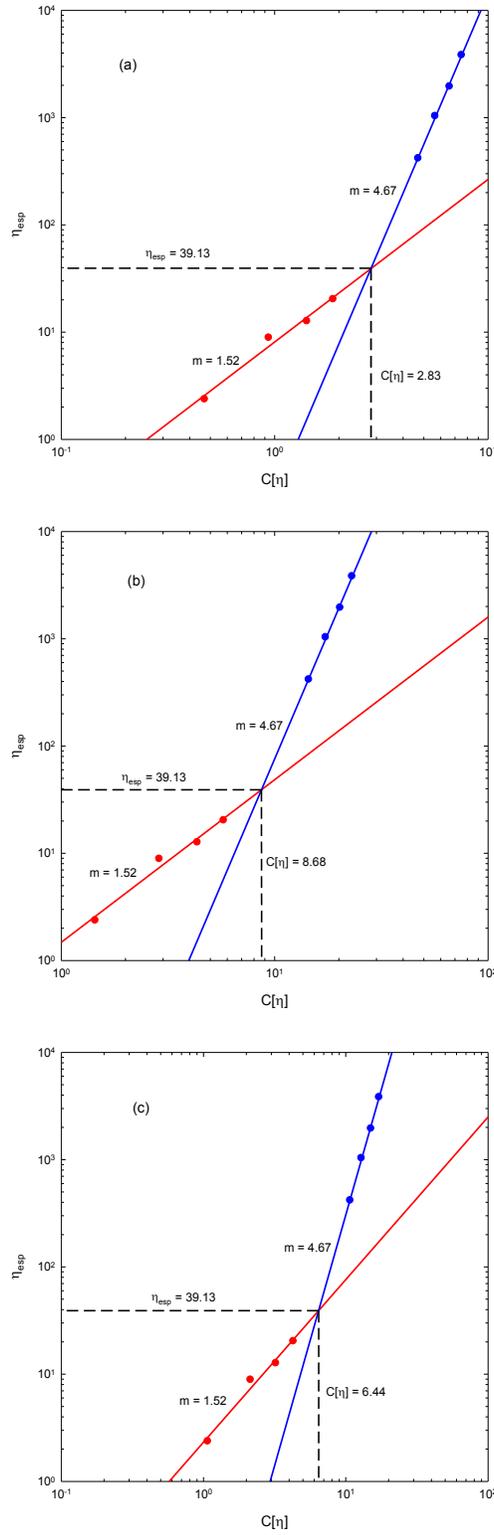


Figura 18. Determinación de $C^*[\eta]$ para las condiciones primarias con η_0 y $[\eta]$ obtenidas por viscosimetría capilar (a) y viscosimetría angular en condiciones primarias (b) y secundarias (c).

En la Figura 19, el cambio de pendiente es más suave, los valores de las pendientes son 1.25 y 2.15 para las disoluciones diluidas y semidiluidas, respectivamente, y el cociente de ambas es 1.72. El valor de η_{esp} en el punto $C^*[\eta]$ es aproximadamente 30. Estas coordenadas también difieren de lo reportado por Morris et al. (1981). El valor de $C^*[\eta]$ con $[\eta]$ determinada por viscosimetría capilar es 4.58, con $[\eta]$ determinada por viscosimetría angular en condiciones primarias y secundarias es 14.1 y 10.5, respectivamente.

En la Figura 20 el cambio de pendiente es más notable; de 0.78 a 2.79 para las disoluciones diluidas y semidiluidas, respectivamente, con un cociente de 3.58. El valor de η_{esp} en $C^*[\eta]$ es aproximadamente 4, los cuales también difieren de lo reportado por Morris et al. (1981). El valor de $C^*[\eta]$ con $[\eta]$ determinada por viscosimetría capilar es 2.31 y con $[\eta]$ determinada por viscosimetría angular en condiciones primarias y secundarias es 7.07 y 5.25, respectivamente.

Con estos valores se advierte rápidamente una tendencia esperada para $C^*[\eta]$, a saber, que los valores obtenidos con $[\eta]$ determinada por viscosimetría capilar son los menores de cada grupo, seguidos por los valores obtenidos con $[\eta]$ determinada con viscosimetría angular en condiciones secundarias, mientras que los valores más grandes son los obtenidos por viscosimetría angular en condiciones primarias. Al comparar los valores de $C^*[\eta]$ obtenidos en el grupo de gráficos a partir de las concentraciones utilizadas para la determinación de C^* en condiciones primarias y secundarias, se observa que los valores son cercanos, lo mismo que la relación existente entre las pendientes en los gráficos, mientras que los valores de $C^*[\eta]$ obtenidos por viscosimetría angular en condiciones primarias pero con η a $\gamma = 15.9 \text{ s}^{-1}$, son las que presentan las mayores diferencias de hasta aproximadamente el doble de las anteriores y el cociente de pendientes en este caso es menor por aproximadamente un medio de las anteriores.

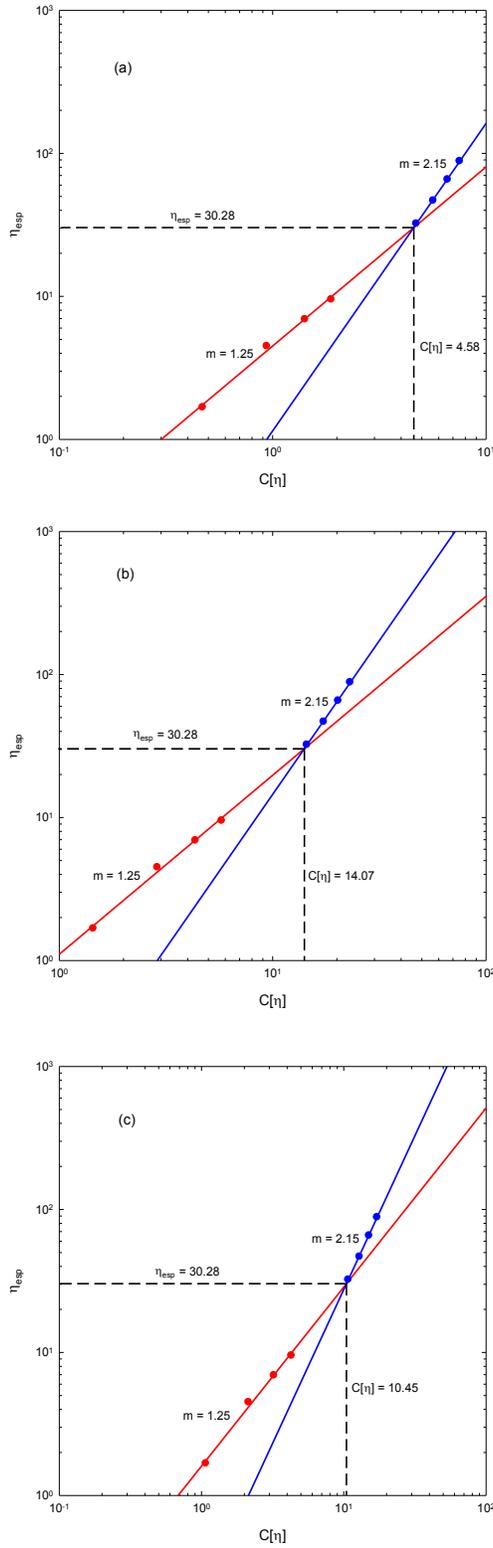


Figura 19. Determinación de $C^*[\eta]$ para las condiciones primarias con η a $\gamma = 15.9 \text{ s}^{-1}$ y $[\eta]$ obtenida por viscosimetría capilar (a) y viscosimetría angular en condiciones primarias (b) y secundarias (c).

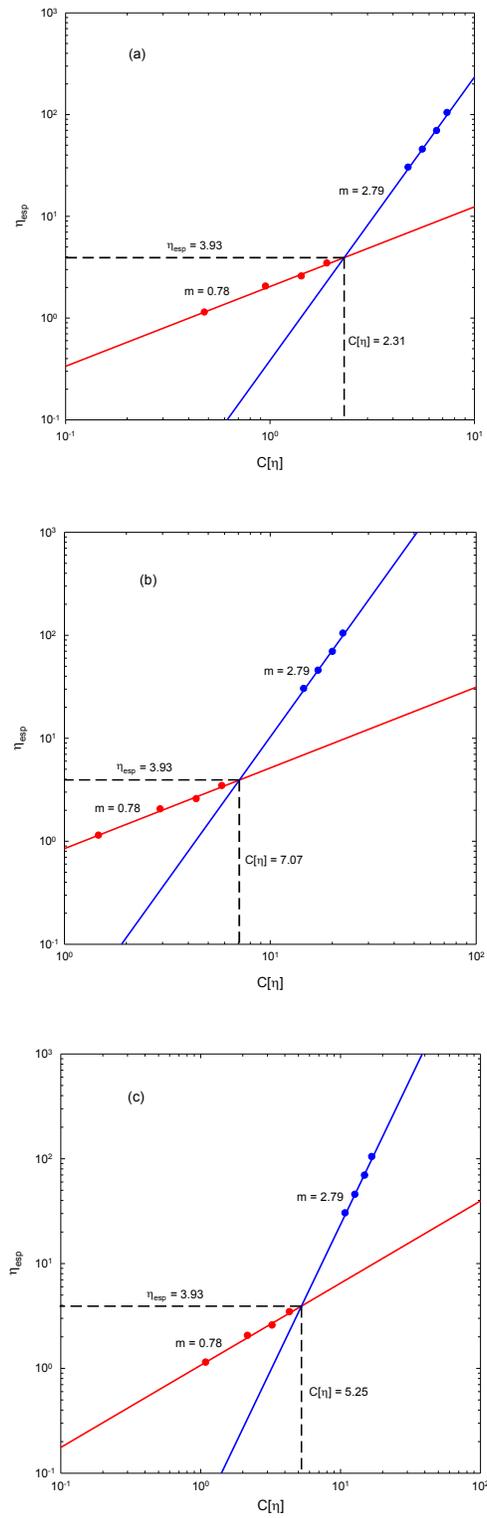


Figura 20. Determinación de $C^*[\eta]$ para las condiciones primarias con η a $\gamma = 15.0 \text{ s}^{-1}$ y $[\eta]$ obtenida por viscosimetría capilar (a) y viscosimetría angular en condiciones primarias (b) y secundarias (c).

Al observar la Figura 19, el primer punto donde se encuentran las disoluciones semidiluidas, queda muy cercano a la regresión de los puntos de las disoluciones diluidas, incluso muy cerca del punto de inflexión, esto se debe a que al utilizar la rapidez de deformación de 15.9 s^{-1} , las viscosidades aparentes en cada una de las disoluciones siguen una relación casi lineal que al graficarse de forma lineal como en la Figura 14 (b) no se observa tan notoriamente, pero al graficarse de manera logarítmica como en la Figura 19 se observa con gran notoriedad. Esto no se observa en las condiciones secundarias (ver sección 2.6 inciso 2) aunque se trabaje con los datos obtenidos a una rapidez de deformación de 15.0 s^{-1} , la cual es muy cercana a la utilizada en el caso anterior, si observamos la Figura 9, se aprecia que existe una diferencia de casi un orden de magnitud entre las viscosidades aparentes de las disoluciones diluidas y las disoluciones semidiluidas, lo cual es mayor a la diferencia encontrada entre las disoluciones diluidas y las semidiluidas en las condiciones primarias (ver sección 2.6 inciso 2) a una rapidez de deformación de 15.9 s^{-1} .

CONCLUSIONES

La GAA exhibe un comportamiento de flujo característico, como la mayoría de los polímeros naturales; una zona newtoniana a bajas velocidades de deformación seguida de una zona de adelgazamiento por cizalla a mayores velocidades de deformación. A partir de concentraciones de 13.7 ppm, se observan desviaciones del comportamiento newtoniano atribuibles a la presencia de los sustituyentes acilo y a su capacidad de autoasociación que bajo condiciones favorables conduce a la formación de geles. Los modelos de Carreau- Yasuda y de Cross ajustan los datos de comportamiento de flujo a partir de concentraciones de 39.5 ppm, pero dicho comportamiento es más afín al modelo de Carreau-Yasuda.

Los valores de viscosidad intrínseca, indican que la GAA ocupa un gran volumen hidrodinámico. Esto le permite modificar notablemente la viscosidad del disolvente, agua en este caso, incluso cuando la concentración es pequeña. Por otra parte, los valores de concentración crítica muestran que las interacciones entre cadenas de GAA ocurren a bajas concentraciones por lo que se reafirma su capacidad espesante que lo haría un buen estabilizante en sistemas donde hubiese dos o más fases.

La relación entre C^* y $[\eta]$, varía con respecto a las condiciones y la rapidez de deformación usadas para su determinación, pero entre mayor es la diferencia entre las viscosidades aparentes de las disoluciones diluidas y concentradas se aprecia mejor la transición.

La GAA no sigue el comportamiento general de los polímeros en disolución planteado por Morris et al. (1981) ya que las coordenadas ($C[\eta]$ y η_{sp}) determinadas en este trabajo difieren, principalmente en la viscosidad específica. Las diferencias son superiores por 30 unidades o son menores en aproximadamente 6 unidades según la metodología utilizada. En el caso de $C^*[\eta]$ la única con un valor cercano a 4 es la que se muestra en la Figura 19 (a), pero para estas condiciones el cambio de la pendiente no es pronunciada.

REFERENCIAS

- Chandrasekaran, R., Radha, A. & Giacometti, A. (1995). Molecular modelling of substituted polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* 28, 49-59.
- CPKelco, 2007. Gellan Book 5th Ed. USA.
- Dubois, M, Gilles, K.A., Hamillton, J.K., Rebers, P.A. & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Analytical Chemistry* 28(3), 350-356.
- Goh, K., Haisman, D. & Singh, H. (2006). Characterization of a high acyl gellan polysaccharide using light scattering and rheological techniques. *Food Hydrocolloids* 20, 176-183.
- Harding, S.E. (1998). The intrinsic viscosity of biological macromolecules. Progress in measurement, interpretation and application to structure in dilute solution. *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 68 (2/3), 207-262.
- Higiroy, J., Herald, T.J. & Alavi, S. (2006). Rheological study of xanthan and locust bean gum interaction in dilute solution. *Food Research International* 39, 165-175.
- Huang, Y., Singh, P.P., Tang, J. & Swanson, B.G. (2004). Gelling temperatures of high acyl gellan as affected by monovalent and divalent cations with dynamic rheological analysis. *Carbohydrate Polymers* 56, 27-33.
- Jampen, J., Britt, I. J. & Tung, M.A. (2000). Gellan polymer solution properties: dilute and concentrated regimes. *Food Research International* 33, 579-586.
- Kasapis, S., Giannouli, P., Hember, M.W.N., Evageliou, V., Poulard, C., Tort-Bourgeois, B. & Sworn, G. (1999). Structural aspects and phase behaviour in deacylated and high acyl gellan systems. *Carbohydrate Polymers* 38, 145-154.
- Lowry, O.H., Nira, J.R., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 1, 265-275.
- Milani, J. & Maleki, G. (2012). Hydrocolloids in Food Industry. En Valdez, B. (ed) Food Industrial Processes – Methods and Equipment. Capítulo 2. ISBN: 978-953-307-905-9 In Tech: <http://www.intechopen.com/books/food-industrial-processes-methods-and-equipment/hydrocolloids-in-foodindustry>

- Morris, E. R., Cutler, A.N., Ross-Murphy, S.B. & Rees, D.A. (1981). Concentration and rate dependence of viscosity in random coil polysaccharides solutions. *Carbohydrate Polymers* 1, 5-21.
- Morris E.R., Gothard, M.G.E., Hember, M.W.N., Manning, C.E. & Robinson, G. (1996). Conformational and rheological transitions of welan, rhamsan and acylated gellan. *Carbohydrate Polymers* 30, 165-175.
- Morris, E.R., Nishinari, K. & Rinaudo, M. (2012). Gelation of Gellan – A review. *Food Hydrocolloids* 28, 373-411.
- Nickerson, M.T., Paulson, A.T. & Hallett, F.R. (2008). Pre-gel solution properties of gellan polysaccharides: Effect of potassium and calcium ions on chain associations. *Food Research International* 41, 462-471.
- Pandey, R.M. & Uphadhyay, S.K. (2012). Food Additive. En: El-Samragy, Y. (ed) Food Additive. Capítulo 1. ISBN: 978-953-51-0067-6. In Tech: <http://www.intechopen.com/books/food-additive/food-additive>
- Rao, M.A. (2007). Flow and Functional Models for Rheological Properties of Fluid Foods. En Barbosa-Cánovas, G. V. (ed). *Rheology of Fluids and Semisolid Foods: Principles and Applications*. New York: Springer, Capítulo 2.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. 2nd Edition. East Lansing: Freeman Press.

ANEXO A

PRUEBAS ESTADISTICAS t DE STUDENT Y ANOVA DE DOS FACTORES

Al observar los resultados en Figuras 6 y 8 es posible apreciar que las disoluciones de menor concentración de GAA, presentan diferencia, siendo las viscosidades para las condiciones secundarias menores hasta en un orden de magnitud que las obtenidas en para las condiciones primarias. Sin embargo, las disoluciones con mayor concentración de GAA se observan muy cercanas entre sí, por lo que se recurrió a las pruebas de t de Student para verificar si son estadísticamente iguales. Debido a que el intervalo de velocidades de deformación a las que se llevaron a cabo las determinaciones de viscosidad son distintas, al igual que los puntos de medición, se optó por utilizar los modelos obtenidos para así trabajar en el mismo intervalo y a velocidades de deformación iguales quedando los datos de la siguiente forma:

Cuadro A.1. Datos obtenidos para las comparaciones efectuadas por pruebas t de student.

Rapidez de deformación (s ⁻¹)	632.3 ppm	620.2 ppm	554.5 ppm	551.4 ppm	475.2 ppm	469.9 ppm	396.1 ppm	399.8 ppm
10	0.13124	0.13322	0.08810	0.08715	0.06079	0.05611	0.04106	0.03687
15	0.09921	0.10080	0.06852	0.06743	0.04834	0.04460	0.03329	0.03019
20	0.08135	0.08271	0.05732	0.05621	0.04108	0.03789	0.02866	0.02620
25	0.06974	0.07095	0.04992	0.04881	0.03621	0.03339	0.02551	0.02347
35	0.05529	0.05629	0.04052	0.03945	0.02994	0.02760	0.02140	0.01989
45	0.04649	0.04736	0.03467	0.03365	0.02598	0.02394	0.01876	0.01757
55	0.04048	0.04126	0.03062	0.02964	0.02319	0.02137	0.01688	0.01592
75	0.03268	0.03333	0.02526	0.02436	0.01946	0.01792	0.01434	0.01366
95	0.02776	0.02833	0.02182	0.02098	0.01703	0.01568	0.01267	0.01216
125	0.02297	0.02346	0.01840	0.01763	0.01458	0.01342	0.01096	0.01062
155	0.01980	0.02023	0.01611	0.01539	0.01291	0.01188	0.00979	0.00955
185	0.01753	0.01792	0.01443	0.01376	0.01168	0.01075	0.00892	0.00876
225	0.01531	0.01566	0.01278	0.01216	0.01046	0.00962	0.00804	0.00795
265	0.01368	0.01399	0.01155	0.01096	0.00953	0.00877	0.00738	0.00734
300	0.01256	0.01285	0.01069	0.01014	0.00889	0.00817	0.00691	0.00690

t de Student para las muestras de 632.2 ppm, 620.2 ppm (condiciones primarias, condiciones secundarias)

	N	Mean	StDev	SE Mean
632.2	15	0.0457	0.0355	0.0092
620.2	15	0.0466	0.0360	0.0093

Difference = mu (632.2 ppm) - mu (620.2 ppm)
Estimate for difference: -0.0008
95% CI for difference: (-0.0276, 0.0260)
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = -0.06 DF = 27

t de Student para las muestras de 554.5 ppm, 551.4 ppm (condiciones primarias, condiciones secundarias)

	N	Mean	StDev	SE Mean
554.5 ppm	15	0.0334	0.0233	0.0060
551.4 ppm	15	0.0325	0.0232	0.0060

Difference = mu (554.5 ppm) - mu (551.4 ppm)
Estimate for difference: 0.00086
95% CI for difference: (-0.01657, 0.01830)
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 0.10 DF = 27

t de Student para las muestras de 475.2 ppm, 469.9 ppm (condiciones primarias, condiciones secundarias)

	N	Mean	StDev	SE Mean
475.2 ppm	15	0.0247	0.0158	0.0041
469.9 ppm	15	0.0227	0.0145	0.0038

Difference = mu (475.2 ppm) - mu (469.9 ppm)
Estimate for difference: 0.00193
95% CI for difference: (-0.00943, 0.01329)
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 0.35 DF = 27

t de Student para las muestras de 396.1 ppm, 399.8 ppm (condiciones primarias, condiciones secundarias)

	N	Mean	StDev	SE Mean
396.1 ppm	15	0.0176	0.0104	0.0027
399.8 ppm	15	0.01647	0.00917	0.0024

Difference = mu (396.1 ppm) - mu (399.8 ppm)
Estimate for difference: 0.00117
95% CI for difference: (-0.00619, 0.00852)
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 0.33 DF = 27

Para todos los casos el valor de la t de tablas es ± 2.052 , por lo que cada par de curvas son estadísticamente iguales.

Al observar la Figura 9 las curvas obtenidas son muy cercanas, lo que hace necesario saber si son estadísticamente iguales o presentan una diferencia significativa. Por ello se llevó a cabo un ANOVA de dos factores; la concentración (ppm) de GAA y la rapidez de deformación. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Two-way ANOVA: Eta versus ppm de GAA, Rapidez de deformación

Source	DF	SS	MS	F
ppm de GAA	4	0.0000003	0.0000001	372.77
Rapidez de Deformación	7	0.0000000	0.0000000	10.42
Error	28	0.0000000	0.0000000	
Total	39	0.0000003		

El valor de F de tablas para la concentración es de 2.71. El valor F calculado es mucho mayor, por lo que se concluye que las viscosidades son significativamente diferentes con respecto a su concentración. El valor de F de tablas para la rapidez de deformación es de 2.36, por lo que también presentan diferencia significativa con respecto a la rapidez de deformación.

ANEXO B

COMPOSICIÓN GENERAL DE LA GAA

Cuadro B.1. Contenido de los componentes principales de la GAA.

COMPONENTE	CONTENIDO (%)
Humedad	8.33
Proteína	14.70
Carbohidratos	76.78