



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO REOLÓGICO DE LAS INTERACCIONES SURFACTANTE-POLISACÁRIDO
EN UN GEL QUE ENVUELVE UNA EMULSIÓN O/W Y SU EFECTO EN EL PUNTO
DE FUSIÓN DEL GEL**

TESIS

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

PRESENTA

OLGA CAROLINA URBANOWIEZ NARANJO



MÉXICO, D.F.

AÑO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** JOSEFINA ESPERANZA VIADES TREJO

VOCAL: **Profesor:** ALBERTO TECANTE CORONEL

SECRETARIO: **Profesor:** LUIS MEDINA TORRES

1er. SUPLENTE: **Profesor:** ARMANDO CONCA TORRES

2° SUPLENTE: **Profesor:** MARIANA RAMÍREZ GILLY

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: LABORATORIO 313 EDIFICIO E, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

ASESOR DEL TEMA: ALBERTO TECANTE CORONEL

(nombre y firma)

SUPERVISOR TÉCNICO: MARIANA RAMÍREZ GILLY

(nombre y firma)

SUSTENTANTE: OLGA CAROLINA URBANOWIEZ NARANJO

(nombre y firma)

ÍNDICE

	PAGINA
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
OBJETIVOS.....	5
OBJETIVO GENERAL.....	5
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	5
HÍPOTESIS.....	6
ANTECEDENTES.....	6
PROPIEDADES DE LA K-CARRAGENINA.....	7
DIAGRAMA DE TRANSICIÓN GEL-SOL.....	10
GELES.....	12
MÓDULOS DINÁMICOS Y TRANSICIÓN SOL-GEL.....	13
EMULSIONES.....	14
EMULSIONES EN GEL.....	16
EMULSIONANTES.....	17
METODOLOGÍA.....	18
DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO.....	18
MATERIALES.....	19
MÉTODO.....	19
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN EL POLVO DE K-CARRAGENINA.....	19
PREPARACIÓN DEL GEL DE K-CARRAGENINA CON A DICIÓN DE KCl.....	20
CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DEL GEL.....	22
ENVEJECIMIENTO DEL GEL: ESTABLECIMIENTO DEL TIEMPO PARA LA MEDICIÓN DE SUS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y SU TEMPERATURA DE TRANSICIÓN.....	23
PREPARACIÓN DE GEL ADICIONANDO EMULSIONANTE TX100.....	23
PREPARACIÓN DE EMULSIONES.....	24
ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE GOTA EN LAS EMULSIONES.....	25
PREPARACIÓN DE EMULSIONES EN GEL.....	25
EMULSIONES EN GEL UTILIZANDO OLEORRESINAS DE GRADO ALIMENTICIO COMO FASE OLEOSA.....	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
ESTABLECIMIENTO DEL TIEMPO PARA LA MEDICIÓN DE LAS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE UN GEL.....	28
TEMPERATURAS DE TRANSICIÓN GEL-SOL DE UN GEL A ADICIONANDO EMULSIONANTE TX100.....	33
ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES.....	36
SEGUIMIENTO DE LA COALESCENCIA DE LAS EMULSIONES.....	41
DIÁMETRO PROMEDIO Y DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE GOTA.....	43

PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y TEMPERATURAS DE TRANSICIÓN DE EMULSIONES EN GEL PREPARADAS CON DIFERENTES EMULSIONANTES.....	50
INCLUSIÓN DE OLEORRESINAS DE GRADO ALIMENTICIO COMO FASE OLEOSA EN LAS EMULSIONES EN GEL.....	55
CONCLUSIONES.....	62
BIBLIOGRAFÍA.....	64
ANEXOS.....	67
ANEXO A.....	67
ANEXO B.....	68
ANEXO C.....	68
ANEXO D.....	69
ANEXO E.....	71
ANEXO F.....	74

1. RESUMEN

Se estudió el efecto de los emulsionantes Tween 20, Triton X-100 y monoestearato de glicerilo sobre la estabilidad de una emulsión O/W atrapada en un gel de kappa-carragenina y su efecto sobre la temperatura de fusión del gel. En un estudio previo (Fuentes-Barrón, 2008) se usó lecitina de soya como emulsionante y se obtuvieron las condiciones de concentración de polisacárido, y concentración de KCl para que el gel tuviera una temperatura de transición gel-sol de 37.0 °C. En este trabajo, el surfactante Tween 20 mostró una velocidad de cremado de 9.43×10^{-2} m/s por la cual no logró mantener estable la emulsión y fue descartado. El surfactante Triton X-100 fue estudiado dentro del gel de kappa-carragenina, en la emulsión y en la emulsión en gel. Los resultados obtenidos solo en el gel mostraron que una mayor concentración de emulsionante, aumenta la temperatura de fusión del gel sin ser una proporción directa. En la emulsión, una mayor concentración de Triton X-100, resultó en una mayor estabilidad y una concentración de 3% p/p del emulsionante en la emulsión en gel, produjo una temperatura de transición gel-sol de 33.7 ± 0.281 °C. El monoestearato de glicerilo a una concentración de 3% p/p en la emulsión en gel produjo una temperatura de fusión de 35.9 ± 0.213 °C. Los emulsionantes estudiados no afectan la temperatura de transición del gel, sin embargo, la concentración de iones K^+ juega el papel más importante en la modificación de la temperatura de transición al

provocar que para altas concentraciones de KCl, se produzcan geles más rígidos y aumente la temperatura de transición gel-sol.

Debido a lo anterior, el diagrama de transición gel-sol $\log C_T$ vs T_m^{-1} es crucial para la formulación de emulsiones en gel de κ -carragenina y iones K^+ .

Lo que establece esta investigación es la posible utilización de los emulsionantes monoestearato de glicerilo y Tritón X-100 como una alternativa al sistema con lecitina de soya ya que no modifican de manera significativa la transición gel-sol. La utilización de estos emulsionantes estará en función de su aplicación.

Se examinó una de sus posibles aplicaciones en alimentos, preparando emulsiones en gel con aceite esencial de orégano al 1% p/p con lecitina de soya como emulsionante. La oleoresina de apio puede utilizarse en una concentración de 1% p/p sin necesidad de agregar un surfactante.

1.1 ABSTRACT

The effect of addition of Tween 20, Triton X-100 and glyceryl monoestearate on the stability of an O/W emulsion trapped in a gel and its melting temperature were investigated. In a previous work (Fuentes-Barrón, 2008) the appropriate polysaccharide and KCl concentrations for a gel to melt at 37.0 °C were obtained using soy lecithin as emulsifier. In this work, the surfactant Tween 20 was rejected because its incapacity to stabilize the emulsion as its creaming rate was 9.43×10^{-2} m/s. The surfactant Triton X-100 was studied in kappa-carrageenan gels, emulsions and gel emulsions. In the gels, their melting temperature increased, although not in proportion, with the increase in emulsifier concentration. In the emulsions, a greater Triton X-100 concentration resulted in greater stability. In the gel emulsions, 3%wt of this surfactant produced a gel-sol transition of 33.7 ± 0.281 °C. This same concentration of glyceryl monoestearate produced a melting temperature of 35.9 ± 0.213 °C in gel emulsions. The studied emulsifiers do not affect the transition temperature of the gels, however, the concentration of K^+ ions play a more important role on the modification of the transition temperature as greater concentrations of KCl lead to more rigid gels with higher gel-sol transition temperatures.

As a consequence, the gel-sol diagram $\log C_T$ vs T_m^{-1} is crucial to formulate gel emulsions of κ -carrageenan and K^+ ions. The contribution

of this work is the potential use of glyceryl monoestearate and Triton X-100 as an alternative to soy lecithin as the gel-sol transition temperature is not significantly modified. Utilization of these emulsifiers will depend on the envisaged application. A possible application in foods was examined. Gel emulsions were prepared with 1 wt% oregano essential oil and soy lecithin as emulsifier. Celery oleoresin can be used at 1 wt% without surfactant.

2. INTRODUCCIÓN

En un estudio previo (Fuentes-Barrón, 2008), se determinaron las condiciones adecuadas de pH, concentración de KCl y concentración del polisacárido κ -carragenina para preparar un gel con una temperatura de fusión de 37.0 °C. El gel fue usado para atrapar una emulsión aceite en agua, O/W, estabilizada con lecitina de soya como emulsionante. En dicho estudio también se observó que la inclusión del emulsionante Triton X-100 en lugar de la lecitina de soya modificó la temperatura de fusión del gel.

La fusión del gel es el resultado de una bien conocida transición gel-sol (Rochas & Rinaudo, 1980) a partir de la cual es posible confeccionar geles con temperaturas de fusión deseadas. En este caso, la propiedad del gel de fundir a 37 °C, temperatura corporal humana, lo hace ideal como vehículo de antioxidantes, olores, sabores o vitaminas y poder liberarlos al fundirse en la boca; esta característica tiene gran importancia en la industria de los alimentos. Por ello, en el presente trabajo se estudia la influencia del surfactante sobre el punto de fusión del gel.

En el presente estudio se prepararon emulsiones con dos diferentes surfactantes para luego incorporarlas en un gel y estudiar las propiedades viscoelásticas de las emulsiones en gel resultantes. Para tal efecto, se usaron pruebas mecánicas dinámicas, las cuales consisten en

medir el esfuerzo sinusoidal que resulta de la aplicación de una deformación también sinusoidal y a partir de la relación entre ambas variables, determinar las características viscosas y elásticas de las emulsiones en gel.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Estudiar por medio de pruebas reológicas la interacción κ -carragenina-surfactante que ocurre en un gel que atrapa una emulsión O/W y su efecto sobre la temperatura de fusión de la emulsión en gel, para determinar si se modifica la temperatura de transición sol-gel.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar si el uso de un surfactante alternativo a la lecitina de soya modifica la temperatura de transición gel-sol de la emulsión en gel formada por κ -carragenina y una emulsión O/W, para disponer de alternativas que permitan el uso de diferentes agentes emulsionantes.

- Caracterizar el comportamiento viscoelástico de la emulsión en gel con la presencia del nuevo surfactante para determinar si la presencia de éste afecta la respuesta mecánica del sistema.
- Preparar la emulsión en gel utilizando como fase oleosa dos oleorresinas de grado alimentario y caracterizarlas reológicamente.

4. HIPÓTESIS

La temperatura de transición gel-sol de un gel de κ -carragenina que atrapa a una emulsión O/W, que bajo condiciones de pH = 7 y concentración iónica total de 0.0125 eq/L es 37.0 °C, será afectada por la presencia de un surfactante de naturaleza distinta a la lecitina de soya y modificará las propiedades viscoelásticas del sistema.

5. ANTECEDENTES

Las propiedades fisicoquímicas de las emulsiones en geles de polisacáridos constituyen uno de los campos más investigados en los últimos años, debido a que en las industrias de alimentos, cosméticos y fármacos, este tipo de matrices encuentran su mayor aplicación como vehículos para la liberación de sabores, olores, colores y medicamentos.

En la industria de alimentos, los polisacáridos son ampliamente utilizados debido a las propiedades funcionales que poseen en disolución acuosa; entre las más importantes están aquellas como espesantes, emulsionantes, estabilizantes, floculantes; así como su compatibilidad con otros componentes naturales, su característica de ser biodegradables y su ausencia de toxicidad (Lapasin y Pricl, 1995).

5.1 PROPIEDADES DE LA K-CARRAGENINA

El polisacárido utilizado en el presente trabajo **experimental es la κ -carragenina**, que pertenece al grupo de los polisacáridos lineales solubles en agua, que son extraídos de diferentes especies de algas rojas y está formada por una estructura compuesta de n subunidades alternadas de α -(1-3)-D-galactosa-4-sulfato y β -(1-4) 3,6-anhidro-D-galactosa (Fig. 1) (Knutsen et al. 1994).

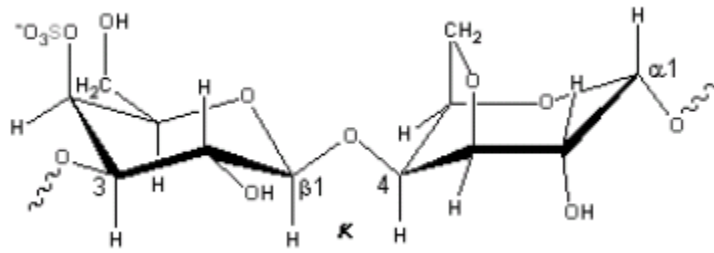


Figura 1. Unidad estructural básica de la κ -carragenina (Knutsen et al., 1994).

La κ -carragenina en disolución y en presencia de cationes monovalentes como el Na^+ , K^+ , Rb^+ y Cs^+ , forma geles cuando se enfrían disoluciones calientes. Debido a que los geles formados pueden fundir cuando se calientan se dice que son termorreversibles (Mangione et al., 2005).

A los cationes Na^+ y K^+ se les atribuye un papel fundamental en el mecanismo de gelificación e incluso sobre las propiedades viscoelásticas de los geles. Sin embargo, el mecanismo de gelificación es diferente para cada uno de estos contra iones, al ser un polisacárido sulfatado que siempre está ionizado aún bajo condiciones fuertemente ácidas (Whistler & BeMiller, 1997). Esta carga negativa de los sulfatos de su estructura (SO_3^-) hace del polisacárido una molécula sensible a interacciones iónicas. Específicamente en este estudio se agregaron iones K^+ en forma de la sal KCl , lo cual produce geles al formarse una estructura helicoidal y después la agregación de esas estructuras helicoidales formando una red tridimensional (Rochas & Rinaudo, 1980).

En presencia de iones K^+ la formación del gel involucra una transición de conformación de hebra aleatoria (Teraoka, 2002) a doble hélice seguida de una agregación de dobles hélices para formar una red tridimensional infinita, es decir, una red que ocupa todo el volumen de la muestra (Mangione et al., 2005). En la Figura 2, se muestra un diagrama propuesto por Badui (1987) del mecanismo de gelificación del polisacárido.

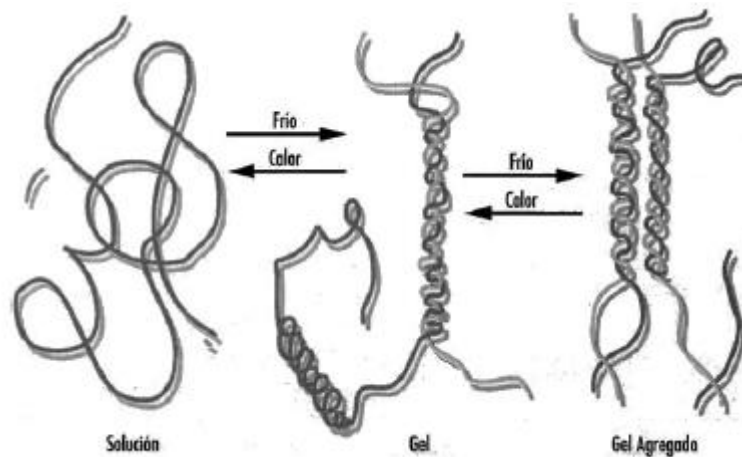


Figura 2. Modelo de la configuración en transición sol-gel del polisacárido kappa-carragenina (Badui, 1987).

Sin embargo, la agregación de dobles hélices que da lugar a la red infinita ocurre sólo cuando la concentración iónica total, C_T , es aproximadamente 7.0 mmol/dm^3 y la temperatura es alrededor de 21°C (Rochas & Rinaudo, 1980).

La concentración iónica total, C_T , se define como:

$$C_T = \gamma C_p + C_s \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde C_s es la concentración de contra ion, γ es el coeficiente de actividad promedio; $(\gamma_{\text{hebra}} + \gamma_{\text{hélice}})/2$ del contra ion (0.55 para la sal de potasio de κ -carragenina) y C_p es la concentración de polisacárido.

Cuando C_T es superior a 7 mmol/dm³ y la temperatura es mayor de 21 °C, la temperatura de formación de gel, T_g , es inferior a la temperatura de fusión del gel, T_m , ($T_g < T_m$). Este fenómeno se conoce como histéresis térmica y ocurre debido a la asociación de dobles hélices para formar una superestructura homogénea y rígida.

Cuando C_T es inferior de 7 mmol/dm³ y la temperatura menor de 21 °C, la temperatura de formación del gel es igual a la temperatura de fusión del gel ($T_g = T_m$) y por tanto no hay histéresis térmica; en consecuencia, no existe agregación de dobles hélices.

Recientemente se ha demostrado que cuando C_T y la temperatura son inferiores a los valores críticos mencionados líneas arriba, la κ -carragenina adopta una conformación ordenada de doble hélice, pero no forma geles, aún en presencia de iones potasio externos (Núñez et al., 2010).

Por otro lado, se afirma que en presencia del ion Na^+ , la formación de gel no ocurre por efecto de una transición de conformación de hebra aleatoria a doble hélice como para el K^+ , sino por un mecanismo diferente de asociación entre hebras que da por resultado cadenas compactas. Tal mecanismo no está claro aún pero se ha sugerido que podría deberse a una separación de fases con una fase más rica en κ -carragenina y a una concentración promedio menor de polisacárido. Sería en la fase más rica donde las hebras tenderían a asociarse dando lugar a estructuras localmente más compactas, menos interconectadas y más heterogéneas (Mangione et al., 2005).

5.2 DIAGRAMA DE TRANSICIÓN GEL-SOL

El diagrama de transición gel-sol es una gráfica que representa el logaritmo de la concentración iónica total (C_T) en función del recíproco de la temperatura absoluta y que puede describir el estado de las moléculas de la κ -carragenina en disolución.

En el diagrama (Figura 3) se observan tres zonas bien definidas. En la zona I, la κ -carragenina se encuentra en un estado desordenado, una conformación de espiral como resultado del efecto de la exclusión de volumen y de las repulsiones electrostáticas. En la zona II, la κ -carragenina se encuentra en una conformación de hélice ordenada, en la

cual las cadenas helicoidales no se encuentran formando agregados. En la zona III, las cadenas helicoidales se agregan en una red tridimensional formando geles que soportan su propio peso (Rochas & Rinaudo, 1984).

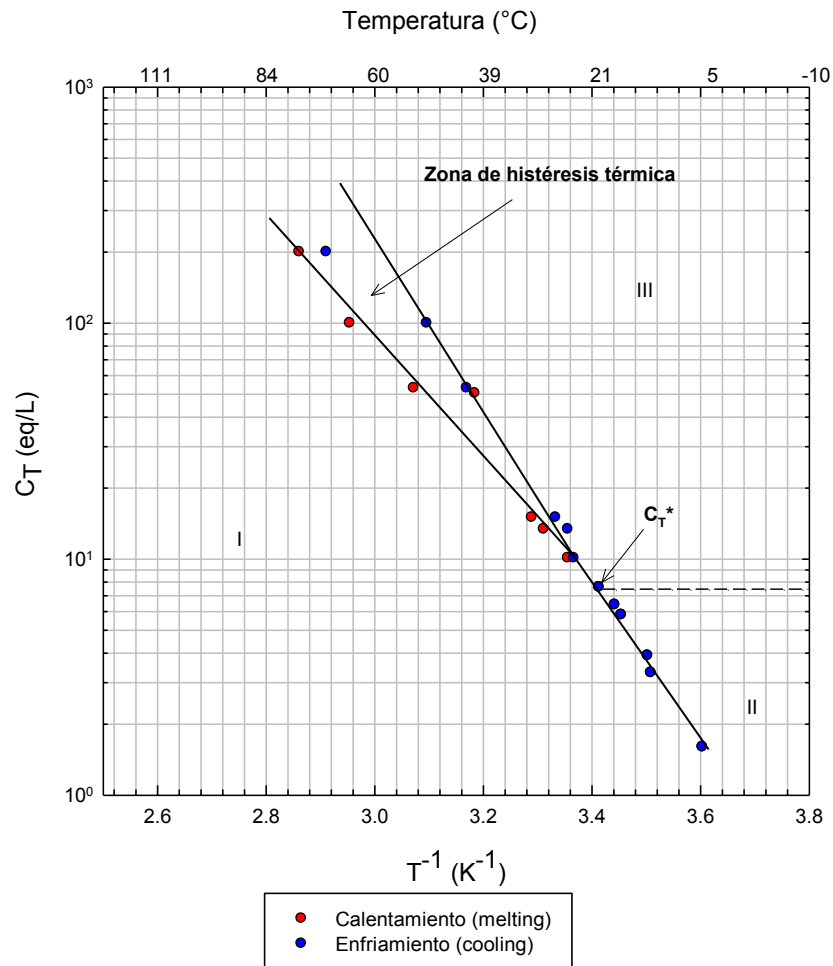


Figura 3. Diagrama de transición sol-gel de la sal de potasio de la kappa-carragenina (Rochas & Rinaudo, 1980). En esta gráfica se muestra la relación entre la concentración iónica total C_T y el inverso de la temperatura absoluta ($1/T$). También se señala la zona de histéresis térmica y la concentración iónica total crítica C_T^*

De acuerdo con este diagrama de transición gel-sol es posible predecir la temperatura de transición gel-sol a partir de una concentración iónica total dada por la concentración del polímero y la concentración del contra ion (Rochas, 1980), establecido por la Ecuación 1.

La transición gel-sol sucede cuando la temperatura aumenta, las hélices involucradas cambian su conformación y la red se rompe, regresando a su estado de hebra aleatoria (MacArtian et al., 2003).

5.3 GELES

Un gel está constituido por infinitas redes, las cuales pueden ser formadas por diferentes formas y son caracterizadas por tener un infinito tiempo de relajación y módulos de equilibrio.

Desde un punto de vista reológico un gel es definido como una red tridimensional que no exhibe estado estable de flujo. Esto significa que es un material con propiedades de sólido. El concepto de gel verdadero, es normalmente usado para designar una estructura tridimensional que mantiene su propia posición (Tecante, 2005).

5.4 MÓDULOS DINÁMICOS Y TRANSICIÓN SOL-GEL

Para los materiales viscoelásticos, el desfase angular (δ) entre el esfuerzo y la deformación ocurre entre los dos extremos de comportamiento ideal: sólido elástico de Hooke y fluido viscoso de Newton. En el sólido elástico de Hooke, el esfuerzo resultante es proporcional a la deformación y las señales ondulatorias de esfuerzo y deformación están empalmadas o en fase, mientras que en el fluido viscoso de Newton, el esfuerzo es proporcional a la rapidez de deformación, es decir, el cambio de la deformación con respecto al tiempo, y las señales ondulatorias de esfuerzo y deformación están desfasadas entre sí $+90^\circ$.

A partir de las propiedades viscosas y elásticas del material, se pueden deducir los módulos correspondientes que dan cuenta del carácter dual **del material. El módulo de almacenamiento de energía, G'** , representa la capacidad de un material para almacenar energía de manera elástica. El **módulo de pérdida de energía, G''** , representa la habilidad de un material para disipar energía.

La tangente de δ , (donde δ es el desfase angular) definida como el cociente G''/G' **expresa la contribución entre la energía disipada y la energía almacenada**, es decir, la contribución viscosa debida al flujo y la

contribución elástica debida a la deformación. Mientras más pequeño sea el valor de $\tan \delta$, mayor será el carácter elástico del material.

Tanto G' como G'' dependen de la frecuencia y la temperatura, por ende $\tan \delta$ también. Cuando $G' = G''$ ($\tan \delta = 1$) no existe un predominio del carácter elástico ni viscoso. Esta condición es ocasiones es usada como el punto de transición gel-sol o sol-gel ya que se supone que hay una coexistencia de cadenas poliméricas desordenadas con cadenas poliméricas ordenadas (Steffe, 1996). Esta transición ha sido corroborada por la técnica de calorimetría (Núñez y Tecante, 2007).

5.5 EMULSIONES

Las emulsiones se definen como la mezcla de al menos dos líquidos inmiscibles, uno de los cuáles está disperso en el otro en forma de pequeñas gotas (Das & Kinsela, 1990). Las emulsiones están formadas por dos fases: fase continua (la que se encuentra en mayor proporción) y fase dispersa (la que se encuentra en menor proporción).

Los polisacáridos y surfactantes actúan a través de diferentes métodos de estabilización una vez añadidos a la fase continua de una emulsión. Sin embargo, cuando éstos se emplean juntos, la formación de complejos polisacárido-surfactante puede tener un efecto desfavorable

sobre la estabilidad de la emulsión induciendo la separación de las fases (Bais et al., 2005).

Las interacciones polisacárido-surfactante, dependen fuertemente de las características químicas de la molécula polimérica, el tipo de surfactante y de sus concentraciones relativas. Las interacciones entre éstos pueden tener influencia sobre algunas propiedades tales como la tensión interfacial, las propiedades ópticas, la viscosidad, el punto de fusión del gel y otros parámetros reológicos. Cuando estas interacciones ocurren dentro de la fase continua de una emulsión, podría haber una carencia de surfactante en la interfase y consecuentemente afectando a la fase continua, resultando en propiedades mecánicas pobres y baja estabilidad (Bais et al., 2005).

El cremado en una emulsión es el resultado de la formación de una capa concentrada de gotas de la fase dispersa en la parte superior de una emulsión. En las etapas tempranas es solamente un gradiente de concentración de gotas, pero después puede observarse una clara división, una capa cremosa superior y una reducida capa inferior.

Existen diferentes factores que pueden prevenir o minimizar el cremado, entre ellos están: a) la reducción del tamaño promedio de las gotas, lográndolo con una homogeneización suficiente para crear gotas de

tamaño de algunos micrómetros; b) mezclando aceites para aumentar la densidad de la fase oleosa hasta un valor cercano a la densidad del agua; c) aumentando la viscosidad de la fase acuosa agregando polisacáridos; d) agregando emulsionantes de bajo peso molecular o proteínas (Chiralt, 2005).

Dickinson et al. (1989) estudiaron el efecto del monoestearato de glicerilo, estearato de sodio, y estearil lactilato de sodio sobre la estabilidad del alcohol contenido en lácteos con emulsiones aceite en agua. Estos emulsionantes incrementan la estabilidad de las emulsiones posiblemente formando complejos con la caseína.

El tamaño de gota de la fase dispersa en una emulsión es la propiedad fundamental más importante para la caracterización de las emulsiones debido a que éste influye en propiedades como la estabilidad, viscosidad, textura y sensación en boca (Das y Kinsella, 1990). Los intervalos de tamaño de gota de 0.1 a 100 μm pueden ocurrir en emulsiones en alimentos (Friberg, 1976, citado por Das y Kinsella, 1990).

5.6 EMULSIONES EN GEL

Los polisacáridos son ampliamente utilizados como espesantes, emulsionantes, estabilizantes o agentes floculantes. Cuando se agrega un polisacárido a la fase continua de una emulsión, tiene como resultado el incremento de la viscosidad de dicha fase y por consiguiente la disminución del movimiento de las gotas de la fase dispersa (Lapasin y Pricl, 1995, citado por Bais et al., 2005).

Otros componentes como emulsionantes son añadidos para la estabilización del sistema y además para obtener las características mecánicas deseadas en el producto final.

Para obtener una emulsión con buenas propiedades mecánicas y que se mantenga estable es necesario considerar la interacción del polisacárido y el emulsionante a utilizar.

5.7 EMULSIONANTES

Los agentes emulsionantes, son aquellos que facilitan la formación de la emulsión al disminuir la tensión interfacial y proporcionar estabilidad parcial a corto plazo entre las fases al formar una película alrededor de la fase dispersa (Bais et al., 2005).

Existen diferentes tipos de emulsionantes, de acuerdo a la parte hidrofílica de la molécula pueden ser: catiónicos, aniónicos, zwitteriónicos y neutros. Los emulsionantes contribuyen a diferentes principios físicos para la estabilidad de las emulsiones. En consecuencia, los emulsionantes iónicos actúan en rangos cortos de repulsión electrostática, mientras que los no iónicos se mantienen en un rango de medio a grande de repulsión electrostática entre partículas (McClements, 1999, Bais et al., 2005).

Los emulsionantes debido a su naturaleza anfipática, se adsorben en la interfase formada entre el agua y el aceite y forman una película interfacial. Esta película modifica las fuerzas que actúan entre las gotas vecinas de la fase dispersa. La magnitud de protección dada por el emulsionante a cada gota de la fase dispersa depende de la naturaleza de las interacciones interfaciales (Das y Kinsella, 1990).

6. METODOLOGÍA

El procedimiento seguido en esta investigación experimental se resume en tres diagramas de trabajo mostrados en la Figura 4.

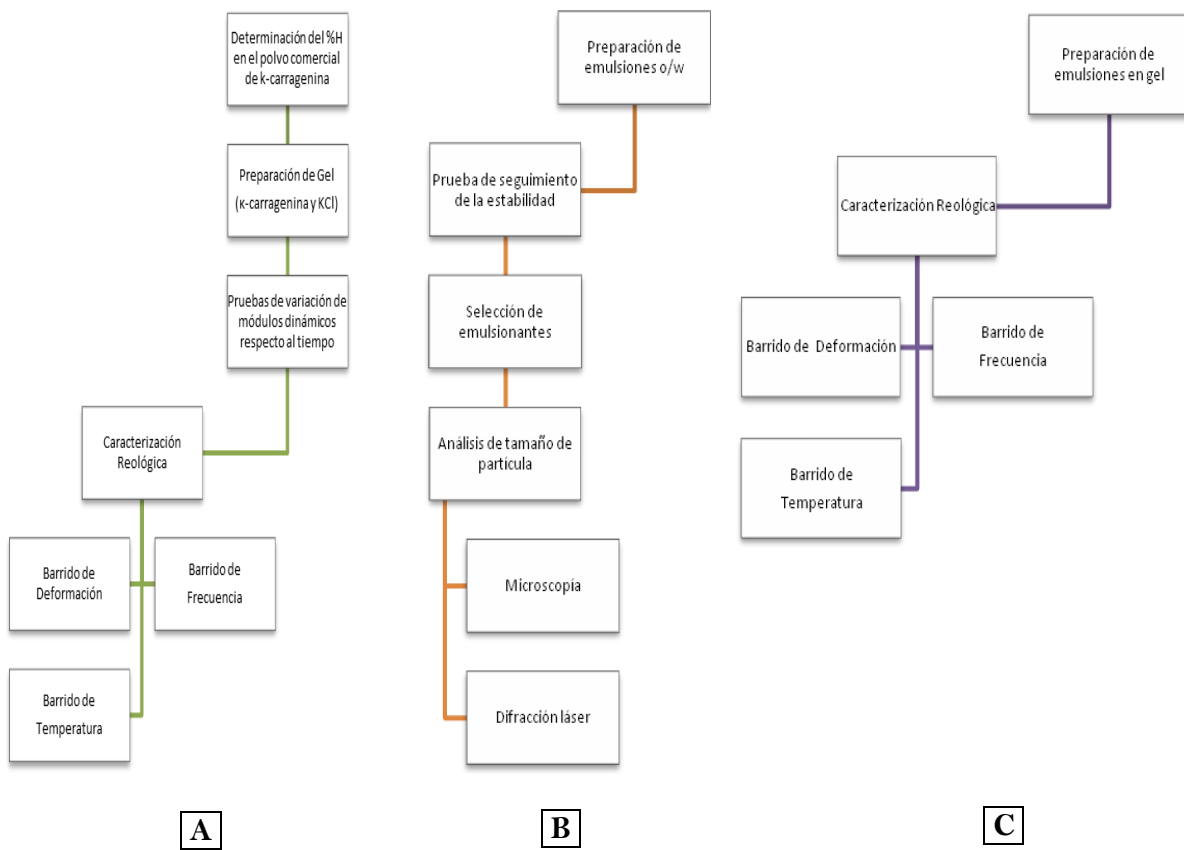


Figura 4. Diagramas de trabajo. **(A)** Preparación de gel y caracterización reológica. **(B)** Preparación de emulsiones y análisis de tamaño de partícula. **(C)** Preparación de emulsiones en gel y caracterización reológica.

6.1 MATERIALES

Se usaron los siguientes productos comerciales: κ -carragenina grado alimenticio HMRXZ/250 extraída de *Eucheuma cottonii* (Degussa Texturant Systems, Baupre, Francia) y aceite de maíz Mazola® (Alimentos Capullo S. de R.L. de C.V, México). Los emulsionantes utilizados fueron Triton X-100 para uso exclusivo de laboratorio (Hycel de México, S.A. de C.V., México), monoestearato de glicerilo grado alimenticio (Droguería Cosmopolita S.A. de C.V., México), Tween 20 (Hycel de México, S.A. de C.V.) y lecitina de soya grado alimenticio (Yelkin, Archer, Daniels & Midlands, E.U.A.). Como disolvente se utilizó agua desionizada, pH 7, ajustado con KOH 8.27 mmol/dm³, la sal de potasio empleada fue KCl (Mallinckrodt Speciality Chemicals Co. Paris, Kentucky, E. U. A.) Se utilizó también aceite esencial de orégano (AMSA Foods Colours, S.A. de C. V., México) y oleorresina de apio (AMSA Foods Colours, S.A. de C. V., México).

6.2 MÉTODOS

6.2.1 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN EL POLVO DE KAPPA-CARRAGENINA

Se determinó la humedad promedio (n = 3) por el método estándar para harina (AOAC, 1990). Se hicieron tres repeticiones simultáneas pesando 2 g de polvo de kappa-carragenina grado alimenticio con un

contenido de iones potasio de 192 ppm y de iones sodio 157 ppm que fueron determinados por absorción atómica. Cada repetición se colocó en una cápsula de aluminio previamente llevada a peso constante, se secó en un horno de vacío (Barnstead, modelo 3608, Barnstead lab-line, Melrose Park, Illinois, E. U.A.) a 130 °C y presión atmosférica durante 3 horas. Una vez transcurrido este tiempo, las cápsulas se colocaron dentro de un desecador de vidrio hasta alcanzar la temperatura ambiente. El contenido de humedad fue determinado por diferencia de peso de las tres repeticiones y se expresa como porcentaje promedio. La humedad promedio del polvo de kappa-carragenina fue 9.04 ± 0.053 %. Con este valor se ajustó la cantidad de kappa-carragenina a dispersar para tener una concentración de 0.5% p/p.

6.2.2 PREPARACIÓN DEL GELES DE K-CARRAGENINA CON ADICIÓN DE KCl

Se prepararon dos geles, con la concentración de polímero y contra ion K^+ tal que la temperatura de transición gel-sol fuera ≤ 37 °C y ≤ 34 °C, utilizando el diagrama de transición gel-sol (Rochas & Rinaudo, 1984). Con el fin de distinguir los geles durante la discusión, se denominó Gel A a aquel que se esperaba fundiese a 37 °C y Gel B a aquel que se esperaba fundiese a una temperatura de 34 °C.

Los geles fueron preparados de acuerdo con la técnica propuesta por Núñez-Santiago y Tecante (2007). La cantidad de κ -carragenina para

obtener una concentración de 0.5% p/p fue dispersada a temperatura ambiente en agua desionizada, cuyo pH fue ajustado a 7.0 previamente, con una disolución valorada de KOH 8.27 mmol/dm^3 , en una parrilla con agitación magnética (Barnstead, Super Nouva, Barnstead Thermoline, Dubuque, Iowa, E. U. A.). Enseguida, la dispersión se calentó en un baño de tanque enchaquetado de acero inoxidable (Polystat constant temperature circulator, Modelo 12101-50, Chicago, Illinois, E. U. A.) hasta $70 \text{ }^\circ\text{C}$ a una velocidad de $2 \text{ }^\circ\text{C/min}$, lo cual es una variación a la técnica empleada por Núñez-Santiago y Tecante (2007) para prevenir la considerable evaporación de agua que ocurre a $92 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura utilizada por Núñez-Santiago y Tecante (2007). Una vez a $70 \text{ }^\circ\text{C}$, se adicionó la cantidad de KCl para tener una concentración de 6 mmol/dm^3 , la cual es la concentración de KCl con la que se obtiene una temperatura de fusión de $\leq 37 \text{ }^\circ\text{C}$ (Fuentes-Barrón, 2008) tomándose en cuenta la cantidad de iones K^+ ya presentes en el agua desionizada **ajustada a pH 7.0 y los aportados por el polvo de κ -carragenina.**

Una vez agregada la sal KCl, la disolución se mantuvo en condiciones isotérmicas ($70 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 10 minutos. Posteriormente, la disolución se enfrió a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ a una velocidad de enfriamiento de 2°C/min . Al llegar a esta temperatura, el sol se transfirió a un molde de polipropileno de 25 mm de diámetro y 150 mm de altura. Se almacenó en refrigeración ($4 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 24 h.

6.2.3 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DEL GEL

Para la determinación de las características reológicas de los geles se hicieron pruebas mecánicas dinámicas de baja amplitud a 25 °C en un reómetro ARES RFS III (TA Instruments, E.U.A), empleando placas paralelas estriadas (Figura 5) de 25 mm de diámetro con una separación entre estrías de 2 mm.

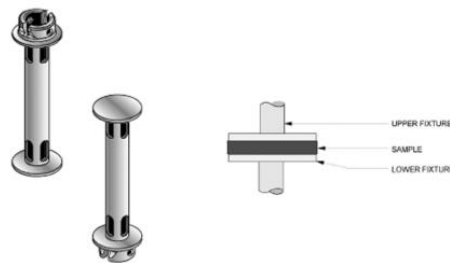


Figura 5. Geometría de placas paralelas (izquierda) y vista transversal de una muestra entre las placas (derecha).

Las pruebas reológicas que se llevaron a cabo fueron las descritas a continuación:

A) BARRIDO DE DEFORMACIÓN

Por medio de esta prueba se determinó la zona de viscosidad lineal. La prueba se llevó a cabo a 25 °C y una frecuencia de 6.28 rad/s.

B) BARRIDO DE FRECUENCIA

Con esta prueba se determinó la variación de los módulos dinámicos con la frecuencia en el intervalo de 0.1 a 100 rad/s y 25 °C, dentro de la zona de viscoelasticidad lineal.

C) BARRIDO DE TEMPERATURA

Mediante esta prueba se determinó la evolución de los módulos dinámicos, G' y G'' , con la temperatura; a frecuencia y deformación constantes. Esta información fue usada para determinar la temperatura de transición gel-sol de los geles.

6.2.4 ENVEJECIMIENTO DEL GEL: ESTABLECIMIENTO DEL TIEMPO PARA LA MEDICIÓN DE SUS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y SU TEMPERATURA DE TRANSICIÓN

Se prepararon geles (polisacárido y KCl) como se describe en el apartado 6.2.2 y se realizaron las pruebas reológicas después de 24, 48 y 72 horas para determinar el tiempo al cual los módulos dinámicos alcanzan sus valores de equilibrio.

6.2.5 PREPARACIÓN DE GEL ADICIONANDO EMULSIONANTE TX-100

Se prepararon geles con el procedimiento descrito en el apartado 6.2.2, adicionando seis diferentes concentraciones del emulsionante TX-100. Se utilizó únicamente este surfactante por ser el de mayor solubilidad en agua (soluble en toda proporción en agua a 25 °C). El emulsionante se adicionó durante periodo isotérmico durante la preparación del gel (70 °C).

6.2.6 PREPARACIÓN DE EMULSIONES

Las emulsiones se prepararon de acuerdo con la técnica propuesta por Saito et al. (2005). La proporción peso, expresada en porcentaje de agua/aceite fue de 80:20, respectivamente. La fase continua estuvo constituida por agua desionizada a pH 7.0, ajustada con KOH 8.27 mmol/dm³. La fase dispersa estuvo constituida por aceite de maíz y por el emulsionante en concentraciones de 2%, 3%, 4% y 5% p/p dispersado en el agua desionizada o en el aceite en función de su valor de HLB. Los emulsionantes utilizados fueron Triton X-100 para uso exclusivo de laboratorio con una concentración de iones potasio de 69230.23 ppm, la cual se determinó por absorción atómica; monoestearato de glicerilo grado alimenticio, Tween 20 y lecitina de soya grado alimenticio.

Ambas fases se colocaron en un tanque enchaquetado de acero inoxidable manteniendo una temperatura de 40 °C y se agitaron a 1500 rpm durante 3 minutos en un homogeneizador tipo rotor-estator (**Rayneri "Turbo Test", Nantes, Francia**). Las emulsiones preparadas se mantuvieron en frascos de vidrio tapados con tapa roscada y almacenados en refrigeración (4 °C) hasta el momento de ser utilizadas. Para aceptar o descartar los emulsionantes a una cierta concentración, se observó la evolución de la coalescencia de la fase dispersa, presentando o no, evidencia de cremado. El tiempo de

observación fue en intervalos de 20 minutos durante las primeras tres horas después de su preparación y consecuentemente cada 24 horas durante 3 días.

6.2.7 ANÁLISIS DE DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE GOTA EN LAS EMULSIONES

Se utilizaron dos procedimientos para el análisis de distribución de tamaño de gota de la fase dispersa en la fase continua. El primero fue por observación en el microscopio de luz (Olympus BX45, Japón); una vez preparadas las emulsiones, el tamaño de las gotas de aceite fue medido usando el software de análisis de imágenes del microscopio (Olympus, Image Pro-Plus. v 1.1). El segundo procedimiento fue un análisis de distribución de tamaño por difracción láser (Malvern Master Sizer 2000, RU).

6.2.8 PREPARACIÓN DE EMULSIONES EN GEL

Se preparó el sol como se describe en el apartado 6.2.2, disolviendo únicamente el surfactante Triton X-100 en la fase continua; los surfactantes lecitina de soya y monoestearato de glicerilo que son solubles en aceite fueron disueltos en la fase dispersa. Una vez listas ambas fases por separado, ambos sistemas se homogeneizaron a 1500 rpm por 3 min en un homogeneizador rotor-estator. La mezcla se

transfirió a los moldes para geles y se refrigeró (4 °C) durante 24 h previamente a su caracterización reológica.

6.2.9. EMULSIONES EN GEL UTILIZANDO OLEORRESINAS DE GRADO ALIMENTICIO COMO FASE OLEOSA

Se prepararon emulsiones en gel como se describe en el apartado 6.2.8 reemplazando 100%, 5% y 2% de la masa de aceite de maíz usada en la emulsión, por la oleorresina de apio o por el aceite esencial de orégano. Además, se realizó una prueba cualitativa en viales de vidrio de 5 mL con las proporciones de agua, aceite y oleorresina o aceite esencial al 0 y 1% p/p; sin añadir surfactante. Se agitó manualmente durante 30 segundos y se midió la evolución de cremado en términos de espesor de la capa cremada respecto al tiempo, en intervalos de 3 minutos durante 30 minutos.

6.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se hizo un análisis de varianza y el método de Tukey, para determinar si se presentaron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) respecto al sistema de referencia aceite de maíz/agua.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 ESTABLECIMIENTO DEL TIEMPO PARA LA MEDICIÓN DE LAS PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE UN GEL

Los geles preparados se caracterizaron reológicamente a 24, 48 y 72 horas después de ser preparados para determinar el tiempo en el que deben realizarse todas las pruebas reológicas. En el Cuadro 1 se muestran las temperaturas de fusión y de gelificación promedio ($n = 2$) con su correspondiente desviación estándar; el análisis estadístico de varianza mostró que sí hay diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de temperatura arrojados para cada tiempo de análisis (ver Anexo C); el método Tukey reveló que hay diferencia significativa entre las muestras en la temperatura de fusión presentada. Por otro lado la muestra evaluada a 72 h y la muestra de 48 h, no presentaron diferencia significativa con lo que respecta a temperatura de gelificación. La diferencia de temperaturas de fusión respecto al tiempo, se debe a la **sinéresis que presentan los geles de κ -carragenina**, a mayor tiempo transcurrido desde la preparación del gel, se verá afectada la concentración total (C_T) por la pérdida de agua, resultando en una mayor concentración total (C_T) y de acuerdo con el diagrama de transición, una mayor temperatura de transición gel-sol (Rochas & Rinaudo, 1980).

Cuadro 1. Valores de temperatura de transición gel-sol en función del tiempo transcurrido desde la preparación del gel.

Tiempo (h)	Temperatura de fusión (°C)	Temperatura de gelificación (°C)
72	41.2 ± 0.037 ^a	24.0 ± 0.468 ^a
48	40.2 ± 0.856 ^b	24.3 ± 0.330 ^a
24	37.5 ± 1.210 ^c	17.1 ± 1.31 ^b

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).

La Figura 6 muestra la variación de la $\tan \delta$ respecto a la temperatura, mostrando que a 72 horas, la temperatura de transición fue mayor que a 48 horas y ésta última mayor que la de 24 horas. A 24 horas la temperatura de transición se presenta cercana al valor calculado conforme al diagrama de transición, con un valor de 37.5 °C ± 1.21 °C.

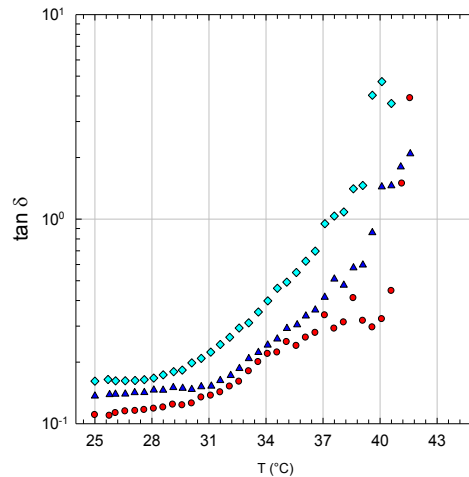


Figura 6. Variación de $\tan \delta$ con la temperatura. Se observa la divergencia de la unidad ($\tan \delta = 10^0$) conforme el mayor tiempo de envejecimiento. 24 h (rombos), 48 h (triángulos) y 72 h (círculos).

Debido a los resultados anteriores, todas las pruebas reológicas se realizaron a las 24 h de haber sido preparado el gel y la emulsión en gel.

7.2 PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y TEMPERATURAS DE TRANSICIÓN GEL-SOL DE GELES DE K-CARRAGENINA CON ADICIÓN DE KCl

Se realizó en primera instancia un barrido de deformación para el **Gel A** y para el **Gel B**. El límite de la zona de viscoelasticidad lineal fue 2% de deformación para el **Gel A** y 10% para el **Gel B**. Por lo que, los barridos de frecuencia y los barridos de temperatura de cada uno de estos geles, se llevaron a cabo a la deformación límite correspondiente a cada gel y así realizar las mediciones en la zona donde el esfuerzo es directamente proporcional a la deformación (Barnes *et al.* 1989).

Se buscó trabajar dentro del intervalo de sensibilidad del reómetro con el propósito de obtener módulos confiables. El valor máximo y mínimo de torque del equipo es 4×10^{-3} g·cm (0.4 μ N·m) y 1000 g·cm (98 mN·m), respectivamente.

En ambos geles los módulos dinámicos aumentaron con el aumento de la frecuencia. Si bien dicho aumento no fue muy pronunciado, no es posible afirmar que los módulos dinámicos son independientes de la frecuencia; de acuerdo a la ley de la potencia ($G' \propto \omega^x$ y $G'' \propto \omega^y$), los valores de pendiente tanto para G' como para G'' son $\ll 1$ (ver Anexo A), lo cual revela una independencia a la frecuencia.

La Figura 7 muestra el comportamiento viscoelástico del Gel A y del Gel B dado por la variación de los módulos dinámicos G' y G'' con la frecuencia.

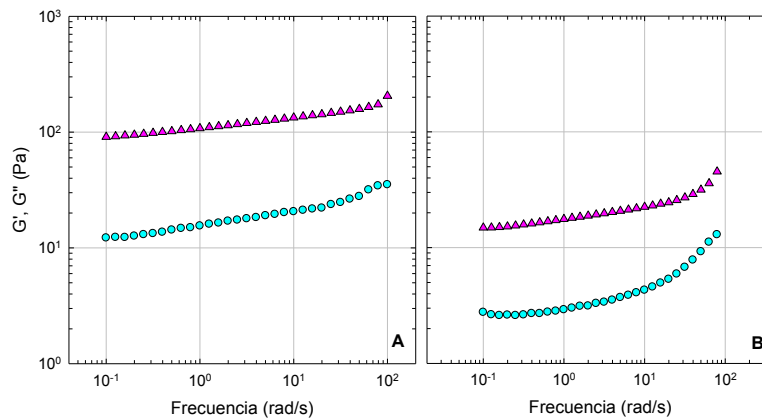


Figura 7. Variaciones de G' (triángulos) y G'' (círculos) con la frecuencia. *Gel A* (A) *Gel B* (B) Temperatura 25 °C. Deformación 2 % para Gel A y 10% para Gel B.

En la Figura 7 puede notarse que, a valores de frecuencia de $10^{0.5} - 10^2$ rad/s existe una ligera dependencia de los módulos dinámicos con la frecuencia, indicando una tendencia a fluir. Podría no considerarse geles desde un punto de vista reológico ya que un gel no muestra flujo al menos dentro de la escala de tiempo de observación (Ferry, 1980). Sin embargo, los módulos de los Geles **A** y **B** mantienen la particularidad de un gel, donde **el módulo de almacenamiento G' es mucho más grande que el módulo de pérdida G''** (Tecante, 2005). Esto muestra que son geles poco rígidos; por esta razón, **los valores de G' son relativamente bajos; entre 100 y 200 Pa para el *Gel A* y entre 17 y 50 Pa para el *Gel B*; claramente siendo el Gel *B* el menos rígido.**

En la Figura 8 se observa el discreto aumento de la tangente del ángulo de desfase $\tan \delta$ con el aumento de la frecuencia.

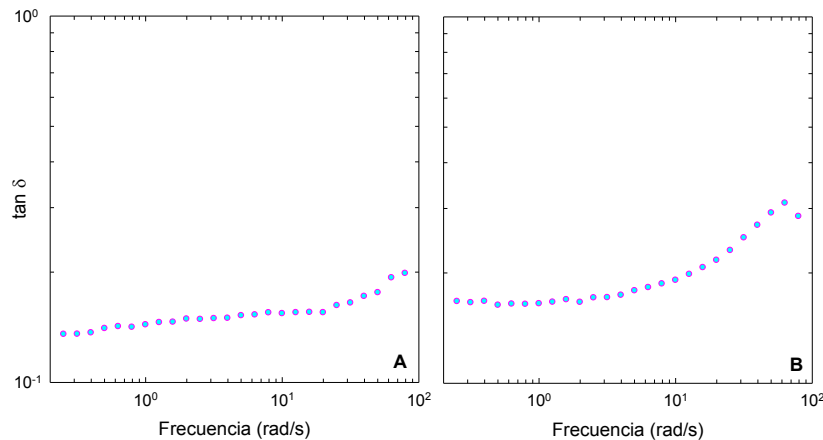


Figura 8. Variación de la $\tan \delta$ en función de la frecuencia. *Gel A* (A) *Gel B* (B). Temperatura 25 °C. Deformación 2 % para Gel A y 10%.para Gel B.

La Figura 8 muestra también que el **Gel A** tiene un carácter más elástico que el **Gel B** dado que su $\tan \delta$ es menor sobre todo el intervalo de frecuencia. Los módulos dinámicos del **Gel A** fueron superiores a los módulos del **Gel B** en 100.6 ± 17.14 Pa para G' y 14.4 ± 3.36 Pa para G'' .

Ambos geles tienen la misma concentración de polisacárido, pero el **Gel A** tiene una mayor concentración de iones K^+ ya que la concentración añadida de KCl fue calculada para fundir a 37 °C y la del **Gel B** para fundir a 34 °C. En razón de lo anterior, se esperaba que el **Gel A** tuviera módulos mayores debido a que las propiedades macroscópicas de los **geles de κ -carragenina** son afectadas por cationes monovalentes como el K^+ , Rb^+ , Cs^+ , los cuales favorecen la formación de geles más rígidos y

elásticos (Badui, 1987). El gel con mayor concentración de K^+ tiene un carácter más elástico que el gel que tiene menor concentración de iones K^+ . Los geles más elásticos se obtienen aumentando la concentración de KCl (Núñez-Santiago, 2007).

Los barridos de temperatura, mostrados en la Figura 9 muestran que la transición gel-sol ocurrió a $36.4 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.062 \text{ }^\circ\text{C}$ para el **Gel A** y a $32.6 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.133 \text{ }^\circ\text{C}$ para el **Gel B**.

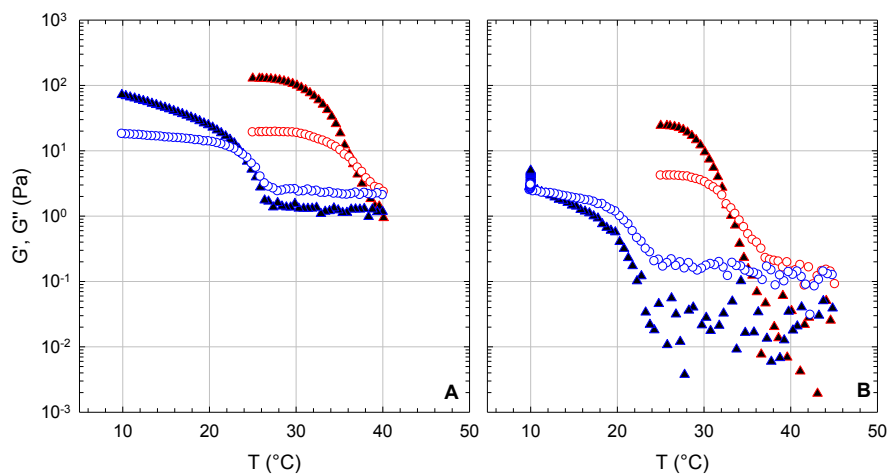


Figura 9. Variación de los módulos dinámicos G' (triángulos) y G'' (círculos) en función de la temperatura. *Gel A* (A) *Gel B* (B) Frecuencia 6.28 rad/s. Deformación 2 % para Gel A y 10% para Gel B

La Figura 10 muestra la variación de la $\tan \delta$ en función de la temperatura. Cuando $\tan \delta = 1$ la transición gel-sol se lleva a cabo (Steffe, 1996).

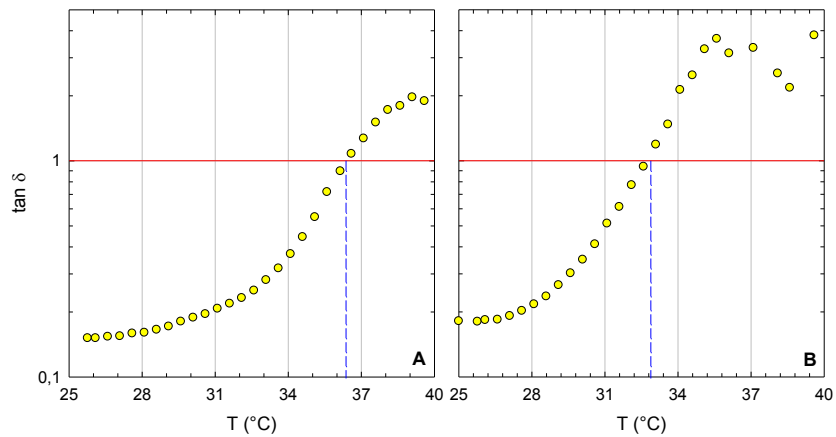


Figura 10. Variación de la $\tan \delta$ en función de la temperatura. *Gel A* (A) *Gel B* (B)
Frecuencia 6.28 rad/s. Deformación 2 % para Gel A y 10% para Gel B.

La temperatura de transición gel-sol, también llamada temperatura de fusión del gel (T_m), ocurre cuando $G' = G''$, es decir, cuando $\tan \delta = 1$ (Steffe, 1996), y aumenta con el incremento de la concentración de iones K^+ . Al aumentar la concentración de KCl, G' aumenta rápidamente para bajas concentraciones de esta sal, cuando la concentración de KCl es alrededor de 80 a 100 mM, G' se manifiesta independiente a la concentración de la sal (Núñez-Santiago & Tecante, 2007).

7.3 TEMPERATURAS DE TRANSICIÓN GEL-SOL DE UN GEL A, ADICIONANDO EMULSIONANTE TX-100

Se determinó la temperatura de fusión de geles de κ -carragenina-KCl y seis diferentes concentraciones de emulsionante Tritón X-100. Los resultados de las temperaturas de transición gel-sol se muestran en el Cuadro 2. Las temperaturas mostradas son de fusión y gelificación de un

Gel A al cual se añadieron concentraciones (% p/p) de 0.02, 0.2, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 de Triton X-100. Este surfactante se utilizó debido a su solubilidad en agua a 25 °C, a diferencia del monoestearato de glicerilo y la lecitina de soya los cuales son insolubles en agua.

Cuadro 2. Temperaturas de fusión y de gelificación promedio (n = 2) y su correspondiente desviación estándar de un gel A con diferentes concentraciones de Triton X-100.

Concentración (%p/p)	Temperatura de fusión (°C)	Temperatura de gelificación (°C)
0.02	36.1 ± 0.462 ^a	16.0 ± 0.180 ^a
0.20	36.9 ± 0.004 ^b	16.6 ± 0.092 ^a
2.00	38.9 ± 0.128 ^c	23.0 ± 0.640 ^b
3.00	41.3 ± 0.047 ^d	24.2 ± 0.322 ^c
4.00	41.7 ± 0.879 ^d	24.9 ± 0.402 ^d
5.00	43.8 ± 0.346 ^e	31.4 ± 0.282 ^e

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).

El análisis de varianza mostró diferencia significativa entre las muestras y el método Tukey indicó que hay diferencia significativa de temperatura de fusión entre las diferentes concentraciones de surfactante excepto para 3% y 4% p/p. Para la temperatura de gelificación, no hay diferencia significativa entre las muestras con 0.02% y 0.20% p/p, así como entre las muestras con 3% y 5% p/p de surfactante. (Ver Anexo C).

En la Figura 11 se muestra la variación de la $\tan \delta$ con la temperatura. El aumento en la temperatura de transición gel-sol se debe a la contribución de los iones K^+ presentes en la preparación comercial de Triton X-100 sobre la concentración iónica total, C_T . La cantidad de estos iones determinada por absorción atómica con un método de atomización flama aire/acetileno, es 69230 ppm.

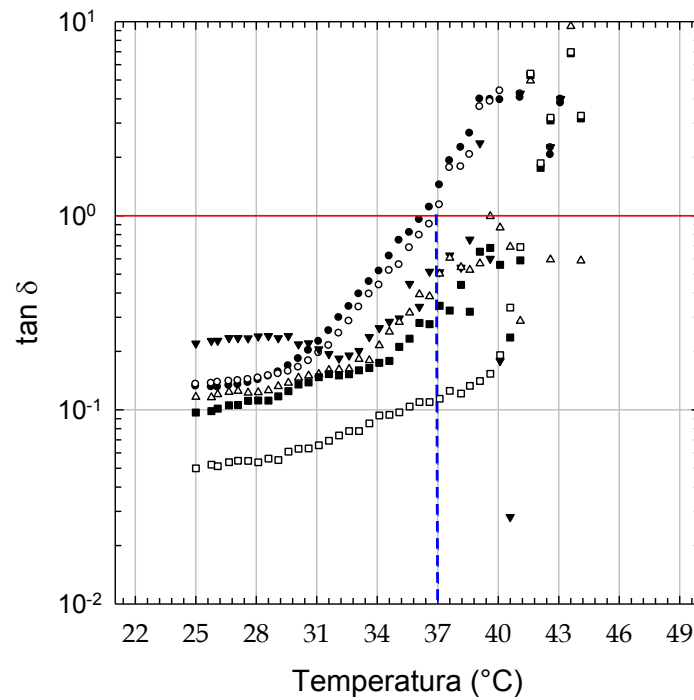


Figura 11. Variación de la $\tan \delta$ con la temperatura para los geles con 0.5% p/p de kappa-carragenina, 6 mM de KCl y diferentes concentraciones % p/p de Triton X-100 (0.02 círculos negros, 0.20 círculos blancos, 2.00 triángulos invertidos negros, 3.00 triángulos blancos, 4.00 cuadrados negros y 5.00 cuadrados blancos). Frecuencia 6.28 rad/s. Deformación 1%.

El efecto de los iones K^+ en la temperatura de fusión del gel fue estudiada acorde con el diagrama de transición gel-sol, donde C_T es la concentración total (ver ecuación 1), $\Delta H/2.3R$ es el la pendiente de la recta con un valor reportado por Rochas (1982) de -8080 K a partir de

la gráfica $\ln C_T$ vs T_m^{-1} , la cual corresponde a -3415 K cuando se usa $\log_{10} C_T$, este último valor fue el que se utilizó para el cálculo de temperatura de fusión T_m .

$$\text{Log } C_T = - \left[\frac{\Delta H}{2.3 R} \right] \left[\frac{1}{T_m} \right] \quad \text{Ecuación 2}$$

Se pronosticó con un cálculo matemático que la concentración de iones K^+ presentes en el Triton X-100 afectarían el punto de fusión de una manera más drástica, sin embargo las temperaturas de fusión no fueron afectadas al grado de los datos calculados, lo que indica que no todo el K^+ presente en el surfactante interactúa con la κ -carragenina para formar un gel más rígido y por tanto con temperaturas de fusión elevadas, sin embargo sí aumenta la temperatura de fusión en un grado significativo.

Los datos numéricos correspondientes a temperaturas de fusión experimentales con su respectivo valor de C_T comparadas con las temperaturas de fusión calculadas a partir de C_T calculado se expresan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Temperaturas de fusión experimentales con su respectivo valor de C_T comparadas con las Temperaturas de fusión calculada a partir de C_T calculado de un gel A con diferentes concentraciones de Triton X-100.

Concentración (%p/p)	Valor de C_T Experimental (mM)	Temperatura de Fusión experimental ($^{\circ}$ C)	Valor de C_T Calculada (mM)	Temperatura de Fusión calculada ($^{\circ}$ C)
0.02	11.38	36.1 + 0.462	12.51	48.2
0.20	11.46	36.9 + 0.004	12.83	51.4
2.00	11.65	38.9 + 0.128	16.03	79.7
3.00	11.88	41.3 + 0.047	17.80	93.0
4.00	11.93	41.7 + 0.879	19.58	105.1
5.00	12.13	43.8 + 0.346	21.35	116.1

El aumento de T_m con diferencia significativa a mayor concentración del emulsionante permite pensar en dos posibles causas, la primera es que una concentración baja de los iones K^+ presentes en el emulsionante interactúa con la molécula de la κ -carragenina, produciendo geles más rígidos porque la proporción de hélices agregadas se incrementa con la concentración de sal (Núñez-Santiago, 2007). La segunda posible explicación es que este emulsionante al ser más soluble en la fase continua, aumenta la viscosidad de la misma, produciendo un gel de mayor rigidez lo que conlleva a un aumento de la temperatura de fusión del gel. No se excluye la posibilidad de que se deba a ambas causas.

7.4 ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES

En las emulsiones preparadas con 2% p/p de Tween 20 y de Triton X-100, se observó la presencia de cremado en un lapso de 20 minutos después de haber sido preparadas, para el 2% p/p de monoestearato de

glicerilo fueron 40 minutos antes de observar cremado y 6 horas para la lecitina de soya.

Por consiguiente se decidió aumentar la concentración a 5% p/p para los surfactantes exceptuando la lecitina de soya, la cual mantuvo estable la emulsión. Bajo esta nueva concentración, únicamente se observó cremado con el emulsionante Tween 20 en un periodo de 20 minutos. La explicación de este comportamiento es posible que sea por la gran afinidad que tiene el Tween 20 con el agua, ya que su HLB = 16.0, lo que clasifica al surfactante con una alta solubilidad en la fase acuosa. Esta alta solubilidad puede indicar que el surfactante se reúne en el disolvente y pierde sus propiedades superficiales, provocando la segregación (García, 1998).

La solubilidad del emulsionante es uno de los factores que afectan la estabilidad de la emulsión. Antes de la formación de la emulsión, la solubilidad del emulsionante es un parámetro crucial en el control de la coalescencia de la emulsión (Kinsella, 1984). Considerando la estructura química del Tween 20, contiene una mayor cantidad de grupos hidrofílicos que lipofílicos por lo cual incrementa su afinidad por la fase acuosa.

7.4.1 VELOCIDAD DE CREMADO

La velocidad de cremado de todos los surfactantes fue estimada realizando un cálculo de acuerdo con la ley de Stokes (Ecuación 3).

$$v = \frac{\Delta\rho g d^2}{18\eta} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde v es velocidad de cremado, $\Delta\rho$ es diferencia de densidades de la fase acuosa y fase oleosa, g es el valor de la gravedad, d es el diámetro de la gota y η es la viscosidad del medio de dispersión. El Cuadro 4 muestra los resultados de velocidad de cremado.

Cuadro 4. Valores estimados de velocidad de cremado en emulsiones O/W utilizando diferentes emulsionantes.

Emulsionante	Velocidad de cremado v (m/s)
Tween 20	9.43×10^{-2}
Triton X-100	3.77×10^{-11}
Monoesterato de glicerilo	57.8×10^{-11}
Lecitina de soya	5.37×10^{-11}

Los resultados de velocidad de cremado calculada para los cuatro diferentes emulsionantes muestran que la velocidad de cremado al utilizar Tween 20 como emulsionante es 10^9 veces mayor que utilizando cualquiera de los otros surfactantes. Debido a los cálculos anteriores, el uso del emulsionante fue descartado para este proyecto experimental.

7.4.2 TAMAÑO DE GOTA

Posteriormente, se prepararon emulsiones con tres diferentes concentraciones de surfactante TX-100 y monoestearato de glicerilo (2.0, 3.0 y 4.0% p/p) y se observaron en el microscopio. Las imágenes se muestran en las Figuras 12 y 13.

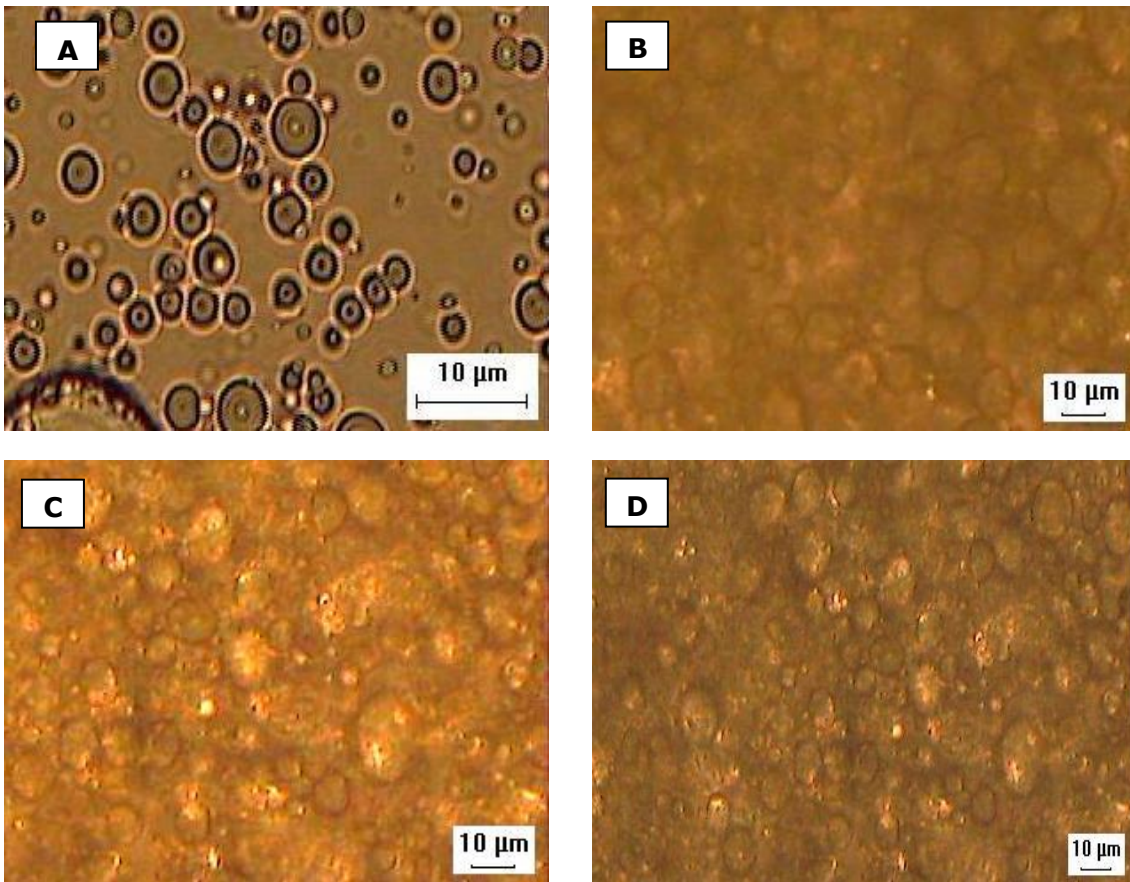


Figura 12. Imágenes (40x) al microscopio de luz de emulsiones con diferentes concentraciones (% p/p) de monoestearato de glicerilo. (A) 2.0, (B) 3.0, (C) 4.0 y (D) 5.0.

La Figura 12 muestra las imágenes de las emulsiones con monoestearato de glicerilo como emulsionante. Para una concentración de 2 % p/p se formaron burbujas de aire, mientras que para 3, 4 y 5%

se observó una dispersión de gotas de aceite. Por lo que se eligió la menor cantidad de emulsionante necesario para formar una dispersión de gotas de aceite, siendo una concentración de 3% p/p la adecuada para este fin.

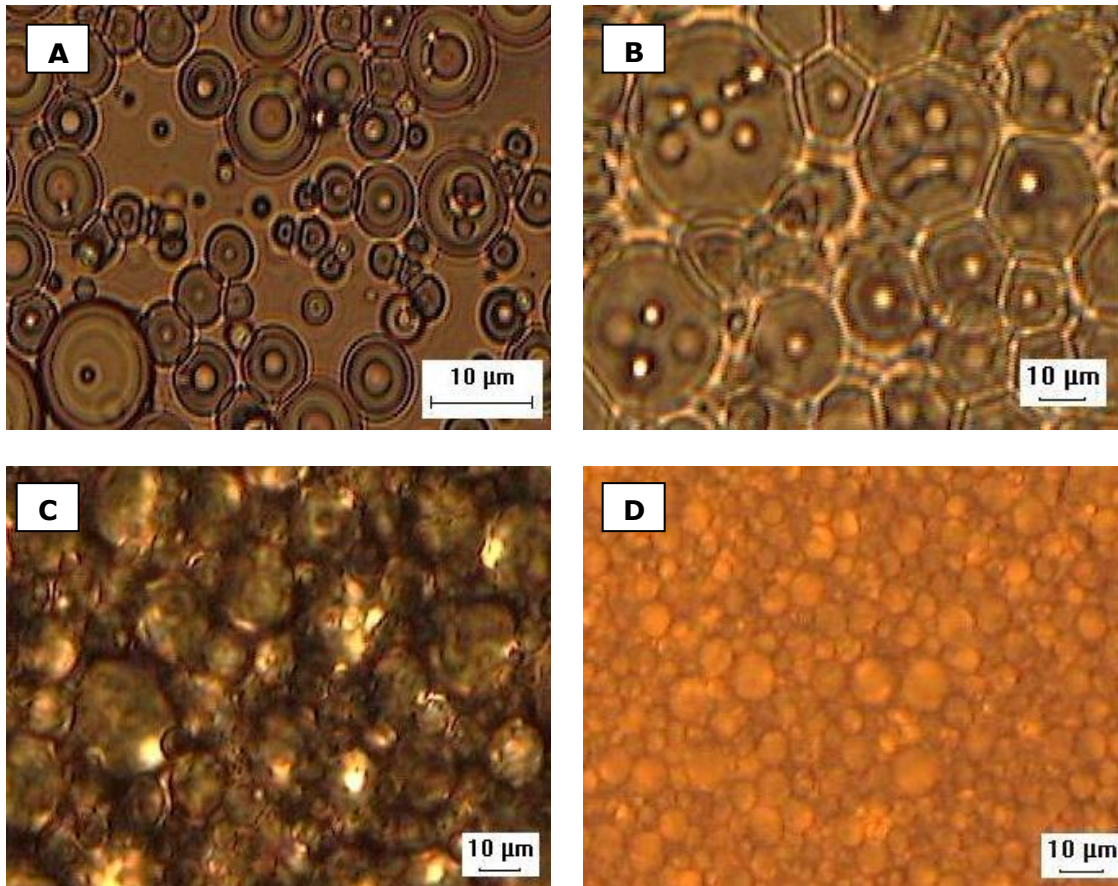


Figura 13. Imágenes (40x) al microscopio de luz de emulsiones con diferentes concentraciones (% p/p) de Triton X-100. 2.0 (A), 3(B), 4 (C) y 5(D).

La Figura 13 muestra las imágenes de emulsiones con Triton X-100. Para concentraciones de 2 y 3 % p/p se producen cavidades de aire similares a las de una espuma dentro de la emulsión. Aunque concentraciones de 4 y 5% p/p producen gotas de aceite bien dispersas, tales concentraciones aumentarían la temperatura de transición gel-sol

por las razones que se exponen en el apartado 7.3 Por ello, se usó una concentración de 3% p/p.

7.4.3 SEGUIMIENTO DE LA COALESCENCIA DE LAS EMULSIONES

En el caso de las emulsiones preparadas con lecitina de soya, se tomó una muestra cada hora debido a que con este surfactante la separación de fases se observó después de 6 horas de su elaboración. Las muestras fueron observadas al microscopio y se muestran en la Figura 14.

Las imágenes obtenidas revelaron un aumento en el diámetro de las gotas de aceite, atribuido a la presencia del fenómeno de coalescencia, donde las gotas pierden su identidad y se unen formando una gota de mayor tamaño.

Las emulsiones O/W en refrigeración, coalescen, debido a que la presencia de partículas sólidas como cristales de agua o grasa precipitados en la emulsión contribuyen a la ruptura de la película entre las gotas de aceite y aumentan la tasa de coalescencia (Chiralt, 2005).

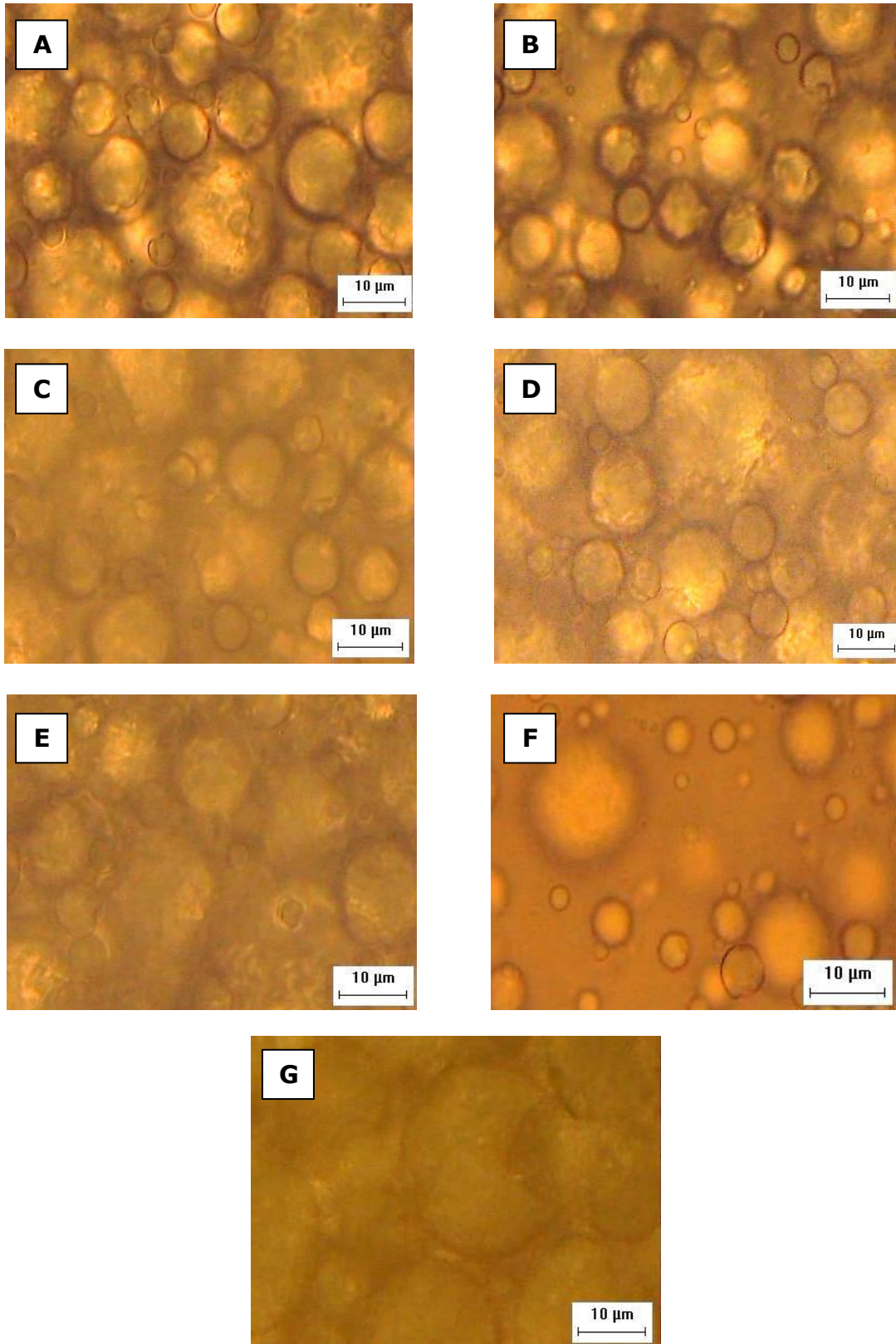


Figura 14. Imágenes (100x) al microscopio de luz de una emulsión preparada con 2% p/p de lecitina de soya a diferentes tiempos (h). (A) 0 h, (B) 1 h, (C) 2 h, (D) 3 h, (E) 4 h, (F) 5 h y (G) 6 h.

La coalescencia con mayor notoriedad se presentó a las 4 horas de observación. La fotografía (E) muestra un claro aumento en el diámetro de las gotas de aceite.

Si bien la coalescencia se presenta, el emulsionante logra otorgarnos un tiempo de estabilidad suficiente para la preparación de las emulsiones en gel, por lo cual la lecitina de soya al 2% p/p es una concentración adecuada de emulsionante para el sistema.

7.4.4 DIÁMETRO PROMEDIO Y DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑOS DE GOTA

El tamaño de gota de la fase dispersa en las emulsiones fue determinada por difracción LASER. Los resultados con esta técnica arrojaron una distribución bimodal del diámetro de las gotas, como en la Figura 15 se muestra.

En una distribución bimodal como son las resultantes, la moda del tamaño de diámetros se observa en las crestas de las curvas, lo que indica que es el valor de diámetro más común de las gotas. Una distribución bimodal indica que hay dos tamaños de gota más comunes, sin embargo la mayor población se encontró en un diámetro mayor, lo cual es el resultado del fenómeno de coalescencia, que es un proceso donde dos o más gotas colisionan para formar una gota de mayor tamaño (Das & Kinsela, 1990).

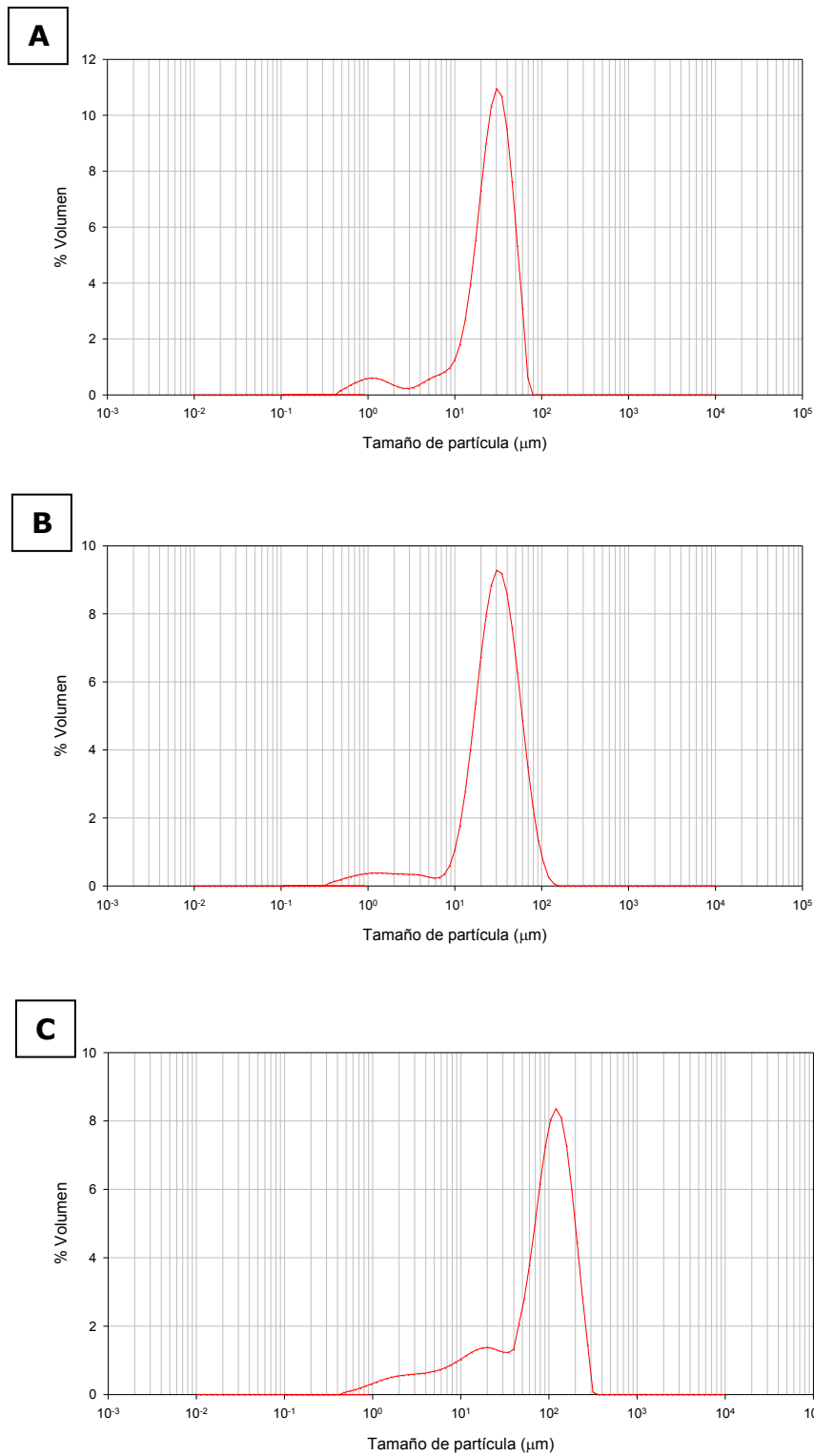


Figura 15. Distribución bimodal determinada por difracción láser del diámetro de las gotas de aceite para los surfactantes Triton X-100 (A), lecitina de soja (B) y monoestearato de glicerilo (C).

Los diámetros promedio obtenidos se muestran en el Cuadro 5. Con la técnica de difracción LASER es posible obtener resultados precisos, ya que el método tiene un intervalo de tamaños que va de 0.1 a 3000 nm y porque el tratamiento de las señales de difracción se hace aplicando la teoría de Mie, en la cual la difracción de una forma irregular es referida a la difracción que tendría una esfera de un diámetro equivalente (Kerker, 1969).

Cuadro 5. *Valores del diámetro de gota de aceite en emulsiones O/W utilizando diferentes emulsionantes y su velocidad de cremado v .*

Emulsionante	Diámetro de volumen medio de mayor frecuencia (μm)	Velocidad de cremado v (m/s)
Triton X-100	26.3	3.77×10^{-11}
Lecitina de soya	31.4	5.37×10^{-11}
Monoestearato de glicerilo	103	57.8×10^{-11}

Al observar la velocidad de cremado de cada emulsionante con respecto al tamaño de gota, se observa una proporcionalidad directa, a menor tamaño de gota, menor es la velocidad de cremado y esto se explica con la ecuación de la Ley de Stokes (Ecuación 3) la cual indica que la velocidad de cremado es directamente proporcional al cuadrado del tamaño de gota e inversamente proporcional a la viscosidad del medio (Chiralt, 2005).

El emulsionante TX-100 al ser soluble en la fase dispersa, es probable que aumente la viscosidad de este medio, desfavoreciendo la velocidad de cremado, produciendo una emulsión más estable, sin embargo, es necesaria la medición de la viscosidad de la emulsión para corroborar la suposición anterior.

Por otro lado, la concentración del exceso de superficie (Γ) es relacionada con la tasa de cambio de la tensión interfacial respecto al cambio de concentración del emulsionante ($d\gamma/dC$) a presión y temperatura constantes y es representada por la ecuación de adsorción de Gibbs:

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \left(\frac{\partial \gamma}{\partial \ln C} \right)_{T,P} \quad \text{Ecuación 4}$$

Debido a que la tensión interfacial (γ) del sistema aceite/agua puede ser fácilmente medida como función de la concentración del emulsionante, el exceso de superficie (Γ) puede ser calculada con la ecuación 4 (Das y Kinsella, 1990).

Los valores de concentración de exceso de superficie se muestran en el cuadro 6 y su cálculo se describe en el Anexo E. A partir del exceso de superficie se puede calcular el cociente entre el tiempo de adsorción del surfactante en la interfase con el tiempo de encuentro de dos gotas de

la fase dispersa (t_{ads}/t_{enc}), indicando la tendencia al cremado. Este cociente se calcula con la ecuación 5:

$$\frac{t_{ads}}{t_{enc}} = \frac{6\pi\Gamma\Phi}{dC} \quad \text{Ecuación 5}$$

Donde t_{ads} es el tiempo de adsorción del emulsionante en la interfase, t_{enc} es el tiempo de encuentro de gotas de la fase dispersa, Γ es el valor de exceso de superficie del emulsionante, Φ es la Fracción volumen de gotas, d el diámetro de las gotas y C es la concentración del emulsionante. Los cálculos para la obtención de los valores de los cocientes para cada emulsionante están para su consulta en el Anexo F.

Cuadro 6. Valores de diámetro medio, exceso de superficie (Γ) y cociente de tiempo de adsorción/tiempo de encuentro para los diferentes emulsionantes empleados.

Emulsionante	Diámetro de volumen medio de mayor frecuencia (μm)	Concentración de exceso de superficie Γ (g/m^2)	Cociente t_{ads}/t_{enc}
Triton X-100	26.3	10.68×10^{-3}	51.02
Lecitina de soya	31.4	0.851×10^{-3}	5.11
Monoestearato de glicerilo	103	2.49×10^{-3}	3.037

La tasa de cremado es dependiente de la fracción volumen (Φ) de la fase dispersa, debido a que el cremado es usualmente lento en emulsiones concentradas, teóricamente una emulsión que tiene un $\Phi = 0.74$ con un tamaño de gota uniforme no debe presentar cremado

(Sutheim, 1947, citado por Das y Kinsella, 1990). Por otro lado, problemas de cremado son una gran preocupación en valores de $\Phi \leq 0.2$; el valor de Φ para las emulsiones preparadas fue de 0.2, significando una evidente coalescencia en los tres casos de las emulsiones preparadas, siendo así la distribución bimodal del tamaño de partículas un fenómeno esperado.

Al ser el diámetro de moda de la segunda distribución mayor al diámetro de moda de la primera distribución indica que para el tiempo al cual fue determinado el tamaño de partícula, la coalescencia se había presentado.

El emulsionante que logró mantener el menor diámetro de gota, debido a su rapidez de adsorción en la interfase fue el Triton X-100, lo cual se afirma porque su tasa de adsorción en la interfase es mayor que la de la lecitina de soya así como el cociente t_{ads}/t_{enc} para el Triton X-100 es diez veces mayor al de la lecitina de soya y casi diecisiete veces más que el del monoestearato de glicerilo. El Tritón X-100 es el surfactante con mayor peso molecular de los tres utilizados (625 g/mol), sin embargo, el hecho de que su valor de HLB sea 13.5, le permite difundir en la fase continua con mayor facilidad y así, adsorberse en la interfase.

Entre la lecitina de soya (192.12 g/mol) y el monoestearato de glicerilo (358.57 g/mol), la lecitina tiene un poco más que un medio del peso del

monoestearato lo que es razonable suponer que tiene una rapidez de adsorción mayor por su mayor movilidad y por tanto su difusión.

Los emulsionantes poseen al menos una cabeza polar y un segmento hidrofóbico. Ellos se adsorben en la interfase lo que disminuye la tensión interfacial. Además, debido a que el contacto de las colas hidrofóbicas de los emulsionantes con el agua es energéticamente desfavorable, los emulsionantes solubles en agua siempre tienden a evitar dicho contacto (Tanford, 1980, citado por Das y Kinsella, 1990) y consecuentemente, por arriba de la concentración micelar crítica (CMC) los emulsionantes se agregan para formar micelas casi esféricas con los grupos hidrofóbicos en el centro. Surfactantes solubles en aceite forman micelas inversas por arriba de la CMC con las cabezas polares en el centro.

La CMC de la mayoría de los emulsionantes alimenticios, es bastante baja, usualmente en rangos de mili molar (Mukerjee y Mysels, 1971 citado por Das y Kinsella, 1990) y las concentraciones de emulsionantes usados en la preparación de emulsiones reales es mucho más grande que la CMC.

En este trabajo las concentraciones de emulsionante empleadas fueron de más de 1500 veces la CMC para cada uno de los emulsionantes. Lo cual puede indicar por cinética de adsorción, la favorabilidad de que

gran parte de los emulsionantes haya formado micelas después de haberse depositado en la interfase aceite/agua.

Si bien los resultados de las emulsiones demuestran la coalescencia inminente, el sistema principal es un gel que envuelve la emulsión; el gel, gracias a la presencia del polisacárido κ -carragenina, aumentará la viscosidad de la fase continua, lo cual reduce la velocidad de cremado de acuerdo con la ley de Stokes (ecuación 3).

7.5 PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS Y TEMPERATURAS DE TRANSICIÓN DE EMULSIONES EN GEL PREPARADAS CON DIFERENTES EMULSIONANTES.

Se realizaron barridos de frecuencia de las emulsiones en gel, los cuales se muestran en la Figura 16. Se puede observar en las gráficas que la dependencia con la frecuencia obtenida a partir de la ley de la potencia (ver anexo A) indica que ambos módulos son independientes de la frecuencia al tener pendientes ≤ 1 . Este comportamiento muestra que las tres emulsiones en gel tiene un carácter viscoelástico de sólido; son geles que mantienen su propio peso.

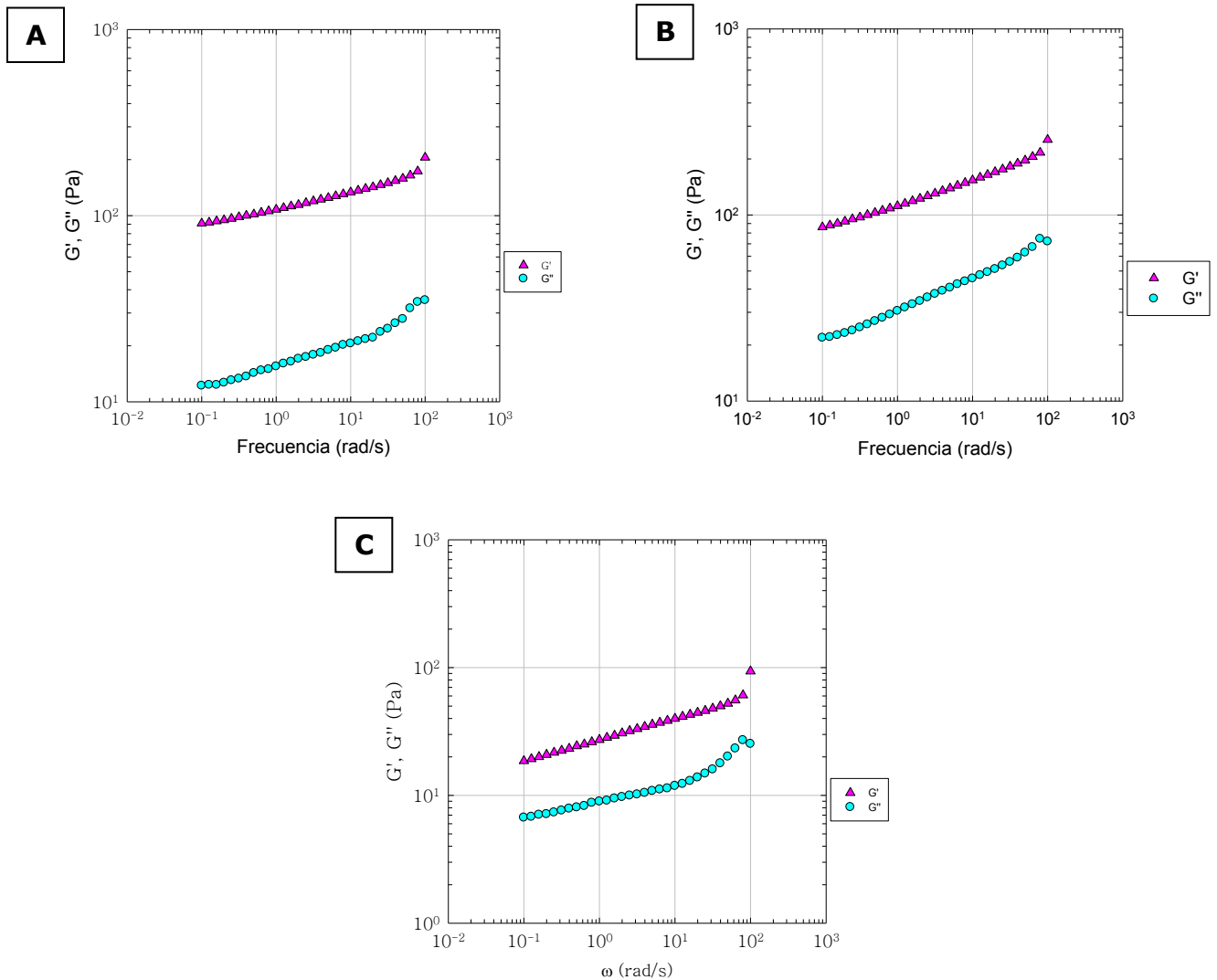


Figura 16. Barridos de frecuencia a 25 °C para emulsiones en gel preparadas con lecitina de soya al 2% p/p (A), monoestearato de glicerilo al 3% p/p (B) y Triton X-100 al 3% p/p (C). Deformación 2%.

A continuación se muestra en la Figura 17, la transición gel-sol de las emulsiones en gel, la cual se representa como la $\tan \delta$ en función de la temperatura, observándose que las tres preparaciones muestran su transición gel-sol antes de 37 °C, lo que se esperaba al haber sido calculada la concentración iónica total C_T para que fundiesen a 37 °C utilizando el diagrama de transición gel-sol (Rochas & Rinaudo, 1984).

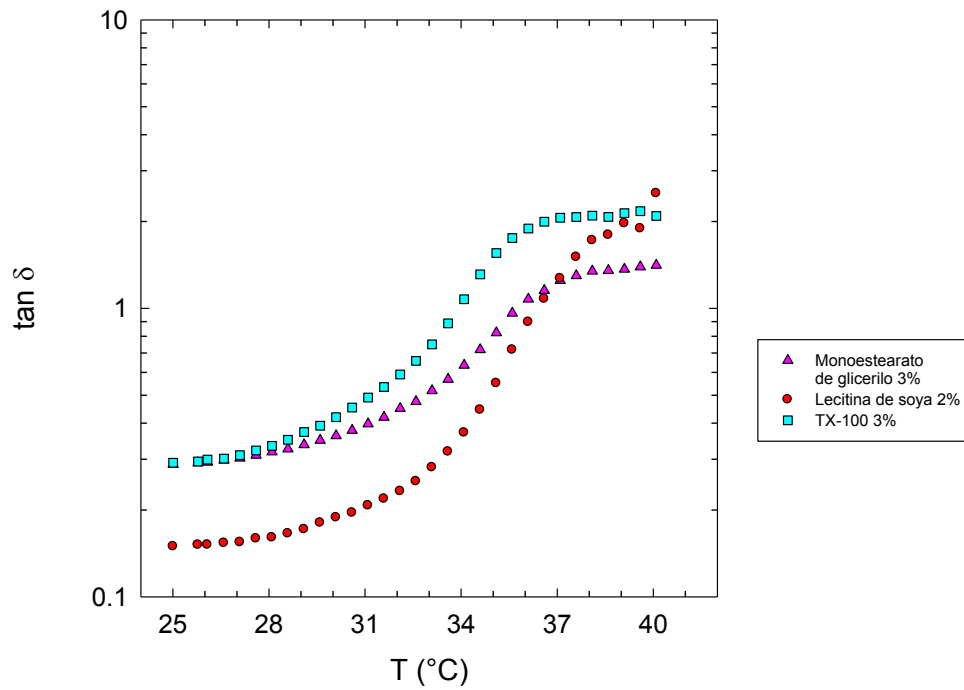


Figura 17. Variación de la $\tan \delta$ con la temperatura de emulsiones en gel con diferente emulsionante.

El Cuadro 7 muestra las temperaturas de transición promedio ($n = 2$) y su respectiva desviación estándar de las emulsiones en gel preparadas con los diferentes surfactantes.

Cuadro 7. *Temperaturas fusión y gelificación promedio y desviación estándar, n = 2 de emulsiones en gel preparadas con diferentes surfactantes*

Surfactante	Concentración (% p/p)	Temperatura de fusión (°C)	Temperatura de gelificación (°C)
Lecitina de soya	2	36.4 ± 0.062 ^a	23.8 ± 0.277 ^b
Monoestearato de glicerilo	3	35.9 ± 0.213 ^a	20.3 ± 0.844 ^b
Triton X-100	3	33.7 ± 0.281 ^a	20.6 ± 0.228 ^b

Los superíndices con letras distintas indican diferencias significativas ($\alpha = 0.05$).

La temperatura de fusión de la emulsión en gel con Triton X-100 fue de 33.7 ± 0.281 °C; el monoestearato de glicerilo como emulsionante presentó una temperatura de fusión de 35.9 ± 0.213 °C y la emulsión en gel con lecitina de soya fundió a 36.4 ± 0.062 °C. La interacción de los surfactantes con la kappa-carragenina no modificó la temperatura de fusión del gel, en ninguno de los casos.

Con el diagrama de transición gel-sol, fue posible calcular la C_s en función de la temperatura de fusión deseada. A continuación, en el Cuadro 8, se muestran las correspondientes C_s para la temperatura de fusión obtenida para cada emulsión en gel.

Cuadro 8. Valores de Concentración KCl (C_s) para la correspondiente temperatura de fusión de emulsiones en gel preparadas con diferentes surfactantes.

Surfactante	Concentración (% p/p)	$C_s = C_T - \gamma C_p$ (mM)
Lecitina de soya	2	4.97
Monoestearato de glicerilo	3	4.93
Triton X-100	3	4.75

Debido a lo anterior, el ion K^+ , juega el papel más importante en la modificación de la temperatura de transición del gel, esto se puede explicar gracias a que los polielectrolitos son muy sensibles a la presencia de iones ya que rigen su mecanismo de gelificación. En su **estado de sol**, la κ -carragenina mantiene una estructura interna desordenada en forma de espiral (coil), sin embargo, en presencia de iones K^+ , esta estructura de espiral es inducida a un cambio de conformación que trae como resultado la formación de una doble hélice (Fig. 2) por efecto de las fuertes interacciones electrostáticas entre el catión K^+ presente y los grupos SO^{3-} del polisacárido, la agregación de estas dobles hélices, completan el mecanismo de gelificación, dando como resultado geles muy estables (Mangione et al. 2005; Núñez-Santiago y Tecante, 2007).

A causa de la contribución directa de la concentración de sales (C_s) (ecuación 1), el aumento de la concentración de KCl, resulta en la

formación de geles más rígidos a causa de que la proporción de hélices agregadas se incrementa con la concentración de sal y por consiguiente, aumenta el valor de su temperatura de transición gel-sol. (Núñez-Santiago, 2007).

El análisis de varianza y el método Tukey (ver anexo c) muestra que los resultados de temperatura de fusión no tienen diferencia significativa, esto es una ventaja ya que en términos estadísticos, puede utilizarse cualquiera de los tres emulsionantes en función de la aplicación que requiera.

7.6 INCLUSIÓN DE OLEORRESINAS DE GRADO ALIMENTICIO COMO FASE OLEOSA EN LAS EMULSIONES EN GEL

Después de obtener resultados de transición gel-sol en el intervalo esperado de temperatura de fusión ≤ 37 °C, se optó por la posible aplicación del sistema sugerido en el campo de los alimentos, por lo que se realizaron emulsiones en gel utilizando como fase oleosa un aceite esencial de orégano y una oleorresina de apio. El total de la masa de la fase dispersa de la emulsión representada en pruebas anteriores por aceite de maíz fue reemplazado por estos dos productos alimenticios respectivamente. Los emulsionantes utilizados fueron únicamente los de grado alimenticio que son la lecitina de soya y el monoestearato de glicerilo.

Los resultados de valores de temperatura de transición de las emulsiones en gel preparadas, se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9. *Temperaturas promedio (n=2) de fusión y gelificación de emulsiones en gel con oleorresina de apio y aceite esencia de orégano al 20% p/p.*

Emulsionante	Temperatura de fusión (°C)		Temperatura de gelificación (°C)	
	Oleorresina de apio	Aceite esencial de orégano	Oleorresina de apio	Aceite esencial de orégano
Lecitina de soya al 2% p/p	NP	33.5 ± 0.045	NP	19.5 ± 0.020
Monoestearato de glicerilo al 3% p/p	57.7 ± 0.178	41.2 ± 0.010	26.2 ± 0.022	43.0 ± 0.044

NP: no se presentó el entrecruzamiento de los módulos dinámicos G' y G''.

De acuerdo con los resultados anteriores, la única combinación que pudiera ser utilizada como sistema de aplicación en el campo de los alimentos de acuerdo al requisito de fundir en boca (≤ 37 °C) es el sistema formado utilizando lecitina de soya al 2% p/p y aceite esencial de orégano 20% p/p, ya que se obtuvo una temperatura de transición de 33.5 ± 0.045 °C.

Para las demás combinaciones, la fusión de la emulsión en gel no se presenta a ≤ 37 °C.

Cuando se utilizó el monoestearato de glicerilo como emulsionante, la temperatura de fusión aumentó a 57.7 ± 0.178 °C el cual es un valor muy por arriba de la temperatura deseada de 37 °C; lo que condujo a reducir la proporción de oleorresina de apio y aceite esencial de orégano en el sistema.

Se redujo la proporción de oleorresina de apio y aceite esencial de orégano al 1% p/p, usando aceite de maíz al 19% p/p para un total de fase dispersa del 20% p/p y así mantener el sistema estandarizado. Los resultados se muestran en el Cuadro 10.

Cuadro 10. *Temperaturas promedio de fusión y gelificación de emulsiones en gel con oleorresina de apio y aceite esencia de orégano al 1% p/p*

Emulsionante	Temperatura de fusión (°C)		Temperatura de gelificación (°C)	
	Oleorresina de apio	Aceite esencial de orégano	Oleorresina de apio	Aceite esencial de orégano
Lecitina de soya al 2% p/p	NP	34.3 ± 0.236	NP	20.2 ± 0.051
Monoestearato de glicerilo al 3% p/p	NP	NP	22.0 ± 0.452	NP

NP = no se presentó el entrecruzamiento de los módulos dinámicos G' y G'' .

Al sustituir el 1% p/p de la fase oleosa por la oleorresina de apio, resultó que no se presentó el entrecruzamiento de los módulos dinámicos G' y G'' utilizando ambos emulsionantes. Por otro lado, la combinación de aceite esencial de orégano al 1% p/p y lecitina de soya

al 2% p/p, obtuvo una temperatura de transición gel-sol de 34.3 ± 0.236 °C, la cual nuevamente cumple el requisito buscado para fundir a un valor ≤ 37 °C.

Debido a que utilizando oleorresina de apio no se presentaba el entrecruzamiento de los módulos dinámicos, se realizó una prueba cualitativa para observar el efecto de ésta en un sistema sin emulsionante, el Cuadro 11 muestra las proporciones utilizadas para cada una de las muestras, siendo la muestra **C**, la control.

Cuadro 11. *Proporciones de los componentes utilizados para la prueba cualitativa de la estabilidad de la emulsión utilizando oleorresina de apio y aceite esencial de orégano.*

Muestras	Concentración % p/p			
	Agua desionizada	Aceite de maíz	Oleorresina de apio	Aceite esencial de orégano
Muestra A	80	19	1	0
Muestra B	80	19	0	1
Muestra C	80	20	0	0

En la Figura 18 se muestra una fotografía tomada a las tres muestras después de 30 minutos de haber sido preparadas. Se puede observar la estabilidad dada por la oleorresina de apio a la muestra **A**.

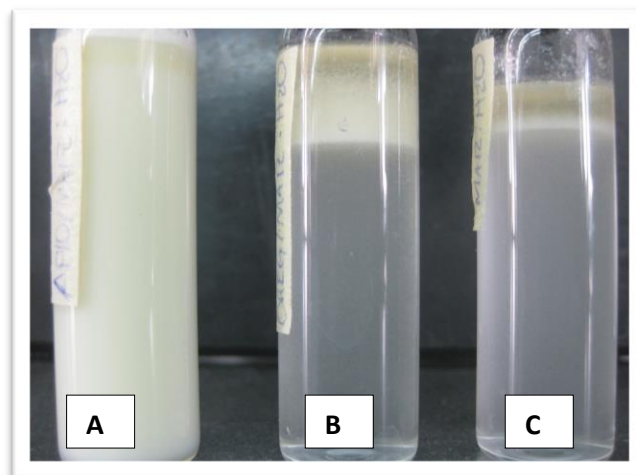


Figura 18. Imagen de la estabilidad de las emulsiones utilizando oleorresina de apio al 1% p/p (A). Aceite esencial de apio al 1% p/p (B) y aceite de maíz al 20% p/p (C).

Esta prueba cualitativa aportó la evidencia de que por sí misma la oleorresina de apio tiene un poder emulsionante que en la emulsión en gel provoca un incremento en la temperatura de fusión. Por lo que se realizaron dos pruebas más de emulsión en gel con la oleorresina de apio al 20% p/p y otra al 1% p/p pero la variante fue no utilizar emulsionante alguno. Los resultados obtenidos se muestran en el Cuadro 12.

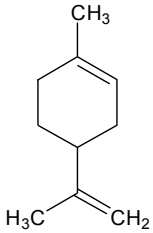
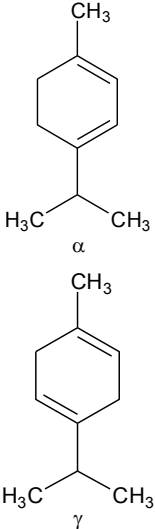
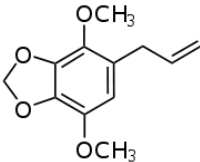
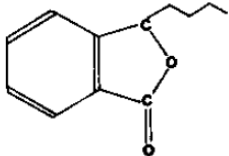
Cuadro 12. Temperaturas de fusión y gelificación (n=2) para emulsiones en gel utilizando oleorresina de apio al 20% p/p y 1% p/p. No utilizando emulsionante.

Concentración Oleorresina de apio (% p/p)	Temperatura de fusión (°C)	Temperatura de gelificación (°C)
20	39.9 ± 0.085	29.4 ± 0.137
1	36.7 ± 0.048	25.2 ± 0.180

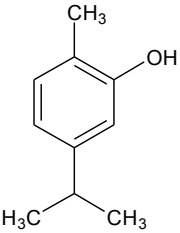
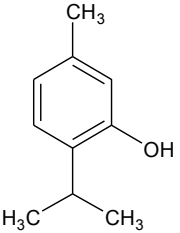
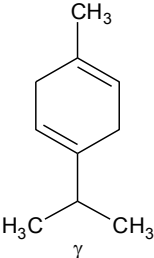
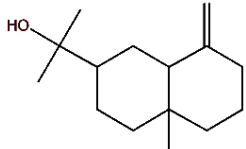
Los resultados de temperatura de transición gel-sol para la emulsión en gel con 20% p/p de oleorresina de apio, fueron ≥ 37 °C, sin embargo al utilizar el 1% p/p de la oleorresina de apio, la temperatura de transición cumplió ser ≤ 37 °C.

Los cuadros 13 y 14 muestran los componentes principales de la oleorresina de apio y el aceite esencia respectivamente.

Cuadro 13. Componentes de la oleorresina de apio. (Van Wassenhove et al. 1990)

Compuesto	Limoneno	α -terpineno y γ -terpineno	Aceite esencial apiol	Butil-ftalida
Estructura				

Cuadro 14. Componentes del aceite de orégano. Ortega-Nieblas et al. (2011).

Compuesto	Carvacrol	Timol	γ -terpineno	Eudesmol
Estructura				

De acuerdo con la composición de la oleorresina de apio (Van Wassenhove et al. 1990) donde predominan compuestos que muestran estructuras con grupos no polares (dobles ligaduras conjugadas) lo cual es característico de la sustancia por ser lipofílica, sin embargo, una de sus estructuras predominantes es el butil-ftalida que le aporta un carácter anfipático, indicando que estas moléculas pueden tener una función emulsionante.

8. CONCLUSIONES

Se estudió por medio de pruebas reológicas la interacción entre el polisacárido kappa-carragenina y dos emulsionantes diferentes a la lecitina de soya, dentro de un gel que atrapa una emulsión O/W y el efecto que tienen sobre la temperatura de fusión de la emulsión en gel, obteniéndose que el emulsionante no afecta la temperatura de transición del gel, sin embargo, la concentración de iones K^+ en el sistema, juega el papel más importante en la modificación de la temperatura de transición al inducir la formación de dobles hélices, su agregación y con eso la formación de un gel, siendo que a altas concentraciones de iones K^+ , se producen geles más rígidos y se obtienen valores de temperatura de transición mayores a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ al aumentar concentración de sal (C_S) la cual aumenta de manera directa la concentración total (C_T) y por consiguiente la temperatura de transición del gel.

Los emulsionantes estudiados no provocaron un cambio significativo en la temperatura de transición gel-sol, el surfactante TX-100 no afectó la temperatura de transición de manera significativa, obteniéndose un valor de $33.7 \pm 0.281\text{ }^{\circ}\text{C}$. El emulsionante monoestearato de glicerilo no afectó de manera significativa el sistema y se logró una temperatura de fusión de $35.9 \pm 0.213\text{ }^{\circ}\text{C}$.

En términos reológicos, las emulsiones en gel con los dos emulsionantes estudiados presentan un carácter de sólido elástico, formando un gel firme que no se colapsa con su propio peso.

Lo que establece esta investigación es la posible utilización de los emulsionantes monoestearato de glicerilo y Tritón X-100 como una alternativa al sistema con lecitina de soya ya que no modifica la transición gel-sol. La utilización de estos emulsionantes estará en función de su aplicación.

Se logró aplicar el sistema en el área de los alimentos utilizando aceite esencial de orégano al 1% p/p utilizando como emulsionante la lecitina de soya; y la oleorresina de apio puede utilizarse en el sistema a una concentración de 1% p/p sin la necesidad de agregar un surfactante.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. AOAC. (1990). Official Methods of Analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
2. Badui, S. (1987). Propiedades y uso de la carragenina. *Tecnología de Alimentos*. 22, 18-27.
3. Bais, D. Trevisan, A. Lapasin, R. Partal, P. Gallegos, C. (2005). Rheological characterization of polysaccharide-surfactant matrices for cosmetic O/W emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 290, 546-556.
4. Barnes, H. Hutton, J. & Walters, K. (1989). An Introduction to Rheology. Elsevier Science Publishers.
5. Bellman, C; Synytska, A; Caspari, A. & Drechsler, K. (2007). Electrokinetic investigation of surfactant adsorption. *Journal of Colloid and Interface Science*. 309, 225-230.
6. Chiralt, A. (2005). Food Emulsions, in Food Engineering. Encyclopedia of Life Support Systems, Barbosa-Cánovas, G.V. (Ed.). UNESCO Publishing, Paris, France. pp. 340-354.
7. Das, K. P. & Kinsella, J. E. (1990). Stability of food emulsions: Physicochemical role of protein and non-protein emulsifiers. *Advances in Food and Nutrition Research*, 34, 81-201.
8. Dickinson E., Narthan, S. K., Stainsby, G. (1989). Leído en Das, K. P. & Kinsella, J. E. (1990). Stability of cream liqueurs containing low molecular weight surfactants. *Journal of Food Science*. 54, 77-81.
9. Ferry, J.D. (1980). Viscoelastic Properties of Polymers. John Wiley & Sons Inc. New York.
10. Flores-Serralde, T. A. (2006). Propiedades viscoelásticas de geles de kappa-carragenina. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química-UNAM. México, D.F.
11. Fuentes-Barrón, P.A. (2008). Propiedades reológicas de emulsiones en gel de κ -carragenina. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química-UNAM. México, D.F.

12. García-Macías, Y. R. (1998). Análisis experimental de la teoría de momentos en la selección óptima de emulsificantes. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química-UNAM. México, D.F.

13. Kerker, M. (1969). *The Scattering of Light and Other Electromagnetic Radiation*, Academic Press, New York

14. Knutsen, S. H., Myslabodski, D. E., Larsen, B. and Usov, A. I. (1994). A modified system of nomenclature for red algal galactans. *Botanica Marina* 37, 163-169.

15. Lapasin, R. & Pricl, S. (1995). Citado en Bais, D. Trevisan, A. Lapasin, R. Partal, P. Gallegos, C. (2005). Rheological characterization of polysaccharide-surfactant matrices for cosmetic O/W emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 290, 546-556.

16. MacArtain, P; Jaacquier, J. C. y Dawson, K. A. (2003). Citado en Núñez-Santiago, M. C. (2007). Reología y ultraestructura de pastas y geles de κ -carragenina y almidón de maíz ceroso reticulado. Tesis de Doctorado, Posgrado en Ingeniería-UNAM. México, D.F.

17. Mangione, M. R., Giacomazza, D., Bullone, D., Martorana, V., Cavallaro, G. & San Biagio, P.L. (2005). K^+ and Na^+ effects on the gelation properties of κ -carrageenan. *Biophysical Chemistry* 113, 129-135.

18. McClements, D. J. (1999). Citado en Bais, D. Trevisan, A. Lapasin, R. Partal, P. Gallegos, C. (2005). Rheological characterization of polysaccharide-surfactant matrices for cosmetic O/W emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science* 290, 546-556.

19. Mukerjee, P. y Mysels, K. J. (1971). Leído en Das, K. P. & Kinsella, J. E. (1990). Stability of cream liqueurs containing low molecular weight surfactants. *Journal of Food Science* 54, 77-81.

20. Núñez-Santiago, M. C. (2007). Reología y ultraestructura de pastas y geles de κ -carragenina y almidón de maíz ceroso reticulado. Tesis de Doctorado, Posgrado en Ingeniería-UNAM. México, D.F.

21. Núñez-Santiago, M.C. & Tecante, A. (2007). Rheological and calorimetric study of the sol-gel transition of κ -carrageenan. *Carbohydrate Polymers* 69, 763-773.

22. Núñez-Santiago, M.C., Tecante, A. Garnier, C. & Doublier, J.L. (2010). Rheology and microstructure of κ -carrageenan under different conformations induced by several concentrations of potassium ions. *Food Hydrocolloids*. Volumen 25, 32-41.

23. Ortega-Nieblas et al. (2011). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Lippia palmeri* S. WATS). *Fitotec* 34, 11 – 17.

24. Rawle, A. Basic principles of particle size analysis. Technical paper of Malvern Instruments Limited, UK.

25. Rochas, C. & Rinaudo, M. (1980). Citado en Núñez-Santiago, M. C. (2010). Rheology and microstructure of κ -carrageenan under different conformations induced by several concentrations of potassium ions. *Food Hydrocolloids*. Volumen 25, 32-41.

26. Saito et al. (2005). Citado en Núñez-Santiago, M. C. (2007). Reología y ultraestructura de pastas y geles de κ -carragenina y almidón de maíz ceroso reticulado. Tesis de Doctorado, Posgrado en Ingeniería-UNAM. México, D.F.

27. Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. USA. Freeman Press. pp. 312-332.

28. Sutheim, G. M. (1947). Citado en Das, K. P. & Kinsella, J. E. (1990). Stability of cream liqueurs containing low molecular weight surfactants. *Journal of Food Science*. 54, 77-81.

29. Tanford, C. (1980). Citado en Das, K. P. & Kinsella, J. E. (1990). Stability of cream liqueurs containing low molecular weight surfactants. *Journal of Food Science*. 54, 77-81.

30. Tecante, A. (2005). Viscoelasticity in Food Engineering. *Encyclopedia of Life Support Systems*, Barbosa-Cánovas, G.V. (Ed.). UNESCO Publishing, Paris, France. pp. 285-303.

31. Teraoka, I. (2002). *Polymer Solutions: An Introduction to Physical Properties*. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.

32. Tribout, M; Paredes, S; González-Mañas, J. M. y Goñi, F. M. (1991). Binding of Triton X-100 to bovine serum albumin as studied by Surface tension measurements. *Journal of Biophysical Methods*. España 22: 129-133.

33. Van Gorkom, M; Van Der Mollen, M.H. y Korver, O. (1974). ESR study of aqueous dispersions of β -lactoglobulin and spin-labelled glyceryl monoestearato. *Biochimica et Biophysica Acta*. 392:1411-147.
34. Van Wassenhove, F; Dirinck, Patrick; Vulsteke, G. y Schamp, N. (1990). Aromatic Volatile Composition of Celery and Celeriac Cultivars. *Hortscience* 25 (5): 556-559.
35. Wu, Yingzi and Wang, Tong. (2003). Soy bean lecithin fractionation and functionality. *JAACS*. Volumen 80 (4): 319-326.

ANEXO A. Dependencia de los módulos dinámicos con respecto a la frecuencia.

Para obtener un valor numérico que muestre la dependencia de los módulos dinámicos con la frecuencia es necesario obtener los valores de x y y de las siguientes expresiones:

$$G' \propto \omega^x \quad \text{y} \quad G'' \propto \omega^y$$

La función potencia corresponde a la pendiente de una ecuación lineal, por lo que las expresiones anteriores deben escribirse en forma de ecuación lineal de la forma siguiente:

$$\log G' = \log k' + x \log \omega \quad \text{y} \quad \log G'' = \log k'' + y \log \omega$$

Para disoluciones macromoleculares, la pendiente del módulo de almacenamiento es igual a dos, mientras que la pendiente del módulo de pérdida es igual a uno en la zona de flujo.

Al realizar las regresiones lineales se obtienen los valores de las pendientes que corresponden a los términos x y y , los cuales indican el grado de dependencia de los módulos dinámicos en función de la frecuencia.

Si el valor de la pendiente es menor a 1, existe una independencia con la frecuencia y por el contrario, si la pendiente tiene valores igual o mayores a 1, la dependencia existe.

El cuadro siguiente muestra los valores de los términos x y y su correspondiente coeficiente de correlación de cada una de las regresiones lineales realizadas para todos los barridos de frecuencia realizados.

Cuadro 15. Dependencia de los módulos dinámicos en función de la frecuencia.

Muestra	$x(G')$	r	$y(G'')$	r
Gel A	0.0982	0.965	0.1441	0.9633
Gel B	0.1296	0.8941	0.2068	0.8281
Emulsión en gel con LS 2%	0.0982	0.9650	0.1441	0.9609
Emulsión en gel con MG 3%	0.1409	0.9861	0.1787	0.9944
Emulsión en gel con TX-100 3%	0.1806	0.9575	0.1796	0.9179

ANEXO B. Cantidades de iones K^+ en los reactivos de relevancia.

Cuadro 16. Cantidad de K^+ en reactivos

Reactivo	Cantidad de iones K^+ (ppm)	Método utilizado
polvo de kappa-carragenina	192	Absorción atómica
Emulsionante TX-100	69230.23	Absorción atómica

ANEXO C. Análisis de varianza y método Tukey.

Para el análisis estadístico se tomaron en cuenta dos factores el tiempo transcurrido del envejecimiento del gel (A) y la temperatura de transición gel-sol y sol-gel (B).

Se plantearon dos hipótesis, hipótesis nula y alternativa.

Hipótesis nula (H_0) = Hay diferencia significativa entre los valores de temperatura arrojados por cada tiempo de análisis.

Hipótesis alternativa (H_1)= No hay diferencia significativa entre los valores de temperatura arrojados por cada tiempo de análisis.

Los resultados del análisis de varianza se muestran en el Cuadro 17.

Cuadro 17. Análisis estadístico de varianza.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media de cuadrados	F calculada	F de tablas
Temperatura de fusión del gel en función del tiempo de envejecimiento de los geles	12,70	2	6,35	280, 78	9,55 ^a
Temperatura de fusión del gel en función de la concentración de Triton X-100	90,92	5	18,18	1335, 13	4.38 ^b
Temperaturas fusión de emulsiones en gel	0,4683	2	0,2341	0,0765	9,55 ^c
Cantidad de cremado en emulsión oleorresina/agua	95,91	2	47,95	16,01	9.55 ^d

^a Con un valor de α de 0.05%, 2 grados de libertad y $n = 3$

^b Con un valor de α de 0.05%, 5 grados de libertad y $n = 6$

^c Con un valor de α de 0.05%, 2 grados de libertad y $n = 2$

^d Con un valor de α de 0.05%, 2 grados de libertad y $n = 3$

Cuadro 18. Análisis estadístico Método Tukey.

Fuente de variación	CM error*	Valor tabular	DMS**
Temperatura de fusión del gel en función del tiempo de envejecimiento de los geles	0,022	4,6 ^a	0,4825
Temperatura de gelificación del gel en función del tiempo de envejecimiento de los geles	0,019	4,6 ^a	0,4484
Temperatura de fusión del gel en función de la concentración de Triton X-100	0,136	6,03 ^b	0,4973
Temperatura de gelificación del gel en función de la concentración de Triton X-100	0,004	6,03 ^b	0,2876
Temperaturas fusión de emulsiones en gel	3,058	4,6 ^c	5,6880
Temperaturas gelificación de emulsiones en gel	2,586	4,6 ^c	5,2316

*CM error: Cuadrado Medio del error

**DMS: Diferencia Mínima Significativa para el método de Tukey.

^a Con un valor de α de 0.05%, 4 grados de libertad y $n = 2$

^b Con un valor de α de 0.05%, 5 grados de libertad y $n = 2$

^c Con un valor de α de 0.05%, 4 grados de libertad y $n = 2$

ANEXO D. Velocidad de cremado

Se calculó la velocidad de cremado para cada uno de los surfactantes utilizados, los resultados se muestran en el siguiente cuadro y a continuación se muestran los cálculos matemáticos.

Cuadro 19. Velocidad de cremado para cada emulsionante.

Emulsionante	Velocidad de cremado v (m/s)
Tween 20	9.43×10^{-2}
Triton X-100	3.77×10^{-11}
Monoesterato de glicerilo	57.8×10^{-11}
Lecitina de soya	5.37×10^{-11}

Ecuación de la Ley de Stokes:

$$v = \frac{\Delta\rho g d^2}{18\eta}$$

Dónde:

v : velocidad de cremado

$\Delta\rho$: diferencia de densidades de la fase acuosa y fase oleosa

g : valor de la gravedad

d : diámetro de la gota

η : viscosidad del medio de dispersión

$$U_{\text{Tween 20}} = \frac{(1.0 - 0.9 \frac{kg}{m^3}) (9.81 \frac{m}{s^2}) (1.730 \times 10^{-3} m)^2}{18 (1 \frac{kgms}{s^2 m^2})}$$

$$U_{\text{Tween 20}} = 9.43 \times 10^{-2} \frac{m}{s}$$

$$U_{\text{Triton X-100}} = \frac{(1.0 - 0.9 \frac{kg}{m^3}) (9.81 \frac{m}{s^2}) (26.3 \times 10^{-6} m)^2}{18 (1 \frac{kgms}{s^2 m^2})}$$

$$U_{\text{Triton X-100}} = 3.77 \times 10^{-11} \frac{m}{s}$$

$$U_{\text{Lecitina de soya}} = \frac{\left(1.0 - 0.9 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}\right) \left(9.81 \frac{\text{m}}{\text{s}^2}\right) (31.4 \times 10^{-6} \text{m})^2}{18 \left(1 \frac{\text{kgms}}{\text{s}^2 \text{m}^2}\right)}$$

$$U_{\text{Lecitina de soya}} = 5.37 \times 10^{-11} \frac{\text{m}}{\text{s}}$$

$$U_{\text{Monoestearato de glicerilo}} = \frac{\left(1.0 - 0.9 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}\right) \left(9.81 \frac{\text{m}}{\text{s}^2}\right) (103 \times 10^{-6} \text{m})^2}{18 \left(1 \frac{\text{kgms}}{\text{s}^2 \text{m}^2}\right)}$$

$$U_{\text{Monoestearato de glicerilo}} = 57.8 \times 10^{-11} \frac{\text{m}}{\text{s}}$$

ANEXO E. Cálculo de exceso de superficie.

I. Cuadro 20. Exceso de superficie para monoestearato de glicerilo^a

TENSIÓN SUPERFICIAL N/m	CONCENTRACIÓN DE SURFACTANTE mol/L
-5	0.0497
-4.57	0.0326

^aVan Gorkom et al. 1974

Ecuación lineal: $y = -0.0398x - 0.1491$

$$R^2 = 1$$

II. Cuadro 21. Exceso de superficie para TX-100^b

TENSIÓN SUPERFICIAL N/m	CONCENTRACIÓN DE SURFACTANTE mol/L
-12.56	0.716
-10.16	0.503
-9.20	0.363
-8.00	0.283

^bTribout et al. 1991

Ecuación lineal: $y = -0.0976x - 0.5074$

$$R^2 = 0.9888$$

III. Cuadro 22. Exceso de superficie para lecitina de soya^c

TENSIÓN SUPERFICIAL N/m	CONCENTRACIÓN DE SURFACTANTE mol/L
-2.58	0.06
-2.28	0.057
-2.13	0.052
-2	0.049
-1.75	0.039

^c Wu, Yingzi and Wang, Tong. 2003.

Ecuación lineal: $y = -0.0253x - 0.003$

$$R^2 = 0.9288$$

Con la ecuación de la Isoterma de Gibbs, se calculó el exceso de superficie utilizando el valor del cambio de tensión superficial respecto a la concentración de surfactante obtenido de los datos experimentales de la bibliografía. A continuación se presentan los cálculos realizados.

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \left(\frac{\partial \gamma}{\partial \ln C} \right)_{T,P}$$

$$\Gamma_{\text{Monoestearato de glicerilo}} = - \left(\frac{1}{2.303 \left(8.31 \frac{N \cdot m}{mol \cdot K} \right) (298.15 K)} \right) \left(-0.0398 \frac{N}{m} \right)_{T,P}$$

$$\Gamma_{\text{Monoestearato de glicerilo}} = 6.97 \times 10^{-6} \frac{mol}{m^2}$$

$$\Gamma_{\text{Monoestearato de glicerilo}} = \left(6.97 \times 10^{-6} \frac{mol}{m^2} \right) \left(358 \frac{g}{mol} \right)$$

$$\Gamma_{\text{Monoestearato de glicerilo}} = 2.49 \times 10^{-3} \frac{g}{m^2}$$

$$\Gamma_{\text{Triton X-100}} = - \left(\frac{1}{2.303 \left(8.31 \frac{N \cdot m}{mol \cdot K} \right) (298.15 K)} \right) \left(-0.0976 \frac{N}{m} \right)_{T,P}$$

$$\Gamma_{\text{Triton X-100}} = 1.71 \times 10^{-5} \frac{mol}{m^2}$$

$$\Gamma_{\text{Triton X-100}} = \left(1.71 \times 10^{-5} \frac{mol}{m^2} \right) \left(625 \frac{g}{mol} \right)$$

$$\Gamma_{\text{Triton X-100}} = 10.68 \times 10^{-3} \frac{g}{m^2}$$

$$\Gamma_{\text{Lecitina de soya}} = - \left(\frac{1}{2.303 \left(8.31 \frac{N \cdot m}{mol \cdot K} \right) (298.15 K)} \right) \left(-0.0253 \frac{N}{m} \right)_{T,P}$$

$$\Gamma_{\text{Lecitina de soya}} = 4.43 \times 10^{-6} \frac{mol}{m^2}$$

$$\Gamma_{\text{Lecitina de soya}} = \left(4.43 \times 10^{-6} \frac{mol}{m^2} \right) \left(192.12 \frac{g}{mol} \right)$$

$$\Gamma_{\text{Lecitina de soya}} = 0.851 \times 10^{-3} \frac{g}{m^2}$$

ANEXO F. Determinación del cociente de t_{ads}/t_{enc}

$$\frac{t_{ads}}{t_{enc}} = \frac{6\pi\Gamma\Phi}{dC}$$

t_{ads} : tiempo de adsorción del emulsionante en la interfase

t_{enc} : tiempo de encuentro de gotas de la fase dispersa

Γ : valor de exceso de superficie del emulsionante

Φ : Fracción volumen de gotas

d : diámetro de las gotas

C : concentración del emulsionante

$$\Phi = \frac{\text{volumen fase dispersa}}{\text{volumen total}}$$

$$\Phi = \frac{20 \times 10^{-3} L}{100 \times 10^{-3} L}$$

$$\Phi = 0.2$$

- Para la emulsión con monoestearato de glicerilo

$$\frac{t_{ads}}{t_{enc}} = \frac{6\pi \left(2.49 \times 10^{-3} \frac{g}{m^2} \right) (0.2)}{(103 \times 10^{-6} m) \left(30 \frac{g}{L} \right)}$$

$$\frac{t_{ads}}{t_{enc}} = 3.037$$

- Para la emulsión con Triton X-100

$$\frac{t_{ads}}{t_{enc}} = \frac{6\pi \left(10.68 \times 10^{-3} \frac{g}{m^2} \right) (0.2)}{(26.3 \times 10^{-6} m) \left(30 \frac{g}{L} \right)}$$

$$\frac{t_{ads}}{t_{enc}} = 51.02$$

- Para la emulsión con lecitina de soya

$$\frac{t_{ads}}{t_{enc}} = \frac{6\pi \left(0.851 \times 10^{-3} \frac{g}{m^2} \right) (0.2)}{(31.4 \times 10^{-6} m) \left(20 \frac{g}{L} \right)}$$

$$\frac{t_{ads}}{t_{enc}} = 5.11$$