



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

**EFEECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE INULINA SOBRE LAS
PROPIEDADES REOLÓGICAS, DE ADSORCIÓN, TAMAÑO Y CARGA DE
PARTÍCULA DE DISOLUCIONES ACUOSAS DE CASEINATO DE SODIO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

ADOLFO TORRES ROBLEDO

ASESOR: DRA. MARÍA GUADALUPE SOSA HERRERA

COASESOR: DRA. VIRGINIA A. DELGADO REYES

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUELLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: M. EN A. ISMAEL HERNANDEZ MAURICIO
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Efecto de la concentración de inulina sobre las propiedades reológicas, de adsorción, tamaño y carga de partícula de disoluciones acuosas de caseinato de sodio.

Que presenta el pasante: Adolfo Torres Robledo
Con número de cuenta: 410073836 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Marzo de 2015.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Laura Patricia Martínez Padilla	
VOCAL	I.A. Patricia Muñoz Aguilar	
SECRETARIO	Dra. María Guadalupe Sosa Herrera	
1er. SUPLENTE	M. En C. Enrique Fuentes Prado	
2do. SUPLENTE	I.A. Maritza Rocandio Pineda	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

IHM/mmgm

Dedicatoria

A mis papás.

Gracias por todo.

Agradecimientos

A mis papás.

A mi mamá, por haberme cuidado todo este tiempo y sé que lo seguirás haciendo, por motivarme a realizar las cosas de la mejor manera, dando el 100% de mi esfuerzo para lograr metas y objetivos a lo largo de toda mi vida, eligiendo las mejores decisiones que puedo tomar.

A mi papá, por haberme inspirado a estudiar una ingeniería y ser un buen papa, ya que gracias a tus constantes comentarios de cómo realizar las cosas me has formado como una persona que siempre va realizando las cosas de manera exitosa.

Esto es gracias al apoyo que siempre me han dado, así que este título también les pertenece a ustedes por ser unos papás muy buenos.

A Karen, por ser el primer ingeniero de los tres y ser una buena hermana mayor que me cuida y procuró lo mejor para mí.

A Melissa, por ser un bolillo diseñador gráfico que incentivo la sana competencia como profesionistas entre hermanos.

A Verónica, por ser la compañera ingeniera en alimentos que me apoyo a lo largo de la carrera para seguir entregando buenos resultados con su sentido de alegría que ella me confirió al convertirme en alguien que disfruta día a día su vida, aventurándose los fines de semana.

A mis asesoras.

Dra. Ma. Guadalupe Sosa Herrera, y la Dra. Virginia Delgado Reyes, por ser un muy buenas profesoras al apoyarme con la realización de una muy interesante tesis, gracias.

A mis sinodales.

Por el tiempo invertido en la revisión de mi tesis, y por sus consejos para mejorarla.

Dra. Laura Patricia Martínez Padilla

I.A. Patricia Muñoz Aguilar

Dra. María Guadalupe Sosa Herrera

M. en C. Enrique Fuentes Prado

I.A. Maritza Rocandio Pineda

Reconocimientos

Al proyecto: PAPIIT IN118214, 2014, DGAPA, UNAM, "Propiedades reológicas y fisicoquímicas de biomoléculas funcionales de interés en la formación de sistemas coloidales alimenticios".
Por el apoyo económico recibido

Índice

	Página
Índice de figuras	III
Índice de cuadros	VI
Resumen	1
Introducción	2
1 Antecedentes	5
1.1 Inulina	5
1.1.1 Obtención de inulina	7
1.1.2 Propiedades Funcionales	7
1.2 Caseína y caseinatos	12
1.2.1 Obtención de caseinato de sodio	13
1.2.2 Propiedades funcionales	14
1.3 Interacciones proteína-polisacárido	16
1.3.1 Complejos electrostáticos interbiopolímero	20
1.3.2 Propiedades funcionales de los complejos electrostáticos	24
1.4 Propiedades de proteínas y polisacáridos en medio acuoso	25
1.4.1 Reología de fluidos	25
1.4.2 Adsorción en interfaces fluidas	30
1.4.3 potencial zeta y tamaño de partícula	38
2 Metodología experimental de la investigación	42
2.1 Objetivos	42
2.1.1 Objetivo general	42
2.1.2 Objetivos particulares	42
2.2 Materiales	42
2.3 Métodos	43
2.3.1 Preparación de disoluciones	43
2.3.2 Humedad de polvos	43
2.3.3 Densidad de las disoluciones	44
2.3.4 Tamaño de partícula y potencial zeta	44
2.3.5 Flujo en cizalla estacionaria	46
2.3.6 Adsorción en interfase	46

3	Resultados	49
3.1	Humedad de la inulina y del caseinato	49
3.2	Densidad de las disoluciones	49
3.3	pH de las disoluciones acuosas	51
3.4	Tamaño de partícula	52
3.5	Potencial zeta	57
3.6	Flujo en cizalla estacionaria	59
3.7	Adsorción en interfase aire-agua	64
	Conclusiones	71
	Referencias	73

Índice de Figuras

	Página
Figura 1. Estructura química de la inulina de agave.	5
Figura 2. Diferentes tipos de fructanos, (A) 1-cetosa, (B) 6-cetosa, (C) neocetosa, (D) bifurcosa, (E) mezcla del fructuano tipo F3.	6
Figura 3. Solubilidad de la inulina nativa e inulina de cadena larga en función de la temperatura y su concentración en peso/peso.	8
Figura 4. Concentración de inulina con respecto al grado de polimerización (DP) y fuerza de gel producida.	9
Figura 5. Efecto de la adición de inulina a disoluciones de almidón.	11
Figura 6. Posibles estructuras de la α_s y β -caseína (1A), y estructura de la κ -caseína (1B).	13
Figura 7. Interacciones entre las mezclas de polisacáridos y proteínas.	21
Figura 8. Formación de complejos para tres sistemas diferentes de proteína-polisacárido, mediante la influencia de las interacciones electrostáticas, pH y fuerzas iónicas, al equilibrio y sin equilibrio entre ellas.	22
Figura 9. Formación de complejos para dos sistemas diferentes de proteína-polisacárido, mediante la influencia de las interacciones electrostáticas, pH y fuerzas iónicas, causando el plegamiento de las proteínas (A) y formando zonas de unión, generando la compactación del complejo (B).	24
Figura 10. Representación esquemática de la deformación lineal de una barra.	27
Figura 11. Diagrama básico de esfuerzo de cizalla en función a la velocidad de cizalla.	29
Figura 12. Diagrama de viscosidad en función a la velocidad de cizalla para diferentes fluidos.	29
Figura 13. Fuerzas intermoleculares que actúan sobre una molécula de la capa superficial y sobre una molécula de la región interna del líquido.	31
Figura Tensión dinámica en la interfase en función del logaritmo del	34

14.	tiempo, típica de las proteínas en soluciones acuosas diluidas, adsorbiendo en la interfase aceite/agua.	
Figura 15.	Adsorción de las proteínas globulares en la interfase aceite/agua en el régimen 1 de la tensión dinámica en la interfase.	35
Figura 16.	Adsorción de proteínas en la interfase aceite/agua en el régimen 2 de la tensión dinámica en la interfase.	35
Figura 17.	Adsorción de proteínas en la interfase aceite/agua en el régimen 3 de la tensión dinámica en la interfase.	36
Figura 18.	Perfil tensiométrico simple.	37
Figura 19.	Partícula cargada positivamente: S capa de Stern, G capa de Gouy-Chapman, N zona de neutralidad.	39
Figura 20.	Ejemplo del gráfico de diámetro de partícula proporcionado por el equipo zetasizer nano.	45
Figura 21.	Diagrama de funcionamiento del tensiómetro de gota colgante.	47
Figura 22.	Curva típica de la tensión dinámica en la interfase.	48
Figura 23.	Densidad de las disoluciones de inulina y sus mezclas con caseinato a diferentes concentraciones.	51
Figura 24.	Distribución de tamaño de partícula para caseinato (C) a 1%, inulina (I) a 1% y 3%.	53
Figura 25.	Distribución de tamaño de partícula para las disoluciones de caseinato (C) a 1%, inulina (I) a 10% y 25%.	54
Figura 26.	Distribución de tamaño de partícula para las disoluciones de caseinato (C) a 1%, mezcla inulina-caseinato (M) a 1% y 3%.	55
Figura 27.	Distribución de tamaño de partícula para las disoluciones de caseinato (C) a 1%, mezcla inulina-caseinato (M) a 10% y 25%.	57
Figura 28.	Viscosidad de las disoluciones de inulina (I) a diferentes concentraciones y caseinato de sodio (C).	60
Figura	Viscosidad de las disoluciones de caseinato de sodio (C) y	61

- 29.** sus mezclas con inulina (M) a diferentes concentraciones.
- Figura** Efecto de la concentración en la viscosidad de disoluciones de 62
- 30.** inulina a diferentes concentraciones y sus mezclas con caseinato de sodio al 1%.
- Figura** Tensión superficial de las disoluciones de inulina (I) y 65
- 31.** caseinato (C) al 1% a diferentes concentraciones en función del tiempo.
- Figura** Tensión superficial en función del tiempo para las disoluciones 67
- 32.** de caseinato (C) a 1% y sus mezclas (M) con inulina a diferentes concentraciones.
- Figura** Tensión al equilibrio en función del logaritmo natural de la 69
- 33.** concentración.

Índice de cuadros

	Página
Cuadro 1. Estabilidad de una partícula.	40
Cuadro 2. Humedad de la inulina de agave y del caseinato de sodio.	49
Cuadro 3. Densidad relativa de las disoluciones de inulina, caseinato de sodio y mezclas inulina-caseinato de sodio a diferentes concentraciones.	50
Cuadro 4. pH de las disoluciones acuosas de inulina y sus mezclas con caseinato de sodio a 1%.	52
Cuadro 5. Distribución de tamaños de partícula de la inulina (I) a 1%, 3%, 10%, 25% y el caseinato (C) a 1% en fase acuosa.	53
Cuadro 6. Distribución de tamaño de partícula para las mezclas (M) a 1%, 3%, 10%, 25% de inulina y caseinato (C) a 1% en fase acuosa.	56
Cuadro 7. Potencial zeta para las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones y caseinato de sodio a 1%.	58
Cuadro 8. Potencial zeta para las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones y caseinato de sodio a 1%.	59
Cuadro 9. Viscosidad de las disoluciones de inulina, mezcla inulina-caseinato de sodio y caseinato de sodio a 1%.	63
Cuadro 10. Valores de tensión al equilibrio para las diferentes disoluciones de inulina a diferentes concentraciones, y sus mezclas con caseinato a 1% en la interfase.	66

RESUMEN

En el presente trabajo se investigó el tamaño de partícula, el potencial zeta, la adsorción en interfase fluida y el flujo en cizalla estacionaria de los sistemas acuosos elaborados con inulina a diferentes concentraciones (1%, 3%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% y 50%), caseinato de sodio a 1% y la mezcla de éstos.

Se encontró que los sistemas acuosos de inulina presentaron mayores valores de tensión superficial con respecto a las disoluciones de caseinato de sodio a 1%, ya que este último se adsorbió más rápido en la interfase (35.09 mN/m). Por su parte, la disolución con 40% en inulina fue la que más disminuyó el valor de la tensión, situándose 8.32 unidades por encima de la tensión del caseinato de sodio a 1%. Al evaluarse en mezcla se vio favorecida la adsorción en interfase en comparación con las disoluciones individuales de inulina y caseinato, ya que se logró disminuir la tensión en la interfase.

Se encontró que el comportamiento reológico que presentó la inulina a las diferentes concentraciones fue de fluido newtoniano, aumentando la viscosidad conforme se aumentó la concentración.

La distribución de tamaño de partícula para las disoluciones de inulina individual presentó comportamiento multimodal con tamaños de partícula desde 3 nm hasta 5500 nm, mientras que el caseinato de sodio mostró una distribución bimodal; y al ser mezclado con la inulina a bajas concentraciones, esta última adoptó la distribución bimodal del caseinato.

El potencial zeta de las disoluciones de inulina individual al 40% fue de -0.8 mv por lo que la partícula es capaz de formar agregados en el sistema, en comparación con el caseinato de sodio al 1% el cual por sí solo logró conferir cierta estabilidad ante la agregación a las disoluciones en mezcla a bajas concentraciones de inulina (mezcla 1%-1%; -27.36 mv), pero a mayores concentraciones de inulina, ésta predominó en potencial zeta en mezcla (mezcla 40%-1%; -1.87 mv).

INTRODUCCIÓN

Los hidrocoloides alimenticios están asociados tradicionalmente con el espesamiento y la gelificación; sin embargo, éstos también pueden influir sobre las propiedades de los sistemas dispersos a través de sus propiedades en la interfase. Muchos hidrocoloides pueden actuar como estabilizantes de sistemas dispersos debido a que proporcionan un aumento en la viscosidad de la fase continua (Dickinson, 2010). Las proteínas y los polisacáridos son biopolímeros naturales que se utilizan como ingredientes funcionales y las mezclas de éstos son frecuentemente empleadas en muchas aplicaciones tecnológicas incluyendo la industria alimenticia, debido a que las proteínas, por ejemplo, son utilizadas por su específica actividad superficial, la cual les permite tener una mayor influencia en la formación y estabilización de sistemas dispersos por efecto de la combinación de interacciones electrostáticas y estéricas (Rodríguez y Pilosof, 2011). Dependiendo de la naturaleza del polisacárido y más específicamente de la carga del mismo, puede que se adhieran a las gotas de aceite en la superficie de emulsiones formadas por proteínas, a través de interacciones con las moléculas de proteínas adsorbidas, en el caso de polisacáridos eléctricamente neutros, no se dan tales interacciones y por lo tanto la adsorción indirecta a la superficie es posible. La presencia del polisacárido brinda un incremento sustancial en la viscosidad que promueve la textura del producto y posibilita la estabilidad fisicoquímica (Mantzouridou y col., 2012). Actualmente se ha difundido en la industria de alimentos el uso de polisacáridos con propiedades funcionales desde el punto de vista nutricional, siendo uno de éstos los fructanos de agave tipo inulina, los cuales están generalmente compuestos por moléculas de fructosa unidas por enlaces glucosídicos generalmente con una unión terminal de glucosa (Picone y col., 2011). Éstos se usan como aditivo alimenticio funcional, debido a sus propiedades prebióticas y probióticas, tales como el aumento en la producción de bifidobacterias, la reducción de colesterol y los lípidos en la sangre, así como una mejora en la absorción de calcio y magnesio (Kim y col., 2001). Sin embargo, una característica importante es también la funcionalidad estructural de la molécula, la cual se establece por el grado de polimerización (DP), debido a que determina la composición estructural de la misma (Meyer y col., 2011).

Se ha visto que la presencia de la inulina en conjunto con otros hidrocoloides y condiciones de proceso tales como temperatura y velocidad de mezclado influyen para favorecer (estabilidad y reología) o no al sistema disperso formado; estos sistemas pueden simular la textura y la sensación al paladar similar a la grasa (Zimeri y Kokini, 2002; Crispín-Isidro y col., 2014) en productos lácteos (helado, yogurt, leche) y productos untables (miel, mantequilla, mermelada), debido a su capacidad de formar micro cristales que interactúan entre ellos formando pequeños agregados (Villegas y Costel, 2006). Sin embargo, son pocos los estudios sobre las propiedades de adsorción en interfase, tamaño de partícula y potencial zeta.

Por otro lado, dentro de los hidrocoloides alimenticios, destacan las proteínas lácteas, de las cuales la caseína es la más abundante, y es usada principalmente como caseinato de sodio, debido a que es más soluble que la caseína, aunque presenta las mismas propiedades emulsificantes y gelificantes (Dalgleish, 1997). La estabilidad de la molécula está asociada con los fenómenos de repulsión electrostática y estérica, así como con la capacidad de formar sistemas como espumas y emulsiones, mediante la adsorción en interfase, debido a la naturaleza anfifílica de la molécula, y por consecuencia, a la disminución de la tensión superficial. Por su parte, se ha visto que en conjunto con otros polisacáridos como la goma arábiga puede incrementar la viscosidad del sistema, pero la presencia del polisacárido puede interferir sobre la adsorción en la interfase (Bonilla-Reyna y col., 2011).

Las propiedades funcionales de las proteínas de alimentos, tales como solubilidad, actividad superficial, estabilidad, habilidad para formar geles y propiedades emulsificantes, son afectadas por interacciones con polisacáridos, por lo que las mezclas proteína-polisacárido juegan un rol importante en la estructura y estabilidad de muchos alimentos procesados (Rodríguez y Pilosof, 2011; Semenova, 2007), a pesar de que las proteínas y polisacáridos exhiben una limitada compatibilidad termodinámica y pueden sufrir separación de fases (Tolstoguzov, 1997), aún así se han realizado estudios sobre las propiedades reológicas y fisicoquímicas en mezclas proteína-polisacárido, donde se ha demostrado la formación de complejos en mezclas de gelana y caseinato de sodio, debido a interacciones electrostáticas (Sosa-Herera y col., 2008);

también se ha determinado la incompatibilidad termodinámica en mezclas de caseinato de sodio con goma xantana debido a un aumento en el potencial zeta (Zhao y col., 2013); así mismo, la inulina de cadena corta en concentraciones por debajo del 10% en combinación con proteínas lácteas no genera cambios reológicos (Tárreaga y col., 2011) por lo tanto en este estudio se evaluarán propiedades reológicas, de adsorción, tamaño y carga de partícula de disoluciones de inulina sola y en mezcla con caseinato de sodio, en medio acuoso.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1 Inulina

La inulina es un fructano lineal polidisperso compuesto de moléculas de fructosa unidas mediante enlaces β -(2-1) glicosídicos, generalmente con una molécula de glucosa terminal conectada a la última fructosa por un enlace α -(1-2), ésta se observa en la Figura 1. El término oligofructosa o fructo-oligosacárido es usado para los β -(2-1) fructanos con un grado de polimerización aproximado de 10 (Meyer, 2009).

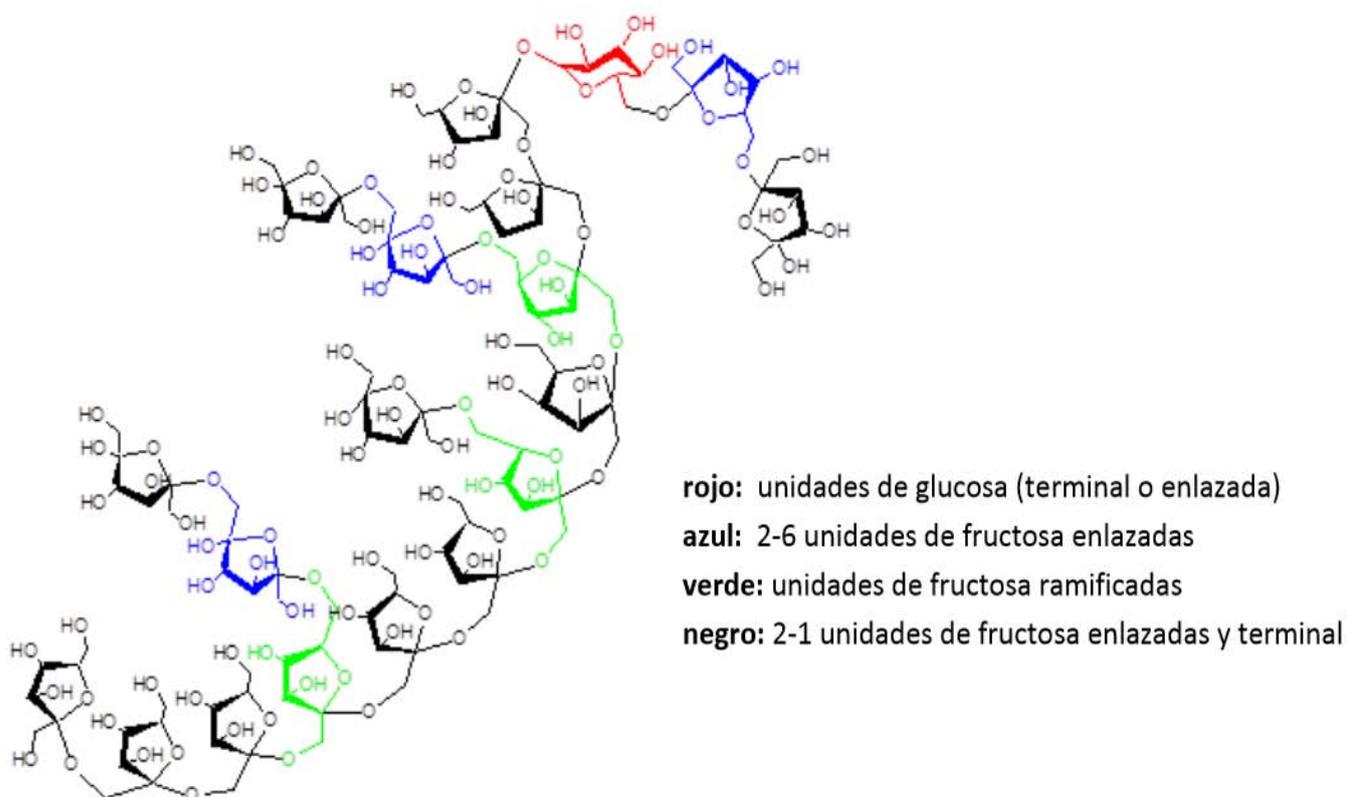


Figura 1. Estructura de la inulina de agave (Rivera, 2013).

Los fructanos de la planta *agave tequilana* variedad azul, están unidos por enlaces β -(2-1) y β -(2-6) (Crispín-Isidro y col., 2014), presentan diferentes grados de polimerización dependiendo de la madurez, en un intervalo de 2 a 6.5 años, las plantas más jóvenes son las que presentan altos niveles de monosacáridos libres, así como un grado de polimerización de entre 3 a 6, con aplicaciones potenciales como prebiótico (Conceição y col., 2014). En promedio, el grado de polimerización de la especie inulina de agave varía de 3

a 30 unidades de monosacáridos (Crispín-Isidro y col., 2014). El grado de polimerización depende de varios factores: especie de planta, clima y condiciones de crecimiento, madurez de cosecha y almacenaje después de la cosecha, dicho grado de polimerización de la molécula influye en posibles cambios reológicos y estructurales del sistema (Conceição y col., 2014). Sus pesos moleculares son de 3.182 kDa aproximadamente (Ponce y col., 2008). Se ha reportado la existencia de 5 tipos de fructanos con diferentes estructuras, los cuales se encuentran en más de 30000 especies de plantas: 1) fructanos tipo inulina 2) fructanos tipo levan, 3) fructanos de la neoserie de la inulina, 4) mezclas de tipo levan, 5) fructanos de la neoserie de levan (mezcla del fructano tipo F3), como se observa en la Figura 2 (Conceição y col., 2014).

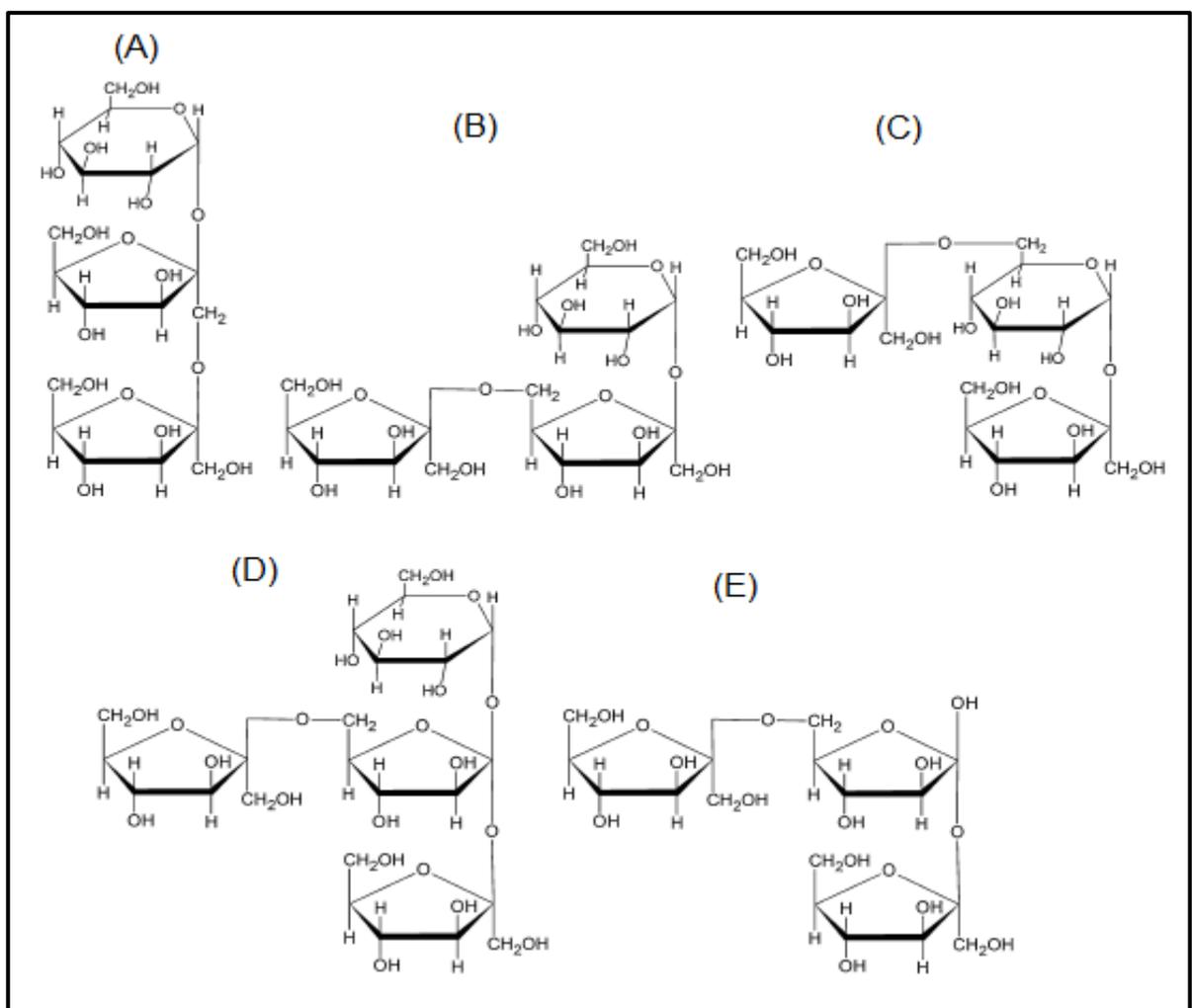


Figura 2. Diferentes tipos de fructanos, (A) 1-cetosa, (B) 6-cetosa, (C) neucetosa, (D) bifurcosa, (E) mezcla del fructano tipo F3 (Conceição y col., 2014).

1.1.1 Obtención de inulina

La inulina de agave se obtiene a través de un tratamiento a la planta de agave, 50 gramos de pulpa son producidos a través de cortes transversales a seis cabezas de agave tequilana maduras. Posteriormente, para la extracción, las cabezas se colocan en un homogenizador con 1.5 litros de agua destilada a 80 °C y son agitadas por 5 minutos. Finalmente la suspensión obtenida se pasa a través de filtros de 1 mm y 5 µm, para posteriormente secarla y molerla (Conceição y col., 2014).

1.1.2 Propiedades funcionales

Desde el punto de vista de salud, se ha distinguido la inulina, debido a que reduce los niveles de lípidos y colesterol en la sangre, la inulina también regula el tránsito gastrointestinal y mejora la adsorción del calcio y magnesio. Otro beneficio de la inulina es como prebiótico, ya que no se digiere en el intestino delgado por lo que estimula el crecimiento de la *Bifidobacteria sp.*, la cual ayuda a incrementar la población de bacterias benéficas en el colon. Considerando que las calorías de la inulina son mucho menores en comparación con los carbohidratos regulares al ser metabolizados en el cuerpo humano, éstas se pueden usar como sustituto de grasas en alimentos, simulando la textura y sensación al paladar que provee la grasa a los alimentos, generando un valor calórico de 1.5 kcal/g (Kim y col., 2001; Picone y col., 2011).

Por otro lado, la inulina es estable a temperaturas de hasta 140 °C, por encima de esta temperatura, la estructura de inulina se rompe. Así mismo, los enlaces β -(2,1) glicosídicos son susceptibles a una hidrólisis ácida. La hidrólisis no ocurre a valores de pH mayores de 4. Por ejemplo, no se observa una hidrólisis a temperaturas menores de 10 °C y a valores de pH entre 3 y 7.5 (Meyer, 2009).

La solubilidad de la inulina en agua depende del grado de polimerización de la misma, así como de la temperatura. En la Figura 3 se observa que la inulina nativa se solubiliza a una temperatura menor a concentraciones mayores en comparación con la inulina de cadena larga, por ejemplo, la inulina nativa

solubiliza a los 30 °C a una concentración de 15% p/p y la inulina de cadena larga a la misma temperatura le corresponde una concentración de 5% p/p. Así mismo, se ha visto que las disoluciones de inulina nativa en agua son muy bajas en viscosidad, mientras que la inulina de cadena larga exhibe un incremento en la viscosidad en disolución comparada con la inulina nativa (Meyer, 2009).

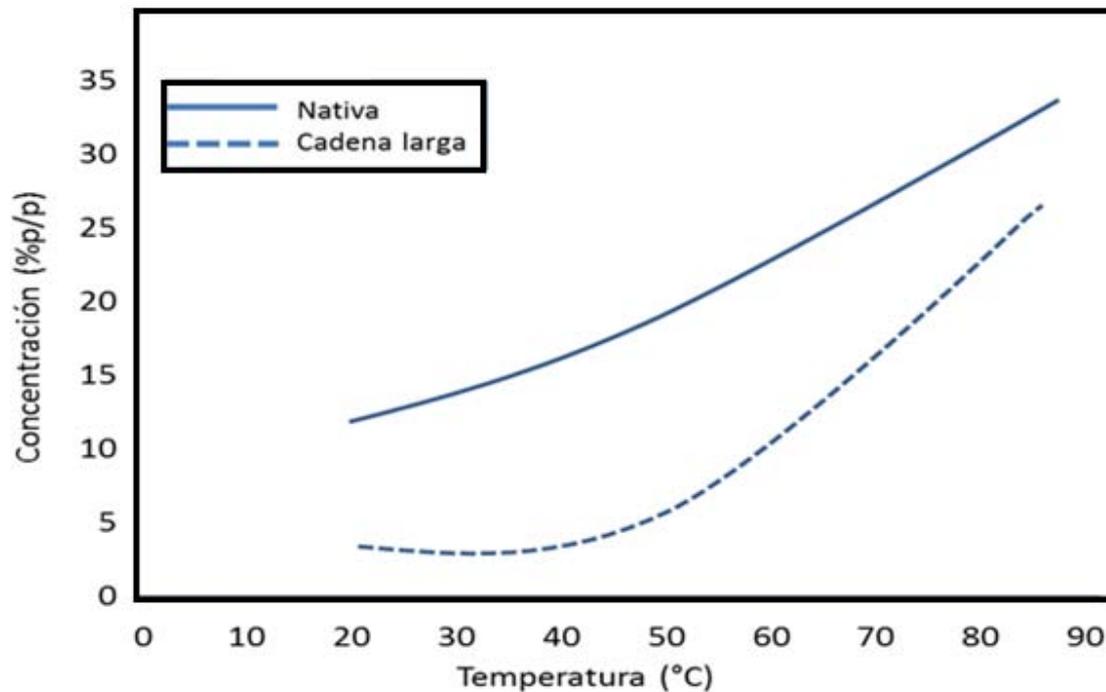


Figura 3. Solubilidad de la inulina nativa e inulina de cadena larga en función de la temperatura y la concentración en (p/p) (Meyer, 2009).

Debido a la alta cantidad de grupos hidroxilo presentes en la inulina, se favorece la formación de puentes de hidrógeno en sistemas acuosos (alimentos), y esto puede influenciar la solubilidad de otros ingredientes que captan el agua como la goma guar, xantana, carragenina, alginatos, pectina, maltodextrina y almidones. Por lo que la inulina participa en la competencia del agua como disolvente (Meyer, 2009).

La molécula de inulina es muy pequeña y la retención de agua es baja comparada con otros hidrocoloides, cuando las concentraciones sobrepasan el 15%, la inulina de cadena larga tiene la habilidad de formar geles. Debajo de esta concentración, se obtienen soluciones acuosas de baja viscosidad. La

formación de un gel está basada en la precipitación y cristalización de las moléculas de inulina, la cual depende de la concentración, temperatura y pH. Se ha demostrado que sólo las moléculas largas de inulina (grado de polimerización arriba de 10) participan en la estructura del gel y las pequeñas permanecen disueltas (Meyer, 2009; Kim y col., 2001).

La formación de geles de inulina es diferente con respecto a la de otros hidrocoloides. La inulina de cadena larga forma geles de partículas similares a los que son formados por algunos almidones (Meyer y col., 2011). La presencia de otros hidrocoloides y las condiciones de proceso, tales como la temperatura y la velocidad de mezclado afectan la formación de geles de inulina, a niveles de concentración por encima de 25%, la disolución presenta partículas de gel con características parecidas a las de las grasas, por encima del 50% en concentración éstas mantienen una textura similar a la grasa y se convierten en geles más firmes (Zimeri y Kokini, 2002). En la Figura 4 se ejemplifica el efecto del grado de polimerización y concentración en la fuerza de gel resultante.

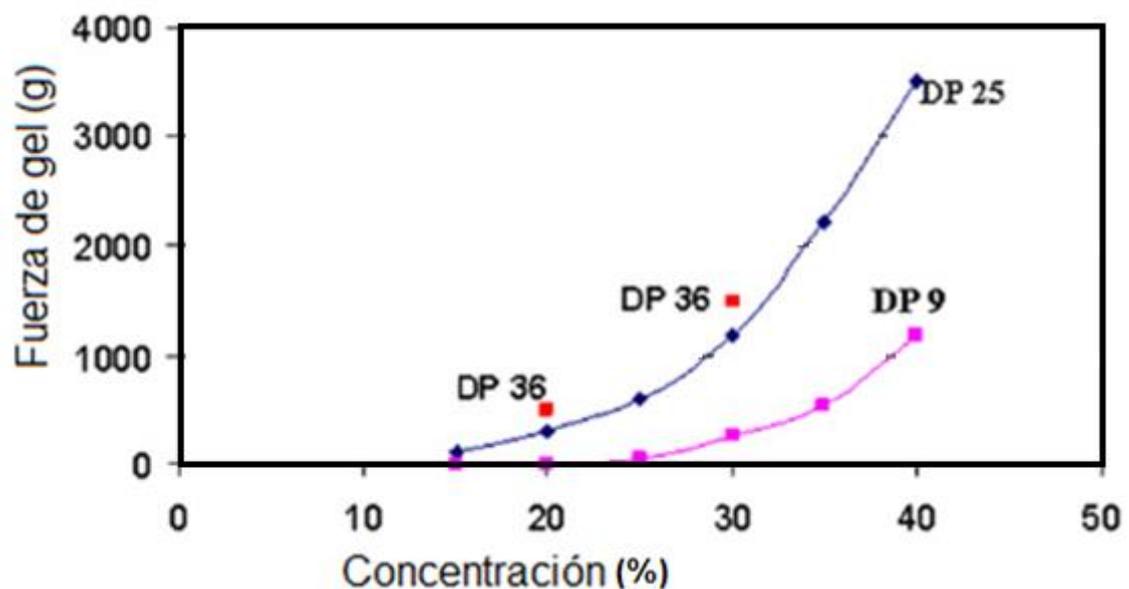


Figura 4. Concentración de inulina con respecto al grado de polimerización (DP) y fuerza de gel producida (Meyer y col., 2011).

El grado de polimerización influye, a valores altos de polimerización (36) la molécula puede conferir una fuerza del gel similar a la de la molécula con una polimerización baja (9) con mayores concentraciones, se observa también que las moléculas con grado de polimerización de 25 presentan mayor fuerza en

geles con poca concentración respecto a las otras moléculas (Meyer y col., 2011).

Los geles de inulina de cadena larga son formados por una red de cristales pequeños, sus propiedades se parecen a las de una red de cristales de grasa en aceite, debido a esta similitud, la inulina ha sido identificada como un ingrediente interesante para la estructuración de productos de bajo o cero en grasa (Bot y col., 2004).

Se ha demostrado que la inulina en combinación con otros hidrocoloides, puede influir el comportamiento reológico de éstos (Meyer, 2009). Aunque la inulina de cadena corta no actúa como un gelificante en combinación con otros hidrocoloides, puede modificar las propiedades reológicas de productos alimenticios. La adición de inulina con otros hidrocoloides espesantes puede modificar la viscosidad (incremento o disminución) y las características de flujo del sistema acuoso (Ronkart y col., 2010), tal como se muestra en la Figura 5.

Se observa que la inulina en dos distintas concentraciones afectó la viscosidad desarrollada de una dispersión de almidón sometida a tratamiento térmico. Se observa que con alta concentración de inulina al compararla con la de baja concentración promovió una disminución de la viscosidad, contrario a lo que se presenta en combinación del almidón con azúcar, provocando en este caso un aumento de la viscosidad con un aumento en la concentración de azúcar, lo anterior se atribuyó al efecto que genera la inulina, interfiriendo con la red de enlaces que forma el almidón, de tal forma que se genera una competencia entre las dos moléculas por la captación de agua, de tal manera que disminuye la viscosidad (Meyer, 2009).

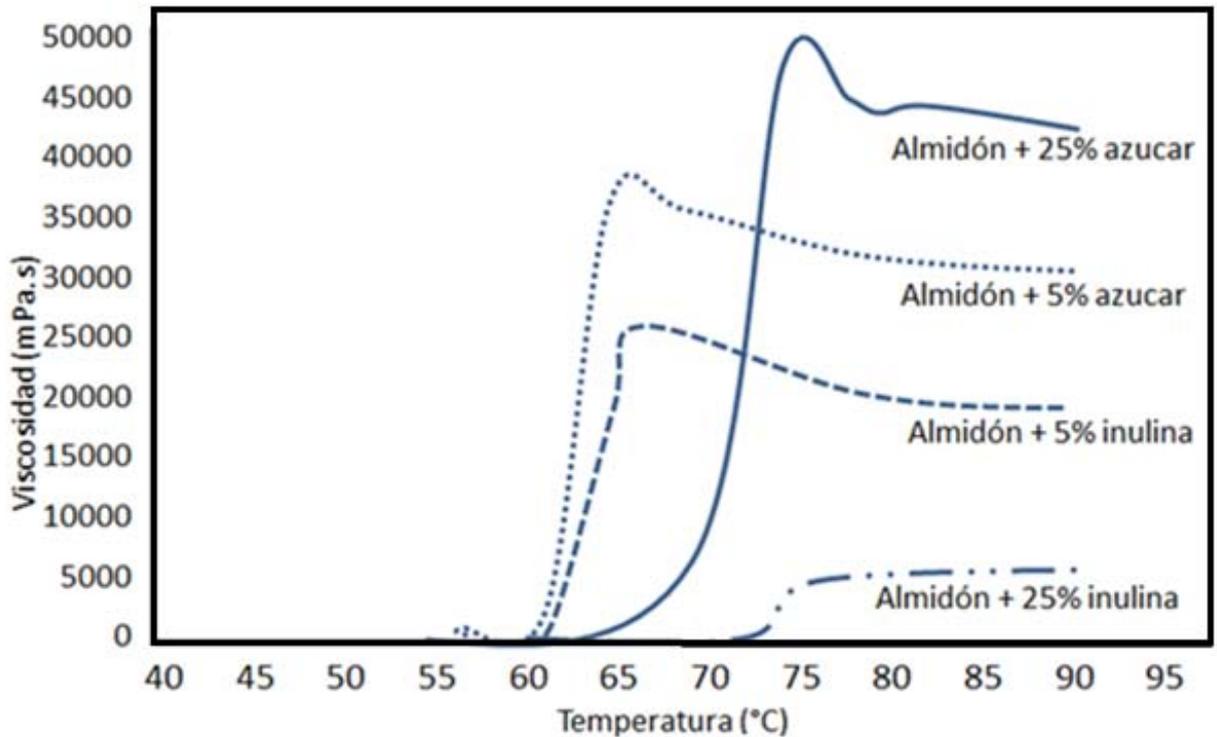


Figura 5. Efecto de la adición de inulina a dispersiones de almidón (Meyer, 2009).

Cuando la inulina se agrega a productos lácteos, se obtiene una sensación cremosa debido a las interacciones con la proteína de suero de leche y caseínatos (Meyer, 2009). La incorporación de inulina de cadena larga y fructanos a yogures reducidos en grasa modificaron sus propiedades microestructurales, sensoriales y reológicas. La modificación de esas propiedades fue dependiente de la concentración. La inulina de cadena larga formó estructuras gelificadas entre las micelas de caseína agregadas, mientras que los fructanos tendieron a depositarse ellos mismos en la superficie de las micelas de caseína (Crispín-Isidro y col., 2014).

Por otra parte, la cristalización de la inulina y sus efectos en las propiedades reológicas de postres lácteos que cuentan con una red tridimensional en su estructura depende de la distribución de longitud de cadena. Consistencia, elasticidad y mayor presencia de agregados de inulina incrementaron con la proporción de moléculas de cadena larga ($DP > 20$) (Tárrega y col., 2011).

Se ha observado que la incorporación de oligofruktosa en leche fermentada a concentraciones de 2% a 5% disminuyó la dependencia con el tiempo de cizallamiento, es decir, el comportamiento fluidificante, así como el índice de consistencia, debido a un posible efecto plastificante de la oligofruktosa, el cual resulta en una menor hidratación y reducción del volumen hidrodinámico de la proteína causando una disminución en la viscosidad (Meyer y col., 2011). Por otra parte, se ha visto que la inulina de cadena mediana adicionada en helados bajos en grasa a concentraciones de 5%, 7% y 9%, provocó un incremento en el índice de consistencia y la viscosidad aparente; el grado de fusión disminuyó con un aumento en la concentración. Esto a consecuencia de que la inulina actúa como un estabilizante, debido a su capacidad de captar agua, por lo que las moléculas de agua se inmovilizan y no es posible que se muevan libremente entre las moléculas de la mezcla de hielo (Meyer y col., 2011; Crispín-Isidro y col., 2014).

Los resultados obtenidos por la adición de inulina en productos lácteos se han atribuido a que los grupos hidroxilo de los fructanos interactúan a través de puentes de hidrógeno con fracciones cargadas en la superficie de proteínas. La inulina de agave tiende a cubrir las superficies de las micelas de caseína, por lo que ramas más gruesas y más densas de redes de proteínas se han reportado en alimentos lácteos como el yogurt (Crispín-Isidro y col., 2014).

1.2 Caseína y caseinatos

Las proteínas de la leche son fuertemente anfifílicas y exhiben buenas propiedades tensoactivas: se adsorben fácilmente en las superficies/interfases, disminuyendo la tensión superficial y formando películas en la interfase a través de interacciones de complejos intermoleculares y por lo tanto, imparten rigidez estructural con propiedades reológicas variables (Ennis y Mulvihill, 2009); dentro de éstas destaca la caseína por constituir el 80% de las proteínas de la leche, la cual se compone de cuatro fracciones principales (α_{s1} , α_{s2} , β y κ caseína), las cuales forman micelas de caseína en la leche y estabilizan las gotas de aceite evitando la coalescencia a través de repulsión electrostática y estérica (Liang y col., 2014), sus diámetros son de entre 50 a 250 nm y consisten en complejos con fosfato de calcio, éstos pueden formar partículas

de peso aproximado de 600 kDa, cuyas estructuras aparentan ser esféricas bajo el microscopio, como se observa en la Figura 6 (Dalgleish, 1997).

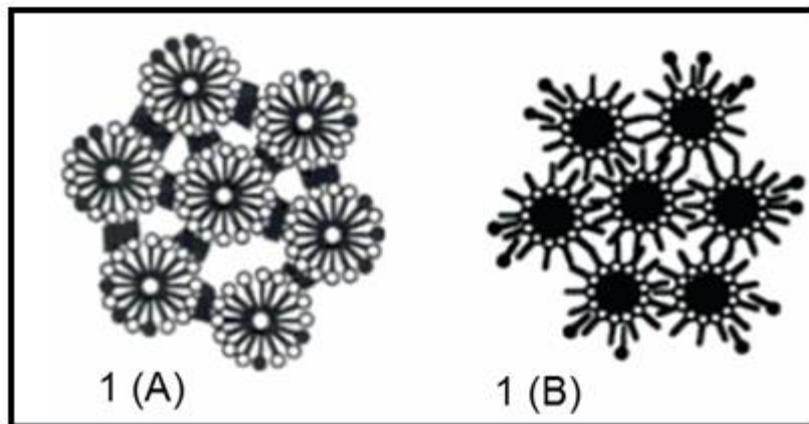


Figura 4. Posibles estructuras de la α_s y β caseína (1A), y estructura de la κ caseína (1B) (Dalgleish, 1997).

La estabilidad de la micela de caseína se asocia con la repulsión electrostática intra-micelar, determinada por la carga superficial negativa de la estructura (Picone y col., 2011). Su acidificación al punto isoeléctrico en un pH de 4.6 causa la disolución del fosfato de calcio y que las proteínas precipiten (Dalgleish, 1997).

1.2.1 Obtención de caseinato de sodio

La caseína se obtiene a partir de la leche descremada para minimizar los posibles defectos de sabor que surjan del deterioro de los lípidos en los productos secos de caseína. Las micelas de la caseína son desestabilizadas por acidificación de la leche a un pH de 4.6, la acidificación química se da por adición de un mineral ácido o ácido carbónico en la leche a 30 °C, esto resulta en la ruptura de la κ -caseína a para- κ -caseína y glicomacropéptidos solubles, consecuentemente las micelas modificadas de caseína se vuelven susceptibles al calcio presente en la fase de suero de leche y coagulan a temperaturas por encima de los 20 °C (Ennis y Mulvihill, 2009).

Después de la coagulación, se puede formar un cuajo, el cual se separa fácilmente del suero de leche mediante un proceso conocido como cocción, que implica el aumento de la temperatura a 50-60 °C. Posteriormente, el cuajo

se separa del suero de leche usando dispositivos mecánicos tales como centrifugadoras horizontales de tazón o prensas de rodillos. Después de la separación, el cuajo se lava con agua potable para remover residuos como la lactosa, sales y proteínas de suero de leche, para posteriormente ser mecánicamente deshidratadas a una humedad aproximada de 12%, en este momento se obtienen las caseínas ácidas, las cuales no son solubles cuando son rehidratadas en agua, pero pueden ser solubilizadas por la adición de álcalis como hidróxido de sodio para así obtener estructuras primarias de caseinato de sodio (Ennis y Mulvihill, 2009).

1.2.2 Propiedades funcionales

El caseinato de sodio se utiliza principalmente en la fabricación de productos lácteos tales como quesos, bebidas y postres, porque es más soluble que la caseína pero muestra las mismas propiedades tecnológicas que estas últimas, tal como agente emulsificante y gelificante (Picone y col., 2011).

Como una consecuencia de su falta de capacidad para formar enlaces disulfuro inter o intra moleculares, las principales caseínas (α y β) no contienen cisteína ni cistina. Un factor importante en sus estructuras primarias, es que todas son hidrofóbicas, esto debido a su contenido de aminoácidos con cadenas no polares, pero la β -caseína y la k -caseína pueden actuar como moléculas anfifílicas debido a los grupos polares que tiene. En el caso de la β -caseína, el alto contenido de prolina, es difícil de incorporar en los componentes acoplados de la estructura secundaria de la proteína (α -hélice paralela y antiparalela, β -plegada), por lo que las caseínas son proteínas desordenadas sin estructura específica (Dalglish, 1997).

El caseinato de sodio es completamente insoluble cuando el pH del sistema acuoso está cerca al punto isoeléctrico de las caseínas, pH 4.6, el caseinato es soluble hasta altas concentraciones, típicamente 20-30% en ambos lados, ácido y alcalino de su punto isoeléctrico. El intervalo de hidratación de los caseinatos está entre 0.7 a 3.8 gramos de agua sobre gramos de sólido. Sistemas acuosos que contienen de 10% a 15% en concentración de caseinato pueden ser fácilmente preparadas a valores de pH de 6-7. A valores de pH menores a 3.5, la caseína es también soluble, pero a este pH el sistema

acuoso es más viscoso que a valores de pH próximos a la neutralidad y en el sistema se logra formar un gel con 5% de concentración a temperaturas debajo de los 40 °C (Dalglish, 1997).

La viscosidad del caseinato de sodio es también dependiente del pH, presentando viscosidad mínima a un pH de 7. La viscosidad es alta a pH entre 2.5 a 3. Los caseinatos exhiben comportamiento fluidificante y son tixotrópicos a valores altos de velocidad de cizalla en medio ácido (Picone y col., 2011).

Las estructuras de caseinato de sodio son relativamente flexibles y forman cadenas extendidas en disolución, ellas demuestran una habilidad para captar cantidades considerables de agua. Las micelas del caseinato de sodio están compuestas de sub unidades similares o idénticas, cada una de las cuales consiste de algunas moléculas de caseína (30 aproximadamente), éstas son unidas por interacciones hidrofóbicas entre proteínas. Como las caseínas tienen regiones hidrofóbicas que forman parte de su estructura, éstas tienden a asociarse con otros materiales hidrofóbicos. Por su lado, la acción estabilizante de la κ -caseína surge principalmente por su glicomacropéptido, el cual sobresale a la superficie de la micela en una solución para proporcionar una estabilización estérica debido a que las macromoléculas se adsorben sobre las partículas, haciendo sus superficies hidrofílicas y por lo tanto protegiéndolas contra la agregación (Dalglish, 1997).

El caseinato de sodio se distingue por sus propiedades emulsificantes debido a que todas las caseínas individuales, excepto la κ -caseína, muestran una tendencia fuerte a adsorber a ambas interfases aire/agua y aceite/agua. Experimentos en caseínas individuales y caseinato de sodio han mostrado que éstas cubrían una interfase de la extensión de 2-3 mg/m². La disminución de la tensión interfacial causada por la adsorción de la β -caseína es mucho mejor que cualquier otra proteína (Ennis y Mulvihill, 2009). En un sistema aceite/agua, la acción de homogenización rompe la fase de aceite en pequeñas gotas, de las cuales, sus interfases son cubiertas rápidamente con esta proteína, que previene la coalescencia. Los caseinatos poseen dos atributos importantes para la buena estabilización del material coloidal: están cargadas (especialmente por su contenido en fosfoserina) y son conformacionalmente

flexibles. La carga tenderá a prevenir la estrecha proximidad de las gotas en una emulsión, porque las gotas igual cargadas se repelerán una de otra y la flexibilidad les permitirá una conformación extendida después de ser adsorbida, por lo que las estructuras primaria y terciaria favorecerán la estabilidad (Liang y col., 2014).

Por otra parte, la β -caseína ha sido muy estudiada por sus propiedades anfífilas, la parte de la proteína que se extiende en la disolución lleva cinco residuos de fosfoseril de la proteína, por lo tanto, la capa que sobresale es altamente cargada, de hecho la alta carga puede ayudar a mantener a la proteína en su conformación extendida, debido a su repulsión intermolecular. Todas las conformaciones de la proteína están cargadas y dan una capa de estabilización estérica hidratada y la movilidad conformacional le permite esparcirse ampliamente sobre la interfase (Dalgleish, 1997).

Se ha observado que el caseinato de sodio disminuye la tensión interfacial más efectivamente que las proteínas de suero de leche, ya que se difunde más rápidamente a una interfase y al llegar a ésta se adsorbe más rápidamente que otras proteínas. El orden para la actividad superficial de las proteínas individuales de la leche es: β -caseína > micelas mono dispersadas de caseína > albúmina de suero > α -lactalbumina > α_s -caseína = κ -caseína > β -lactoglobulina (Liang y col., 2014). A bajas concentraciones de caseinato de sodio, éste se extiende como una película delgada con una cobertura de superficie ligeramente menor que la proteína de suero de leche debido a la mayor flexibilidad de la molécula (Ennis y Mulvihill, 2009).

1.3 Interacciones proteína-polisacárido

Las interacciones proteína-polisacárido juegan un rol importante en la estructura y estabilidad de muchos alimentos procesados. Las propiedades funcionales de las proteínas en alimentos tales como la solubilidad, la actividad superficial, la estabilidad conformacional, la habilidad de formación de gel, así como las propiedades emulsificantes y espesantes son afectadas por sus interacciones con polisacáridos. Las interacciones de esos biopolímeros con cada uno de los otros y sus interacciones competitivas con otros componentes de los sistemas (agua, lípidos, azúcares, iones metálicos, tensoactivos, entre

otros) determinan las relaciones estructura-propiedad en los alimentos (Tolstoguzov, 1997).

El éxito del empleo de las mezclas de proteínas y polisacáridos en el procesado de alimentos, se debe a que sus moléculas pueden enlazarse entre ellas por medio de una amplia variedad de interacciones moleculares, las cuales pueden ser divididas en cuatro categorías generales: covalentes, coulómbicas, Van der Waals y estéricas-repulsivas (Dickinson y Mc Clements, 1995), las cuales se describen brevemente a continuación:

- Uniones covalentes: se llevan a cabo entre la capa externa de electrones de dos o más átomos, se toman por lo general como uniones permanentes, operan a intervalos de corto alcance (0.1 a 0.2 nm) y tienen fuerzas entre los 200 y 800 kJmol⁻¹.
- Coulómbicas: ocurren entre especies que poseen una carga eléctrica permanente (iones y/o dipolos). La fuerza de interacción entre los iones depende del potencial z de las cargas, de la distancia entre las cargas, entre otras, las interacciones coulómbicas pueden ser también atractivas o repulsivas dependiendo del signo de las cargas involucradas.
- Van der Waals: son debidas al campo electromagnético, pero se caracterizan por ser siempre atractivas.
- Estéricas repulsivas: la fuerza de repulsión estérica determina cuántos pares cercanos de átomos pueden unirse y por lo tanto afecta el intervalo de las posibles conformaciones que puede tener una molécula de proteína.

Por otro lado, dentro de las asociaciones no-covalentes o por uniones físicas se pueden encontrar otros tipos de interacciones que se derivan de las anteriores, y las cuales son: uniones electrostáticas e hidrofóbicas, exclusiones estéricas, puentes de hidrógeno, entre otras, que son de gran importancia en el análisis de los complejos proteína-polisacárido porque tienen implicaciones en las características interfaciales de las películas adsorbidas, así como en la

formación y en la estabilidad de la dispersión (Rodríguez y Pilosof, 2011), dichas interacciones se describen a continuación:

- Uniones electrostáticas: son interacciones coulómbicas que pueden ser repulsivas o atractivas dependiendo si las cargas eléctricas son del mismo signo u opuesto, y pueden ser de corto alcance (débiles) o de largo alcance (fuertes) dependiendo del grado de ionización y de la concentración de electrolitos del medio.
- Volumen excluyente: son interacciones repulsivas de corto alcance que surgen de la superposición fuerte y desfavorable de las nubes de electrones de las moléculas poliméricas en mezcla, son interacciones estéricas que restringen el arreglo espacial relativo de los pares de segmentos en las mismas o diferentes macromoléculas.
- Puentes de hidrógeno: las moléculas de agua tienen en común con las moléculas de proteínas grupos donadores y aceptores capaces de formar puentes de hidrógeno. La fuerza de los puentes de hidrógeno depende de la electronegatividad y la orientación de los grupos donadores y aceptores, típicamente la fuerza de éstos se encuentra entre 10 y 40 kJmol^{-1} . y su intervalo de alcance es de 18 nm.
- Efecto hidrofóbico: La interacción entre los grupos no polares y el agua es termodinámicamente desfavorable, por lo que las moléculas como las proteínas en solución acuosa tienden a plegarse para minimizar el contacto entre los residuos hidrofóbicos y las moléculas de agua, por esta razón los aminoácidos no polares tienden a localizarse predominantemente en el interior de las proteínas plegadas, mientras que los residuos polares se localizan principalmente en el exterior.
- Puentes iónicos: son un tipo específico de interacciones coulómbicas con fuerzas de largo alcance entre grupos cargados. En el caso particular de las proteínas, estas contienen un número de aminoácidos con la capacidad de ionizarse para formar iones cargados positivamente o negativamente. Así, de este modo, ambas interacciones atractivas o

repulsivas intramoleculares e interacciones electrostáticas intermoleculares son posibles.

- Puentes disulfuro: Los puentes intramoleculares se forman cuando un residuo de cisteína es atraído dentro de la proximidad de los plegamientos moleculares de una proteína. La cisteína es un aminoácido común en la composición de proteínas globulares alimenticias, tiene un grupo tiol, sulfhidrilo o mercapto (-SH), el cual es capaz de formar puentes disulfuro (-S-S-) con otros grupos tiol por medio de una reacción de oxidación (Dickinson y Mc Clements, 1995).

Los complejos interbiopolímero ocurren a valores de pH debajo del punto isoelectrico de las proteínas y a bajas fuerzas iónicas. A valores de pH debajo del punto isoelectrico, las moléculas de las proteínas tienen una carga neta positiva y se comportan como policationes mientras que a valores por encima del punto isoelectrico se comportan como polianiones. El parámetro fisicoquímico de pH tiene gran influencia sobre estos sistemas ya que cuando el pH es intermedio entre el punto isoelectrico de dos proteínas, éstas serán cargadas opuestamente y formarán complejos electrostáticos de proteína-polisacárido. También a valores ácidos y neutrales de pH, que son típicos de los alimentos, el contenido de grupos carboxilo en polisacáridos se comportan como polianiones; por lo que la formación de complejos electrostáticos entre proteínas y polisacáridos aniónicos generalmente ocurre a pH entre el valor de la constante de disociación ácida de los grupos aniónicos en el polisacárido y el punto isoelectrico en las proteínas. Generalmente los complejos electrostáticos se disocian cuando la fuerza iónica excede a 0.2-0.3 o cuando el pH está por arriba del punto isoelectrico de la proteína (Tolstoguzov, 1997).

Por otra parte el término compatibilidad de biopolímero implica la miscibilidad de diferentes biopolímeros en un nivel molecular, ésta a su vez está relacionada con la habilidad de formar complejos interbiopolímeros solubles. Sin embargo, la incompatibilidad termodinámica en disoluciones de una mezcla de una proteína y un polisacárido usualmente toma lugar a altas fuerzas iónicas y valores de pH por encima del punto isoelectrico de las proteínas donde los biopolímeros tienen cargas iguales, consecuentemente la incompatibilidad

ocurre cuando el complejo interbiopolímero se inhibe, por lo que la separación de fase usualmente ocurre a concentraciones de biopolímero de entre 2-20% (depende de forma y tamaño). De esta manera la mezcla de proteína-polisacárido en disolución puede resultar en floculación de una suspensión o emulsión de proteína. Las disoluciones coloidales son termodinámicamente inestables por un exceso inherente de energía libre en la superficie (Tolstoguzov, 1997).

1.3.1 Complejos electrostáticos interbiopolímero

Dentro de las relaciones de propiedades composición-estructura, la conformación de proteínas rígida y compacta restringe el número de grupos de cargas opuestas capaces de interactuar unas con otras. Debido a que las macromoléculas siempre se mueven, si es posible, para ocupar una posición de energía mínima, esto corresponde a la atracción de las cadenas opuestamente cargadas, por lo que las proteínas con estructura desplegada, como el caseinato, tienen la posibilidad de formar un máximo número de contactos con polisacáridos negativamente cargados (Rodríguez y Pilosof, 2011).

Las interacciones atractivas entre proteínas y polisacáridos pueden permitir la formación de complejos solubles y/o insolubles (Figura 7 a y b). La formación de complejos insolubles conduce a un fenómeno de separación de fase llamado coacervación, el cual implica una formación de complejos macromoleculares primarios solubles que interactúan para formar agregados eléctricamente neutros, estos últimos sedimentan para formar la fase coacervada que contiene ambos biopolímeros. Las dos fases coexistentes son una fase rica en solvente con una cantidad muy pequeña de biopolímeros y una fase rica en biopolímeros que contiene los complejos de éstos (Rodríguez y Pilosof, 2011). La agregación de las partículas individuales del complejo es principalmente debido a la formación de puentes de hidrógeno, así como interacciones hidrofóbicas (Tolstoguzov, 1997).

Por otra parte, pueden existir interacciones repulsivas desfavorables. A una concentración suficientemente alta de alguno de los dos biopolímeros, se puede dar una repulsión neta entre las dos especies de soluto a nivel

molecular, lo que causa una separación del sistema en dos fases distintas, este fenómeno es conocido como incompatibilidad termodinámica y es una de las principales causas del efecto sinergista. En donde puede tenerse una co-solubilidad homogénea de los biopolímeros que se excluyen unos a otros en medio acuoso (Figura 7c). También se puede dar una separación de fases entre los dos biopolímeros formando una fase rica en proteínas y otra rica en polisacáridos (Figura 7d) (Rodríguez y Pilosof, 2011).

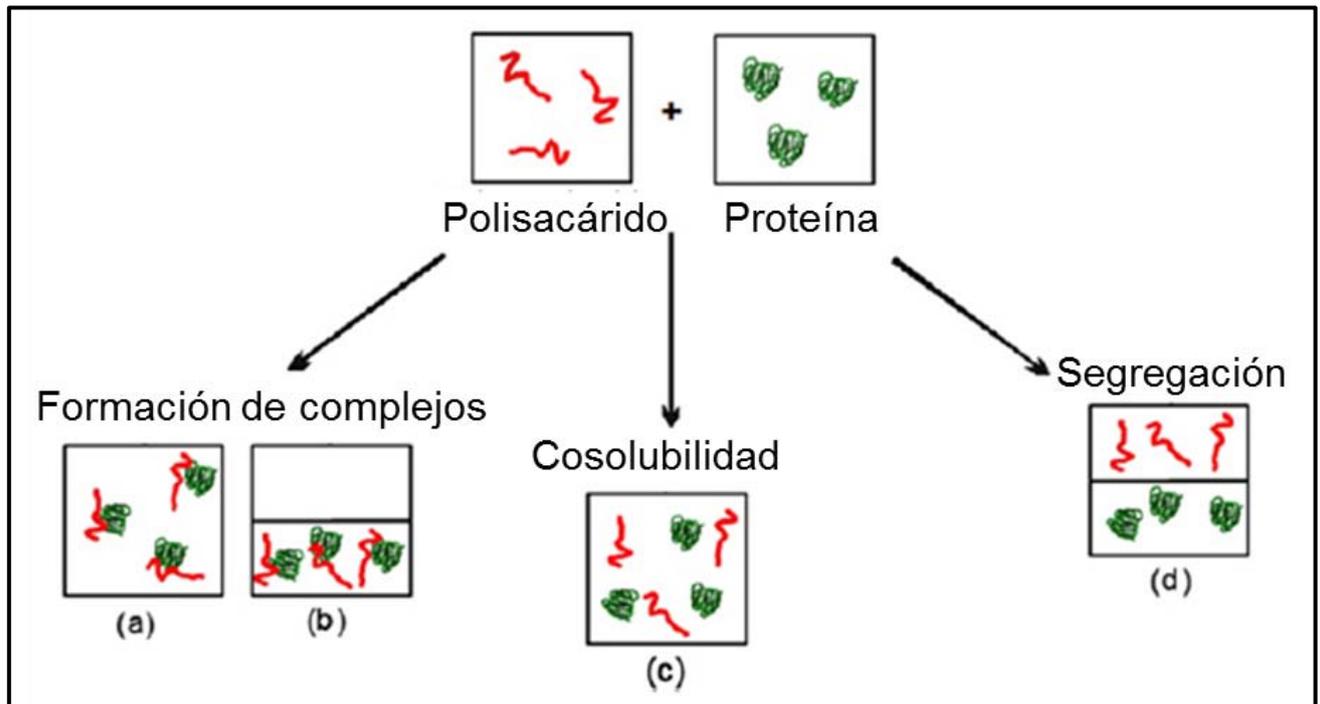


Figura 5. Comportamiento de las mezclas de polisacáridos y proteínas (Rodríguez y Pilosof, 2011).

La composición y propiedades de un complejo electrostático interpolímero, dependen del pH, fuerza iónica y la naturaleza de la proporción de los biopolímeros. Así que cuando el pH se disminuye debajo del punto isoeléctrico de la proteína, la carga neta de la proteína incrementa, mientras que los macroiones aniónicos del polisacárido disminuyen, como resultado, el complejo insoluble es enriquecido con polisacáridos, esto se puede ver representado en las Figuras 8 y 9 en donde se observa que las interacciones proteína-polisacárido se pueden dar de diferentes maneras y así formar distintos tipos de sistemas con propiedades características de disoluciones proteína-polisacárido (Tolstoguzov, 1997).

En la Figura 8A se ejemplifica la forma en que se dan interacciones electrostáticas fuertes, el equilibrio está “detenido” y es considerado un complejo irreversible, el pH está alejado del punto isoeléctrico de las proteínas, con baja fuerza iónica. En la Figura 8B y 9B se presenta interacción electrostática débil, en donde el pH está alrededor y por encima del pH del punto isoeléctrico, así que presentarán bajas o moderadas fuerzas iónicas (Tolstoguzov, 1997).

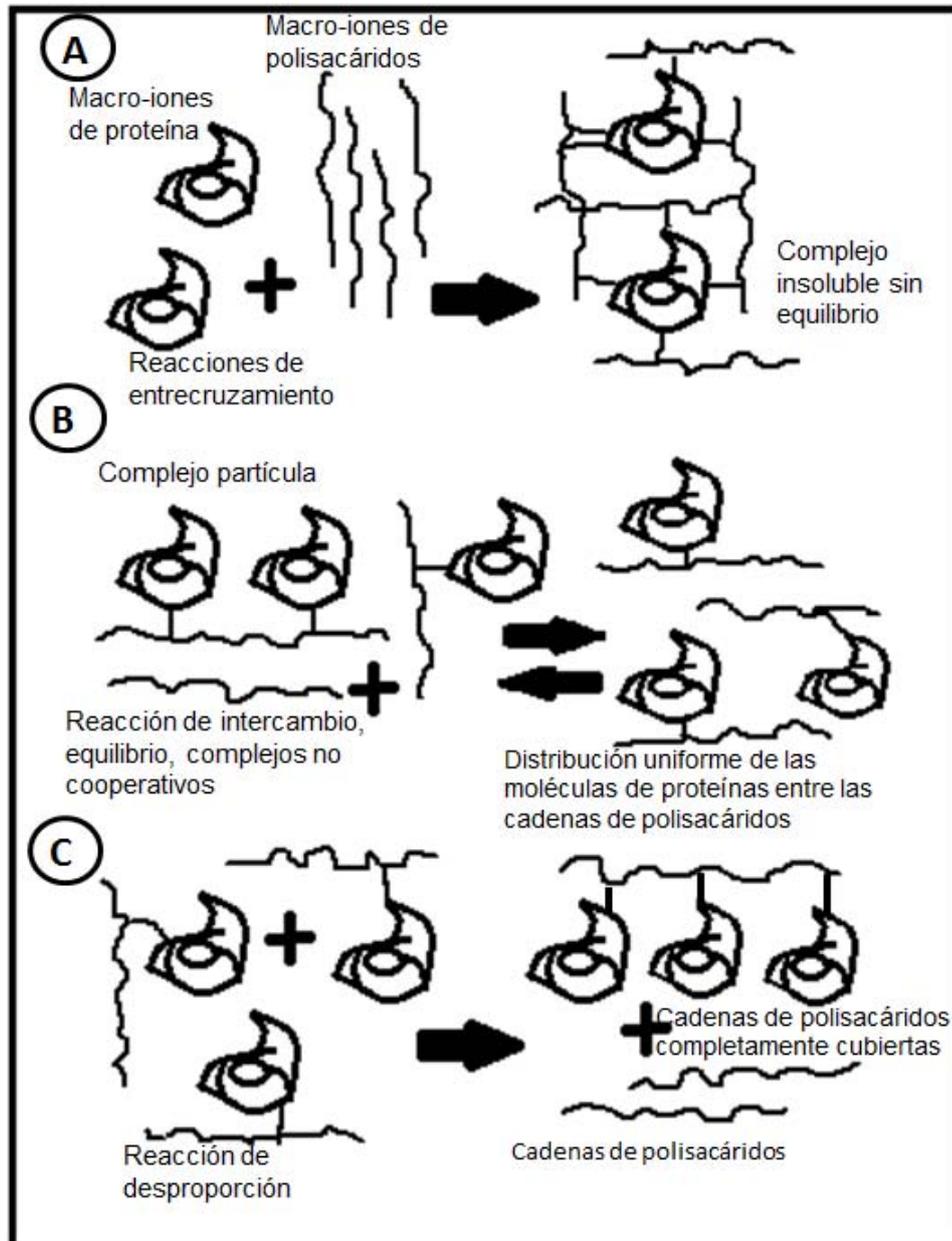


Figura 6. Formación de complejos, para tres sistemas diferentes de proteína-polisacárido, mediante la influencia de las interacciones electrostáticas, pH y fuerzas iónicas, al equilibrio y sin equilibrio entre ellas (Tolstoguzov, 1997).

Cuando las disoluciones opuestamente cargadas se mezclan bajo condiciones fuertes de interacción biopolímero, en este caso a un pH debajo del punto isoeléctrico de la proteína, el complejo formado por la mezcla obtiene solubilidad en agua (Figura 8A).

Las propiedades de los complejos proteína-polisacárido formados al punto isoeléctrico de la proteína, son independientes de la forma en la cual son preparados. Esto indica que la formación en condiciones de interacción bajas de complejos proteína-polisacárido es un proceso reversible (Figura 8B). Cuando ocurre una distribución no uniforme de proteínas entre las cadenas de polisacáridos, ésta provocará la formación de fracciones de baja-proteína y alta-proteína de los complejos proteína-polisacárido (Figura 8C). Debido a la proximidad del punto isoeléctrico, las interacciones hidrofóbicas proteína-proteína, y electrostáticas proteína-polisacárido pueden ser enérgicamente comparables unas con otras.

El enlace de moléculas de proteína se puede dar a través de segmentos de una cadena de polisacáridos aniónicos. Esto resulta en un incremento en concentración de segmentos de polisacáridos y un aumento en densidad de carga (Figura 9A), lo que posiblemente promueve la adsorción de la proteína y la conformación compacta de los complejos proteína-polisacárido, la cual provoca una unión con un interior hidrofóbico (Figura 9B).

La estabilidad de los complejos proteína-polisacárido aniónico contra la alta fuerza iónica y valores de pH encima del punto isoeléctrico puede ser incrementada por la desnaturalización térmica de los enlaces globulares de la proteína y por la adición de cationes divalentes, por su habilidad de unir a través de los complejos. La desnaturalización conduce a un incremento del número de interacciones hidrofóbicas y conduce a la formación de complejos más estables (Tolstoguzov, 1997).

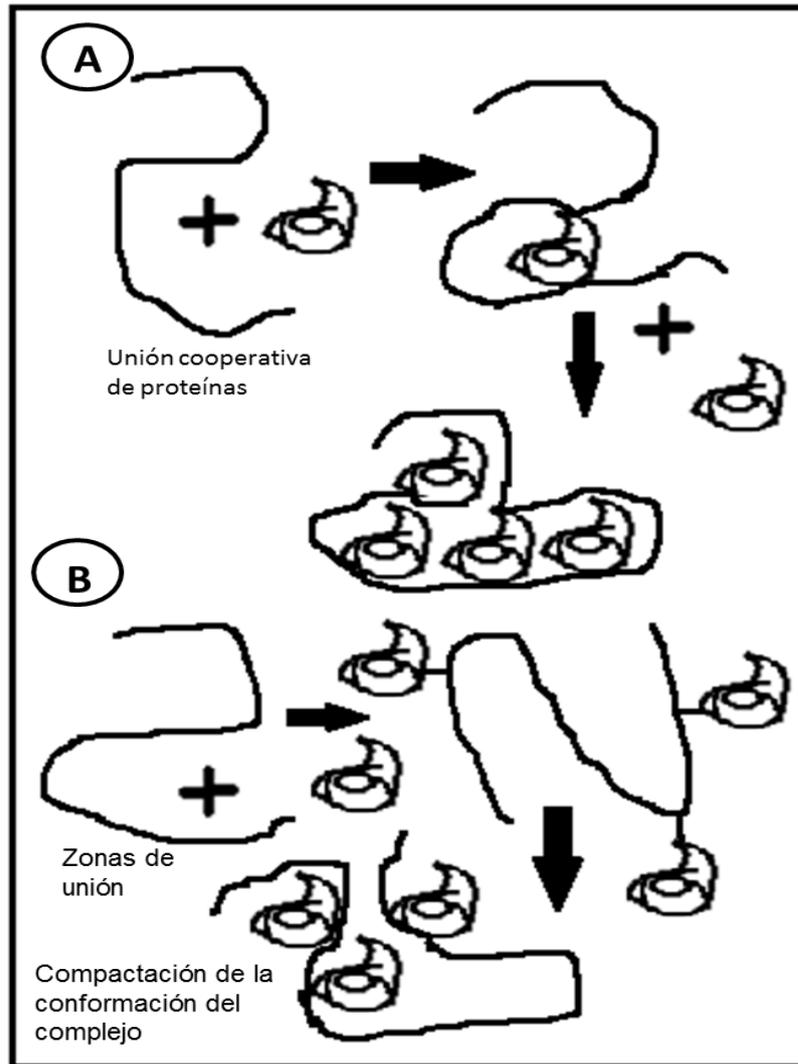


Figura 7. Formación de complejos, para dos sistemas diferentes de proteína-polisacárido, mediante la influencia de las interacciones electrostáticas, pH y fuerzas iónicas, causando el plegamiento de las proteínas (A) y formando zonas de unión generando el compacto del complejo (B)

1.3.2 Propiedades funcionales de los complejos electrostáticos

Los polisacáridos aniónicos pueden actuar como hidrocoloides protectivos inhibiendo la agregación y precipitación de las partículas dispersadas de las proteínas desnaturalizadas con carga igual, esto puede incrementar la estabilidad, mientras que la solubilidad de las proteínas se puede incrementar por el complejo electrostático de ellas con polisacáridos aniónicos. Los polisacáridos aniónicos pueden actuar como floculantes para la precipitación de suspensiones o emulsiones estabilizadas por proteínas, ya que las fuerzas

electrostáticas atractivas son mejores a pH cercano del punto isoeléctrico (Tolstoguzov, 1997).

La principal razón para usar los complejos proteína-polisacárido como estabilizantes de sistemas dispersos es por su alta actividad superficial, su habilidad de incrementar la viscosidad del medio y su habilidad de formar geles cargados y capas gruesas adsorbentes. La fuerza mecánica de la capa de adsorción es tan buena como los efectos electrostáticos y estéricos. Cuando las partículas coloidales dispersadas están cargadas, una repulsión coulombica existe entre ellas, la incompatibilidad termodinámica de proteínas y polisacáridos sucede cuando los biopolímeros tienen una limitada co-solubilidad en el mismo solvente y cada uno de ellos está principalmente concentrado en una de las fases. Sin embargo, cuando la fuerza iónica es suficientemente grande, el potencial electrostático entre las partículas coloidales (y la repulsión electrostática entre dos iones) se convierte casi a cero. Aquí, las sales pueden funcionar como agentes floculantes eficientes (Tolstoguzov, 1997).

1.4 Propiedades de proteínas y polisacáridos en medio acuoso

En sistemas fluidos es evidente que existe un gran número de elementos que pueden afectar las propiedades reológicas, de adsorción, tamaño y carga de partícula en mezclas de polisacáridos y proteínas en medio acuoso, sin embargo, la funcionalidad del sistema disperso será dependiente de estas propiedades. Las mezclas proteína-polisacárido, usualmente coexisten en emulsiones alimenticias. Generalmente, la proteína se utiliza como un emulsificante para estabilizar las gotas de aceite y el polisacárido se emplea para incrementar la viscosidad de la fase continua, para mejorar la estabilidad de la emulsión o la actividad superficial de las proteínas (Zhao y col., 2013).

1.4.1 Reología de fluidos

Por definición, la reología es el estudio de la deformación y el flujo de los materiales (Steffe, 1996), ésta estudia la manera en la cual los materiales responden a un esfuerzo o deformación. Debido a que todos los materiales tienen propiedades reológicas, éstos pueden jugar un rol importante en la

calidad, la optimización de procesos, las formulaciones de productos y sus modificaciones, también es posible evaluar, a través de ésta, las características de productos y sus modificaciones, así como las características estructurales y moleculares de un material (Lapasin y Pricl, 1999). Como la reología es el estudio de la deformación de la materia, es importante el entendimiento de las variables esfuerzo y velocidad de cizalla, las cuales se presentarán a continuación.

El tensor de esfuerzo (σ) ejercido sobre una unidad de área de la superficie de un material de prueba, puede ser resuelto en términos de nueve componentes, de los cuales tres esfuerzos son normales (σ_{11}, σ_{22} y σ_{33}) y seis tangenciales ($\sigma_{12}, \sigma_{13}, \sigma_{21}, \sigma_{23}, \sigma_{31}$ y σ_{32}), en un sistema de coordenadas cartesianas. Por ejemplo, en un flujo de cizallamiento simple, el cual se puede encontrar en diferentes geometrías (cono y placa, placas paralelas, cilindros concéntricos, entre otras) $\sigma_{12} = \sigma_{21}$, mientras que los otros cuatro componentes tangenciales ($\sigma_{13}, \sigma_{23}, \sigma_{31}$ y σ_{32}) son iguales a cero, entonces el tensor puede escribirse como:

$$\sigma = \begin{bmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & 0 \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & 0 \\ 0 & 0 & \sigma_{33} \end{bmatrix}$$

Donde σ es el esfuerzo de cizalla al que le corresponden los esfuerzos normales, que son igual a cero para fluidos newtonianos y pueden tener magnitudes apreciables para algunos alimentos con propiedades viscoelásticas como masas para panificación (Barnes y col., 1993). El esfuerzo puede ser de tensión, de compresión o de cizalla (Steffe, 1996).

Deformación lineal: se origina a partir de un esfuerzo como compresión o tensión, donde el material se deforma en una sola dirección, por ejemplo: considerando una barra rectangular que debido a la fuerza es ligeramente alargada. La longitud inicial de la barra es L_0 y la longitud de la barra alargada es L donde con $L = L_0 + \delta L$ con δL representando el incremento de la longitud, esta deformación se presenta en la Figura 10 (Steffe, 1996).

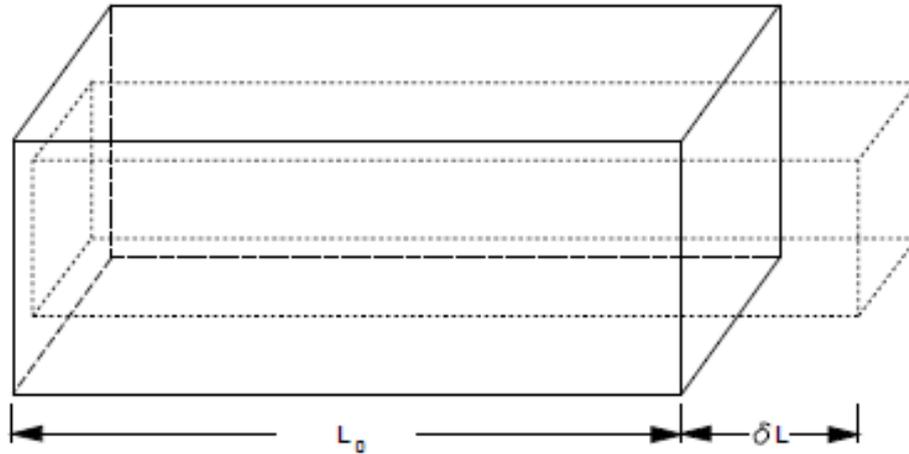


Figura 8. Representación esquemática de la deformación lineal de una barra (Steffe, 1996).

Cuando un material se deforma en mayor proporción, como es el caso de los materiales fluidos, se prefiere utilizar la variación de la deformación con respecto al tiempo, o la velocidad de cambio de la deformación, denominada velocidad de la deformación, la cual en una prueba bajo cizalla o corte, se define como la velocidad de cizalla, que corresponde al gradiente de velocidad establecido en un fluido como resultado de la aplicación de un esfuerzo de cizalla, se expresa en segundos recíprocos (Rao, 1999).

Las propiedades reológicas de los materiales alimenticios se pueden expresar en términos de viscosidad, elasticidad y viscoelasticidad, y relacionan algunos componentes del tensor de esfuerzo con componentes específicos de la deformación o de la respuesta de la deformación y la velocidad de cizalla. En términos de fases fluidas y sólidas, la viscosidad es generalmente usada para relacionar el esfuerzo con la velocidad de cizalla en los sistemas líquidos, mientras que las funciones elásticas están relacionadas con la función del esfuerzo en la deformación de sólidos. Las propiedades viscoelásticas abarcan la combinación de ambas propiedades, viscosas y elásticas (Rao, 1999).

El estudio de la viscosidad (η), es una propiedad de interés de fluidos alimenticios. La mayoría de los tipos de comportamiento al flujo de los fluidos pueden ser descritos por medio de diagramas básicos de esfuerzo de cizalla

y/o viscosidad en función de la velocidad de cizalla, como se muestra en las Figuras 11 y 12.

Fluidos independientes del tiempo

Comportamiento newtoniano

Los fluidos newtonianos son aquellos donde el esfuerzo de cizalla (σ) es directamente proporcional a la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$) y la curva comienza en el origen. Generalmente los alimentos que presentan este comportamiento son aquellos que contienen compuestos de bajo peso molecular (por ejemplo: azúcares) y que no contienen altas concentraciones de algún polímero en disolución (por ejemplo: pectinas, almidones, entre otros) o sólidos insolubles (Rao, 1999). El modelo para un fluido newtoniano es descrito por la siguiente ecuación:

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \quad (1)$$

Comportamiento no newtoniano

Entre los fluidos con comportamiento no-newtoniano se pueden encontrar distintos tipos como: fluidificantes y espesantes cuya curva de esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla es no lineal, también se pueden encontrar fluidos cuya curva no comienza en el origen, es decir, presentan esfuerzo de cedencia o fluidos que exhiben dependencia del tiempo de cizallamiento; comportamientos reológicos presentados como resultado de los cambios estructurales del material (Rao, 1999).

Fluidificantes a la cizalla

En este tipo de fluidos, la curva resultante comienza del origen y tiene una elevación cóncava; es decir, un aumento en la velocidad de cizalla da un valor menor que el incremento proporcional en el esfuerzo de cizalla. El adelgazamiento a la cizalla puede ser debido a las fuerzas hidrodinámicas generadas durante el cizallamiento. La mayoría de los alimentos que presentan un comportamiento no-newtoniano exhiben adelgazamiento a la cizalla (Rao, 1999).

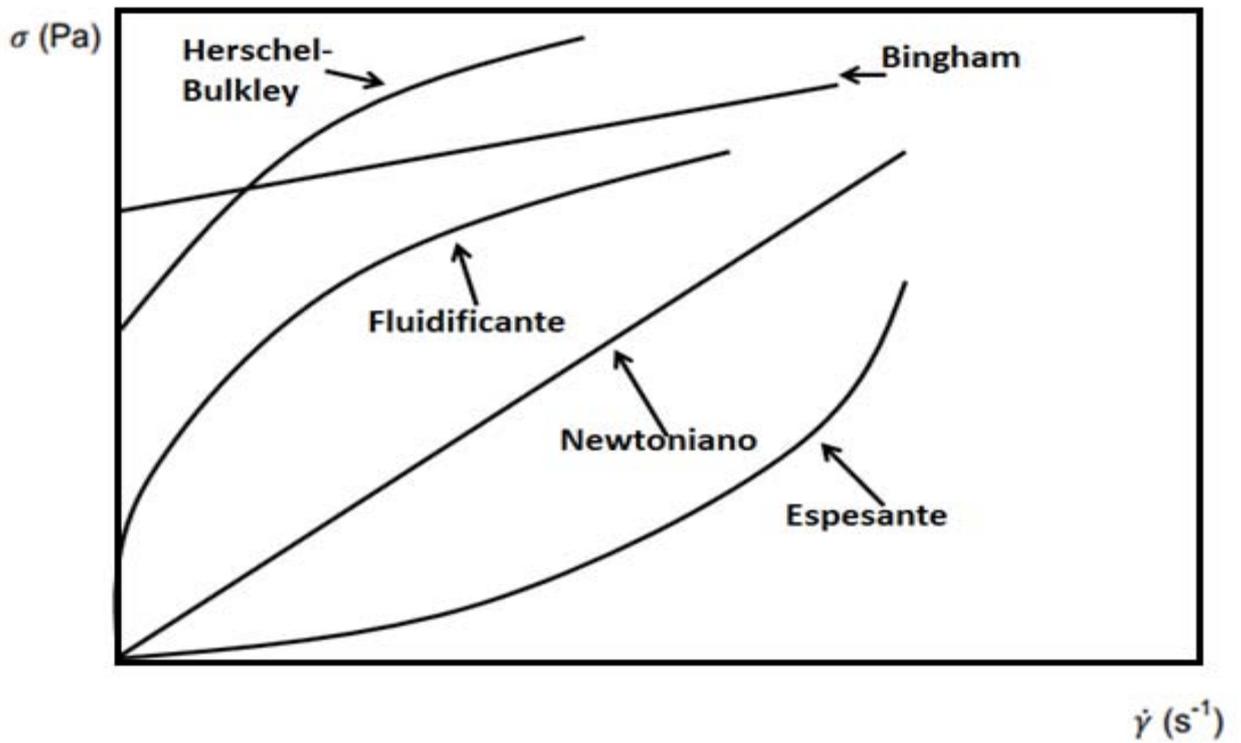


Figura 9. Diagrama básico de esfuerzo de cizalla en función a la velocidad de cizalla (Steffe, 1996).

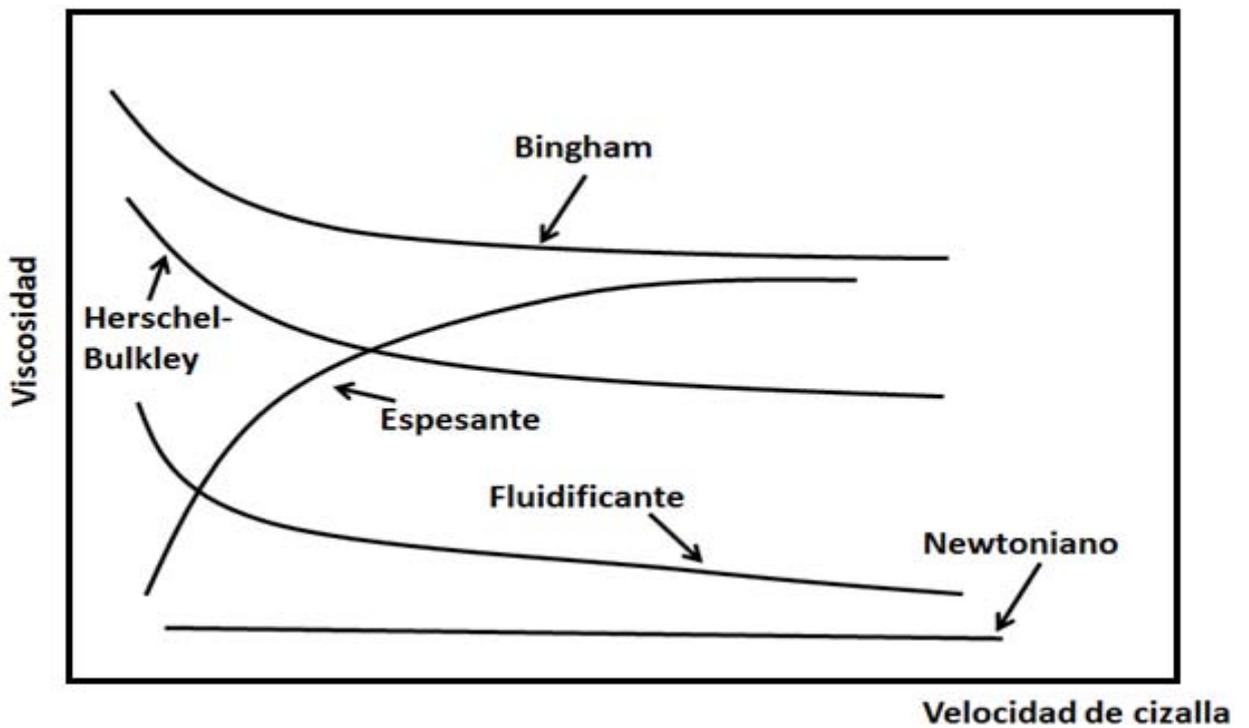


Figura 10. Diagrama de viscosidad en función de la velocidad de cizalla para diferentes fluidos (Steffe, 1996).

Espesantes a la cizalla

La curva de los fluidos que muestran este comportamiento, comienza en el origen de la gráfica de esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla y presenta un descenso cóncavo, es decir, el incremento en el esfuerzo de cizalla da un valor menor que el incremento proporcional en la velocidad de cizalla. Este tipo de fluidos se ha encontrado en dispersiones de almidón parcialmente gelatinizado (Rao, 1999).

Fluidos dependientes del tiempo

Los alimentos que exhiben un comportamiento tixotrópico y/o antitixotrópico son aquellos que presentan una reducción o un incremento en el esfuerzo de cizalla o la viscosidad aparente con el tiempo de cizallamiento evaluados a una velocidad de cizalla constante (Steffe, 1996), este fenómeno se observa fácilmente cuando en la curva de ascenso y descenso en un gráfico de esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla no coinciden y los valores de esta última son menores. El comportamiento espesante a la cizalla con dependencia del tiempo es llamado comportamiento antitixotrópico, en el cual los valores de esfuerzo de cizalla en orden decreciente de velocidad de cizalla son superiores a los del orden ascendente (Steffe, 1996).

1.4.2 Adsorción en interfase fluida

El límite entre un líquido y el aire se denomina superficie, mientras que para el límite entre dos fases se usa el término interfase. Las moléculas presentes en el seno de la fase líquida están sometidas a atracciones entre sí, simétricas; las de la superficie, por el contrario se encuentran parcialmente rodeadas y sólo experimentan atracción desde el seno del líquido. Esta atracción tiende a arrastrar a las moléculas de la superficie hacia el interior y provoca una reducción del área entre las fases. Esta fuerza se denomina la tensión superficial y es el efecto responsable de la resistencia que un líquido presenta a la penetración superficial de un compuesto (Levine, 1996).

Cuando se expande la superficie de un líquido, las moléculas que originalmente se encontraban en la región interior son lanzadas al exterior. Por lo que debe realizarse un trabajo para contrarrestar la fuerza de atracción entre esas

moléculas y sus vecinas. Este proceso es similar a la vaporización de un líquido, sin embargo, en la vaporización, las moléculas son expulsadas completamente del líquido, en cambio, en una capa superficial, aún siguen bajo la influencia de fuerzas intermoleculares enérgicas (Chang, 1992).

La Figura 13 representa la explicación cinética de la tensión en la interfase, en donde la molécula situada en el interior de la masa líquida está rodeada uniformemente por moléculas de la misma naturaleza, y, en consecuencia, experimenta el mismo efecto de la fuerza de cohesión de un modo uniforme en toda su superficie.

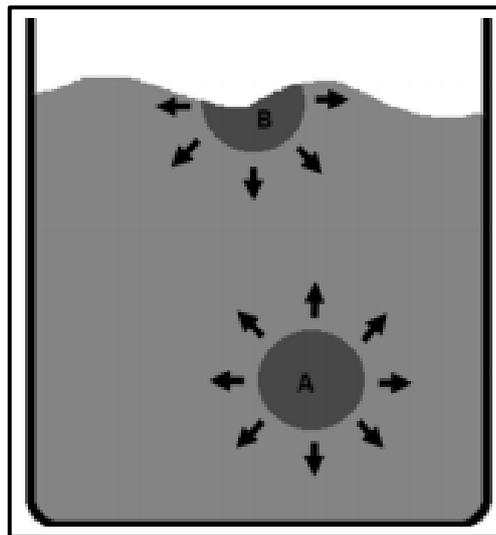


Figura 11. Fuerzas intermoleculares que actúan sobre una molécula de la capa superficial y sobre una molécula de la región interna del líquido (Chang, 1992).

En cambio, la molécula situada en la superficie libre del líquido se encuentra en tales condiciones que la mitad de la superficie experimenta la atracción hacia el interior del líquido, mientras que la otra mitad está rodeada de moléculas en fase gaseosa, que no ejercen fuerza atractiva apreciable. Esta propiedad que netamente diferencia al estado líquido del gaseoso es efecto de la misma fuerza con que se atraen mutuamente las moléculas. Esta fuerza de cohesión que tiende a impedir el paso del líquido a gas, es determinante de la existencia de superficie límite (Chang, 1992).

La cohesión, por lo tanto, es una fuerza que, como resultado de la atracción de las moléculas, tiende a la mínima superficie límite, esta fuerza tiende a reducir

la superficie, de modo que se encuentre en el estado de menor energía, a esta fuerza se le llama tensión en la interfase gas/líquido y se define como: el trabajo necesario para aumentar en un centímetro cuadrado la superficie de un líquido. El valor de la tensión en la interfase depende en parte de la sustancia en contacto con la superficie libre, no es lo mismo si es un gas (aire), un sólido, o cualquier otro líquido porque la resultante de dos fuerzas antagonistas, cohesión y atracción, entre partículas de la sustancia en contacto con la superficie, dará valores diferentes en cada caso (Jimenez y Macarulla, 1984).

Los compuestos polares suelen aumentar la tensión en la interfase gas/líquido del agua, porque debido a su polaridad pueden atraer otras moléculas polares, como el agua, con lo que resulta reforzado el fenómeno de la cohesión. En cambio, las moléculas con grupos no polares, como no presentan atracción con las polares, se acumulan en la superficie, aumentando la distancia entre las moléculas acuosas, y disminuyendo el efecto de cohesión (Jimenez y Macarulla, 1984).

Existen diferentes métodos para determinar la tensión en la interfase gas/líquido y líquido/líquido los cuales se pueden clasificar en (Salager, 2005):

- Métodos basados en la medición de una fuerza: dentro de éstos se pueden citar el método del plato o Wilhelmy y el método del anillo. El método del plato mide la fuerza hacia abajo que sobre una placa lisa ejerce la interfase a la cual se desea determinar la tensión, la medida de la fuerza se hace uniendo la placa a una balanza sensible de torsión con alguna clase de dispositivo de elevación para bajar y subir la placa. En cuanto al método del anillo, un anillo se coloca sobre la superficie del líquido y se mide la fuerza requerida para separar el anillo de la superficie.
- Métodos basados en la medición de la presión: entre éstos se tiene el método de elevación capilar en el que el líquido asciende de un tubo capilar hasta que la presión hidrostática debido a la columna del líquido se iguala a la tensión en la interfase relacionada al ángulo de contacto. Y el método de presión máxima de burbuja en el cual una pequeña burbuja se insufla por el extremo de un capilar sumergido en un líquido, mientras

la burbuja crece, la presión dentro de ella también crece, pero el radio de la curvatura disminuye.

- Métodos basados en las medidas geométricas o de deformación de una interfase en un campo gravitacional: entre estos se puede citar el método de la gota pendiente que se basa en el análisis de la forma de una gota colgante o flotante, esta forma está dada por la ecuación de Gauss-Laplace (Sinterface Technologies, 2004), la cual representa la relación entre la curvatura del menisco de un líquido y la tensión en la interfase.
- Por último se tiene el de la gota giratoria en el que se somete una gota o burbuja de un fluido menos denso colocado en un cilindro de vidrio que tiene el otro fluido, a un movimiento de rotación rápido, la fuerza centrífuga induce un alargamiento axial de la gota a la cual se oponen fuerzas capilares y la tensión se calcula con una ecuación que involucra la densidad, el periodo de rotación y el diámetro de la gota (Salager, 2005).

En las dispersiones coloidales, una delgada región intermedia o frontera es conocida como interfase, la cual se encuentra entre la fase dispersa (aceite o aire) y la continua (sistema acuoso). En algunos sistemas coloidales, las propiedades de la interfase son muy importantes porque las gotas, burbujas y partículas que los conforman pueden tener grandes áreas en la interfase (Schramm, 2005).

Estas dispersiones obtienen sus propiedades en gran parte de las propiedades de sus superficies y de sus interfases. Durante su elaboración, almacenamiento y manipulación, estas dispersiones no están completamente en equilibrio, los disturbios mecánicos y térmicos resultan en situaciones de desequilibrio para estos sistemas, por lo que la estabilidad de estas dispersiones está gobernada en gran medida por la estabilidad de las delgadas películas de líquido entre las partículas dispersas. Las propiedades de las películas superficiales juegan un rol crucial en la estabilidad de las delgadas películas en la interfase (Dickinson, 1995), por lo que es de suma importancia su evaluación.

La adsorción de proteínas a una interfase fluida es comúnmente estudiada por la determinación de la tensión en la interfase entre las 2 fases. Como las proteínas se adsorben en una interfase aceite/agua, las tendencias dinámicas en la reducción de la tensión en la interfase dan un indicio de los subprocesos característicos en juego durante las primeras etapas de adsorción. Una de las técnicas que se puede emplear para medir la tensión superficial es la gota colgante, este método es útil para el seguimiento de la tensión en función del tiempo de la adsorción de una proteína en solución diluida. Se ha demostrado que a bajas concentraciones de proteína (aproximado 10 $\mu\text{g/ml}$) la tensión interfacial dinámica puede ser dividida en 3 regímenes que son típicos para muchas proteínas, los cuales se pueden observar en la Figura 14 (Beverung y col., 1999).

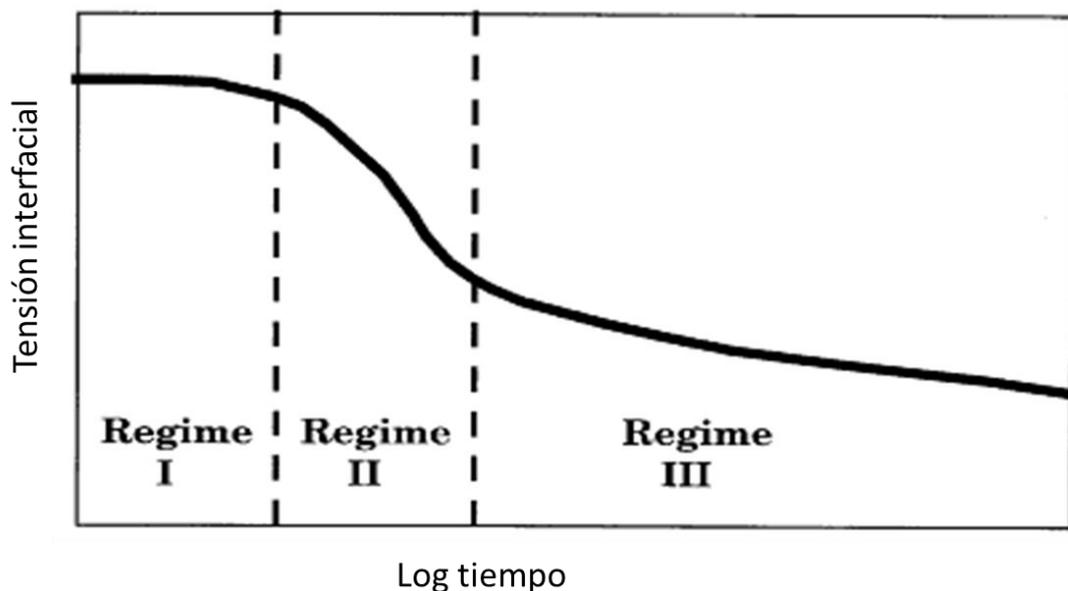


Figura 12. Tensión dinámica en la interfase en función del logaritmo del tiempo, típica de las proteínas en soluciones acuosas diluidas, adsorbiendo en la interfase aceite/agua (Beverung y col., 1999).

El primer régimen se visualiza como un tiempo de inducción donde la tensión pertenece a la solución pura. Se ha observado con frecuencia para la adsorción de disoluciones de baja concentración en la interfase agua/aire. Así, a cortos tiempos y bajas concentraciones de proteínas, las moléculas están presentes en la interfase, pero no reducen apreciablemente la tensión en la interfase. Este comportamiento puede ser representado por la Figura 15, el periodo de

inducción está caracterizado por la difusión de las proteínas hacia la interfase y la iniciación de cambios conformacionales de las proteínas adsorbidas. La conformación nativa de las proteínas está representada por círculos y las elipses indican cambios conformacionales (Beverung y col., 1999).

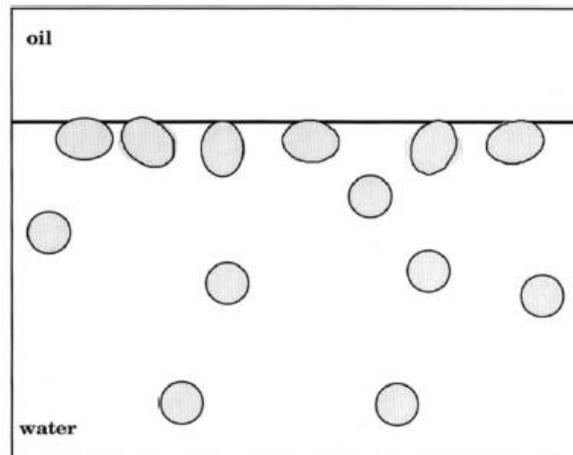


Figura 13. Adsorción de las proteínas globulares en la interfase agua/aceite en el régimen 1 de la tensión interfacial dinámica (Beverung y col., 1999).

En el régimen 2, conforme la interfase se vuelve más saturada con proteínas, cambios en ambas, la concentración superficial y la tensión en la interfase son importantes. La interfase se va llenando con moléculas de proteínas, las cuales se relajan en estructuras menos compactas, causando una disminución en la tensión, la formación de multicapas también puede ser iniciada como se muestra en la Figura 16 (Beverung y col., 1999).

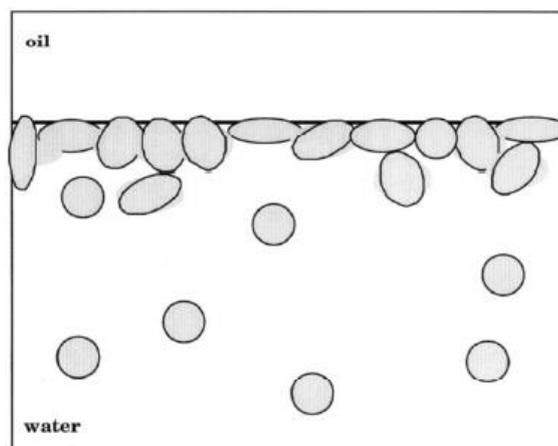


Figura 14. Adsorción de proteínas en la interfase aceite/agua en el régimen 2 de la tensión dinámica en la interfase (Beverung y col., 1999).

En el régimen 3, se presenta una disminución lenta en la tensión, atribuida a los cambios conformacionales de la capa adsorbida y la construcción continua de las redes de gel como se observa en la Figura 17. En este régimen, continúan los cambios conformacionales de las capas iniciales adsorbidas y la agregación promueve una lenta disminución en la tensión sobre periodos extendidos de tiempo, aquí se puede encontrar la tensión al equilibrio de la molécula (Beverung y col., 1999).

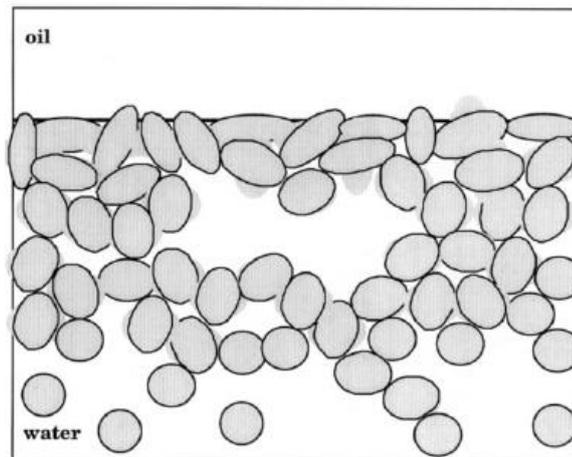


Figura 15. Adsorción de proteínas en la interfase aceite/agua en el régimen 3 de la tensión dinámica en la interfase (Beverung y col., 1999).

En un sistema que consiste en un soluto anfifílico (molécula que posee una zona polar y otra apolar), una fase oleosa y una fase acuosa, el soluto tiende a acumularse en la interfase separando la fase oleosa y la fase acuosa cuando la energía libre del estado adsorbido es menor que la energía del estado no adsorbido. El cambio en las interacciones energéticas que ocurre como resultado de la adsorción de un soluto tiene dos fuentes, una asociada con la interfase y otra con el mismo soluto. Primero, cuando un soluto se adsorbe en una interfase líquido/líquido en número de contactos desfavorables entre el agua y las moléculas de agua y aceite es reemplazado por los contactos entre segmentos no polares de soluto y el agua. Termodinámicamente, estas interacciones son más favorables que las interacciones directas entre las moléculas del agua y del aceite (Mc Clements, 2005).

Concentración de adsorción crítica

Cuando una sustancia activa se acumula en la interfase puede formar una película monomolecular denominada monocapa. Pueden formarse espontáneamente por adsorción a partir de cualquiera de las fases adyacentes o por deposición sobre la interfase (Dickinson, 2010).

En la práctica, los gráficos tensión superficial en función del logaritmo de la concentración para la formación de micelas anfifílicas son en su mayoría sigmoide en la naturaleza (Figura 18). En la etapa inicial (región 1), se presenta un cambio ligero en la tensión superficial, debido a una escasez en población de tensoactivo en la interfase aire/agua hasta que la región 2 comienza. A partir de entonces, las moléculas anfifílicas de forma cooperativa rellenan y son adsorbidas en la superficie con un fuerte descenso en la tensión superficial.

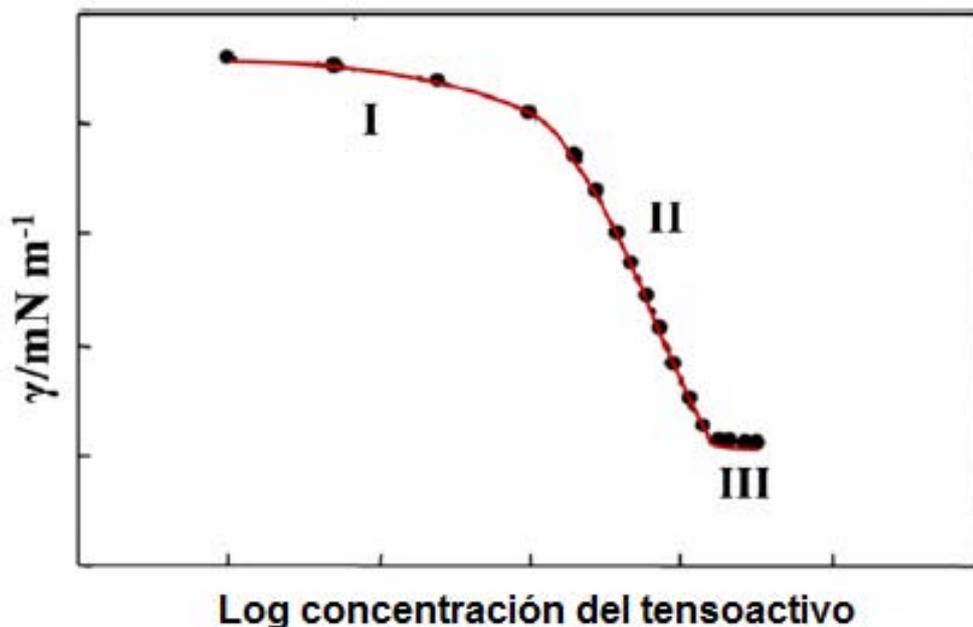


Figura 16. Perfil tensiométrico simple (Mukherjee y col., 2013)

Por lo tanto, el inicio de la región 2 no es el punto de saturación del tensoactivo y no puede ser identificado como la concentración de adsorción crítica. Desde el inicio de esta región, las moléculas del tensoactivo son rápidamente adsorbidas en la interfase, en consecuencia la tensión disminuye rápidamente en el punto de saturación, los monómeros del tensoactivo son difícilmente acomodados en la interfase y la tensión permanece constante (o sin cambios).

Puede ser considerado fisicoquímicamente que los grupos polares o iónicos del tensoactivo en la interfase permanecen hidratados. Posteriormente, con un incremento en la concentración, el área disponible en la interfase por ion o grupo solvatado disminuye a modo de un acomodo competitivo provocando su desolvatación, que a su vez añade más moléculas de tensoactivo a la interfase permitiendo un aumento en la concentración de las moléculas de tensoactivo en la interfase y por lo tanto a la disminución de la tensión superficial. De esta manera la interfase se rellena de manera significativa al comienzo de la región 3 (Figura 18), después de la cual la tensión prácticamente no cambia con el aumento de tensoactivo, encontrándose en este punto la concentración de adsorción crítica (Mukherjee y col., 2013).

1.4.3 Potencial zeta y tamaño de partícula

Potencial zeta

La superficie de algunas partículas en disoluciones coloidales tiene una carga eléctrica positiva o negativa, según sea el pH del sistema. Dichas cargas eléctricas generan fuerzas de repulsión entre los coloides, cuando éstas poseen la misma carga eléctrica, con lo que el sistema se estabiliza; esto se debe a que en estas condiciones de pH no existe una tendencia a la aglomeración de partículas individuales y por lo tanto éstas se distribuyen homogéneamente en toda la fase dispersante. Si las fuerzas de repulsión no existieran, se induciría la agregación de las macromoléculas con su consecuente precipitación (Badui, 2006).

El potencial zeta describe la magnitud de la carga presente sobre una partícula coloidal. Tal como se observa en la Figura 19, en donde se puede observar que la partícula positiva atrae iones negativos. Sólo una parte de estos iones de signo opuesto a la partícula quedan firmemente adheridos a su superficie formando una capa mono molecular de contraiones llamada capa de Stern o capa fija. Los demás iones se distribuyen en distintos niveles de acuerdo a la carga de la partícula formando la capa difusa o de Gouy-Chapman. Hay un punto de la capa difusa donde la carga de la partícula no se hace sentir más; se denomina punto de neutralidad. Como no se puede medir la carga de la partícula, se mide la diferencia de potencial que hay entre la zona de

separación de la capa fija, de la capa difusa, y del punto de neutralidad; a ese potencial se le conoce como potencial zeta (Sandoval y Montellano, 2003).

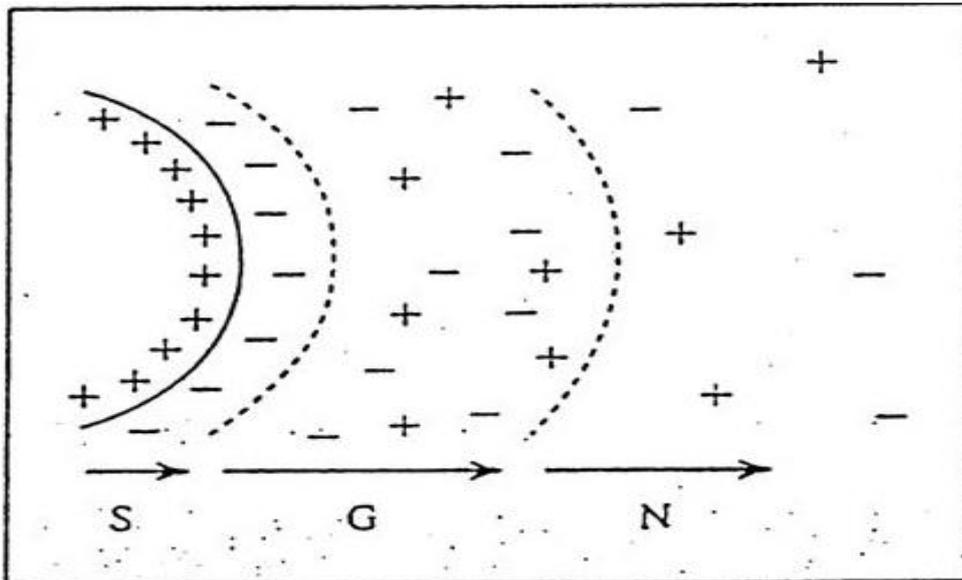


Figura 17. Partícula cargada positivamente: S capa de Stern, G capa de Gouy-Chapman; N, zona de neutralidad (Sandoval y Montellano, 2003).

El potencial zeta se calcula a partir de la movilidad electroforética de un coloide y es definido como la carga sobre la partícula en un plano de corte. Este plano es una posición teórica por fuera del coloide, pasando por la capa de Stern y la capa difusa, donde la partícula interacciona libremente con el medio que la rodea (Morrison y Roos, 2002). La medición del potencial zeta puede perseguir diferentes propósitos, entre otros, en sistemas que son estabilizados por una combinación de repulsiones electrostáticas y estéricas en donde la contribución del componente electrostático se determina por medición del potencial zeta.

Entonces la medición del potencial zeta indica la carga electrostática que se requiere para penetrar la capa de iones circundante en la partícula y desestabilizarla, así mismo se define al potencial electrostático como la separación que existe entre las capas que rodean a una partícula (Sandoval y Montellano, 2003). Éste se utiliza como medida de la carga eléctrica de las proteínas y como un indicador relativo de la estabilidad coloidal de los sistemas. Si las partículas en una mezcla tienen grandes valores negativos o positivos de potencial zeta, éstos se repelen entre sí, lo que inhibe la agregación y mejora la estabilidad del sistema; si las partículas tienen bajos

valores absolutos de potencial zeta entonces se aglomerarán y la dispersión se volverá inestable (Beliciu y Moraru 2011). De acuerdo a Beliciu y Moraru, (2011), se define la estabilidad de las dispersiones con relación al potencial zeta de la siguiente manera:

Cuadro 1. Estabilidad de las dispersiones con relación a su potencial zeta (Beliciu y Moraru, 2011).

Potencial zeta (mV)	Estabilidad
0 a +-3	Aglomeración máxima y precipitación
+5 a -5	Fuerte aglomeración y precipitación
-10 a -15	Umbral de aglomeración
-16 a -30	Dispersión delicada
-31 a -40	Estabilidad moderada
-41 a -60	Estabilidad relativamente buena
-61 a -80	Buena estabilidad
-81 a -100	Extremadamente buena estabilidad

Dentro de las dispersiones, mantener un pH constante no se afecta los valores del potencial zeta (Beliciu y Moraru, 2011).

Tamaño de partícula

La importancia de determinar la distribución de tamaño de partícula radica en que afectan las propiedades clave de coloides como la reología y la tensión superficial, entre otras. También pueden ser utilizadas para evidenciar, en caso de que exista, la acumulación de partículas, debido a las colisiones entre partículas en el medio líquido, es decir, que se formen agregados.

Por otro lado, una de las propiedades más importantes de los coloides que los diferencian de otros sistemas es el tamaño reducido de su partícula, que hace que adquieran una enorme superficie específica. Estas condiciones hacen que exista una gran área de contacto entre las fases dispersa y dispersante que genera una elevada energía en la interfase sobre la superficie que las separa, la estabilidad de los sistemas depende directamente de la formación y de la naturaleza de las interacciones que ocurren en dicha superficie. Esta propiedad es de gran importancia en dispersiones alimenticias, especialmente en las emulsiones, en las que el agente emulsionante es una sustancia capaz de

abatir la tensión superficial mediante su asociación a ambas fases, reduciendo así el trabajo de expansión de la superficie (Badui, 2006).

Usualmente, el tamaño de partícula se considera como una medida del diámetro de las moléculas y se puede usar en el estudio de la interacción entre moléculas y los cambios conformacionales de las mismas (Brittain, 2001), por ejemplo:

- Interacciones entre subunidades de la estructura macromolecular.
- Cambios conformacionales de la proteína debido a las uniones con el soluto.
- Cambios de forma en la cadena de una proteína desplegada.

Las partículas que constituyen una muestra real, no siempre son de un tipo, generalmente exhiben un intervalo de tamaños y formas, por lo tanto la determinación de tamaño de partícula se lleva a cabo para obtener información sobre las características de tamaño de un conjunto de partículas, generalmente se requiere información sobre el tamaño medio de la partícula y la distribución de tamaños alrededor de ese promedio (Brittain, 2001).

A continuación se presenta la metodología experimental.

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la concentración de inulina sobre las propiedades reológicas, de adsorción, tamaño y carga de partícula de disoluciones acuosas de caseinato de sodio, determinando su funcionalidad en el desarrollo de sistemas dispersos alimenticios.

2.1.2 Objetivos particulares

1. Determinar el comportamiento al flujo de disoluciones acuosas de inulina a diferentes concentraciones y de sus mezclas con caseinato de sodio a 1%, mediante pruebas de cizalla estacionaria, estableciendo sus parámetros reológicos.
2. Determinar la adsorción en interfase fluida de disoluciones acuosas de inulina a diferentes concentraciones y de sus mezclas con caseinato de sodio a 1%, mediante pruebas de tensión interfacial dinámica, estableciendo la concentración de adsorción crítica.
3. Establecer la distribución de tamaño de partícula, y potencial zeta mediante dispersión de luz dinámica y microelectroforesis respectivamente, de inulina a diferentes concentraciones y de sus mezclas con caseinato de sodio a 1%, determinando la posible formación de agregados o coacervados en el sistema.

2.2 Materiales

Para la elaboración de las disoluciones de caseinato de sodio–inulina se utilizó:

Casienato de sodio, Lactonat, lote 61038, Lactoprot Alemania.

Inulina de agave, Ingredion, Lote 2ubh406, Edo. México.

Agua E-pura, The Pepsico bottling group Mexico, México D.F.

2.3 Métodos

2.3.1 Preparación de las disoluciones de inulina y mezcla de inulina con caseinato de sodio

La preparación de las disoluciones de inulina se realizó a diferentes concentraciones (1%, 3%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% y 50%) con agua Epura, utilizando un agitador magnético (Barnstead, Estados Unidos) durante 10 minutos, a una temperatura de 25 °C y se dejaron reposar en refrigeración por 24 horas aproximadamente.

La preparación de las mezclas acuosas de inulina-caseinato de sodio se realizó a diferentes concentraciones de inulina (1%, 3%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% y 50%) con 1% de caseinato de sodio. Primero se adicionó caseinato de sodio (1%) al agua, utilizando un agitador magnético (Barnstead, Estados Unidos) durante 15 minutos, posteriormente se adicionó la inulina y se mezcló durante 20 minutos más, estas mezclas se llevaron a cabo a una temperatura de 25 °C y se dejaron reposar en refrigeración por 24 horas aproximadamente antes de su análisis.

2.3.2 Humedad de polvos

Se determinó la humedad de las muestras en polvo de inulina y caseinato de sodio, mediante el uso de la Termobalanza Ohaus modelo MB45 (Estados Unidos), con la finalidad de establecer los porcentajes en base seca. Se basa en el principio termogravimétrico, la muestra se calienta rápidamente y la humedad se evapora. Durante la desecación el equipo determina continuamente el peso de la muestra y presenta el resultado como porcentaje en contenido de humedad (Ohaus, 2004). La temperatura de operación fue de 140 °C, se utilizó el programa A60, el cual consiste en la pérdida de peso de la muestra en menos de 1 mg cada 60 s, así como el tamaño de la muestra en la bandeja debe de ser > 0.5 g.

Se realizaron 3 repeticiones, a las cuales se les calculó el promedio, desviación estándar (σ) y coeficiente de variación en porcentaje.

2.3.3 Densidad de las disoluciones acuosas

A cada una de las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones, y a sus respectivas mezclas con caseinato de sodio se les determinó la densidad mediante el uso del densímetro digital Anton Paar modelo DMA-38 (Austria). El cual se basa en el principio del oscilador mecánico, la muestra se introduce en un tubo oscilante en forma de U, cuya frecuencia natural de oscilación está influenciada por la masa de la muestra que se introduce y es electromagnéticamente excitado a una oscilación no húmeda (Anton Paar, 1996). Se inyectó muestra a través del tubo en U del densímetro, estableciendo una temperatura de operación constante (20 °C), se verificó que las lecturas de densidad y gravedad específica se mantuvieran constantes en la cuarta cifra decimal durante 1 minuto. Al inicio y término de su uso se verificó que el equipo estuviera dentro del intervalo de densidad de 0.0013 a 0.0016 g/cm^3 para garantizar que el instrumento se encontraba limpio. La densidad sirvió como dato para la determinación de la tensión superficial.

Las determinaciones se realizaron por triplicado y se realizó un tratamiento estadístico (media, desviación estándar (σ) y coeficiente de variación en porcentaje), para determinar los valores de densidad relativa.

2.3.4 Tamaño de partícula y potencial zeta

Se determinó la distribución de tamaño de partícula, y el potencial zeta para las disoluciones de inulina, y sus respectivas mezclas con caseinato de sodio, así como la disolución del caseinato de sodio, mediante el uso del zeta sizer nano, Malvern (Reino Unido). La técnica para el cálculo de tamaño de partícula se basa en la dispersión dinámica de luz, esta técnica mide la difusión de las partículas que se mueven bajo el movimiento Browniano, posteriormente, la convierte a una distribución de tamaño utilizando la relación de Stokes-Einstein (Malvern Instruments, 2004). La determinación del potencial zeta se fundamenta en micro-electroforesis por el efecto Doppler, en donde se aplica un campo eléctrico a una solución de moléculas o de una dispersión de partículas, que a continuación se mueven con una velocidad relacionada con su potencial zeta. Esta velocidad se mide utilizando una técnica patentada de interferometría láser llamada M3-PALS (análisis de la fase de dispersión de

luz). Esto permitió el cálculo de la movilidad electroforética, y la distribución de potencial zeta (Malvern Instruments, 2004).

En las mediciones del tamaño de partícula y potencial zeta se usó la celda DTS1060, por lo que para ambos el intervalo de medida del tamaño de partícula fue de 0.3 nanómetros a 10 micrómetros, posteriormente se indicaron las condiciones de prueba, las cuales son: agua como medio dispersante, y la temperatura de proceso de 25 °C, el tipo de material, para este caso fue proteína, el índice de refracción de esta última fue de 1.450 y la absorción del material de 0.001.

El software calculó los datos de potencial zeta medido en mV, presentándolos en promedio durante la medición. El tamaño de partícula, se calculó en nanómetros, con estos datos se realizó un gráfico semi-logarítmico de intensidad en función de tamaño de partícula como se muestra en la Figura 20.

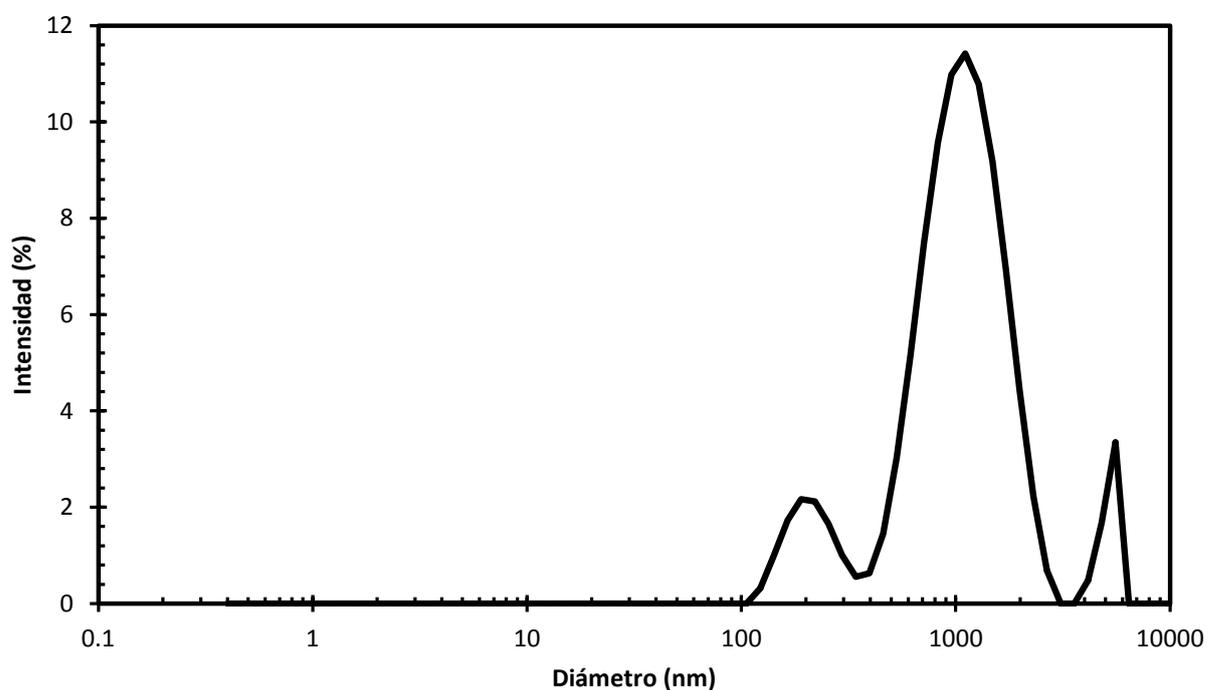


Figura 20. Ejemplo de gráfico de diámetro de partícula proporcionado por el equipo

2.3.5 Flujo en cizalla estacionaria

El estudio reológico de pruebas de comportamiento al flujo de las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones, así como sus respectivas mezclas con caseinato de sodio se realizó en el reómetro Anton Paar modelo MCR-301, (Austria). El cual se fundamenta en la transferencia de cantidad de movimiento en la muestra contenida entre las dos placas, desde el cono que rota hasta la placa que contiene la muestra (Martínez-Padilla, 2012). Con un sistema de medida CP-75-1, que es un cono de 1° de 7.5 cm de diámetro, se aplicó un intervalo de velocidad de cizalla de ascenso de 10 a 400 1/s y descenso de 400 a 10 1/s, estableciendo 40 puntos y 5 segundos por punto. Para las disoluciones al 30%, 40% y 50%, y sus respectivas mezclas con caseinato de sodio al 1% se aplicaron 2 ciclos de ascenso-descenso con 25 puntos y 5 segundos por punto, todas las determinaciones se realizaron a una temperatura de 25 °C.

A cada una de las muestras se le realizó por triplicado la prueba de flujo, posteriormente se determinaron los gráficos de esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla. Para determinar el modelo matemático que mejor describió la función de flujo, se realizó la determinación del coeficiente de correlación, así como también el gráfico de viscosidad en función de la velocidad de cizalla, determinando si presentaba dependencia o independencia del tiempo de cizallamiento.

2.3.6 Adsorción en interfase fluida

A las disoluciones a diferentes concentraciones de inulina, así como sus respectivas mezclas con caseinato de sodio, se les realizaron pruebas de adsorción en interfase líquido-aire con el tensiómetro de gota colgante (PAT-1, Sinterface Technologies, Alemania), cuyo funcionamiento se basa en el análisis de la forma de una gota colgante en la punta de un tubo capilar, donde el instrumento determina los diámetros de la gota en la dirección x, z, por medio de una cámara que los digitaliza; las imágenes digitales de la gota son grabadas mediante un programa computacional con la ecuación de Gauss-Laplace, la cual representa la relación entre la curvatura del menisco del líquido y la tensión en la interfase (Sinterface Technologies, 2004). La Figura 21

muestra un diagrama del funcionamiento del equipo, los distintos componentes y la forma en la que se realiza la medición.

Las pruebas de tensión en la interfase líquido/aire se realizaron con una fase externa que es el aire. Antes de hacer una prueba es importante asegurarse de que el equipo se encuentre limpio, así como su calibración. Los datos colocados al software del equipo fueron, la densidad, la temperatura de 25 °C, volumen de gota de 15 μl y el tiempo de la prueba de 30 min.

El equipo proporciona curvas de tensión en la interfase líquido/aire en función del tiempo, tal como se representa en la Figura 22, que permite visualizar la cinética de adsorción, posteriormente se tomó el último punto, el cual fue considerado como la tensión al equilibrio y con el valor de la tensión al equilibrio en función del logaritmo natural de la concentración, se realizó un gráfico, a partir de éste fue posible determinar la concentración de adsorción crítica estimada en el punto de inflexión donde se aprecia el cambio de pendiente de la recta al aumentar la concentración.

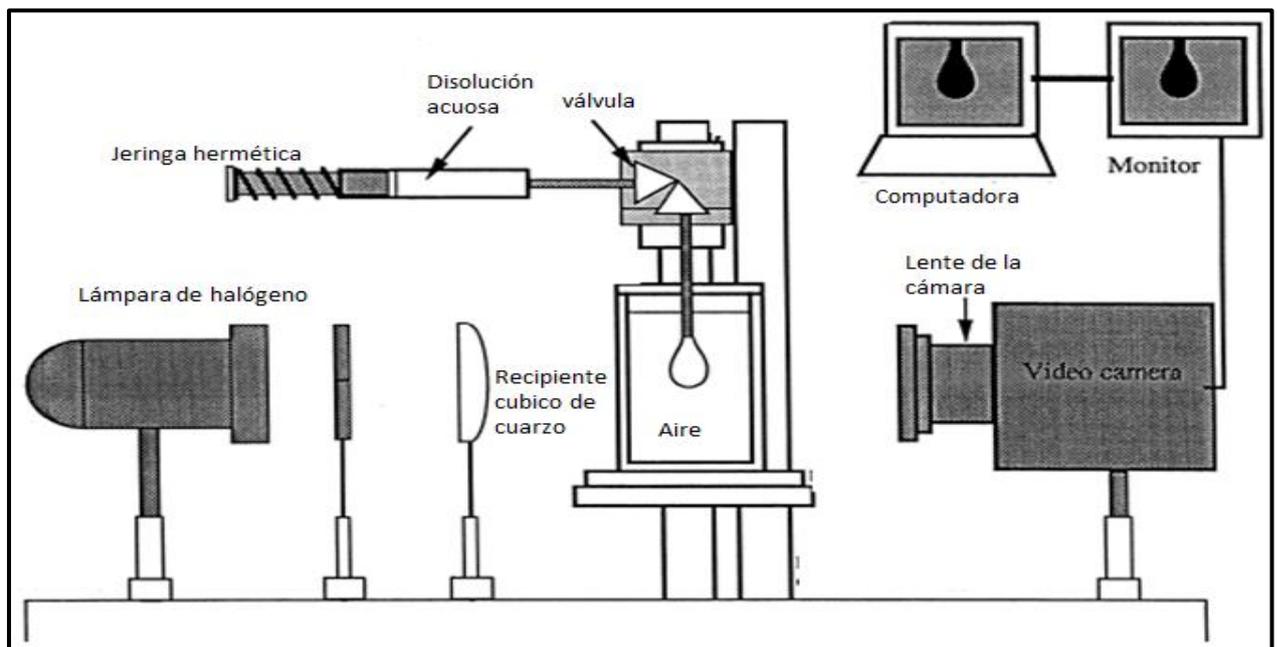


Figura 21. Diagrama de funcionamiento del tensiómetro de gota colgante (Beverung y col., 1999).

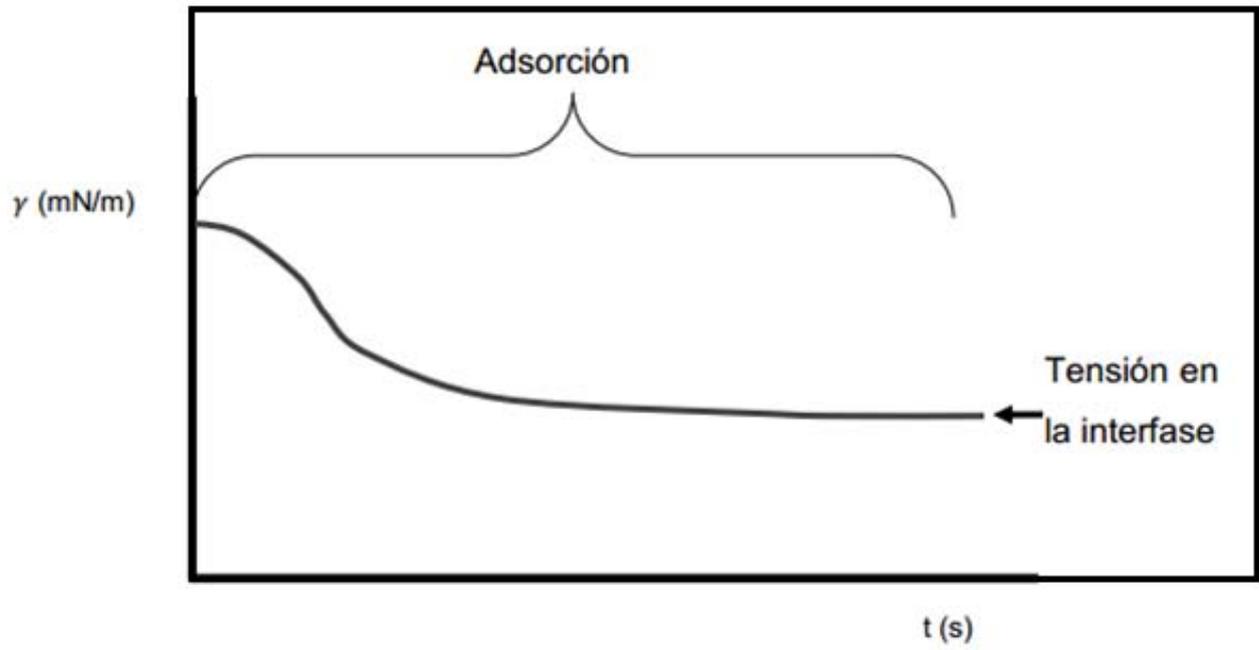


Figura 22. Curva típica de la tensión en la interfase (Sinterface Technologies, 2005).

CAPÍTULO III. RESULTADOS

3.1 Humedad de inulina y caseinato de sodio

En el Cuadro 2 se muestra la humedad, para la inulina de agave y del caseinato de sodio. Este dato se empleó para realizar los cálculos en base seca, por lo que se realizó la corrección por humedad en la preparación de las disoluciones.

Cuadro 2. Humedad de la inulina de agave y caseinato de sodio.

	Humedad (%)	
	Inulina	Caseinato
Promedio	4.77	6.96
σ	0.09	0.2
C.V. (%)	1.78	2.91

3.2 Densidad de las disoluciones acuosas

En el Cuadro 3 se presentan los valores de la densidad relativa de las disoluciones de inulina sola y en mezcla con caseinato de sodio a las diferentes concentraciones, se observa que conforme la concentración incrementó, la densidad relativa aumentó, esto debido a una saturación del medio dispersante (agua) debido a un incremento de solutos.

En la Figura 23 se puede observar que la densidad absoluta presenta un comportamiento directamente proporcional con respecto al aumento de concentración, dicha relación se describe por la ecuación $y=mx+b$ con coeficientes de correlación de 0.9957 y 0.9961, presentándose un aumento similar para las disoluciones de inulina y sus mezclas, debido a que se da un aumento en la masa dentro de un volumen determinado.

Cuadro 3. Gravedad específica de las disoluciones de inulina, caseinato de sodio y mezclas inulina-caseinato de sodio a diferentes concentraciones.

Concentración de biopolímero (%)		Densidad relativa promedio	σ	C.V. (%)
Inulina	1	1.003	1.34	0.75
	3	1.011	1.26	0.8
	10	1.037	2.36	0.44
	15	1.058	17.63	0.06
	20	1.078	2.16	0.5
	25	1.1	4.58	0.24
	30	1.127	11.27	0.1
	40	1.173	13.03	0.09
	50	1.226	3.07	0.4
Mezcla caseinato-inulina	1	1.006	1.18	0.85
	3	1.014	1.35	0.75
	10	1.042	11.58	0.09
	15	1.065	1.31	0.81
	20	1.084	5.42	0.2
	25	1.108	15.83	0.07
	30	1.127	1.34	0.84
	40	1.177	2.35	0.5
	50	1.234	1.9	0.65
Caseinato	1	1.002	1.05	0.95

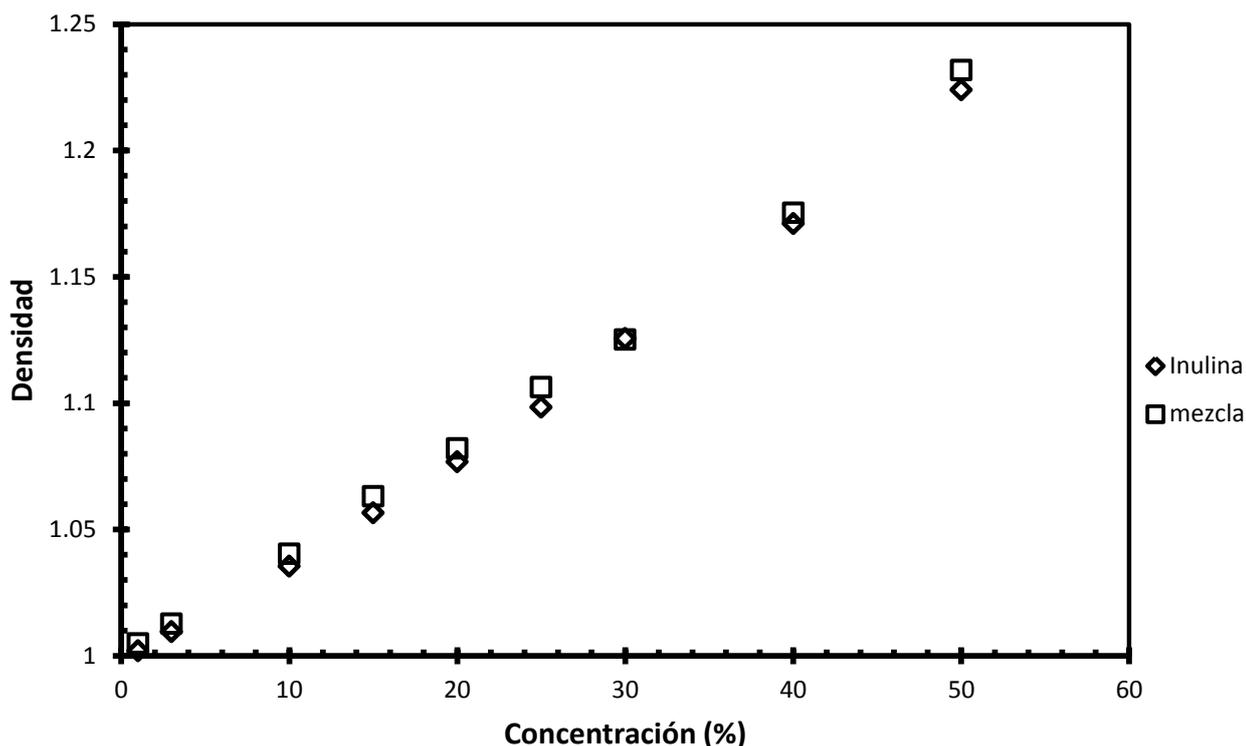


Figura 18. Densidad absoluta a 25 °C de disoluciones (g/cm³) de inulina y sus mezclas con caseinato a diferentes concentraciones.

3.3 pH de las disoluciones acuosas

En el Cuadro 4 se observa que el pH de las disoluciones de inulina disminuyó cuando la concentración aumentó, esta disminución se presentó en baja proporción hasta 40% en concentración, sin embargo, para la concentración de 50% se presentó una disminución de pH hasta 4.96, esto puede ser atribuido a un incremento en la cantidad de iones en la disolución, debido a una reducción de agua libre disponible para la solvatación (Ponce y col., 2008).

Por otra parte, para las disoluciones de caseinato a 1% y sus mezclas con inulina a diferentes concentraciones se obtuvo un intervalo de pH de 6.71 a 6.27, esto es atribuido a interacciones electrostáticas que pudieron formarse entre los biopolímeros (Dickinson, 2010; Rodríguez y Pilosof, 2011).

Cuadro 4. pH de las disoluciones acuosas de inulina y sus mezclas con caseinato de sodio a 1%

Concentración de biopolímero (%)		pH promedio	σ	C.V. (%)
Inulina	1	6	0.006	0.1
	3	6.02	0.02	0.33
	10	6.02	0.026	0.44
	15	6.04	0.053	0.88
	20	6.2	0.1	1.61
	25	5.91	0.023	0.39
	30	6.01	0.015	0.25
	40	5.88	0.015	0.26
	50	4.96	0.036	0.73
Mezcla caseinato-inulina	1	6.53	0.036	0.55
	3	6.54	0.05	0.76
	10	6.35	0.025	0.4
	15	6.34	0.026	0.42
	20	6.35	0.006	0.09
	25	6.36	0.017	0.27
	30	6.34	0.006	0.09
	40	6.32	0.01	0.16
	50	6.27	0.012	0.18
Caseinato	1	6.71	0.092	1.38

3.4 Tamaño de partícula

La distribución del tamaño de partículas formadas en los sistemas acuosos se presentan en las Figuras 24 y 25. Se puede observar el patrón de dispersión, el cual se caracteriza por un máximo definido, la posición, forma e intensidad del máximo depende de la concentración de la disolución, esta población para la disolución de inulina a 1%, presentó valores de la moda de 3 nm aproximadamente, con una distribución monomodal, pero a 3% en inulina se presentó una distribución multimodal debido a tamaños de partícula con modas de 712 nm e incluso 5560 nm (Cuadro 5), pero con una intensidad de población por debajo del 10%, esto debido a la formación de agregados dentro de la disolución, estos tamaños para la inulina son similares a los reportados para inulina de agave y nativa (Crispín-Isidro y col., 2014; Ponce y col., 2008). La

inulina en solución acuosa, forma dos tipos de especies solvatadas, monómeros compactados y supra agregados (Naskar y col., 2010). Cabe señalar que las mediciones de distribución de tamaño de partícula solo se pudieron efectuar hasta 25% en concentración debido a que por encima de ésta se formaron partículas que sobrepasaron el límite del intervalo de medición del instrumento (10 μm).

Cuadro 5. Valores de moda de las diferentes poblaciones de partícula para inulina a 1%, 3%, 10%, 25% y caseinato 1%.

Muestra	Diámetro (nm)			
	Población 1	Población 2	Población 3	Población 4
Caseinato 1%	406	4383	0	0
Inulina 1%	3.8	0	0	0
Inulina 3%	3.27	91	712	5560
Inulina 10%	3.9	122	825	5560
Inulina 25%	3.6	193	886	5397

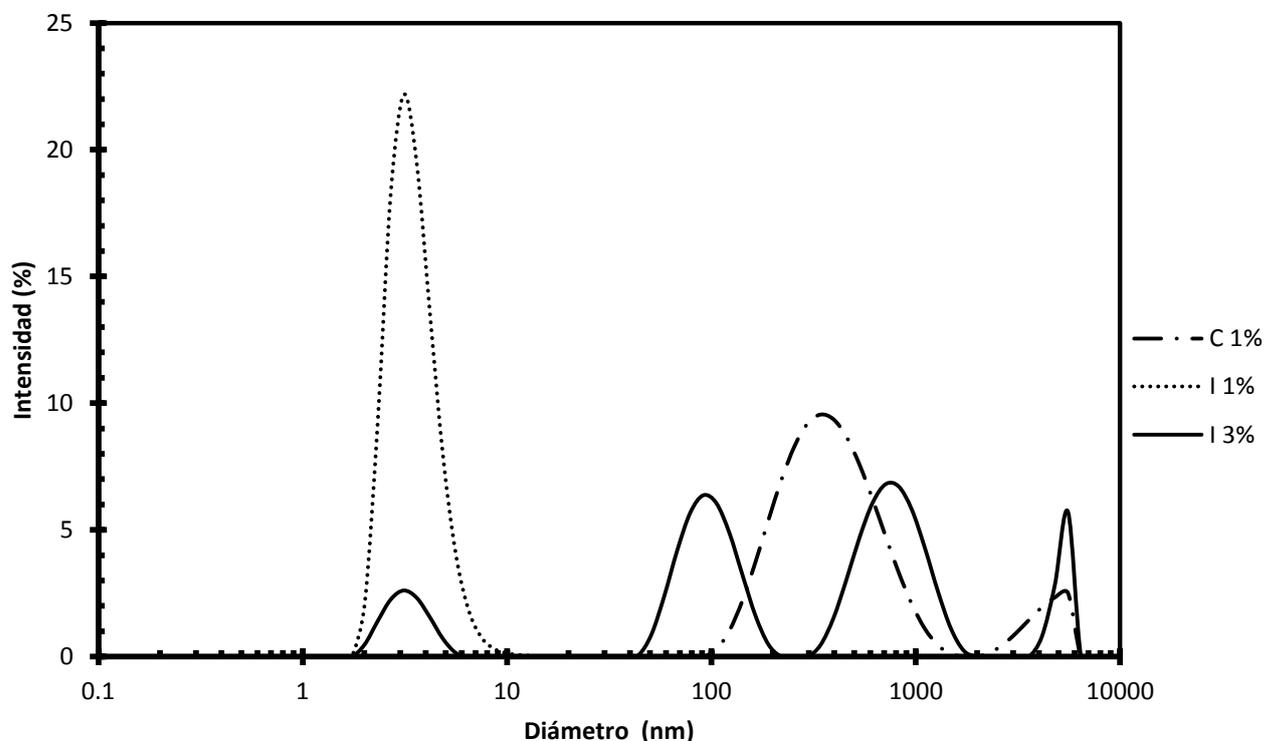


Figura 24. Distribución de tamaño de partícula para caseinato(C) a 1%, Inulina (I) a 1% y 3%.

Así mismo, en la Figura 25 se puede observar la distribución de tamaños para las disoluciones de inulina a 10% y 25% presentando tamaños de partícula con modas de 800 nm e incluso 5500 nm (Cuadro 5), por la formación de agregados debido a que las moléculas de inulina no están cargadas, lo cual favorece la agregación de las mismas (Ponce y col., 2008).

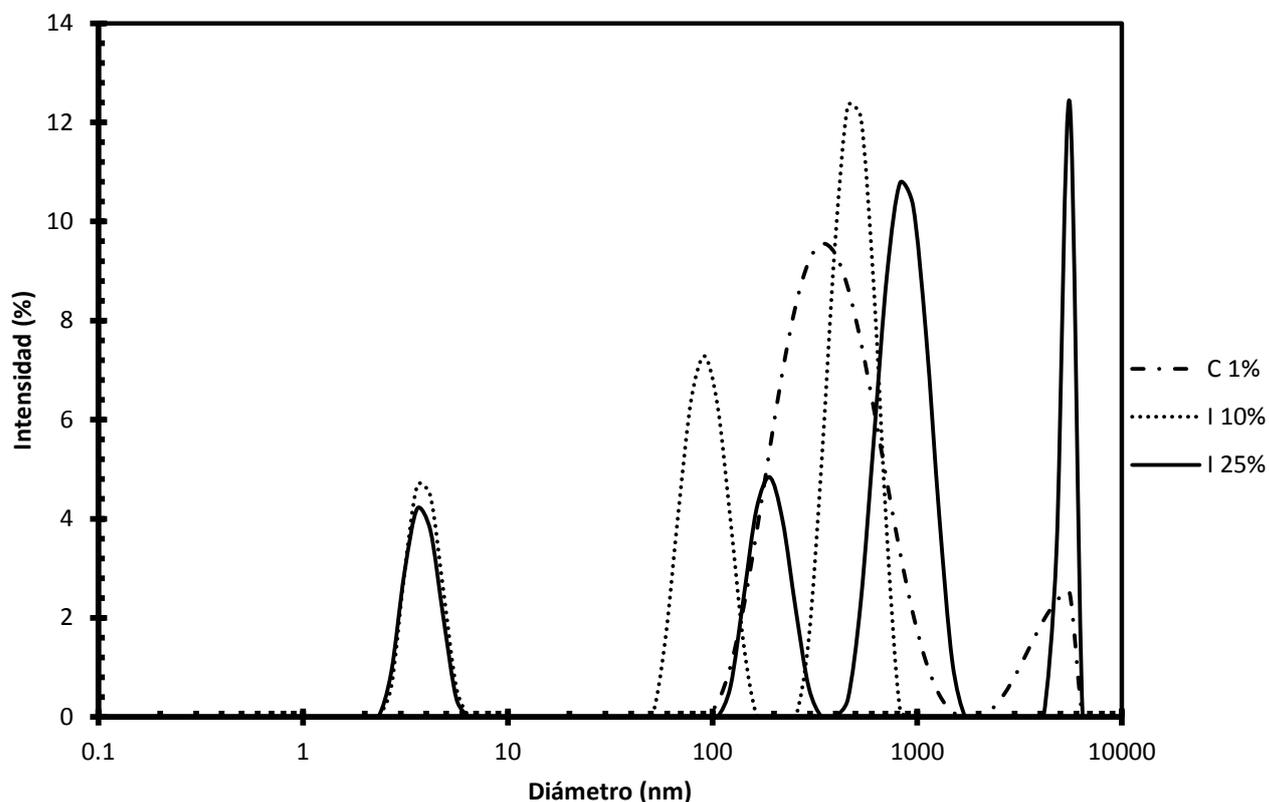


Figura 25. Distribución de tamaño de partícula para caseinato (C) a 1%, inulina (I) a 10% y 25%.

El caseinato de sodio presentó una distribución de tamaño bimodal con tamaños de partícula con modas de 400 nm y 4300 nm, siendo las partículas de 400 nm las de mayor intensidad en población dentro de la disolución, este comportamiento es similar al reportado (Bonilla-Reyna y col., 2011; Sosa-Herrera y col., 2008).

El caseinato de sodio es polidisperso, la estructura secundaria de las caseínas que lo integran no está bien definida y la hace más flexible, las cuales en medio acuoso forman agregados conocidos en algunos casos como submicelas; esta polidispersidad es, al parecer, reflejo de un sistema en donde la asociación

entre partículas se realiza sin un estricto empaquetamiento o limitaciones simétricas que permitan estructuras esencialmente monodispersas (Walstra, 1999).

En las Figuras 26 y 27 se observa la distribución de tamaño de partícula para las mezclas de inulina con caseinato, en las mezclas de inulina a bajas concentraciones de 1% y 3%, se presentó una distribución bimodal, mostrando el mismo comportamiento en intensidad de población y tamaño de partícula del caseinato, con modas de 400 nm y 4300 nm (Cuadro 6).

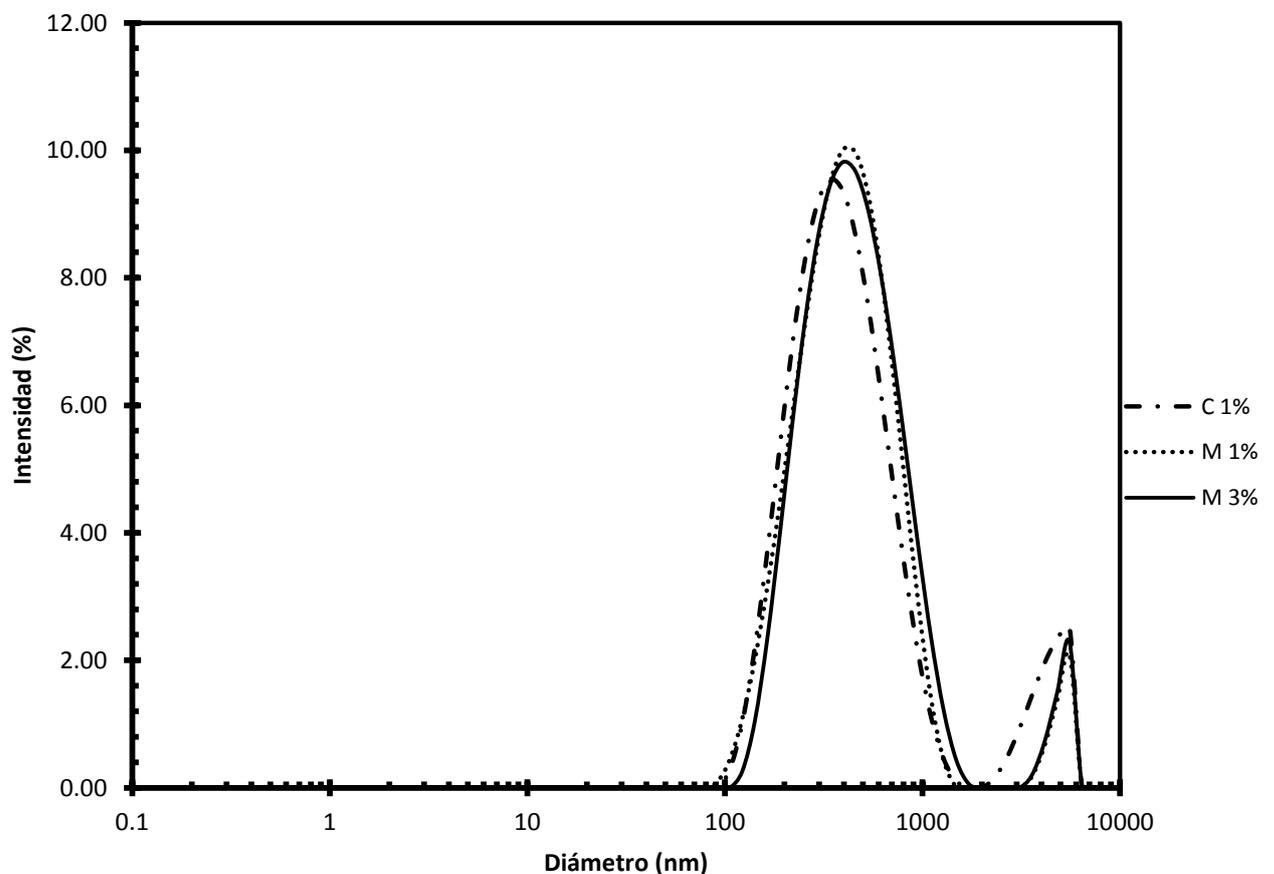


Figura 26. Distribución de tamaño de partícula para las disoluciones de caseinato (C) a 1%, mezcla (M) a 1% y 3%.

En comparación con las disoluciones de inulina a las mismas concentraciones (Figura 24), éstas ya no presentaron tamaños de partícula de 3 nm y 100 nm aproximadamente, los cuales tampoco fueron presentados para el caseinato de sodio, por lo que este último tuvo influencia sobre las partículas de inulina; y se pudo haber presentado una posible asociación de las moléculas a estas

concentraciones, debido a que se ha reportado que la inulina de agave tiende a cubrir las micelas de caseinato, los grupos hidroxilo de los fructanos interactuaron a través de puentes de hidrógeno con fracciones cargadas en la superficie de la proteína (Crispín-Isidro y col., 2014).

Cuadro 6. Valores de moda de las diferentes poblaciones de partícula para las mezclas a 1%, 3%, 10%, 25% de inulina y caseinato 1%.

Muestra	Diámetro (nm)		
	Población 1	Población 2	Población 3
Caseinato 1%	406.3	4383	0
Mezcla 1%	396	5559	0
Mezcla 3%	396	5550	0
Mezcla 10%	164	712	6438
Mezcla 25%	1106	5559	0

En la Figura 27 se puede observar que para la mezcla de 10% se presenta una distribución trimodal, con tamaños de partícula con modas de 160 nm, 700 nm y 6400 nm, esta distribución ha sido reportada para el caseinato de sodio en mezcla con gelana en pH ácido, por la formación de largos y pequeños agregados en la disolución, así como a la formación de complejos entre los biopolímeros (Sosa-Herrera y col., 2008).

En la Figura 27, la mezcla a 25% presenta la distribución bimodal con tamaños de 5500 nm y 1100 nm, siendo éstos últimos con mayor intensidad poblacional en la disolución por lo que con altas concentraciones de inulina se presenta una formación de agregados más grandes en el sistema, debido a un aumento en solutos, los cuales se cree que al llegar al 30% - 35% en concentración existe una incompatibilidad termodinámica y por lo tanto una separación de fases como en los sistemas reportados por Rodríguez y Pilosof (2011).

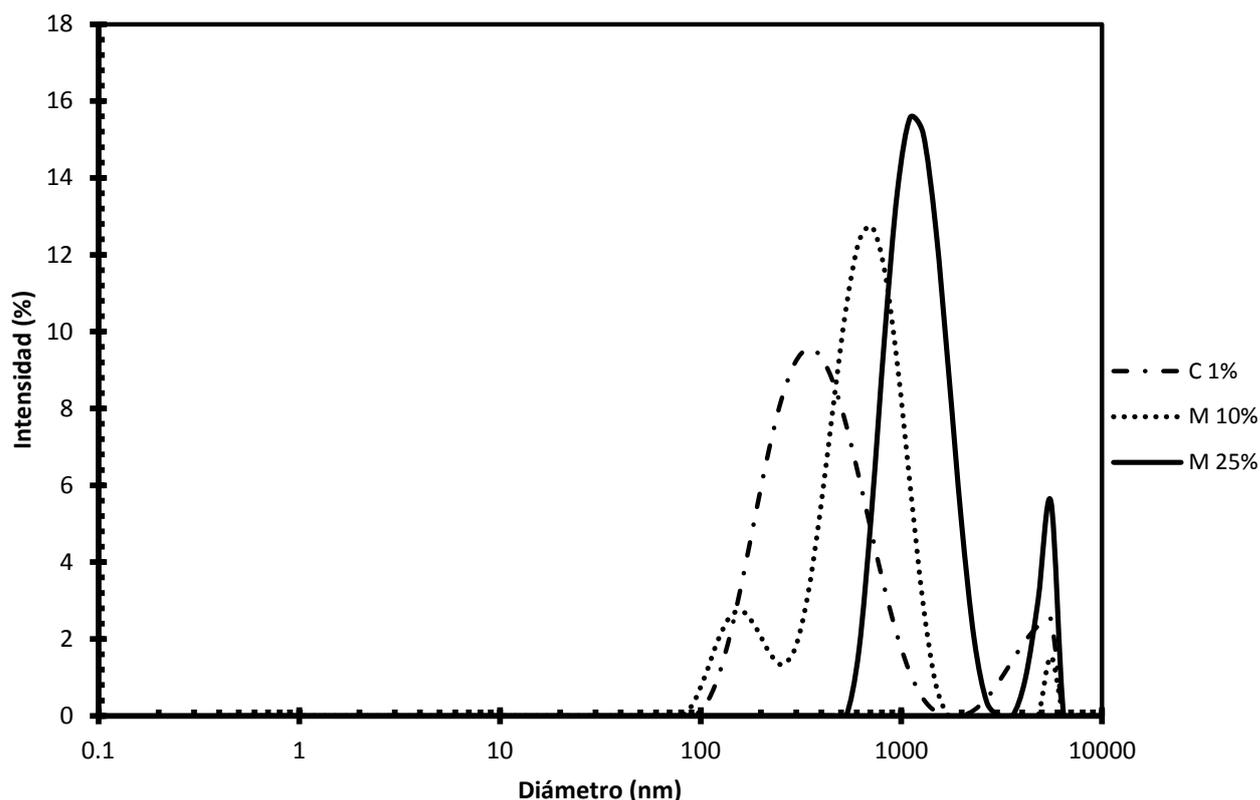


Figura 27. Distribución de tamaño de partícula para las disoluciones de caseinato (C) a 1%, mezcla (M) a 10 y 25%.

3.5 Potencial zeta

En los resultados obtenidos para las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones (Cuadro 7) se observa que exhiben bajo potencial zeta, con un intervalo de -9.25 a -0.8 mV, de este modo, las partículas se encontraron con una fuerte tendencia a la aglomeración y precipitación, conforme a lo que reporta Beliciu (2011). También se ha reportado que las moléculas de inulina de agave dificultan el flujo de electrones, éstas no presentan carga, por lo que favorece la agregación de las moléculas de inulina (Ponce y col., 2008). La inulina posee grupos hidroxilo en su estructura molecular, los cuales tienen grupos polares, estos presentan carga parcial negativa, por su parte las caseínas poseen grupos amino, fosfato y sulfhidrilo, los cuales proveen de estabilidad interna en las proteínas.

Por su parte, el caseinato de sodio mostró un potencial zeta de -28.86 mV y se encuentra en el límite de dispersión delicada, por lo que aún puede proveer a la

disolución cierta estabilidad debido a las interacciones estéricas por la presencia de una capa que recubre las micelas de la caseína, en la superficie de éstas (Beliciu y Moraru, 2011).

Cuadro 7. Potencial zeta para las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones y caseinato de sodio a 1%.

Concentración de biopolímero (%)		Potencial zeta promedio (mV)	σ	C.V. (%)
Inulina	1	-9.25	0.74	8
	3	-8.15	0.33	4.05
	10	-4.75	0.72	15.16
	15	-3.7	0.31	8.38
	20	-2.51	0.3	11.95
	25	-2.38	0.04	1.68
	30	-1.45	0.06	4.14
	40	-0.8	0.03	3.74
Caseinato	1	-28.86	0.9	3.12

En el Cuadro 8 se presenta el potencial zeta para las mezclas de caseinato-inulina, se observa que a concentraciones bajas de inulina 1 y 3% predominan los valores de potencial zeta del caseinato, a concentración de 10% de inulina las disoluciones se encuentran en el límite de dispersión delicada por lo que la repulsión estérica del caseinato pudo proveer cierta estabilidad ante la aglomeración, pero a concentraciones de 15 a 40% predominó el potencial zeta de la inulina. Por lo que se puede decir que pasa de una disolución delicada (susceptible a la agregación) a una aglomerada, esto se pudo observar en la distribución de tamaño de partícula, debido a que con bajas concentraciones de inulina 1 y 3% se presentó una distribución bimodal, similar a la del caseinato, pero a partir del 10% en concentración se formaron agregados con diferentes tamaños dentro de la disolución.

Cuadro 8. Potencial zeta para las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones y caseinato de sodio a 1%.

Concentración de biopolímero (%)		Potencial zeta promedio (mV)	σ	C.V. (%)
Mezcla caseinato-inulina	1-1	-27.36	1.46	5.34
	1-3	-21.39	1.22	5.7
	1-10	-16.53	0.057	0.34
	1-15	-8.96	0.74	8.26
	1-20	-6.99	0.39	5.58
	1-25	-4.83	0.17	3.52
	1-30	-3.5	0.1	2.86
	1-40	-1.87	0.24	12.83
Caseinato	1	-28.86	0.9	3.12

3.6 Flujo en cizalla estacionaria

El comportamiento al flujo del caseinato de sodio al 1% e inulina a diferentes concentraciones y sus mezclas fueron descritas por el modelo newtoniano, como se presenta en las Figuras 28 y 29, este comportamiento se ha observado en disoluciones de inulina de cadena corta e inulina de agave (Villegas y Costel, 2007; Tárreaga y col., 2011; Ponce y col., 2008). En la Figura 28 se puede observar que al aumentar la concentración de inulina, se produce un aumento en la viscosidad, esto puede ser atribuido a que conforme aumenta la concentración de inulina se pueden formar pequeños cristales que interactúan entre ellos formando pequeños agregados, los cuales absorben una gran cantidad de agua tal y como fue reportado en bebidas lácteas (Villegas y Costel, 2006). Se ha observado la habilidad de las moléculas de inulina de captar agua, previniendo su libre movimiento y su interacción con los constituyentes de la leche, dándole estabilidad a la red formada por proteínas conforme a lo reportado con yogurt (Crispín-Isidro y col., 2014).

El caseinato de sodio al 1% tuvo una viscosidad de 0.0012 Pa.s (Cuadro 9). En medio acuoso, el caseinato forma pequeños agregados con un radio de aproximadamente 10 nm, los cuales consisten de alrededor de 15 moléculas

(HadjSadok y col., 2008), debido a la formación de interacciones intermoleculares a través de regiones hidrófobas, evitando compactarse así mismas en una forma plegada (Alvarez y col., 2008), las cuales muestran comportamiento newtoniano en un intervalo de concentración dado, generalmente inferior al 12% (Konstance y Strange, 1991).

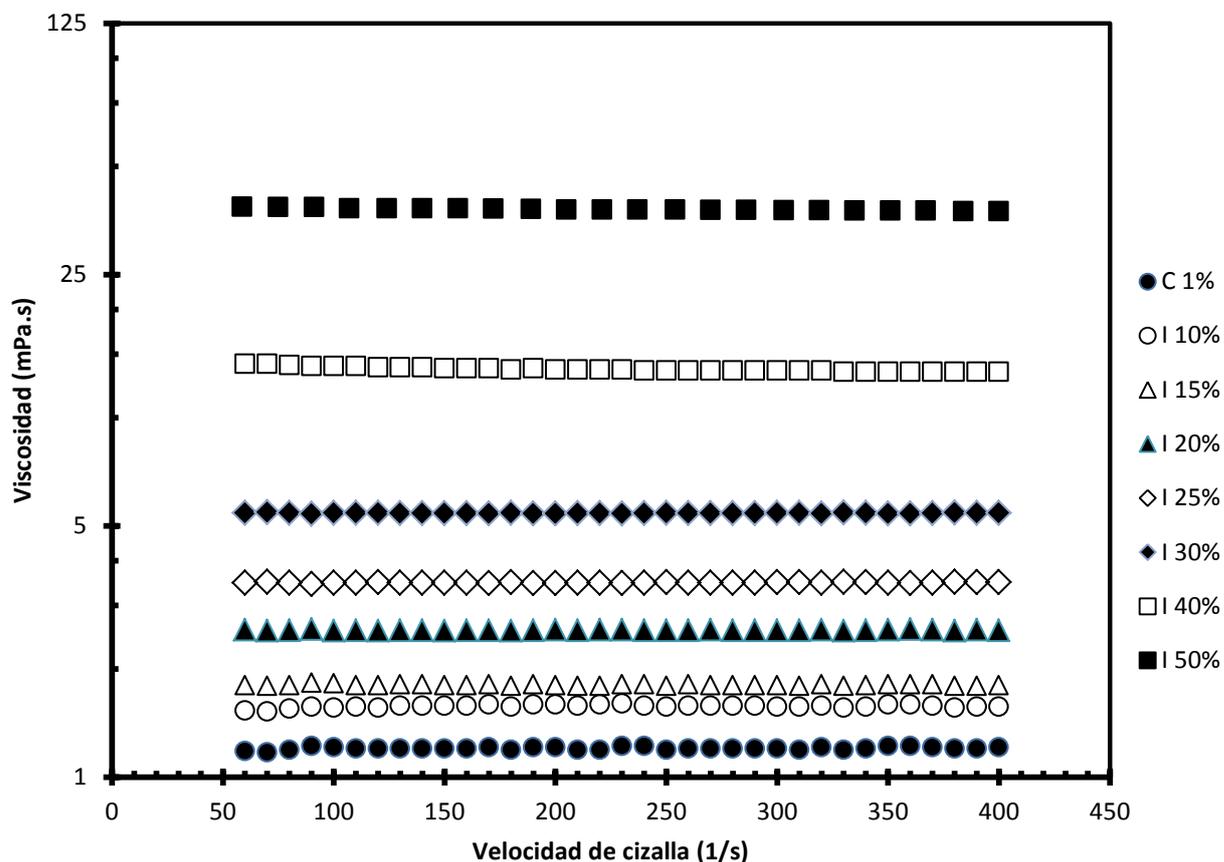


Figura 28. Viscosidad de las disoluciones de inulina (I) a diferentes concentraciones y caseinato de sodio (C).

En la Figura 28 se observa que la viscosidad de la inulina al 10%, es parecida a la viscosidad del caseinato al 1 %, los cuales son 0.0016 y 0.0012 (Cuadro 9) respectivamente. En la Figura 29, se presentan las disoluciones en mezcla con caseinato, se observa que a una concentración de inulina de 10% en mezcla con caseinato, este último le confirió un aumento en la viscosidad, similar a los valores que se tiene en disolución de inulina sola al 15%, los cuales fueron para ambas de 0.0018 Pa.s. Este comportamiento también se observa para todas las concentraciones de inulina en mezcla con caseinato, mostrando una

tendencia de incremento de viscosidad en comparación con las disoluciones de inulina sola.

El comportamiento de las disoluciones de caseinato de sodio en mezcla con la inulina de agave a bajas concentraciones, presentó características similares en mezcla con otros hidrocoloides, mostrando un ligero aumento en la viscosidad, y ajustándose al modelo de comportamiento newtoniano, conforme a lo reportado en interacciones con goma gelana al 0.03% sin cloruro de calcio (Sosa-Herrera, 2008), con goma arábica al 2% (Bonilla-Reyna, 2011) y con xantana a 0.01% (Zhao y col., 2013), a bajas concentraciones de caseinato (2%).

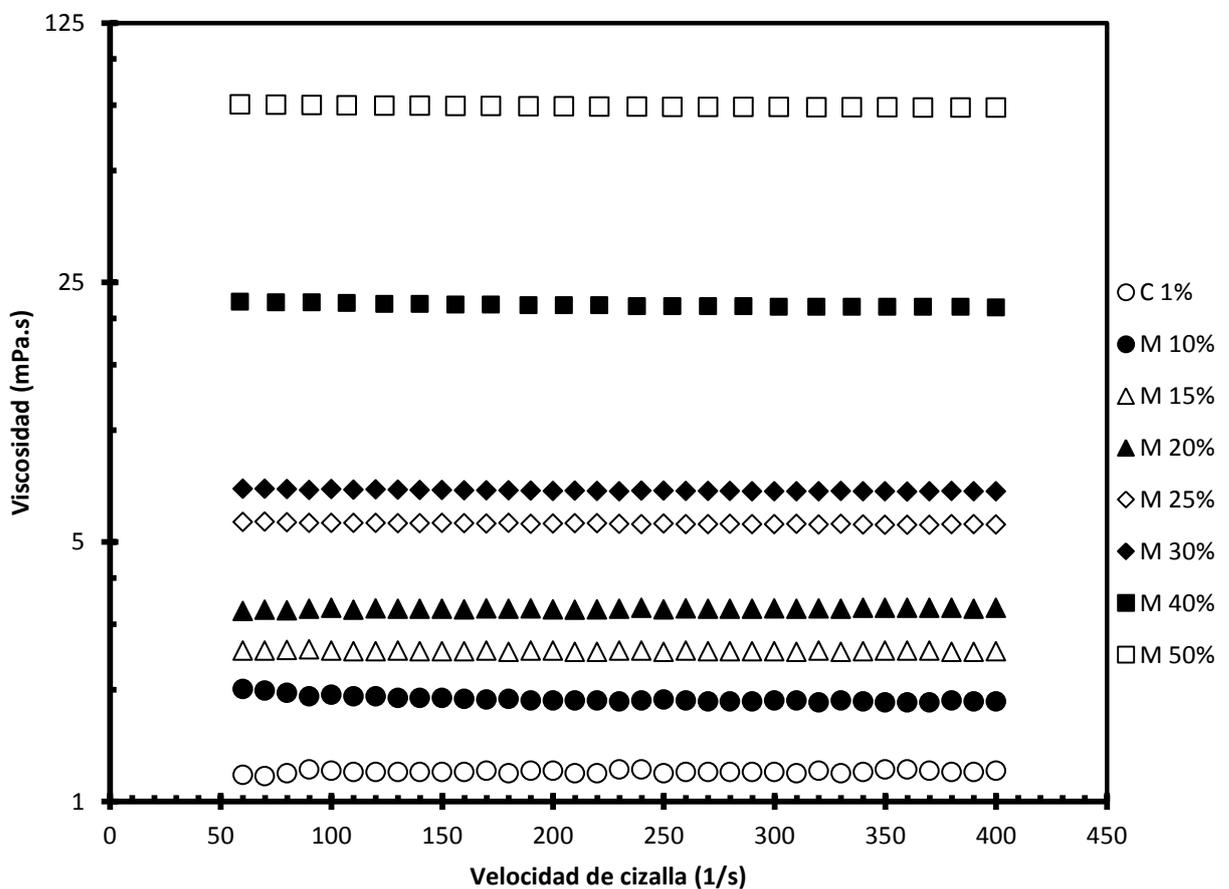


Figura 29. Viscosidad de las disoluciones de caseinato de sodio (C) y sus mezclas con inulina (M) a diferentes concentraciones.

En la Figura 30 se presenta la viscosidad en función de la concentración de las disoluciones de inulina sola y en mezcla. Se pueden observar dos comportamientos diferentes en cuanto al cambio en la viscosidad, por debajo

de la concentración a 30% de inulina, la viscosidad aumenta de forma gradual al aumentar la concentración, pero por encima de esa concentración se tiene un aumento exponencial, este comportamiento es similar a lo reportado por Ponce y col., (2008), esto puede ser atribuido a que al 30% en concentración, las cadenas de inulina de agave empiezan a superponerse y el movimiento de la cadena sola es restringida por la presencia de otra. Aquí, las ramificaciones de la molécula son consideradas como espirales aislados con bajas interacciones entre ellas, y al incrementar la concentración de inulina de agave, la espiral se superpone para formar una solución molecular más enredada (Ponce y col., 2008). Esto se refleja con el aumento en el tamaño de la partícula, como se observó en la distribución de tamaño de partícula.

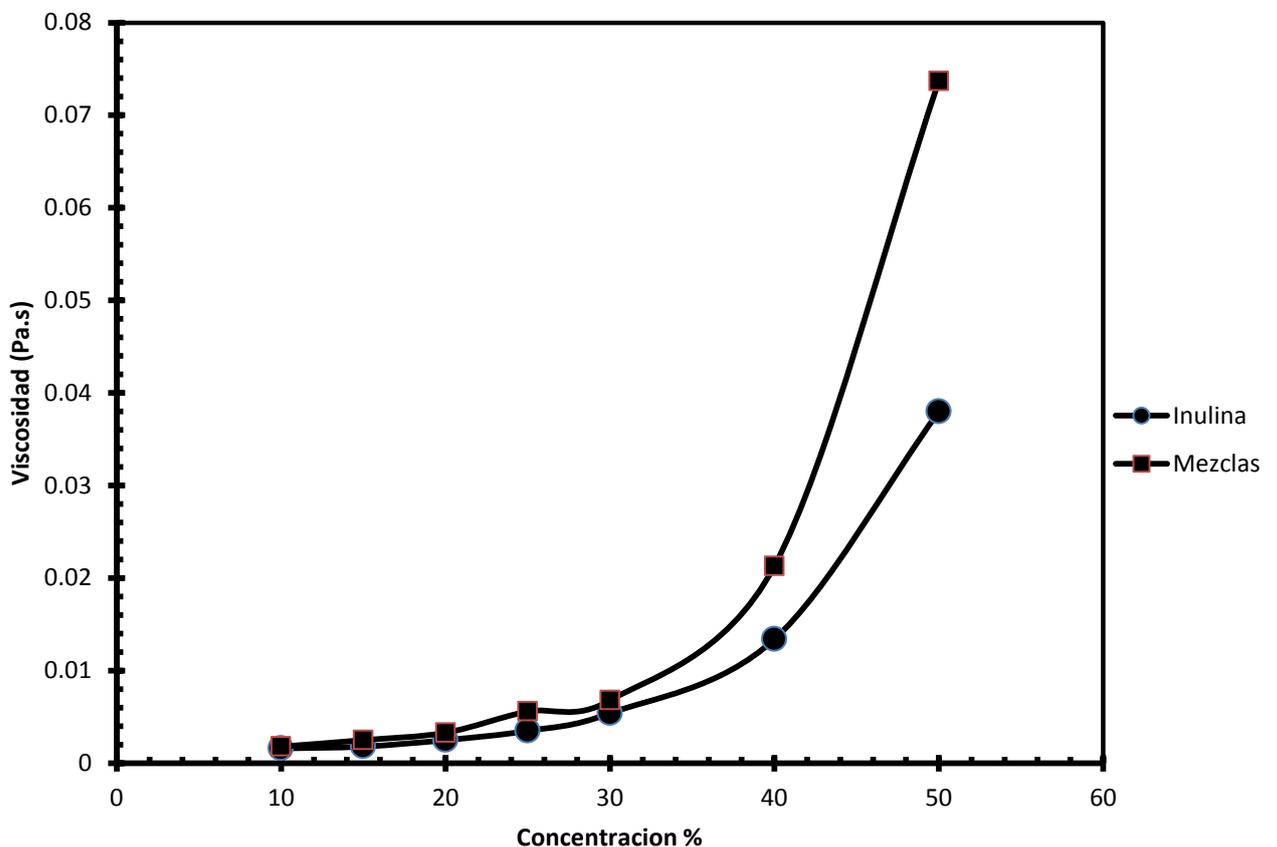


Figura 30. Efecto de la concentración en la viscosidad de disoluciones de inulina a diferentes concentraciones y sus mezclas con caseinato de sodio al 1%.

En concentraciones por debajo de 20% en inulina, se presentó la formación de complejos entre los dos biopolímeros, debido a que la inulina pudo haber

cubierto las micelas de la caseína, ya que las moléculas de inulina tienden a depositarse en la superficie de las micelas de caseína, produciendo estructuras más gruesas y densas de redes de proteínas (Crispín-Isidro y col., 2014). Esto se pudo observar en la distribución de tamaño de partícula a concentraciones de inulina de 3% y 10% en mezcla con caseinato.

Por encima del 30% se presentó sinergismo entre los dos biopolímeros, debido a que la disolución a 40% de concentración de inulina presentó una viscosidad de 0.0134 Pa.s (Cuadro 9) y la disolución de la mezcla entre los dos biopolímeros a 40% en concentración de inulina presentó una viscosidad de 0.0213 Pa.s, por lo que se dio una interacción segregativa (incompatibilidad termodinámica), esto debido a que cuando se tiene una concentración alta de un biopolímero se produce una repulsión estérica entre las dos especies de soluto a nivel molecular, causando una separación del sistema en 2 fases distintas, siendo ésta una de las principales causas de sinergismo (Rodríguez y Pilosof, 2011).

Cuadro 9. Viscosidad de las disoluciones de inulina, mezcla inulina-caseinato de sodio y caseinato de sodio a 1%.

Concentración de biopolímero (%)		Viscosidad (Pa.s) $\times 10^{-3}$	σ	C.V. (%)
Inulina	10	1.6	7.07E-05	4.41
	15	1.8	7.07E-05	3.92
	20	2.5	1.41E-04	5.65
	25	3.5	7.07E-05	2.02
	30	5.4	1.41E-04	2.61
	40	13.4	2.12E-04	1.58
	50	38	1.41E-03	3.72
Mezcla caseinato-inulina	10	1.8	7.07E-05	3.92
	15	2.5	7.07E-05	2.82
	20	3.3	7.07E-05	2.14
	25	5.6	1.41E-04	2.52
	30	6.8	1.41E-04	2.08
	40	21.3	1.41E-04	0.66
	50	73.7	2.12E-04	0.28
Caseinato	1	1.2	7.07E-05	5.89

3.7 Adsorción en interfase fluida

En la Figura 31, se muestran las curvas de tensión superficial en función del tiempo para las disoluciones de inulina y caseinato a 1%, se observa que la tensión superficial de las disoluciones disminuyó en función del aumento de concentración de inulina, siendo 43.41 mN/m (Cuadro 10) el valor más bajo de tensión superficial a una concentración de 40% de inulina, presentando valores similares de tensión superficial con respecto a otros polisacáridos a bajas concentraciones (Tragacanto al 0.6% de 42 mN/m; Xantana al 0.06% de 43 mN/m y Guar al 0.7% de 55 mN/m) reportados por Garti y Leser (2001). Mientras que al 1% de concentración de inulina se obtuvo el valor de 62.75 mN/m (Cuadro 10), el cual fue el que presentó menor reducción en la tensión superficial, disminuyendo casi 10 unidades con respecto a la tensión superficial del agua (Adamson y Gast, 1997). Lo que significa que la adición de la inulina a un sistema acuoso mejora la adsorción entre las fases inmiscibles.

Por su parte el caseinato a 1% presentó una tensión superficial de 35 mN/m, lo cual es similar numéricamente a lo reportado por Bonilla-Reyna y col., (2011), por lo que el caseinato logró disminuir la tensión aún más en comparación con todas las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones, esto debido a que la macromolécula de caseinato contiene β -caseína, la cual ha mostrado poseer una tendencia muy fuerte a la adsorción en interfase, debido a sus propiedades como molécula anfifílica (Dalglish, 1997). Para la β -caseína se ha reportado que no presenta un régimen de inducción y ésta pasa directamente al segundo periodo, debido a la estructura desordenada y a la flexibilidad de la molécula en medio acuoso, lo cual promueve una rápida adsorción en la interfase (Beverung y col., 1999).

En la Figura 31, también se observa que para las concentraciones de 1%, 3%, 10% y 15% se presentó un régimen de inducción según Beverung y col. (1999), por la lenta migración de las partículas a la interfase. Obteniendo a 1% en concentración un tiempo de inducción de 300 segundos aproximadamente, 30 segundos para la concentración de 3% y 15 segundos para la concentración de 10% y 15%, por lo que los sistemas no están saturados de solutos en la interfase.

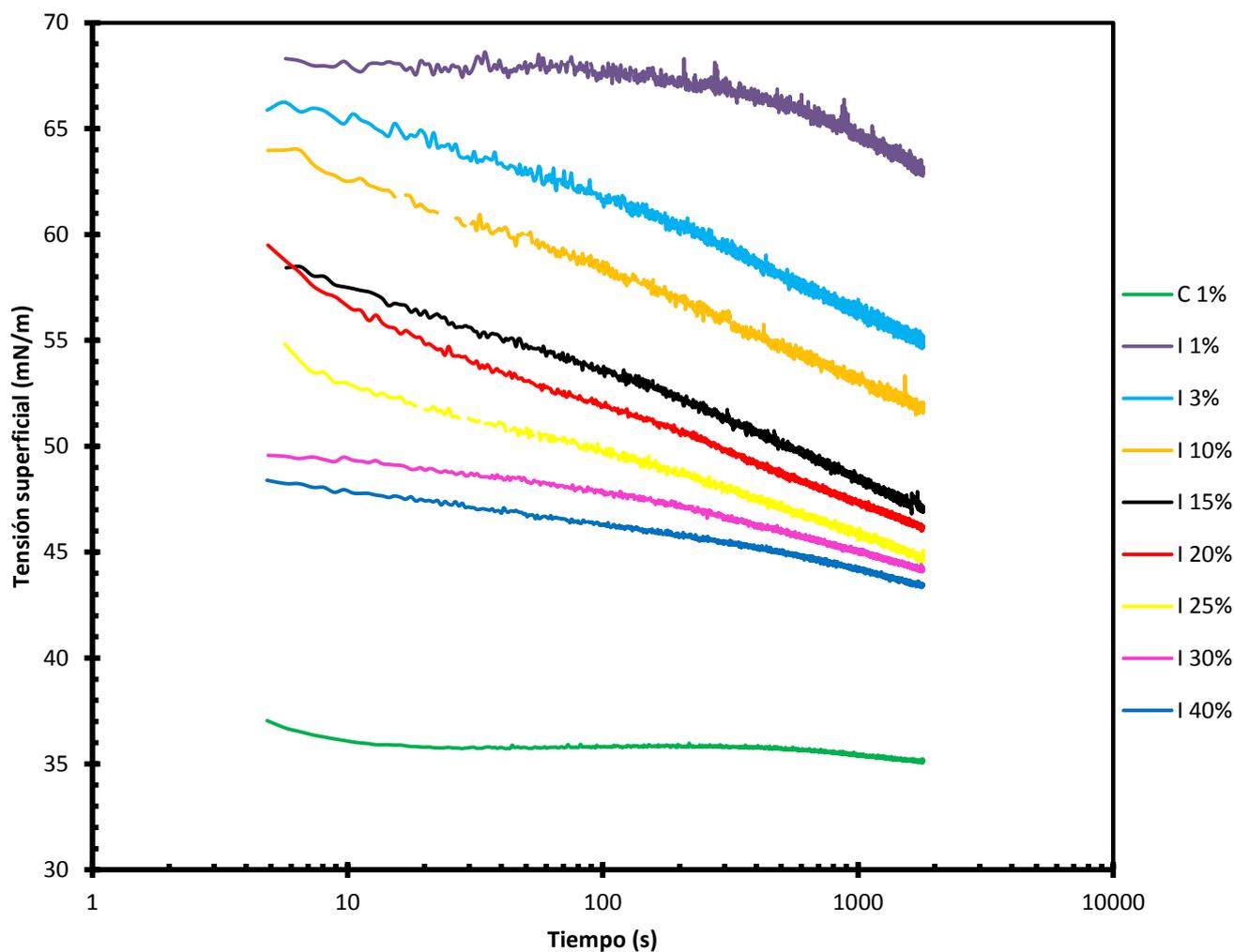


Figura 31. Tensión superficial de las disoluciones de inulina (I) y caseinato (C) al 1% a diferentes concentraciones en función del tiempo.

Este comportamiento de inducción se ha presentado en la goma arábica, pero manteniendo los 3 regímenes para un biopolímero en disolución acuosa (Bonilla-Reyna y col., 2011).

Por otra parte, en comparación con las disoluciones a partir de 20%, éstas ya no presentaron periodo de inducción y pasaron directamente al segundo régimen, que se caracteriza por una saturación de moléculas en la interfase, que a su vez, éstas se relajan en estructuras menos compactas, causando disminución en la tensión interfacial, la cual duró hasta los 1800 segundos.

Cuadro 10. Valores de tensión al equilibrio para las diferentes disoluciones de inulina a diferentes concentraciones, y sus mezclas con caseinato a 1%.

Concentración de biopolímero (%)		Tensión al equilibrio (mN/m)	σ	C.V. (%)
Inulina	1	62.75	0.29	0.46
	3	54.19	0.17	0.31
	10	51.56	0.05	0.1
	15	46.88	0.43	0.92
	20	46.12	0.32	0.69
	25	44.73	0.54	1.21
	30	44.2	0.13	0.29
	40	43.41	0.44	1.01
Mezcla caseinato-inulina	1	34.28	0.08	0.23
	3	33.93	0.65	1.92
	10	32.69	0.9	2.75
	15	32.57	0.98	3.01
	20	31.85	0.67	2.1
	25	33.4	0.03	0.09
	30	32.6	0.87	2.67
	40	33.37	0.78	2.34
Caseinato	1	35.09	0.23	0.66

En la Figura 32, se muestran las mezclas con caseinato, este último, por su naturaleza anfifílica es capaz de constituir una monocapa, debido a su capacidad para orientar los segmentos hidrofóbicos en la cara hidrofóbica, mientras que los segmentos hidrofílicos son orientados a la fase acuosa, el número de segmentos de monómeros que están en contacto con la interfase dependerá de la flexibilidad y estructura de la molécula (Spinelli y col., 2008). Cabe señalar que la mezcla a 50% fue muy viscosa (0.0737 Pa.s), por lo que no se pudo hacer pasar por el tensiómetro.

Al mezclar el caseinato a 1% con inulina a diferentes concentraciones se produjo una mayor reducción de la tensión superficial de la mezcla inulina-caseinato, en comparación con las disoluciones de inulina sola (Cuadro 10), presentando el valor más bajo de tensión superficial al equilibrio la mezcla a

20%, siendo de 31.85 mN/m, por lo que se situó 3.24 unidades por debajo del caseinato a 1%, siendo este último el que tuvo menor reducción de la tensión en comparación con todas la mezclas.

Así mismo, las mezclas a diferentes concentraciones, al igual que el caseinato solo, no presentaron el régimen de inducción y pasaron directamente al segundo régimen, debido a una rápida saturación de la interfase del solvente puro (agua), este régimen tuvo una duración de 35 segundos aproximadamente para las mezclas a 15%, 20% y 30%, una duración de 170 segundos para las concentraciones de 3%, 10% y 25%, y de aproximadamente 15 segundos para el caseinato a 1% y la mezcla a 1%.

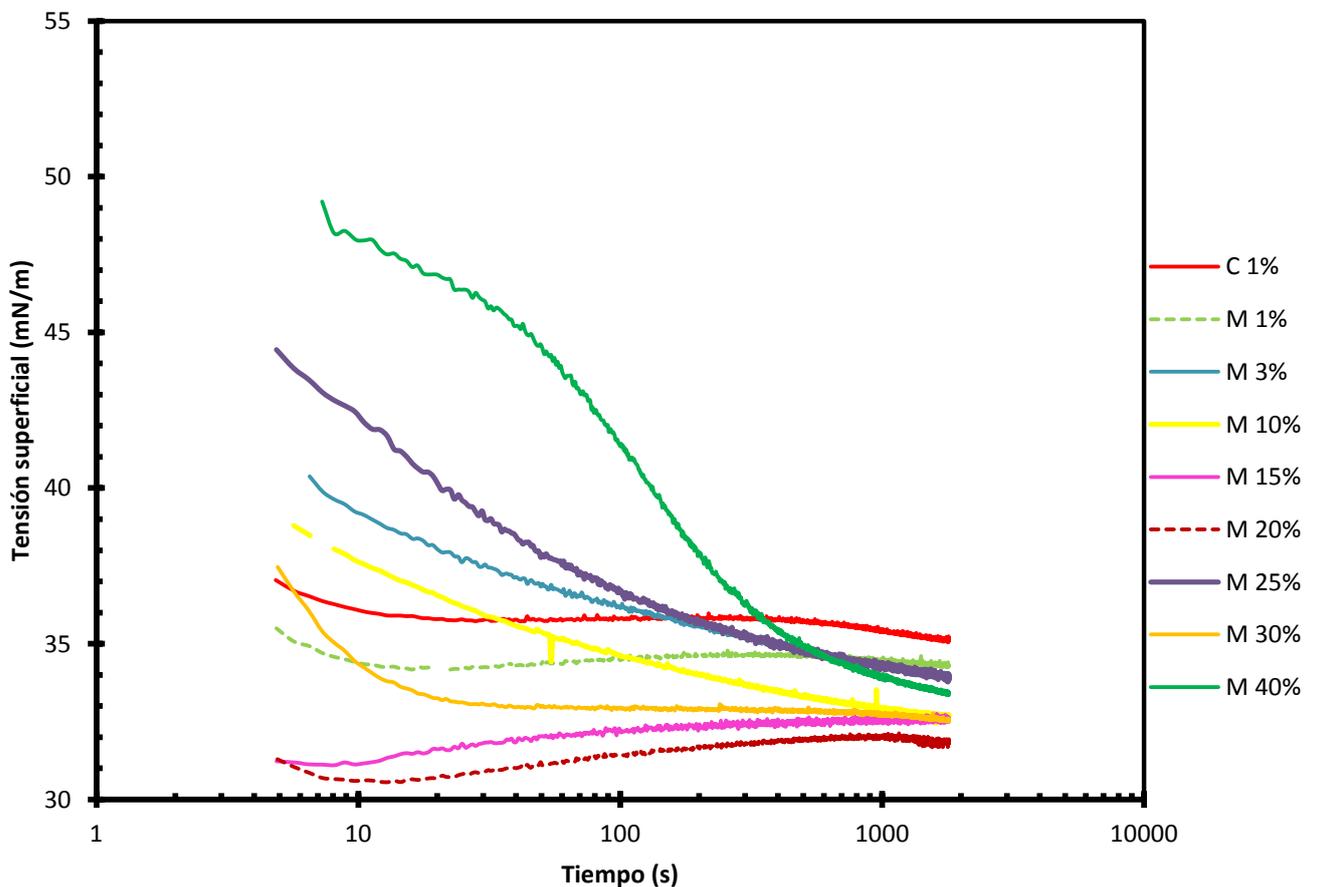


Figura 32. Tensión superficial en función del tiempo para las disoluciones de caseinato (C) a 1% y sus mezclas (M) con inulina a diferentes concentraciones

En la Figura 32, también se aprecia que las disoluciones superiores a partir de 20% en concentración (25%, 30% y 40%), no lograron llegar a la tensión

superficial más baja, situándose por encima de esta última, este comportamiento es similar a lo reportado con goma xantana en mezcla con caseinato, esto se atribuye a que al incrementar la concentración se incrementó la viscosidad del sistema acuoso, dificultando el movimiento y acomodo estructural de las moléculas hidrofóbicas hacia la superficie, provocando una reducción en la exposición de grupos hidrofóbicos (Zhao y col., 2013). Este incremento de la viscosidad se puede observar en la viscosidad de las disoluciones de inulina al 40% en mezcla con caseinato al 1%, el cual fue de 21.3×10^{-3} Pa.s.

En la Figura 33 se muestra la tensión al equilibrio en función del logaritmo natural de la concentración, considerado un “pseudo equilibrio” debido a que las estructuras conformacionales que se forman en la interfase cambian constantemente (Mukherjee y col., 2013), en el caso de la inulina se presenta en el intervalo de concentración de 30 mN/m a 34 mN/m, y para la mezcla con caseinato no se considera como tal una tensión debido a la rápida adsorción del complejo en la interfase. Se observa que al aumentar la concentración de inulina en mezcla con caseinato no se presentó una relación directamente proporcional con la reducción de la tensión superficial en comparación con las disoluciones de inulina sola. Para estas últimas el punto de concentración de adsorción crítica se presentó alrededor del 15%, debido a que a partir de este punto se tuvo una lenta disminución de la tensión. Con un incremento en la concentración, el área disponible en la interfase por ion o grupo solvatado disminuye por el acomodo competitivo provocando su desolvatación, que a su vez añade más moléculas de tensoactivo a la interfase permitiendo un aumento en la concentración de las moléculas de tensoactivo en la interfase, por lo que a esta concentración se pudo haber formado una mono capa de moléculas de inulina que cubrió mayoritariamente la interfase, pero al ir incrementando la concentración, cambios estructurales en la molécula, así como reacomodos de las partículas dentro de la mono capa permitieron una continua disminución de la tensión en la interfase (Mukherjee y col., 2013).

Por su parte las disoluciones de la mezcla de ambos biopolímeros no presentaron los 3 regímenes que propone Mukherjee y col. (2013), para determinar la concentración de adsorción crítica, esto se puede ver en la Figura

33 en donde se aprecia una disminución de la tensión en función de la concentración en un intervalo de 34.28 mN/m (mezcla 1%-1%) a 31.85 mN/m (mezcla 20%-1%), por lo que la concentración de adsorción crítica y la concentración de exceso en superficie en las mezclas se vio influenciada por la adsorción del caseinato a 1%, el cual tuvo un valor de tensión al equilibrio de 35.09 mN/m (Cuadro 10) y a partir de este punto disminuyó lentamente en mezcla con inulina, por lo que las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones dependieron de la fuerte adsorción del caseinato en la interfase debido a sus propiedades como agente tensoactivo, ya que éste pudo formar una mono capa saturada con moléculas de caseinato atribuido a su rápida adsorción a la interfase, y posteriormente una lenta disminución de la tensión en mezcla mediante reacomodos estructurales entre los dos biopolímeros (Dickinson, 2011).

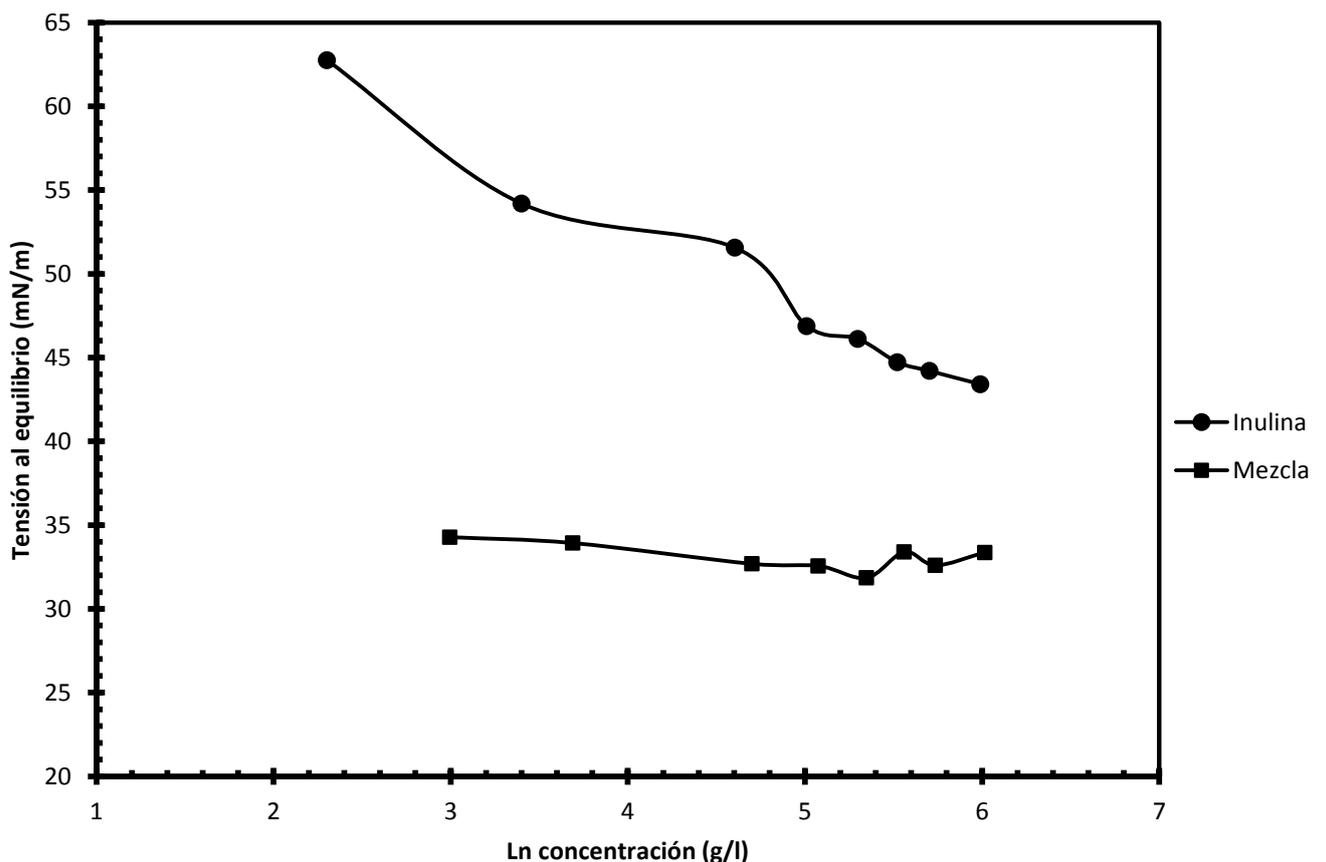


Figura 33. Tensión al equilibrio en función del logaritmo natural de la concentración.

Este comportamiento es similar al reportado en mezclas de goma arábica con caseinato, donde el valor de concentración crítica de la mezcla es muy cercano al de caseinato, el cual es más hidrófobo, debido a cambios y reorganizaciones de las estructuras moleculares de ambos biopolímeros en la interfase, así como la formación de multicapas en la interfase (Bonilla-Reyna y col., 2011).

CONCLUSIONES

Las disoluciones de inulina a diferentes concentraciones, así como sus mezclas con caseinato de sodio a 1%, presentaron comportamiento de fluido newtoniano. Para las disoluciones de inulina individual se observó un incremento gradual en la viscosidad siendo a 50% en concentración la más viscosa ($73.7 \times 10^{-3} Pa \cdot s$). Al ser mezcladas con caseinato, este último provocó un ligero incremento en viscosidad para el intervalo de 1% a 30% en inulina, pero a concentraciones más altas, el incremento de la viscosidad fue exponencial con respecto a la viscosidad de las disoluciones de inulina individual.

A pesar de que la inulina de agave no es una molécula anfifílica, su adsorción en disolución acuosa presentó una relación directamente proporcional con respecto a la concentración, bajando la tensión superficial hasta 43.41 mN/m a 40% en concentración. Debido a la fuerte adsorción del caseinato (35.09 mN/m a 1%), éste pasó directamente a un segundo régimen en una curva de adsorción, por lo que influyó en el comportamiento de las disoluciones en mezcla a diferentes concentraciones, provocando que la tensión superficial disminuyera aún más con respecto a la tensión de las disoluciones de inulina y caseinato individuales.

La concentración de adsorción crítica para las disoluciones de inulina individuales se vio aproximadamente a 15% en concentración, en comparación con las disoluciones en mezcla, donde debido a la fuerte adsorción del caseinato, la concentración de adsorción crítica se determinó desde la más baja concentración en mezcla (Inulina 1%-caseinato1%),

La inulina de agave presentó distintos tamaños de partícula, en un intervalo de 3 nm a 5500 nm, con una distribución multimodal. Ésta al ser mezclada a bajas concentraciones (1% y 3%) con caseinato de sodio a 1%, presentaron formación de complejos entre ambas, debido a que la molécula de inulina presentó la misma distribución de partícula que la molécula de caseinato, pero a concentraciones mayores de inulina (10% y 25%) ésta empieza a separarse de la tendencia del caseinato.

El potencial zeta para las moléculas de inulina fue muy bajo, en un intervalo de -9 a 0 mV, permitiendo que se formaran agregados dentro de la disolución, como fue evidenciado en la distribución de tamaño de partícula. Por otra parte el caseinato de sodio a 1% presentó un potencial de -28 mV, éste al ser mezclado con inulina a bajas concentraciones (1%, 3% y 10%), logró mantener la repulsión electrostática del caseinato, evitando la formación de agregados, pero para las concentraciones posteriores de inulina, el potencial zeta de ésta predominó (1.87 mV, a 40%:1%), volviendo a la disolución con tendencia a la formación de agregados.

Las disoluciones acuosas de fructanos, al presentar baja viscosidad, favorecen su adsorción en interfaces fluidas (presentes en emulsiones o espumas), favoreciendo la miscibilidad en la interfase, por lo que este complejo de biopolímeros puede ser empleado para la formación de sistemas dispersos alimenticios, como es el caso de helados y yogurt, en los cuales ha sido reportado un aumento en el valor nutritivo de estos sistemas por la adición de la inulina debido a sus propiedades prebióticas, sin alterar su estructura.

REFERENCIAS

- Adamson, A.W., Gast, A.P. (1997). Physical chemistry of surfaces. John Wiley and Sons inc, 465-499.
- Alvarez, E.M., Rissoa, P.H., Mancilla, M.A., Piresb, M.S., Gattia, C.A. (2008) Hydrodynamic properties–structure relationship for sodium caseinates in presence of calcium. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 327, 51–56.
- Anton Paar (2006). Densimeter DMA-38 User Manual. Austria.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos* (4 ed.) México, Pearson Educación.
- Barnes, H.A., Hutton, J.F., Walters, F.R.S. (1993). An introduction to rheology. (3rd ed.). U.S.A, Elsevier.
- Beliciu, C. M., Moraru, C.I. (2011). The effect of protein concentration and heat treatment temperature on micellar caseine soy protein mixtures. *Food Hydrocolloids*, 25, 1448-1460.
- Beverung, C.J., Radke, C.J., Blanch, H.W. (1999). Protein adsorption at the oil water interface: characterization of adsorption kinetics by dynamic interfacial tension measurements. *Biophysical Chemistry*, 8, 59-80.
- Bonilla-Reyna, B., Sosa-Herrera, M.G., Martínez-Padilla, L.P. (2011). Interfacial adsorption and shear flow properties of gum arabic–sodium caseinate mixtures. *Procedia Food Science*, 1, 12-16.
- Bot, A., Erle, U., Vreeker, R. (2004). Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. *Food Hydrocolloids*, 18, 547-556.
- Brittain, G.H. (2001). Representations of particle shape, size and distribution. *Pharmaceutical Physics*, 11, 38-45.
- Chang, R. (1992). *Fisicoquímica con aplicaciones a sistemas biológicos*. México, Compañía Editorial Continental.

- Crispín-Isidro, G., Lobato-Calleros, C., Espinosa-Andrews, H., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E.J. (2014). Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 1-7.
- Conceição, A.A., Ponciano, B., Esberard, N., Pessoa, A., Converti, A., Silva, J.A. (2014). Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate Polymers*, 101, 368-378.
- Dalgleish, D.G. (1997). Structure-function relationships of caseins. In S. Damodaran A. Paraf (Eds.), *Food proteins and their applications*. (pp. 199–223). U.S.A, Marcel Dekker.
- Dickinson, E. (1995). *New Physicochemical Techniques for the characterization of complex food systems*. U.K., Blackie Academic and Professional.
- Dickinson, E., Mc Clements, D.J. (1995). *Advances in Food Colloids*. U.K., Blackie Academic and Professional.
- Dickinson, E. (2010). Food emulsions and foams: stabilization by particles. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 15, 40-49.
- Dickinson, E. (2011). Mixed biopolymers at interfaces: Competitive adsorption and multilayer structures. *Food Hydrocolloids*, 25, 1966-1983.
- Ennis, M.P., Mulvihill D.M. (2009). Milk Proteins. In *Handbook of Hydrocolloids*. (pp. 298-357). G.O. Phillips P.A. Williams (Eds.), U.K., CRC Press.
- Garti N., Leser M.E. (2001). Emulsification properties of hydrocolloids. *Polymers for Advanced Technologies*, 12, 123-135.
- Geankoplis, C.J. (1998). *Procesos de Transporte y Operaciones Unitarias* (3ra ed.). México, Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V.
- Grinberg, V., Tolstoguzov, V. (1997). Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solution. *Food Hydrocolloids*, 11, 145-158.

- HadjSadok, A., Pitkowski, A., Nicolai, T., Benyahia, L., Moulai-Mostefa, N. (2008) Characterization of sodium caseinate as a function of ionic strength, pH and temperature using static and dynamic light scattering. *Food Hydrocolloids* 22, 1460-1466.
- Jimenez, V.J., Macarulla, J.M. (1984). *Fisicoquímica fisiológica*. (6ª edición). México, Mc Graw Hill.
- Kim, Y., Fagih, M.N., Wang, S.S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46, 135-145.
- Konstance, R.P., Strange, E.D. (1991) Solubility and viscous properties of casein and caseinates. *Journal Food of Science*, 56, 556–559.
- Lapasin, R., Prilc, S. (1999). *Rheology of Industrial Polysaccharides Theory and Applications*. (pp. 134-162). U.S.A, An Aspen Publication.
- Levine, I. N. (1996). *Fisicoquímica* (4ª ed). España, Mc Graw-hill.
- Liang, Y., Gillies, G., Patel, H., Matia, L., Ye, A. (2014). Physical stability, microstructure and rheology of sodium-caseinate-stabilized emulsions as influenced by protein concentration and non adsorbing polysaccharides. *Food Hydrocolloids*. 36, 245-255.
- Malvern Instruments (2004). *Zetasizer Nano Series User Manual*. U.K.
- Mantzouridou, F., Spanou, A., Kiosseoglou, V. (2012). An inulin-based dressing emulsion as a potential probiotic food carrier. *Food Research International*, 46, 260-269.
- Martínez-Padilla, L.P. (2012). *Guía de uso rápido del reómetro MCR-301*. Documentación interna LAPRYFAL, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, Cuautitlán Izcalli México.
- Mc Clements, D.J. (2005). *Food Emulsions Principles, Practices and Techniques* (2ª ed.), U.S.A, CRC Press.
- Meyer, D. (2009). Inulin. In *Handbook of Hydrocolloids*. (pp. 829-845). G.O. Phillips and P.A. Williams (Eds.), U.K., CRC Press.

- Meyer, D., Bayari, S., Torrega, A., Costel, E. (2011). Inulin as a texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 25, 1881-1890.
- Morrison, I.D., Ross, S. 2002. Colloidal dispersions. Suspensions, emulsions, and foams. (pp. 260-302). New York., John Wiley and Sons.
- Mukherjee, I., Moulik, S.P., Rakshit, A.K. (2013). Tensiometric determination of Gibbs surface excess and micelle point: a critical revisit. *Journal of Colloid and Interface Science*, 394, 329-336.
- Naskar, B., Dan, A., Ghosh, S., Moulik, S.P. (2010) Characteristic physicochemical features of the biopolymer inulin in solvent added and depleted states. *Carbohydrate Polymers*, 81, 700-706.
- Ohaus. (2004). Manual de instrucciones analizador de humedad. U.S.A.
- Picone, C.S.F, Maximo, G.J., Kuhm, K., Ros-Polski, V., Cunha, R. (2011). An assesment of the texture of acidified sodium caseinate gels with added inulin using response surface. *International Journal of Dairy Technology*, 64, 353-359.
- Ponce, J.A., Macías, E.R., Soltero, J.F.A., Fernández, V., V., Zuñiga, V.P., Escalona, H.B., (2008). Physicochemical and non-linear rheological properties of aqueous solutions of agave fructans. *e-Gnosis*, 6, 1-23. <http://www.redalyc.org/pdf/730/73011197008.pdf>.
- Rao, M.A. (1999). Rheology of fluid and semisolid foods. Principles and applications. (pp. 170-220). U.S.A, Aspen publishers.
- Rivera, M. (2013). Evaluación de inulina de agave azul e inulina de achicoria y su combinación con soflavonas, sobre los niveles de calcio en ratas Wistar (Hsd:Wi) Ooforectmizadas. Tesis de maestría en Ciencias de la salud y producción animal. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F.
- Rodríguez, P.J.M., Pilosof, M.R.A. (2011). Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocolloids*, 25, 1925-1937.

- Ronkart, S.N., Deroanne, C., Paquot, M., Fougnyes, C. (2010). Impact of the crystallisation pathway of inulin on its mono-hydrate to hemi-hydrate thermal transition. *Food Chemistry*, 119, 317-322.
- Salager, R.A.E. (2005). Tensión Interfacial. Documentación interna. Laboratorio FIRP, Escuela de Ingeniería Química. Universidad de los Andes. Venezuela. www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S203_Tension.pdf
- Sandoval, L., Montellano, L. (2003). Potencial zeta como una herramienta para determinar la aglomeración de las partículas en la reducción del volumen del iodo a disponer. Instituto de Tecnología del Agua. Tesis Licenciatura. Juitepec, Morelos.
- Schramm, L.L. (2005). Emulsions, foams and suspensions fundamentals and Applications. U.S.A, Wiley-VCH.
- Semenova, M.G. (2007). Thermodynamic analysis of the impact of molecular interactions on the functionality of food biopolymers in solution and in colloidal systems. *Food Hydrocolloids*, 21, 23-45.
- Sinterface Technologies. (2004). Tensiometer PAT-1 user manual. Germany.
- Sosa-Herrera, M.G., Berli, C., Martínez-Padilla, L.P. (2008). Physicochemical and rheological properties of oil-in-water emulsions prepared with sodium caseinate/gellan gum mixtures. *Food Hydrocolloids*, 22, 934-942.
- Spinelli, J., Kiick, L., Furst, M. (2008). The role of heparin self-association in the gelation of heparin-functionalized polymers. *Biomaterials*, 29, 1299-1306.
- Steffe, J.E. (1996). Rheological Methods in Food Process Engineering, 2ed. (pp. 98-180). U.S.A. Freeman Press.
- Tárreaga, A., Torres, J.D., Costell, E. (2011). Influence of the chain-length distribution of inulin on the rheology and microstructure of prebiotic dairy desserts. *Journal of Food Engineering*, 104, 356-363.
- Tolstoguzov, V.B. (1997). Protein-polysaccharide interactions. In *Food proteins and their applications in foods*. (pp. 171-198). S. Damodaran and A. Paraf Eds. U.S.A, Marcel Dekker.

- Villegas, B., Costell, E. (2006). Flow behaviour of inulin-milk beverages. Influence of inulin average chain length and of milk fat content. *International Dairy Journal*, *17*, 776-781.
- Walstra, P. (1999). Casein sub-micelles: do they exist?. *International Dairy Journal*, *9*, 189-192.
- Zhao, L., Qiangzhong, Z., Tongxun, L., Wanmei, K., Jucai, Xu., Zhao, M. (2013). Influence of xanthan gum on physical characteristics of sodium caseinate solutions and emulsions. *Food Hydrocolloids*, *32*, 123-129.
- Zimeri, J.E., Kokini, J.L. (2002). The effect of moisture content on the cristallinity and glass transition temperature of inulin. *Carbohydrate Polymers*, *48*, 299-304.