



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**FUNCIONALIDAD Y PROPIEDADES
MECÁNICAS DE
POLISACÁRIDOS Y MEZCLAS DE PROTEÍNAS**

T E S I S

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

**P R E S E N T A
FERNANDA PASCOE HERNÁNDEZ**

**DIRECTOR DE TESIS
Dr. ALBERTO TECANTE CORONEL**



Ciudad Universitaria, CDMX

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente	Alberto Tecante Coronel	_____
Vocal	Lorena De Anda Aguilar	_____
Secretario	Federico Nieto Pineda	_____
1er. Suplente	Roeb García Arrazola	_____
2do. suplente	Mariana Ramírez Gilly	_____

Sitio donde se desarrolló el tema:

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

Asesor del tema:

Dr. Alberto Tecante Coronel

Supervisor técnico

I.A. Mariana Ramírez Gilly

Sustentante

Fernanda Pascoe Hernández

Contenido

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN	4
CAPÍTULO I.....	6
COMPONENTES DEL SISTEMA	6
1.1 ALMIDÓN	6
1.1.1 Aspectos generales	6
1.1.2 Gelatinización.....	7
1.1.3 Almidones modificados	8
1.1.4 “Ghosts starch”	10
1.2 CARRAGENINAS.....	11
1.2.1 Aspectos generales	11
1.2.2 Mecanismo de gelificación de las carrageninas	12
1.2.3 Propiedades químicas y funcionales	13
1.2.4 Comportamiento reológico.....	13
1.3 GELATINA	14
1.3.1 Aspectos generales	14
1.3.2 Colágeno	14
1.3.3 Tipos de colágeno.....	15
1.3.4 Composición y estructura química	16
1.3.5 Tipos de gelatina.....	17
1.3.5.1 Gelatina tipo A	18
1.3.5.1 Gelatina tipo B.....	18
1.3.6 Mecanismo de gelificación	19
CAPÍTULO II.....	21
ESTUDIOS PREVIOS.....	21
2.2 PRIMEROS ESTUDIOS DE SEPARACIÓN DE FASES EN DISOLUCIONES DE BIOPOLÍMEROS.....	21
2.3 SISTEMA GELATINA- κ -CARRAGENINA.....	22
CAPÍTULO III	25
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GENERAL	25
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	25
3.3 HIPÓTESIS	25

CAPÍTULO IV	27
MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
4.1 MATERIALES	27
4.2 METODOLOGÍA	28
4.2.1 Preparación de muestras control	28
4.2.2 Preparación de pastas y geles con dos y tres componentes	29
4.2.3 Análisis estadístico	30
CAPÍTULO V	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
5.1 ESTADO FÍSICO DE LAS MUESTRAS.....	31
5.2 Microscopía óptica	32
5.2.1 Pastas de almidón a 90 y 140 °C	33
5.2.2 Pastas de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 y 2.0 % de gelatina	34
a) Tratamiento a 90 °C	34
5.2.3 Pastas de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 y 2.0 % de gelatina	34
b) Tratamiento a 140 °C	34
5.2.4 Pastas de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 y 2.0 % gelatina.....	35
Tratamiento a 90 °C y 140 °C.....	35
5.3 Reometría.....	35
5.3.1 Pastas de almidón preparadas a 90 y 140 °C.....	36
5.3.2 Geles de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 % y 2.0 % de gelatina tratados a 90 °C	38
5.3.3 Geles de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 % y 2.0 % de gelatina tratados a 140 °C	41
5.3.4 Curvas de flujo de mezclas con dos y tres componentes tratados a 140 °C	44
5.3.5 Tangente de delta.....	46
CONCLUSIONES	49
REFERENCIAS	50
ANEXO A	55
ANEXO B.....	56

Índice de Figuras

Figura 1.....	Segmento de la cadena de amilosa (a), segmento de la cadena de amilopectina (b)
Figura 2.....	Estructura química de las carrageninas
Figura 3.....	Mecanismo de gelificación de la carragenina
Figura 4.....	Tres distintos tipos de cadenas que varían en masa molecular que conforman la gelatina
Figura 5.....	Conformaciones posibles de las cadenas α que conducen a la gelificación de la gelatina
Figura 6.....	Esquema general del trabajo experimental.
Figura 7.....	Pastas con 2.0 % de almidón tratadas térmicamente a 90° (a), 120° (b) y 140 °C (c)
Figura 8.....	Pastas de a) almidón + κ -carragenina, b) almidón + 1.5 % de gelatina y c) almidón + 2.0 % gelatina.
Figura 9.....	Propiedades reológicas de pastas con 2 % de almidón preparadas a 90 (símbolos llenos) y 140°C (símbolos vacíos). Izquierda: Espectro dinámico. Derecha: Viscosidad aparente.
Figura 10.....	Espectros dinámicos de 1.5 y 2.0 % de gelatina (símbolos llenos) y sus mezclas (símbolos vacíos): (a) 1.5 % gelatina y 1.5 % gelatina + κ -carragenina; (b) 2.0 % gelatina y 2.0 % gelatina + κ -carragenina; (c) 1.5 % gelatina y 1.5 % gelatina + 2.0 % almidón; (d) 2.0 % gelatina y 2.0 % gelatina + almidón; (e) 1.5 % gelatina y 1.5 % gelatina + κ -carragenina + almidón; (f) 2.0 % gelatina + κ -carragenina + 2.0 % almidón. La concentración de κ -carragenina es 0.5 % en todos los casos.
Figura 11.....	Posible conformación del gel formado por almidón, κ -carragenina y gelatina después del tratamiento a 90 °C.
Figura 12.....	Espectros dinámicos de: a) 0.5 % κ -carragenina + 1.5 % gelatina y 2.0 % gelatina; b) 2.0 % almidón + 1.5 % gelatina y 2.0% gelatina; c) 0.5 % κ -carragenina + 2.0 % almidón + 1.5 % gelatina y 2.0 % gelatina; d) 0.5 % κ -carragenina + 20 mmol/dm ³ KCl + 2.0 % almidón. Mezclas con 1.5 % gelatina (símbolos llenos) y mezclas con 2.0 % gelatina (símbolos vacíos).
Figura 13.....	Posibles estructuras de los geles con dos y tres componentes después del tratamiento a 140 °C (a): κ -carragenina+ gelatina; (b): κ -carragenina+ gelatina + almidón, (c); gelatina + almidón, y (d): κ -carragenina + almidón.

Figura 14.....	Viscosidad aparente de pastas de almidón con: a) 1.5 % gelatina (símbolos llenos), 2.0 % gelatina (símbolos vacíos) y κ -carragenina (puntos); b) 1.5 % gelatina (círculos) 2.0 % de gelatina (triángulos).
Figura 15.....	Tangente del ángulo de desfase de las mezclas binarias [a y c] con 1.5 y 2.0 % gelatina (símbolos llenos y vacíos, respectivamente) con κ -carragenina (triángulos) y almidón (cuadrados) y mezclas ternarias [b y d] tratadas a 90 y 140 °C (columna izquierda y derecha, respectivamente).

Índice de tablas

Tabla 1.....	Composición de la gelatina.
Tabla 2.....	Formulaciones de dos y tres componentes.
Tabla 3.....	Estado físico de las muestras control analizadas a 25 °C después del tratamiento térmico.
Tabla 4.....	Estado físico de las mezclas binarias y ternarias analizadas a 25 °C después del tratamiento térmico.
Tabla B.1.....	Casos a 90 °C.
Tabla B.2.....	Valores de los intervalos de confianza (superior e inferior) de las pendientes y ordenadas al origen de cada formulación tratada a 90 °C.
Tabla B.3.....	Casos a 140 °C.
Tabla B.4.....	Valores de los intervalos de confianza (superior e inferior) de las pendientes y ordenadas al origen de cada formulación tratada a 140 °C.

Nomenclatura

G'	Módulo de almacenamiento de energía	Pa
G''	Módulo de pérdida de energía	Pa
R_f	Radio efectivo de partícula	nm
CH10	Almidón de maíz ceroso modificado químicamente	

Letras griegas

$\dot{\gamma}$	Velocidad de deformación	1/s
δ	Ángulo de desfase	°
η	Viscosidad aparente	Pa*s
ν	Viscosidad cinemática	m ² /s
τ	Esfuerzo inicial (yield stress)	Pa
ω	Frecuencia	rad/s

RESUMEN

Se analizó el comportamiento reológico en corte dinámico y estacionario de gelatina, κ -carragenina y almidón de maíz ceroso modificado químicamente (CH10), y sus mezclas binarias y ternarias variando la concentración de proteína y la temperatura de cocción en presencia de KCl. Se determinó la temperatura de colapso de los gránulos de almidón y estos se examinaron por microscopía óptica. Esta temperatura se usó para preparar geles y pastas con dos y tres componentes. La concentración de los componentes fue 1.5 y 2.0 % gelatina, 0.5 % κ -carragenina con 20 mmol/dm³ de KCl para inducir su gelificación, y 2.0 % CH10. Las temperaturas de cocción fueron 90 y 140 °C. El comportamiento de las muestras control a 90 °C, excepto el CH10, fue de carácter elástico, con G' por arriba de G'' . A 140 °C solo la κ -carragenina formó geles. Todas las mezclas de dos y tres componentes a 90 °C, formaron geles, pero no así a 140 °C. Las mezclas binarias con CH10 formaron pastas y con tres componentes, geles. En las mezclas binarias a 90 °C la κ -carragenina y la gelatina formaron los geles con carácter más elástico que aquellos con CH10 y gelatina. Estos últimos tuvieron el menor carácter elástico de las mezclas binarias y ternarias tratadas a 90 °C. Los geles con tres componentes no mostraron diferencia significativa entre sí; el aumento de 0.5 % de gelatina no aumentó el carácter elástico de los geles. En las mezclas binarias tratadas a 140 °C, los geles con κ -carragenina y gelatina mostraron un mayor carácter elástico que las pastas con κ -carragenina y almidón, cuyos valores de G' fueron más pequeños entre las mezclas de dos y tres componentes. Las mezclas con gelatina y CH10 mostraron un carácter elástico menor que el de las pastas con gelatina y κ -carragenina y mayor que el de κ -carragenina y CH10. Las mezclas ternarias tratadas a 140 °C formaron geles con un carácter elástico menor al esperado, respecto a los geles de tres componentes a 90 °C. De las pastas obtenidas, los gránulos de almidón con κ -carragenina mostraron mayor daño. Con 1.5 y 2.0 % de gelatina, los gránulos mostraron una estructura íntegra, variando en tamaño mostrando con 1.5 % de gelatina un hinchamiento más pronunciado que con 2.0 % de gelatina. El efecto del incremento del volumen del gránulo, tuvo una relación directa sobre la viscosidad aparente de las pastas. Estas mostraron un comportamiento no newtoniano y las curvas de flujo que corresponden a las pastas con gelatina y almidón se encontraron por arriba de la curva de la pasta de κ -

carragenina y almidón. La curva con almidón y 1.5 % de gelatina, es la que mostró valores de viscosidad aparente más grandes debido al tamaño del gránulo.

Abstract

The rheological behavior of pastes and gels made with gelatin, cross-linked waxy corn starch (CH10) and κ -carrageenan, in the presence of KCl, as well as their binary and ternary blends varying gelatin concentration and cooking temperature was analyzed under dynamic and stationary shear. The temperature for which the CH10 granules collapsed was determined and their physical structure examined by light microscopy. This temperature was used to prepare gels and pastes with two and three components. Concentrations were 1.5 and 2.0 % gelatin, 0.5 % κ -carrageenan with 20 mmol/dm³ KCl to induce its gelation, 2.0 % CH10. Cooking temperatures were 90 and 140 °C. Control samples treated at 90 °C, except CH10, showed elastic behavior, with G' above G'' . At 140 °C only κ -carrageenan formed gels. All two- and three-component mixtures at 90 °C, formed gels but not at 140 °C. Binary CH10-containing blends formed pastes and the ternary ones formed gels. In binary blends at 90 °C κ -carrageenan and gelatin formed gels with a more elastic character than those with CH10 and gelatin. The latter had the smallest elastic character among binary and ternary blends treated at 90 °C. Gels with three components showed no significant difference between them, i.e., the 0.5 % increase in gelatin did not have effect on the elastic character. In binary mixtures treated at 140 °C, gels with κ -carrageenan and gelatin exhibited a higher elastic behavior than those with κ -carrageenan and CH10, which showed the smaller values of G' compared with binary and ternary mixtures. Mixtures with gelatin and starch showed a less elastic behavior than gelatin and κ -carrageenan blends and higher than CH10 + κ -carrageenan-containing blends. The ternary mixtures treated at 140 °C formed gels with a lower than expected elastic behavior, relative to the three component gels at 90 °C. From the blends obtained, starch granules with κ -carrageenan showed greater damage due to the presence of amylopectin fragments found in the medium. With 1.5 and 2.0 % gelatin, the granules showed less damage, varying in size with 1.5 % gelatin being more pronounced than with 2.0 % gelatin. The increase in granule volume had a direct relation with the apparent viscosity of the blends. They showed non-Newtonian behavior and the flow curves corresponding to starch and gelatin pastes were above the curve of CH10 + κ -carrageenan paste. The curve with CH10 and 1.5 % gelatin showed higher apparent viscosities due to the size of the granules.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos son considerados como matrices o sistemas complejos y heterogéneos que contienen diferentes especies químicas. En un producto alimenticio cuya formulación consiste en la mezcla de proteínas, lípidos, hidratos de carbono y electrolitos, las interacciones entre estos constituyentes, así como de los aditivos añadidos, requieren condiciones e.g., pH, fuerza iónica, temperatura y concentración, que permitan que el sistema sea estable. Tales interacciones se han convertido en el tema de interés para muchos científicos y tecnólogos en alimentos. Los polisacáridos, independientemente de su concentración, juegan un rol en la determinación de la textura en los alimentos. El aumento de viscosidad, la gelificación y la actividad, son generalmente las propiedades más importantes de los polisacáridos, por lo que son bien reconocidas y ampliamente utilizadas en la innovación y desarrollo de nuevos productos. Los polisacáridos con carga química, i.e. los polielectrolitos, tienen la habilidad especial de interactuar con otros componentes tales como otros polisacáridos, proteínas y lípidos y así modificar las propiedades de los alimentos (Samant, 1993).

Las interacciones proteína-polisacárido se distinguen en los alimentos procesados por dos razones principales. En primer lugar, la estructura, las propiedades reológicas y fisicoquímicas están determinadas en gran medida por el comportamiento de las proteínas y polisacáridos en el sistema alimentario. En segundo lugar, como resultado de investigaciones realizadas en este campo, se han desarrollado nuevos métodos de aislamiento e incorporación de proteínas en nuevos productos alimenticios (Samant, 1993).

Algunas de las aplicaciones más importantes de estas interacciones en el área de alimentos son las siguientes:

- Estabilización en productos lácteos: La adición de carragenina ofrece protección contra la aglomeración de glóbulos grasos inducida por el calcio, en el que la carragenina interactúa con las subunidades de la proteína sensibles al calcio adsorbido sobre la superficie del glóbulo graso.
- Inhibición de precipitación de proteínas: La formación de un complejo proteína-polisacárido soluble en el intervalo de pH que conduciría a la precipitación de proteínas en bebidas de leche con sabor a fruta, en el que el sabor afrutado se

expresa mejor a pH 4.5-5.0. Se ha encontrado que la carboximetilcelulosa, CMC, es particularmente efectiva para mantener las proteínas en disolución.

- Gelificación: Las interacciones proteína polisacárido pueden dar lugar a tres tipos de geles: geles cargados (filled gels), geles mezclados (mixed gels) y geles complejos.

La respuesta mecánica de las pruebas dinámicas oscilatorias, provee información que puede relacionarse con la estructura del material estudiado e.g., la adición de pequeñas cantidades de un hidrocoloide puede incrementar enormemente el módulo elástico por dos razones:

- Debido a la exclusión mutua y al incremento en la concentración de cada uno de los biopolímeros en una mezcla.
- El módulo de cizalla (*shear modulus*) de un gel es usualmente proporcional al cuadrado de su concentración como se puede ver en los experimentos con mezclas de gelatina, dextrana, agarosa y alginato cálcico (Hill, 1998).

Dado que los geles son materiales viscoelásticos, los ensayos reológicos dinámicos son adecuados para estudiar las características de los geles así como de su gelificación y su punto de fusión. Existen tres tipos de pruebas dinámicas que se llevan a cabo para la obtención de propiedades útiles de los geles, su gelificación y su punto de fusión: (1) barridos de frecuencia en donde los módulos de almacenamiento y pérdida, G' y G'' respectivamente, se encuentran en función de la frecuencia (ω) a una temperatura establecida, (2), barrido de temperatura donde G' y G'' están en función de la temperatura (T) y a una frecuencia constante y (3) barrido de tiempo donde G' y G'' están determinados en función del tiempo (t) a una frecuencia (ω) y temperatura (T) dada. Cabe señalar que estos ensayos se llevan a cabo en la zona de viscoelasticidad lineal, ZVL.

CAPÍTULO I

COMPONENTES DEL SISTEMA

1.1 ALMIDÓN

1.1.1 Aspectos generales

El almidón es probablemente el polisacárido más ampliamente utilizado por el hombre; su empleo se ha visto favorecido por su abundancia en la naturaleza ya que gran variedad de organismos vegetales lo emplean como reserva de energía química. El ser humano aprovecha esta abundancia como fuente de energía en los alimentos y como materia prima en industrias como la alimentaria, farmacéutica y textil así como en papel, pegamentos, endulzantes y etanol, entre muchas otras. El almidón es un polímero de glucosa que se encuentra en forma de pequeños gránulos densos, cuyo tamaño y morfología varían dependiendo de su origen. Este polímero está constituido por amilosa, un polisacárido de glucosa unida por enlaces $\alpha(1,4)$ que forman una estructura lineal y por amilopectina, que tiene una estructura ramificada con las cadenas de glucosa unidas por enlaces $\alpha(1,4)$ y ramificaciones en $\alpha(1,6)$ (Figura 1). La longitud de estos polisacáridos varía en función de su origen, ya que pueden estar formados por cadenas de algunos cientos de glucosas o por extensas cadenas de varios miles. En el gránulo de almidón la amilopectina y la amilosa se organizan en capas alternas cristalinas y amorfas que forman anillos radiales de crecimiento (Espinosa-Dzib et al., 2014).

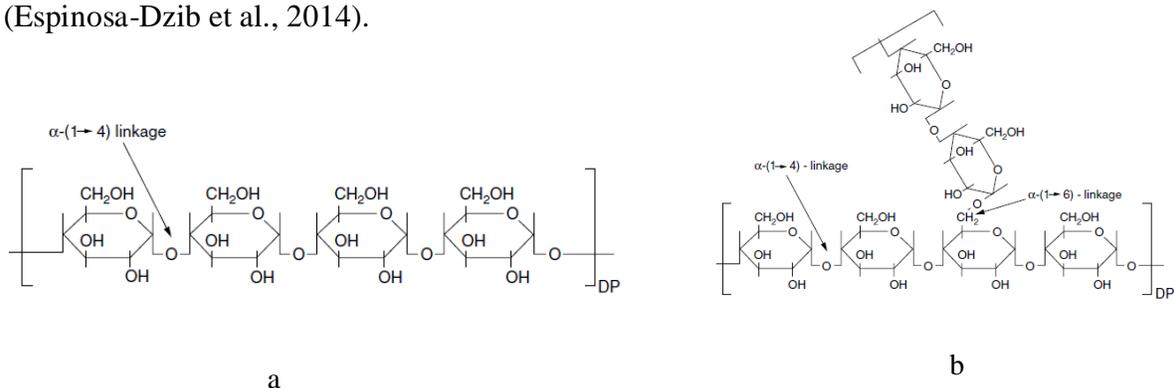


Figura 1. Segmento de la cadena de amilosa (a), segmento de la cadena de amilopectina (b) (Izydorzyk et al., 2005).

1.1.2 Gelatinización

Se conoce como gelatinización al fenómeno que ocurre cuando los gránulos de almidón que son insolubles en agua a temperatura ambiente debido a que su estructura es altamente organizada, se calientan (60-70 °C) y empieza una lenta absorción de agua en las zonas amorfas que son menos organizadas y más accesibles. A medida que aumenta la temperatura, se retiene más agua y el gránulo empieza a hincharse y aumentar su volumen. Este fenómeno puede ser observado bajo el microscopio. Al llegar a cierta temperatura, los gránulos alcanzan un volumen máximo y pierden su patrón de difracción de rayos X y su birrefringencia. El intervalo de temperaturas sobre el cual tiene lugar el hinchamiento de todos los gránulos se conoce como intervalo de gelatinización y es característico de la variedad particular de almidón. Al producirse el hinchamiento de los gránulos, hay también lixiviación de la amilosa la cual queda en dispersión coloidal mientras que los gránulos intactos permanecen en suspensión. Si se continúa administrando calor a los gránulos hinchados, se romperán parcialmente y la amilosa y la amilopectina se dispersarán en la suspensión. Al final de este proceso se produce una pasta en la que las cadenas de amilosa están altamente hidratadas y rodean a los agregados, también hidratados, de restos de los gránulos. Se forma así, un sistema de al menos dos fases en el cual la fase continua puede considerarse una disolución acuosa de amilosa y una fase dispersa constituida por restos de gránulos y gránulos hinchados. Este estado físico es característico de los almidones normales o nativos cuyos gránulos están formados por amilosa y amilopectina. En el caso de los almidones de cereales cerosos, i.e. “waxy”, cuyo contenido de amilosa es inferior a 1.0 %, la fase continua está prácticamente libre de amilosa y puede haber en ella amilopectina dependiendo de la solubilidad del almidón (Espinosa-Dzib et al., 2014).

Los grupos hidroxilo disponibles de la amilosa y la amilopectina, presentan reactividad específica de alcoholes; es decir, pueden ser oxidados y reducidos, participando en la formación de enlaces. Estos grupos pueden formar sales y participar en la formación de éteres y ésteres. Por tanto, las características químicas y estructurales de las moléculas que componen el almidón, se pueden modificar por métodos químicos, físicos o biotecnológicos, con lo cual se pueden mejorar ciertas propiedades que no son deseables en el almidón nativo.

1.1.3 Almidones modificados

El uso regular de los almidones nativos en la industria está limitado por las propiedades físicas y químicas que estos presentan; los gránulos son insolubles en agua y requieren de un tratamiento de cocción para lograr su dispersión. Muy a menudo, la viscosidad del almidón nativo cocido es muy grande para ciertas aplicaciones. Además, las características reológicas de algunos almidones dispersados como el de papa, tapioca y “waxy” confieren una textura gomosa y cohesiva a los alimentos que han engrosado ellos mismos, destruyendo su palatabilidad (Espinosa-Dzib et al., 2014). Muchos de los almidones nativos también tienen una tendencia marcada a disminuir su viscosidad y su poder espesante durante la cocción, particularmente en presencia de alimentos ácidos o cuando son calentados en retortas. Las dispersiones de almidón que contienen amilosa como las del maíz y trigo tienden a formar geles rígidos y opacos al enfriarse. En almacenamiento, los geles pueden también perder la propiedad de retención de agua, produciendo así una sinéresis o una separación de fases. Por otro lado, las dispersiones de almidón “waxy”, por su contenido de amilosa, producen geles suaves por la formación de segmentos lineales de la amilopectina que tienden a asociarse conforme pasa el tiempo. Los almidones modificados están diseñados para corregir una o más de las deficiencias antes mencionadas que limitan la utilización de los almidones nativos en la industria alimentaria. Debe tenerse en cuenta que la mayoría de los almidones modificados se desarrollaron antes de 1980 y que su naturaleza y tratamiento se ha mantenido para cumplir con los lineamientos de la FDA (Food and Drug Administration) y la FAO (Food and Agricultural Organization) (Stephen, 2006). A continuación, se mencionan algunas modificaciones químicas en el almidón.

Oxidación. Existen dos grandes clases de almidones tratados con agentes oxidantes, los cuales se someten a un tratamiento con ciertos agentes oxidantes específicos a niveles muy bajos. Estos son oxidados comúnmente con NaClO_4 (hipoclorito de sodio) así como con H_2O_2 (peróxido de hidrógeno), KMnO_4 (permanganato de potasio), $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (persulfato de amonio) y $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_3$ (ácido peroxiacético). Estos dos tipos de almidones se conocen como almidón blanqueado y almidones tratados con hipoclorito.

Entrecruzamiento o reticulación (Cross-linking)

El propósito de este tratamiento es reforzar con enlaces químicos los puentes de hidrógeno responsables de la integridad del gránulo. Cuando los almidones nativos son calentados en agua arriba de la temperatura de gelatinización, los enlaces de hidrógeno que mantienen intactos los gránulos se debilitan, permitiendo que se hinchen tangencial e irreversiblemente muchas veces mientras se embeben de agua. Al ocurrir esto, el gránulo pierde su birrefringencia, su viscosidad aumenta inicialmente y la dispersión comienza a aclararse. Si la cocción continúa, los gránulos hinchados, colapsan y fragmentan, liberando al medio, moléculas, agregados y fragmentos (“ghosts starch”). La viscosidad disminuye y el sol muestra una textura cohesiva y elástica que no es adecuada para los sistemas alimenticios (Stephen, 2006). Los aditivos tales como la sacarosa, la dextrosa y aquellos que en su estructura tienen grupos hidroxilo propician que la integridad física del gránulo se conserve bajo condiciones de cocción. Los almidones reticulados fueron desarrollados para minimizar o evitar la ruptura del gránulo durante el proceso de cocimiento, proporcionando así almidones con mejor viscosidad y una textura no cohesiva en contraste con una textura cohesiva y gomosa mencionada anteriormente, asociada con dispersiones de almidones no modificados. Existen dos tipos de almidones entrecruzados químicamente; almidones adipato y almidones fosfato, teniendo el primero un espacio amplio e hidrofóbico; el último cuenta con carga eléctrica. Los almidones adipato, se preparan tratando una suspensión acuosa de almidón granular con un anhídrido mixto adípico-acético en condiciones ligeramente alcalinas. Este almidón modificado es ampliamente utilizado y su preparación ha sido modificada. El otro tipo de almidón se logra mediante el tratamiento de una suspensión acuosa de gránulos de almidón en condiciones alcalinas con POCl_3 (oxicloruro de fósforo) o $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$ (trimetafosfato sódico) (Stephen, 2006).

Estabilización. Esta categoría de almidones modificados cubre aquellas alteraciones obtenidas haciendo reaccionar algunos de los grupos hidroxilo en las moléculas de almidón con reactivos mono-funcionales para introducir grupos sustituyentes. En la mayoría de los casos, el propósito primario de este tipo de tratamiento es estabilizar la amilosa frente a la retrogradación y la fracción de amilopectina frente a la asociación intermolecular. A través de la introducción de grupos sustituyentes en amilosa y ramas de amilopectina, la linealidad puede ser interrumpida y las moléculas y ramas pueden impedirse estéricamente de modo

que ya no se pueden acercarse suficientemente estrechamente para establecer dicha asociación, evitando así el proceso de retrogradación (Stephen, 2006).

Almidón pregelatinizado

El almidón granular que sufre intenso hinchamiento en agua fría se elabora por calentamiento de almidón de maíz común en 75-90 % de etanol o por un proceso especial de secado por nebulización. El producto puede dispersarse en disoluciones de azúcar o jarabes de maíz mediante agitación rápida. La dispersión resultante puede ser introducida en moldes, donde se transforma en un gel rígido que puede ser cortado fácilmente. El resultado es como el de los caramelos de goma. El almidón *dispersable* en agua fría es también muy útil para la fabricación de postres y masas de galletas de los que contienen partículas incluidas, como pueden ser grosellas o arándanos, que de otro modo irían al fondo antes de que la masa adquiriera consistencia en el horneado (Fennema, 2002).

1.1.4 “Ghosts starch”

En la industria, muchas de las aplicaciones en las que el almidón participa, incluyen su calentamiento en agua, que altera el arreglo molecular de los polímeros que se encuentran dentro de los gránulos de almidón, que se ha explicado anteriormente como el fenómeno de gelatinización. Los almidones gelatinizados contienen típicamente una mezcla de polímeros solubilizados (la amilosa y amilopectina lixiviadas de baja masa molar) junto con estructuras granulares residuales que son conocidos también como fragmentos de almidón o “ghosts starch”. La importancia de estos gránulos de almidón “fantasmas” en la determinación de las propiedades de los almidones tratados térmicamente, a menudo se subestima, tratándolo como un polímero perfectamente disuelto, como suele suceder con otras disoluciones de biopolímeros e.g. gelatina y agar. Estos fragmentos están enriquecidos con amilopectina (Eliasson, 2000). La presencia de estos fragmentos, cuyo tamaño aproximado es de 10-200 μm , dentro de un sistema polimérico homogéneo en un sistema alimentario, puede afectar procesos moleculares como la separación de fases así como la

contribución a propiedades funcionales de los almidones que juegan un rol importante en la textura y precepción sensorial, e.g., viscosidad, reología y tribología (Zhang, 2014).

1.2 CARRAGENINAS

1.2.1 Aspectos generales

Carragenina es un término genérico para designar a una familia de polisacáridos aniónicos extraídos de algas rojas. Estos biopolímeros lineales e hidrosolubles se están utilizando cada vez mas como agentes espesantes, estabilizantes o gelificantes en aplicaciones que van desde los alimentos hasta los productos farmacéuticos. La carragenina es clasificada en tres tipos de uso industrial: kappa (κ); iota (ι) y lambda (λ). La presencia de estos tipos de carragenina depende del tipo de alga del que fueron extraídas, la temporada en que fueron cosechadas así como del procedimiento de extracción (Venugopal, 2011). Las carrageninas también conocidos como carragenanos son polisacáridos estructurales provenientes de algas marinas rojas de la clase Rhodophyceae. Son extraídos principalmente de *Chondrus crispus*, *Euchema cottoni*, *Euchema spinosum*, *Gigartina skottsbergi*, e *Iradaea laminarioides*. Estas algas rojas crecen a lo largo de las costas atlánticas de América del norte, Europa y las costas occidentales del Pacífico de Japón y Corea (Cui, 2005). Las carrageninas son cadenas lineales de unidades D-galactopiranosilo unidas mediante enlaces (1→3)- α -D- y (1→4)- β -D-glicosídicos alternantes, en las cuales la mayoría de las unidades de azúcar tienen uno o dos grupos sulfato esterificados en el grupo hidroxilo de los átomos de carbono C-2 o C-6. Ello proporciona un contenido en sulfato del 15 a 40 %. Las unidades a menudo contienen un anillo 3,6-anhidro. Las estructuras principales se denominan kappa (κ), iota (ι) y lambda (λ) (Fenema, 2002). Estas carrageninas tienen una masa molar entre 10^5 y 10^6 g/mol y sus estructuras difieren entre sí debido al contenido de grupos sulfato, por ejemplo, la κ -carragenina tiene un 3-6, anhidrogalactosa y solo un grupo éster sulfatado haciéndolo menos hidrofílico y soluble en agua, por otro lado la λ -carragenina no tiene en su estructura 3-6, anhidrogalactosa pero tiene tres grupos sulfato por lo que es fácilmente soluble en agua.

Las unidades de disacárido que se muestran en la Figura 2 representan el bloque de construcción predominante en cada tipo, pero no tienen por qué ser unidades de repetición. Las carrageninas, una vez extraídas, son mezclas de polisacáridos no homogéneos (Fennema, 2002).

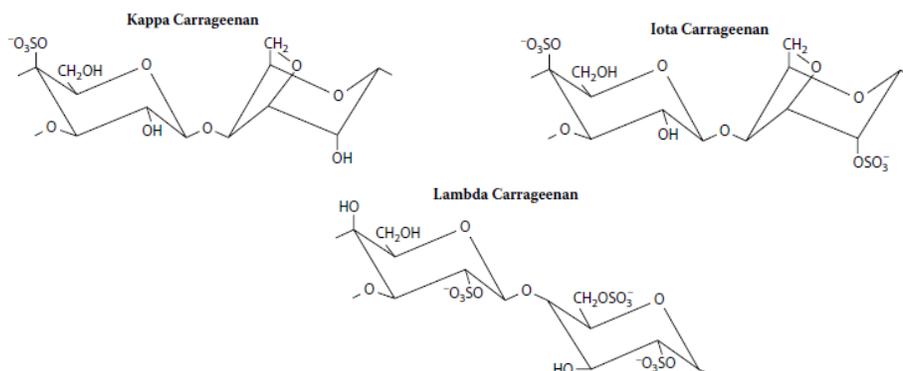


Figura 2. Estructura química de las carrageninas (Venugopal, 2011).

1.2.2 Mecanismo de gelificación de las carrageninas

La gelificación térmica es una de las propiedades más sobresalientes de las carrageninas que determina sus diferentes aplicaciones. Estas difieren en su habilidad para formar geles; mientras que la κ-carragenina y la ι-carragenina forman geles, la λ-carragenina no los forma y se comporta como un polielectrolito en disolución (Venugopal, 2011).

El mecanismo de gelificación no se conoce totalmente; sin embargo, se ha visto que las moléculas de la carragenina desarrollan estructuras helicoidales que a veces reaccionan entre sí, creando una red tridimensional. A temperaturas superiores a las del punto de fusión del gel, se produce una agitación térmica que impide que se formen las hélices, por lo que la conformación del polímero en disolución es al azar (Badui, 2006). Posteriormente, cuando se enfría, se induce una transición de sol a gel que origina la formación de una estructura tridimensional, en la cual las dobles hélices son los puntos de unión de las cadenas de los polímeros (gel I); al seguir enfriándose se favorece la agregación de las moléculas, lo cual da como resultado el establecimiento final del gel (gel II); la rigidez del gel depende de la rapidez con la que estas transiciones ocurren (Fennema, 2002).

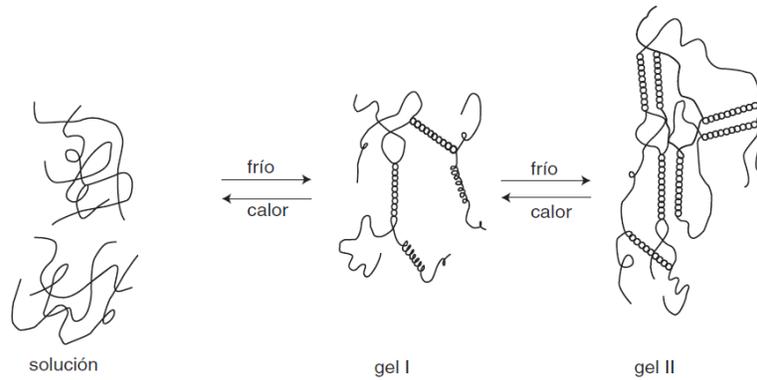


Figura 3. Mecanismo de gelificación de la carragenina (Badui, 2006).

Durante el enfriamiento de las carragenina, la gelificación se produce a causa de que las moléculas lineales son incapaces de formar dobles hélices continuas, debido a la presencia de irregularidades estructurales. Cabe señalar que la κ -carragenina, considerándola como polianión, es altamente sensible a la presencia de sales ya que los cationes afectan el comportamiento de la transición “hebra-hélice” y su agregación (Liu, Huang, & Li, 2016). Michael et al., (1997), confirmaron que al unirse los iones potasio a las hélices de κ -carragenina, se reduce su densidad induciendo así la gelificación. Existen otros iones monovalentes tales como el rubidio y cesio que muestran un mayor efecto en la gelificación no así los iones litio y sodio debido al efecto de apantallamiento (Watase, 1982).

1.2.3 Propiedades químicas y funcionales

Las carrageninas difieren en su solubilidad dependiendo de su composición química y de su carácter hidrofílico, así como de las sales que las acompañen. La sal potásica de la κ -carragenina es prácticamente insoluble en agua fría, mientras que la sal de sodio se disuelve fácilmente. De manera similar, aunque la sal de sodio de la ι -carragenina es soluble en agua fría las sales de potasio y calcio de la κ y ι -carragenina no son solubles (Venugopal, 2011).

1.2.4 Comportamiento reológico

La viscosidad de las carrageninas depende de la concentración, la temperatura, la presencia de otros solutos así como de su masa molar. La viscosidad aumenta así exponencialmente con la concentración. Las sales disminuyen la viscosidad de las disoluciones de

carragenina por reducción de la repulsión electrostática entre los grupos sulfato. Para los tipos de carragenina que pueden formar geles; κ y ι -carragenina (Venugopal, 2011), las mediciones reológicas han sido de gran ayuda para entender el comportamiento de los geles de carragenina. Las carrageninas se disuelven en agua y forman disoluciones de alta viscosidad. La viscosidad alcanzada es muy estable en un amplio intervalo de valores de pH, puesto que los grupos semi-éster de sulfato están siempre ionizados, incluso en condiciones de fuerte acidez, lo que proporciona a las moléculas una carga neta negativa (Fennema, 2002).

1.3 GELATINA

1.3.1 Aspectos generales

La palabra *Gelatina* se deriva de la palabra en latín *gelata* que describe su característica más importante, la formación de un gel en agua; esta se obtiene a través de la hidrólisis del colágeno, proveniente de piel, de tejido conectivo blanco y de huesos de animales. Una definición más apropiada es dada por Veis: “Las gelatinas son una clase de sustancias proteínicas que no existen como tal en la naturaleza, pero se derivan de una proteína “parental” que es el colágeno en el que todo proceso de obtención tiene como finalidad la destrucción de la estructura secundaria del colágeno y, en muchos casos, la estructuras primaria y terciaria. El componente proteínico principal del tejido conectivo que sirve principalmente como resistencia al esfuerzo de tensión en todos los vertebrados, mientras que proteínas relacionadas se encuentran en cualquiera de los filos inferiores” (Nijenhuis, 1997). Puesto que todas las gelatinas se derivan del colágeno, es preciso describir la estructura de esas macromoléculas antes de discutir acerca de la gelatina.

1.3.2 Colágeno

El colágeno es la principal fracción del tejido conectivo. Este componente es muy importante debido a que contribuye de manera significativa a la dureza del músculo de mamífero. Además, la gelatina, producto de su desnaturalización parcial, es un ingrediente

útil en muchos productos alimenticios pues actúa como componente funcional de los geles dependientes de la temperatura en la elaboración de postres. El colágeno abunda en los tendones, piel, hueso, sistema vascular de los animales y en las vainas de tejido conectivo que envuelven al músculo. El colágeno alcanza un tercio o más del total de las proteínas de los mamíferos. Alrededor de 10 % de la proteína del músculo del mamífero es colágeno; esta cantidad es, generalmente, mucho menor en los pescados. Parte del colágeno es soluble en disoluciones salinas neutras, otra parte es soluble en ácido y una tercera es insoluble. La importancia del colágeno también difiere entre especies. En los mamíferos y aves, tanto la cantidad como el tipo de colágeno tienen una gran influencia sobre las propiedades texturales del músculo. Sin embargo, en los pescados, el colágeno se ablanda fácilmente por los procedimientos normales de cocinado y no tiene una mayor influencia en las propiedades texturales del producto final (Fennema, 2002).

1.3.3 Tipos de colágeno

El colágeno existe en diversas formas; el tipo más común de colágeno es el tipo I formado por dos cadenas polipeptídicas idénticas denominadas $\alpha 1$ (I) y una tercera cadena $\alpha 2$ que tiene una secuencia de aminoácidos distinta. Las tres cadenas se mantienen unidas entre sí por enlaces de hidrógeno. Un segundo tipo de colágeno, el tipo III, está formado por tres cadenas idénticas designadas α III. Este tipo de colágeno es inusual porque tiene enlaces disulfuro intramoleculares en el péptido carboxiterminal no helicoidal. Un tercer tipo de moléculas de colágeno, el tipo IV es aproximadamente un tercio más largo que los tipos I y III y, al igual que el colágeno III, contiene residuos de cisteína oxidables. El colágeno tipo IV es rico en hidroxiprolina e hidroxilisina. Tiene una región globular no helicoidal en el C-terminal. Se cree que forma láminas de un entramado en forma de telaraña de una estructura en “malla de alambre para gallineros” por interacción de dos C-terminales y el solapamiento de cuatro N-terminales adyacentes mediante enlaces disulfuro. El cuarto tipo de colágeno es el colágeno tipo V. Al igual que el tipo IV es rico en hidroxiprolina e hidroxilisina, pero no contiene cisteína. Es de aproximadamente la misma longitud que los tipos I y II (este último no se encuentra en la carne de mamífero) y está formado por dos o tres tipos diferentes de cadenas.

1.3.4 Composición y estructura química

El monómero del colágeno (tropocolágeno) es una varilla de triple hélice formada por tres cadenas α paralelas formando una superhélice; tiene una longitud de 300 nm y 1.5 nm de diámetro y una masa molar aproximado a 300 000 g/mol. Tras la fabricación de gelatina la molécula de colágeno se despliega en una mezcla de cadenas como se puede ver en la Figura 4.

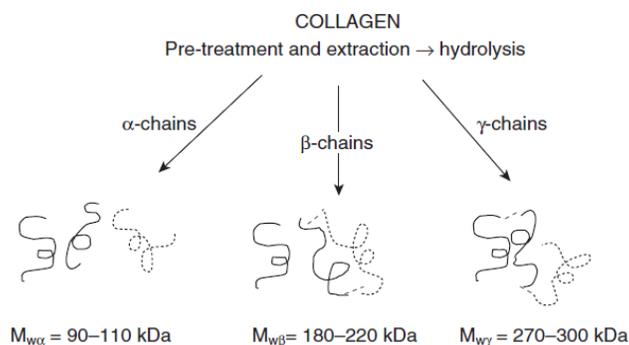


Figura 4. Tres distintos tipos de cadenas que varían en masa molecular que conforman la gelatina (Phillips & Williams, 2009).

La composición general de aminoácidos (Ver Anexo A) en la gelatina es Gly-X-Y donde usualmente X es la prolina y Y la hidroxiprolina; estos tripletes conforman la gelatina y el colágeno. Los aminoácidos sulfurados están virtualmente ausentes y los entrecruzamientos entre las cadenas por sí mismos no implican estos tipos de residuos. En la gelatina y el colágeno, las cadenas consisten en una parte polar y otra no polar; en el triplete que se encuentra en esta región, Y es un aminoácido no polar predominantemente hidroxiprolina; estas regiones están intercaladas con regiones polares las cuales son relativamente deficientes en prolina e hidroxiprolina. La presencia y distribución de la carga en los aminoácidos polares y no polares provee a la gelatina propiedades químicas únicas: las cadenas laterales de la molécula de gelatina que presentan aminoácidos ácidos y básicos, confieren características polielectrolíticas que la hacen un anfótero. A pH menor que su p.I. la gelatina tiene carga positiva y por arriba tendrá carga negativa. En consecuencia se disuelve fácilmente en agua en condiciones adecuadas y forma disoluciones coloidales ya que por sus propiedades químicas es un hidrocóide multifuncional con una actividad de superficie considerable (Phillips & Williams, 2009). Varios científicos han demostrado que

la estabilidad térmica del colágeno está relacionada con su contenido en pirrolidina (Piez and Gross, 1960; Harrington and Rao, 1967; Leuenberger, 1991; Sarabia et al., 2000; Haug et al., 2003) y esto es la evidencia que sugiere que la hidroxiprolina, que tiene un anillo de pirrolidina localizado en la tercera posición del triplete, es el principal estabilizador debido a su capacidad de formar puentes de hidrógeno. Así como el contenido de prolina más hidroxiprolina dicta la estabilidad térmica del colágeno, el contenido y la distribución de estos iminoácidos son también los principales factores que determinan las propiedades físicas de la gelatina. Cabe señalar que la estabilidad de la triple hélice de colágeno se debe a la interacción de puentes de hidrógeno inter-catenarios que son perpendiculares a los ejes de las cadenas de la proteína. Un parámetro crítico para el colágeno y la gelatina es la temperatura de transición de un estado ordenado a un estado desordenado, i.e., hélice-hebra, o la temperatura de desnaturalización que está dominada también por el contenido de residuos de pirrolidina (Phillips & Williams, 2009).

1.3.5 Tipos de gelatina

La obtención de la gelatina como se ha mencionado, es a partir de una hidrólisis, sin embargo, es importante señalar que, dependiendo de la fuente de obtención, la gelatina es clasificada en Tipo A y Tipo B. Las áreas más importantes en las que es utilizada la gelatina son las industrias farmacéuticas, en fotografía y en la industria de alimentos; en esta última, la gelatina puede ser utilizada como un agente gelificante, espesante o estabilizante, difiere de otros hidrocoloides porque muchos de ellos son polisacáridos tales como, las carrageninas y pectinas, mientras que la gelatina, es una proteína totalmente digerible, que contiene todos los aminoácidos esenciales, exceptuando el triptófano (Imeson, 1997). Comercialmente la gelatina puede ser definida como una proteína pura de origen animal, cuya composición se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición de la gelatina.

Proteína	85-90 %
Humedad	8-13 %
Cenizas	0.5-2.0 %

1.3.5.1 Gelatina tipo A

Es aquella que se deriva de un colágeno joven, como la obtenida de piel de pollo, cerdo y algunos pescados. Un leve tratamiento ácido es generalmente suficiente para extraer la gelatina del colágeno. Este tipo de gelatina tiene un p.I. alto (pH 6-9) y por lo tanto lleva una carga neta positiva en la mayoría de aplicaciones alimentarias. Es una gelatina menos viscosa (a la misma fuerza del gel) que la gelatina tipo B.

1.3.5.1 Gelatina tipo B

La gelatina es extraída de fuentes de colágeno maduras, altamente reticuladas, como de la piel de ganado, de huesos y cartílago. Su uso es limitado en el área de alimentos. Este tipo de gelatina requiere un tratamiento más vigoroso para su solubilidad, por ejemplo, se requiere un tratamiento previo con una disolución básica por pocos días. El p.I. de esta gelatina está muy cerca de 5 (pH = 4.8-5.0); esto lleva una carga neta positiva o negativa dependiendo de las condiciones de acidez del alimento. La combinación de los pre-tratamientos y la extracción, hace que la gelatina sea el producto de una mezcla de cadenas polipeptídicas de composiciones y masas molares diferentes; cadenas α libres, cadenas β donde dos cadenas α están unidas covalentemente y las cadenas γ donde tres cadenas alfa están unidas covalentemente. Químicamente la piel contiene una mezcla de colágeno Tipo I y Tipo III, mientras que el cartílago tiene una preponderancia en el tipo I y III de colágeno, respectivamente (Yada, 2004).

1.3.6 Mecanismo de gelificación

La gelificación de disoluciones acuosas de gelatina es un proceso que ha sido ampliamente investigado en el pasado gracias a sus diversas aplicaciones. El entendimiento del proceso de gelificación de este biomaterial es un problema muy delicado ya que varios factores como la fuerza iónica, el pH de la disolución, la masa molar, la concentración así como la fuente de colágeno, pueden afectar las propiedades de estos geles. Sin embargo, el mecanismo de gelificación para todos los sistemas está básicamente relacionado con solo un parámetro termodinámico: la temperatura. Claramente la gelificación es un efecto térmico, los geles son termorreversibles (Djabourov, 1988). La gelatina se disuelve fácilmente en agua por calentamiento de las disoluciones alrededor de 40 a 50 °C. Se cree que después las cadenas de gelatina se encuentran en un estado desordenado. Cuando las disoluciones son enfriadas por debajo de 30 °C toma lugar una transición reversible hebra-hélice, como puede verse en la Figura 5. Esta puede ser detectada mediante una modificación importante en la rotación óptica principalmente por observarse una conformación de hélice a izquierdas (left-handed helix). Las hélices se encuentran estabilizadas por puentes de hidrógeno que son perpendiculares a sus ejes de rotación. Así, a concentraciones menores que 0.1 g/100g, se forman enlaces intramoleculares por el plegamiento de las cadenas individuales de la gelatina. A concentraciones $c \geq 1\%$ (1g/100g), el crecimiento de la hélice induce la asociación de la cadena y la formación de una red tridimensional (Nijenhuis, 1997), es decir, las preparaciones de gelatina menores de 20, 000 g/mol no pueden formar geles. (Fennema, 2002). Básicamente, se han propuesto dos modelos diferentes de “encadenamiento”, es decir, de gelificación:

- Una transición conformacional hebra-hélice por la asociación local de tres cadenas diferentes (enlaces intermoleculares) a lo largo de las secuencias helicoidales cortas.
- Un mecanismo de cristalización que conduce al crecimiento de la fibra, similar al Modelo de Micelas con Fleclos de un polímero cristalino. El diámetro de la fibra puede depender de la temperatura y concentración.

Desde un punto de vista más general, la gelificación de la gelatina es un proceso físico, que puede ser analizado desde el mismo marco teórico de la gelificación química. El colágeno

desnaturalizado durante la extracción y disuelto en agua, puede dar lugar a tres tipos de geles: el “gel físico” que es termorreversible y se obtiene por enfriamiento; el gel químico que resulta del entrecruzamiento de cadenas inducido por reactivos que son añadidos a la disolución acuosa y por último los hidrogeles donde están presentes ambos entrecruzamientos (Hellio, 2006).

Se ha descrito que la gelificación de la gelatina se da mediante un proceso de dos pasos:

- a) Un proceso rápido inicial
- b) Fase logarítmica >1000 h

Dado que las zonas de unión son ricas en tripletes de (Gly-Pro-Hyp) se podría esperar que las zonas formadas también pudieran presentar estructuras helicoidales similares a las que se hallan en el colágeno nativo. Estas regiones helicoidales son estabilizadas por puentes de hidrógeno para formar dominios de rigidez de largo alcance (Harris, 1990).

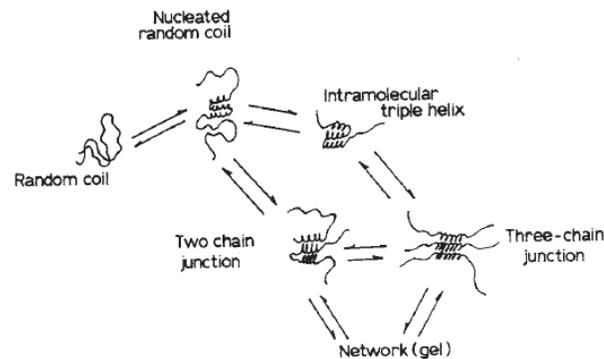


Figura 5. Conformaciones posibles de las cadenas α que conducen a la gelificación de la gelatina (Harris, 1990).

CAPÍTULO II

ESTUDIOS PREVIOS

2.1 INTERACCIONES PROTEÍNA-POLISACÁRIDO

La razón principal detrás del amplio uso de los hidrocoloides en alimentos es su habilidad para modificar el comportamiento reológico de un sistema alimentario. El propósito de combinar ingredientes diferentes es proporcionar ciertas características deseadas en el alimento. No obstante, existen ciertas complicaciones ya que por ser sistemas complejos en los que interactúan lípidos, hidratos de carbono, proteínas, sales y agua. Sus asociaciones, así como la concentración, la fuerza iónica y el pH del medio, promoverán o no la redistribución de los componentes para alcanzar, eventualmente, un estado termodinámico favorable que dé lugar a interacciones *asociativas* o *segregativas*, provocando una separación de fases en la matriz alimentaria. En el caso de que esta matriz sea un gel, la relación entre el umbral de separación de fases de los biopolímeros presentes y su concentración crítica para gelificar es de suma importancia para las propiedades del alimento.

2.2 PRIMEROS ESTUDIOS DE SEPARACIÓN DE FASES EN DISOLUCIONES DE BIOPOLÍMEROS

Las observaciones de las interacciones entre proteínas e hidratos de carbono, en particular de la gelatina y el almidón de papa en un medio acuoso, se remontan a más de un siglo (Beijerinck, 1896). Se encontró que la mezcla de 10 % de gelatina con una suspensión con 10 % solución de almidón, dio como resultado gotitas dispersas de gelatina en la fase volumen de almidón reportando también que al calentar y agitar vigorosamente, no se observaban cambios estructurales en la emulsión agua en agua (Beijerinck, 1910). El comportamiento de las fases gelatina-almidón depende de la fuente de obtención de este último (Ostwald and Hertel, 1929). Tiempo después se encontró que la separación de fases de macromoléculas en disoluciones acuosas es, de hecho, un fenómeno bastante común (Dobry and Boyer-Kawenoki, 1947, 1948).

El uso de la gelatina como uno de los ingredientes clave en la formulación de alimentos, ha estimulado una vasta investigación en sistemas que contienen gelatina y diferentes polisacáridos (Clark et al., 1983; Gotlieb et al., 1988; Kasapis et al., 1993a; Papageorgiou et al., 1994; Abdulmola et al., 1996; Foster et al., 1996; Michon et al., 1996; Al-Ruqaie et al., 1997; Antonov and Goncalves, 1999; Alves et al., 2000; Lau et al., 2000; Lore´n and Hermansson, 2000; Butler and Heppenstall-Butler, 2001; Edelman et al., 2001; Gilsenan et al., 2003; Haug et al., 2004; Tromp et al., 2004; Nickerson et al., 2006; Wolterink et al., 2006; Harrington and Morris, 2009).

2.3 SISTEMA GELATINA- κ -CARRAGENINA

Para conocer el papel que juegan los polisacáridos en los sistemas con gelatina (Derkach et al., 2014), se estudió la contribución de estos ingredientes, analizando la influencia del pH, radio efectivo de partícula, R_f , y la relación de masa, Z , entre gelatina y κ -carragenina sobre las propiedades reológicas viscosidad efectiva, (η) , (aquella resistencia al flujo en una geometría específica) y cinemática, (v) así como el esfuerzo de corte (τ) de dispersiones acuosas y de geles que contienen gelatina tipo B y κ -carragenina, variando las concentraciones de esta última en un intervalo 0.001 - 0.5 % (0.5 g/100 g) con una concentración de gelatina constante de 1.0 % en un intervalo de pH de 5.2 - 5.6 cercano al punto isoeléctrico de la gelatina. Cabe señalar dos aspectos importantes; la κ -carragenina no forma geles a esas concentraciones a menos que se le añadan iones e.g., K^+ , Na^+ y Mg^{+2} (Usov, 1985) y las mediciones de viscosidad para los geles se efectuaron en un viscosímetro rotacional con un sistema de cilindros coaxiales (celda de Couette) a partir de las mezclas de gelatina- κ -carragenina a 30 °C enfriando hasta una temperatura de 14 °C; en el caso de los soles gelatina- κ -carragenina, sus viscosidades se midieron en un viscosímetro de capilar. En el caso de los geles estudiados, estos exhibieron un comportamiento de flujo no newtoniano bajo condiciones de cizalla, en un intervalo de 9×10^{-2} a $18.6 \times 10^1 \text{ s}^{-1}$, en el cual, al aumentar la velocidad de deformación, la viscosidad efectiva disminuyó más de un orden de magnitud. En relación con Z , cuando $Z < 0.1$, es decir, cuando la concentración de κ -carragenina fue menor a este valor, la adición de κ -carragenina no tuvo efecto sobre la

viscosidad de los geles y por el contrario, cuando $Z > 0.1$, la viscosidad aumentó en más de un orden de magnitud. Este efecto análogo se observó sobre el esfuerzo de cedencia que se interpretó como “fuerza del gel” donde este incrementó considerablemente.

Para calcular el esfuerzo de cedencia cuando $Z < 0.1$, las curvas de flujo se aproximaron en términos del modelo Herschel-Bulkley (Ecuación 1), que es un modelo generalizado para fluidos no newtonianos en el cual la deformación que experimenta el fluido está relacionada con el esfuerzo de modo no lineal.

$$\tau - \tau_{Y,HB} = K\dot{\gamma}^n$$

Ecuación 1. Ecuación constitutiva del modelo Herschel-Bulkley

Donde $\tau_{Y,HB}$ es el esfuerzo de cedencia del modelo Herschel-Bulkley, K es el coeficiente de consistencia y n es el índice de flujo.

Por otra parte, la dependencia entre el esfuerzo de cedencia en función de Z , cuando $Z > 0.1$, se aproximó a un modelo exponencial, debido al incremento drástico que presentaron las curvas de flujo a estas concentraciones con una relación estrecha entre las concentraciones de κ -carragenina-gelatina. Así mismo, el esfuerzo de cedencia se relacionó con el R_f y se observó que, a menor contenido de κ -carragenina, es decir, a un R_f pequeño, la variación en τ era muy pequeña; a concentraciones altas de κ -carragenina, mejoraba considerablemente la fuerza del gel. En el caso de las disoluciones de κ -carragenina-gelatina se encontró que no hubo una separación de fases. De forma similar a las características reológicas que se hallaron de los geles antes mencionados, los R_f de los complejos κ -carragenina-gelatina y las viscosidades cinemáticas de las mezclas acuosas dependían sustancialmente de la relación de masa, con ello también se observó que en estas disoluciones existía una correlación muy cercana entre la viscosidad cinemática, v , y R_f del complejo por arriba de $Z > 0.1$. Con los datos reológicos proporcionados de los hidrogeles y las mezclas acuosas iniciales, los autores generaron algunos conceptos respecto a la estructura formada en los geles κ -carragenina-gelatina. A pesar de que la κ -carragenina y la gelatina, al hallarse a valores de pH en los que ambos tienen cargas similares, se formaron complejos polielectrolíticos, ya que la gelatina, por su naturaleza de poli-electrolito débil, permitió ese tipo de interacciones para la formación de ese complejo. Los autores dedujeron

que la relación de masa entre los biopolímeros, parece ser un umbral entre dos estructuras de gel, cualitativamente diferentes, que resultaron del enfriamiento de las mezclas κ -carragenina-gelatina. Conforme disminuyó la concentración de κ -carragenina en las mezclas, los complejos polielectrolíticos κ -carragenina-gelatina estuvieron en equilibrio con macromoléculas de gelatina sin unir, sus R_f no aumentaron y sus viscosidades se mantuvieron constantes. Al enfriarse estas dispersiones, el esfuerzo de cedencia permaneció casi sin cambios al compararlos con los geles de gelatina. Se cree que esto se debió a que las transiciones hélice-cadena en las regiones helicoidales, donde se forman nodos de unión como en el caso de la gelatina, fueron las mismas para estos geles formados. Por otro lado, al aumentar las concentraciones de κ -carragenina, los complejos formaron agregados, incrementando así la relación κ -carragenina-gelatina y por ende el R_f del agregado. Las redes tridimensionales también sufren efectos, porque las dobles hélices de κ -carragenina forman nodos adicionales de unión, manifestándose en un incremento del esfuerzo de cedencia de estos geles. Se concluyó que, en la mezcla de estos biopolímeros, aumentó la fuerza del gel, así como un comportamiento no-newtoniano al aumentar la velocidad de deformación. También se encontró que por arriba de $Z \cong 0.1$, la viscosidad efectiva y la fuerza del gel crecen drásticamente. El radio efectivo de partícula del complejo aumenta en las mezclas acuosas iniciales en las cuales los geles se forman al enfriar las disoluciones. Por último, el incremento de la fuerza del gel, se debe a los cambios en su estructura atribuidos a la aparición de nuevos nodos de unión en la red tridimensional cuya contribución se adjudica a las dobles hélices formadas por las macromoléculas de κ -carragenina por el aumento de la concentración del complejo electrolítico; debido al pH de trabajo, un poco arriba del p.I. de la gelatina, esta se comportó como polielectrolito débil, lo que significa que no toda la gelatina estaba cargada negativamente quedando algunos residuos de aminoácidos ácidos e.g., lisina, histidina y arginina interactuando con los ésteres de ácido sulfúrico de la κ -carragenina que tienen carga negativa, formando así el complejo electrolítico.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de diferentes estados de integridad física del almidón modificado por reticulación química (AMRQ) resultante de la aplicación de diferentes temperaturas de cocción, sobre la viscoelasticidad de geles y pastas formados por sus mezclas con gelatina y κ -carragenina, para evaluar la contribución de dichos estados en las propiedades mecánicas de los geles resultantes con una proteína y un polisacárido.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la temperatura de cocción en la que los gránulos de almidón modificado por reticulación química (CH10) pierden su integridad física, mediante observación en el microscopio óptico, para conocer su estabilidad térmica durante dicha operación.
- Examinar el comportamiento de flujo estacionario y no estacionario de pastas de CH10 cocido a 90 °C y a la temperatura de pérdida de integridad física, para comprender el efecto de diferentes tratamientos térmicos sobre su viscosidad y viscoelasticidad.
- Determinar el efecto de diferentes estados de integridad física del AMRQ resultantes de la aplicación de diferentes temperaturas de cocción, sobre la viscoelasticidad de geles compuestos formados por sus mezclas con gelatina y κ -carragenina, para evaluar la contribución de dichos estados en las propiedades mecánicas de los geles y pastas resultantes con una proteína y un polisacárido.

3.3 HIPÓTESIS

Los gránulos de un AMRQ perderán su integridad física al ser sometidos a una cocción a temperaturas mayores de 120 °C. Esta alteración física modificará su comportamiento viscoelástico en relación con el AMRQ cocido a 90 °C y dará como resultado cambios en la

contribución de los gránulos al comportamiento mecánico de sus mezclas con geles y pastas formados por gelatina y kappa carragenina.

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

Estrategia experimental

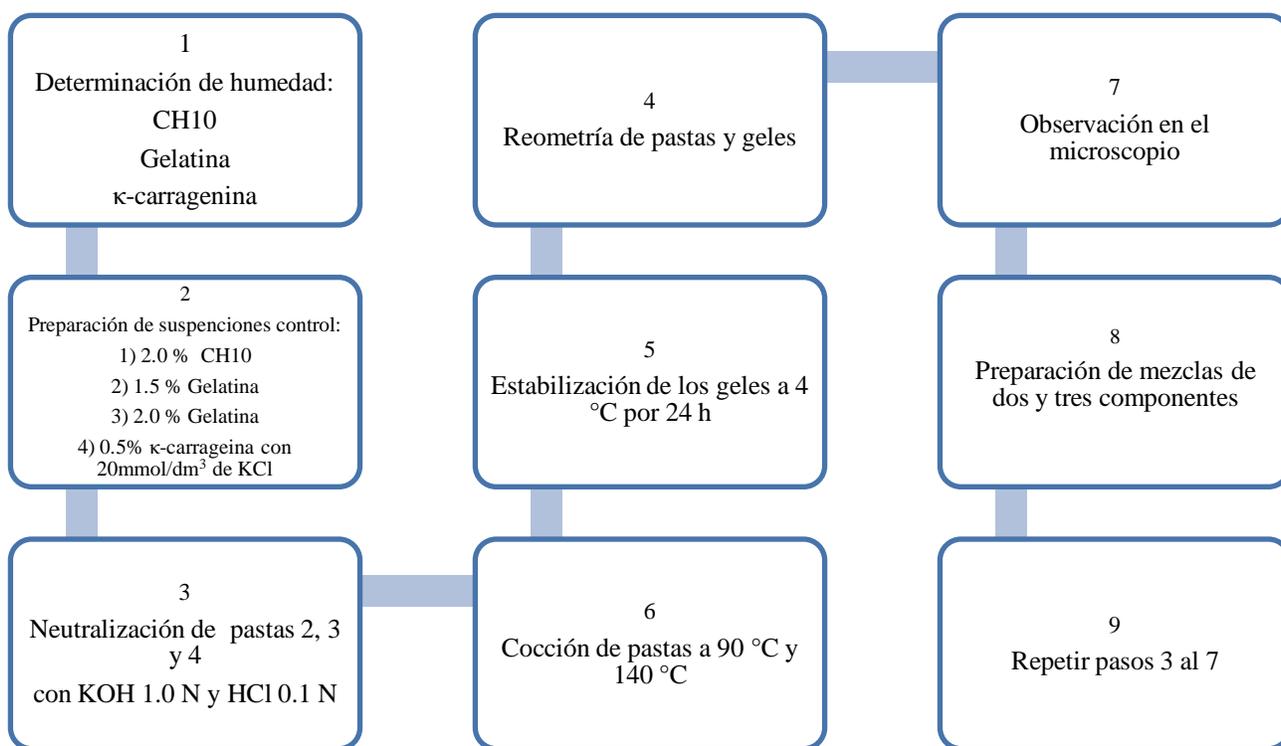


Figura 6. Esquema general del trabajo experimental.

4.1 MATERIALES

Almidón de maíz ceroso reticulado químicamente con ácido adípico y estabilizado con acetato (Clearam® CH10, Roquette Frères, Francia), gelatina tipo A de origen porcino (Sigma-Aldrich, México) y κ-carragenina (Degussa Texturant Systems, Baupte, Francia).

4.2 METODOLOGÍA

4.2.1 Preparación de muestras control

Se determinó la humedad con una termobalanza (Ohaus ®, MB45-2A, USA) de cada uno de los componentes con un método estándar (NMX-F-428-1982). κ -carragenina; 13.2 ± 0.05 %, almidón modificado reticulado químicamente (AMRQ); 11.1 ± 0.28 % y gelatina de origen porcino Tipo A; 10.6 ± 0.27 %.

Se prepararon dos muestras de pasta de almidón al 2.0 % (2 g/100 mL) y se ajustó pH 7.0 ± 0.1 con KOH (1 mol/dm³) y HCl (1 mol/dm³). Una de ellas se sometió a un tratamiento térmico de 90 °C y la otra una serie de tratamientos térmicos para determinar las condiciones en las que el gránulo de almidón modificó su estructura. La observación de la pérdida de la integridad del gránulo se hizo a través de la técnica de microscopía óptica. Para ello se tomó 1 mL de muestra a temperatura ambiente y se diluyó con agua destilada en relación 1:10. Posteriormente se colocó 1 mL de muestra en un portaobjetos y se añadió Lugol (Sigma Chemicals, USA) concentrado para poder hacer visible el gránulo. Se observó en el microscopio (OLYMPUS BX45, Japan) con el objetivo 40X. Las condiciones experimentales que se encontraron i.e., temperatura, tiempo de cocción, se utilizaron para la preparación de las muestras control, así como de las mezclas de dos y tres componentes con las formulaciones mostradas en la Tabla 2.

Tabla 2. Formulaciones de dos y tres componentes.

Formulación	Componente			
	CH10	Gelatina 1.5%	Gelatina 2.0%	κ -carragenina 0.5%
1	X	X		
2	X		X	
3	X			X
4		X		X
5			X	X
6	X	X		X
7	X		X	X

X designa el componente que se encuentra en la formulación.

Se realizaron mediciones reológicas pertinentes a cada pasta; cabe señalar que estas mediciones se efectuaron el mismo día de la preparación de la muestra a 25 °C.

Las concentraciones de gelatina se designaron tomando en cuenta la concentración mínima para que se forme un gel y la facilidad para manipular las muestras.

4.2.2 Preparación de pastas y geles con dos y tres componentes

Se prepararon suspensiones control con 2.0 % de CH10, 1.5 y 2.0 % de gelatina y 0.5 % κ -carragenina con 20 mmol/dm³ de KCl. El pH se ajustó a 7.0 ± 0.1 con HCl (1 mol/dm³) y KOH (1 mol/dm³), exceptuando el CH10. Se usaron vasos de precipitado de 600 mL, inmersos en un baño de agua bajo agitación constante (240 rpm) hasta una temperatura de 80 °C. En esta condición se vaciaron las pastas en tubos de aluminio para formar los geles y se colocaron dentro de un baño de circulación programable (Polystat ®, Cole Palmer, EE.UU.) a 80 °C y se llevó hasta 90 °C con una tasa de calentamiento de 1.2 °C/min, seguida de una etapa isotérmica de 10 minutos y enfriamiento hasta 25 °C a la misma tasa. En el caso de las pastas preparadas a 140 °C seguida de una etapa isotérmica de 10 min y enfriamiento hasta 25 °C, se utilizó un tanque de acero inoxidable, enchaquetado con una tapa hermética del mismo material provisto de un indicador de presión análogo de carátula para medir la presión en el interior del recipiente. Se adaptó un agitador al tanque, de modo que se mezclaran los componentes desde el inicio del tratamiento ya que, por la naturaleza del CH10, este podía sedimentar y la suspensión no sería homogénea. La velocidad de agitación fue de 130 rpm. El calentamiento se hizo mediante un baño calefactor (BÜCHI R-420) con sílica líquida para alcanzar la temperatura deseada. Salvo el almidón tratado a ambas temperaturas, la gelatina y las mezclas binarias de almidón tratados a 140 °C, las suspensiones se estabilizaron a 4 °C por 24 horas para la formación de geles y su posterior análisis en el reómetro (ARES-RFS III, TA Instruments, New Castle, Delaware, USA). Se utilizaron distintas geometrías dependiendo del estado físico de las muestras: para las pastas cono y placa (diámetro del cono 50 mm); para los geles placas paralelas estriadas con un diámetro de 25 mm y un espacio entre placas de 3 mm y para las suspensiones doble

Couette, tamaño del cilindro 31.98 mm; diámetro externo de la copa 34 mm y un diámetro externo del cilindro de 32 mm.

4.2.3 Análisis estadístico

Para analizar la contribución de la concentración de gelatina en las mezclas binarias y ternarias con CH10 y κ -carragenina así como el efecto de las distintas temperaturas de cocción sobre la estructura de los gránulos, se efectuó una regresión exponencial simple entre el módulo de almacenamiento y la frecuencia, con una linearización log-log para examinar, mediante el comportamiento de sus pendientes, la posible diferencia entre tratamientos comparando concentración y temperatura de los geles y pastas estudiados. Si en el intervalo de confianza con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ que hay entre dos pendientes existe la intersección de sus puntos, la relación entre las variables dependiente e independiente, es proporcional y se dice que las pendientes son paralelas o que entre ellas hay paralelismo. La diferencia entre los valores que toma la variable dependiente cuando el valor de la variable independiente es igual a cero, permite conocer por medio de las condiciones que se plantearon en el experimento, lo que hizo diferente a las muestras estudiadas. Este análisis se llevó a cabo comparando dos figuras que corresponden a dos espectros dinámicos que guardan en común la concentración de uno o más componentes a 90 y 140 °C. A cada una de estas comparaciones se le dio el nombre de Casos. Como se verá más adelante, en la mayoría de los Casos, la relación entre la variable independiente i.e., frecuencia y la variable dependiente i.e., módulo de almacenamiento, G' , no es proporcional, es decir, existe cierta independencia entre estas variables y la diferencia entre ellas se debe a la interacción de los componentes. Para las conclusiones referentes al análisis estadístico con más detalles, refiérase al Anexo B de este documento.

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 ESTADO FÍSICO DE LAS MUESTRAS

El estado físico de las muestras control como de sus mezclas binarias y ternarias se muestran en las Tablas 3 y 4.

Tabla 3. Estado físico de las muestras control analizadas a 25 °C después del tratamiento térmico

Muestra control	Tratamiento térmico a	Tratamiento térmico a
	90 °C	140 °C
CH10 al 2.0 %	Pasta	Pasta
Gelatina Tipo A 1.5* %	Gel	Suspensión
Gelatina Tipo A 2.0 *%	Gel	Suspensión
κ -carragenina 0.5 %* + KCl 20 mmol/dm ³	Gel	Gel

*Todas las concentraciones son g/100 mL

El CH10 formó pastas a ambas temperaturas, aunque como se detalla más adelante el estado físico de los gránulos de almidón, no fue el mismo. Esto implica que los otros componentes están dispersos en un medio acuoso que contienen partículas en suspensión cuya naturaleza es diferente. El tratamiento térmico, no afectó la funcionalidad de la κ -carragenina para formar geles en presencia de KCl. Por lo tanto, la presencia de una red tridimensional de este polisacárido está garantizada independientemente de la temperatura. Por el contrario, el tratamiento térmico sí afectó la funcionalidad de la gelatina. A 90 °C se formaron geles al enfriar, pero esto no ocurrió a 140 °C. Es posible que el tratamiento térmico haya desnaturalizado la proteína afectando de alguna manera su estructura primaria, dando lugar a cadenas más cortas que son incapaces de formar las redes necesarias para formar un gel. Cabe señalar que la capacidad gelificante de la gelatina depende en gran medida de su concentración como se mencionó anteriormente. Las mezclas binarias de CH10-gelatina, Formulaciones 1 y 2, formaron geles cuando el tratamiento térmico se efectuó a 90 °C, pero cuando fue a 140 °C no ocurrió gelificación.

Esto se debe posiblemente a la afectación sufrida por la gelatina a alta temperatura. La mezcla de CH10-carragenina tuvo el mismo comportamiento a 140 °C, es decir, tampoco hubo formación del gel. Esto no es congruente con el comportamiento de la carragenina sola dado que el polisacárido para ambas temperaturas de tratamiento térmico. Las mezclas gelatina-carragenina formaron geles sin importar la temperatura de tratamiento térmico. A 90 °C ambos componentes formaron geles de manera individual. A 140 °C solo la carragenina gelificó y por ende en la mezcla con gelatina, la gelificación ocurrió por la presencia de la carragenina. Finalmente, en las mezclas ternarias hubo gelificación, independientemente de las temperaturas de tratamiento térmico. Como en el caso de las muestras binarias gelatina-carragenina, a 90 °C ambos componentes fueron responsables de la gelificación, mientras que a 140 °C, solo la carragenina fue el componente formador de gel.

Tabla 4. Estado físico de las mezclas binarias y ternarias analizadas a 25 °C después del tratamiento térmico

Formulación	Tratamiento térmico 90 °C	Tratamiento térmico 140 °C
1	Gel	Pasta
2	Gel	Pasta
3	Gel	Pasta
4	Gel	Gel
5	Gel	Gel
6	Gel	Gel
7	Gel	Gel

5.2 Microscopia óptica

Se realizó el análisis de la muestra control de AMRQ, así como de las formulaciones en las que este forma parte y además, en aquellas que su estado físico lo permitió. Existe evidencia del proceso de hinchamiento, gelatinización y ruptura del gránulo de almidón nativo de diferentes especies. Sin embargo, en el caso de los almidones modificados químicamente, como el CH10 usado en este trabajo, el comportamiento es diferente. Los gránulos de CH10 se hinchan y resisten el tratamiento térmico debido a la reticulación química. Al mismo tiempo, por su naturaleza “waxy” este almidón está prácticamente libre

de amilosa. Esto resulta en una solubilidad muy baja; típicamente menor de 2.0 %. Este comportamiento es el que ocurre a 90 °C y está bien documentado (Espinoza-Dzib et al., 2014). Sin embargo, a 140 °C la reticulación química no es lo suficientemente fuerte para evitar el colapso de los gránulos, como se detalla en la siguiente sección.

5.2.1 Pastas de almidón a 90 y 140 °C

La Figura 7a muestra los gránulos de almidón modificado después de someterlo a 90 °C, con la rampa isotérmica de 10 min a una tasa de calentamiento de 1.2 °C/min, en la que se observan gránulos hinchados sin daño en su integridad física. Se examinó también el tratamiento a 120 °C para probar condiciones de esterilización (120 °C, 15 psig, 15 min) para saber si estos gránulos sufrían algún daño, como ruptura, pero se no se observó daño bajo estas condiciones. Cabe señalar que, aunque la integridad física no muestra modificación aparente, salvo que está más hinchado, existen pequeños fragmentos de almidón, es decir, fragmentos de amilopectina, lo que indica que a partir de esas condiciones el gránulo comienza a dañarse (Figura 7b). Por cuestiones de seguridad, se trabajó en un intervalo de temperatura y presión de 120-140 °C y 20-40 psig ya que la presión máxima de operación del recipiente es 60 psig. A 140 °C y 40 psig se encontró que los gránulos reventaron en su totalidad, mostrando fragmentos muy pequeños y “fantasmas de almidón” (starch granule ghosts). Para poder observar estos fragmentos, la muestra no se diluyó (Figura 7c).

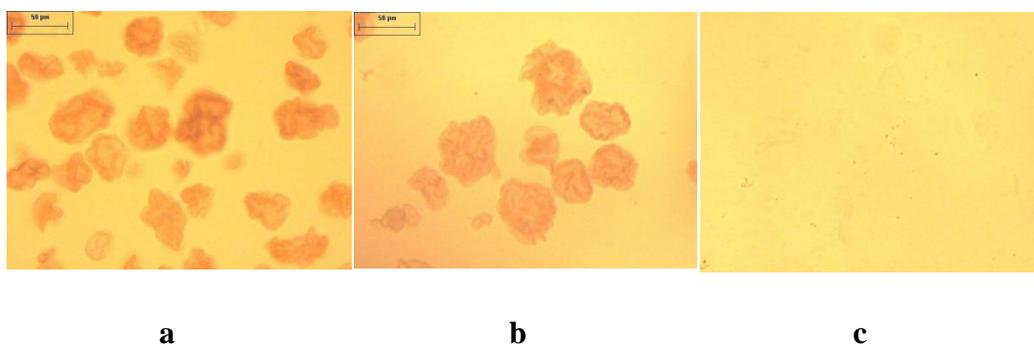


Figura 7. Pastas con 2.0 % de almidón tratadas térmicamente a 90 °(a), 120 °(b) y 140 °C (c) (Microscopio OLYMPUS BX45, Japan).

5.2.2 Pastas de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 y 2.0 % de gelatina

a) Tratamiento a 90 °C

Se prepararon las pastas de dos componentes, en las que se mantuvo constante la concentración de almidón y se varió la concentración del hidrocoloide y la proteína. Estas pastas, a 25 °C, formaron un gel, que por su estructura y estado físico, no permitió hacer observaciones con este tipo de microscopio. No obstante, para permitir la formación completa del gel, se mantuvieron 24 h a 4 °C.

5.2.3 Pastas de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 y 2.0 % de gelatina

b) Tratamiento a 140 °C

Las pastas preparadas bajo estas condiciones no formaron gel a 25 y a 4 °C, por lo que fue posible tomar imágenes en el microscopio óptico. La Figura 8 muestra el daño que sufrió el gránulo de almidón en las mezclas con κ -carragenina y gelatina.

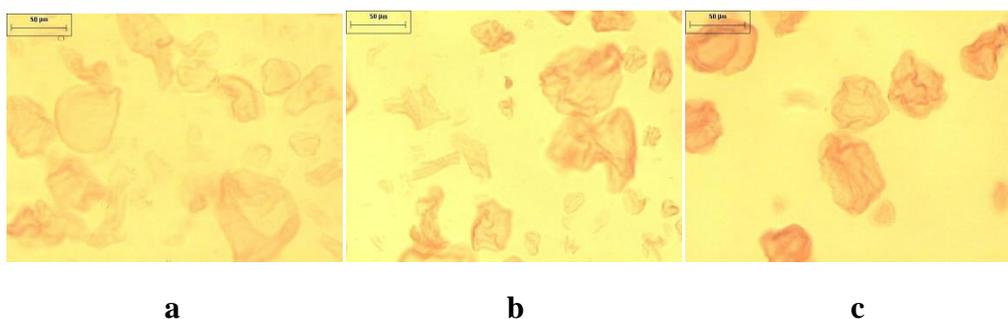


Figura 8. Pastas de a) 2.0 % de almidón + 0.5 % de κ -carragenina, b) 2.0 % almidón + 1.5 % de gelatina y c) 2.0 % de almidón + 2.0 % gelatina (Microscopio OLYMPUS BX45, Japan).

En la Figura 8 se muestran los gránulos de almidón después de haber sido sometidos al tratamiento con una rampa isotérmica de 10 min una tasa de calentamiento aproximada de 2.3 °C/ min debido al modo de operación del equipo. En la Figura 8a se observan gránulos que se encuentran hinchados y más grandes, así como fragmentos de almidón que se hallan alrededor de los gránulos, por lo que se puede decir que, con estas condiciones de

temperatura la adición de κ -carragenina evitó parcialmente el colapso de los gránulos de tal forma que fue posible observarlos casi íntegros. En la figura 8b se observan menos fragmentos de almidón alrededor de los gránulos, los cuales se encuentran hinchados como los que aparecen en la Figura 7a. Sin embargo, su estructura es más visible y con menor daño aparente porque se distinguen mejor. En la Figura 8c se observan gránulos cuya estructura física se asemeja a la estructura de los gránulos en la Figura 7b; en esa imagen, los fragmentos de almidón se encuentran en una cantidad menor respecto a las Figuras 7a y 7b y la integridad del gránulo no se vio afectada por el tratamiento térmico. Se considera que esto se debe a que la gelatina y la κ -carragenina interactúan con los gránulos de almidón desde la preparación de la mezcla de tal forma que después el tratamiento térmico el cambio conformacional de la proteína por desnaturalización y el desdoblamiento de las cadenas su reordenamiento en la κ -carragenina resultan en la formación de una red que protege al gránulo. Estas interacciones pueden ser de tipo covalente y por puentes de hidrógeno. Cabe señalar que el equipo que se utilizó no cuenta con un control de temperatura acoplado, de tal manera que se estimó esta tasa tomando en cuenta la temperatura de la muestra al término de su preparación y el tiempo en el que se alcanzó la temperatura deseada en un intervalo de 45 a 60 min.

5.2.4 Pastas de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 y 2.0 % gelatina

Tratamiento a 90 °C y 140 °C

Se prepararon las pastas de tres componentes. Estas pastas, a 25 °C, formaron un gel, que por su estructura y estado físico, no permitió hacer observaciones en el microscopio óptico. No obstante, para permitir la formación completa del gel, se mantuvieron 24 h a 4 °C.

5.3 Reometría

Se realizaron pruebas dinámicas a 25 °C bajo un régimen de cizalla oscilatoria de baja amplitud para la determinación de la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL) por medio de un barrido de deformación con una frecuencia de 6.28 rad/s. Una vez determinada la ZVL para los geles y pastas se procedió a realizar los barridos de deformación y frecuencia para

conocer el comportamiento viscoelástico de las muestras. Las pruebas se realizaron por duplicado.

5.3.1 Pastas de almidón preparadas a 90 y 140 °C

En la Figura 9 se muestra el comportamiento viscoelástico de las suspensiones con 2.0 % de almidón cocidas a diferentes temperaturas.

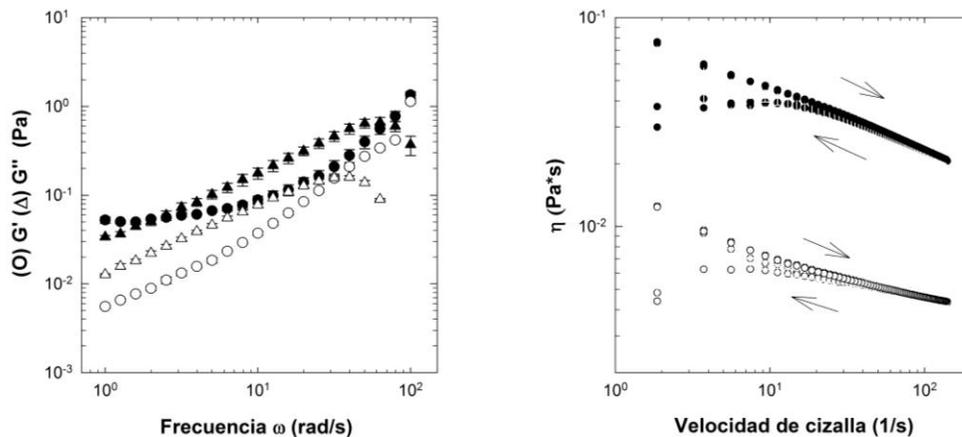


Figura 9. Propiedades reológicas de pastas con 2 % de almidón preparadas a 90 (símbolos llenos) y 140°C (símbolos vacíos). Izquierda: Espectro dinámico. Derecha: Viscosidad aparente.

En la Figura 9 (izquierda) el módulo de almacenamiento (G') en ambos tratamientos es superior al módulo de pérdida (G'') y ambos dependen de la frecuencia. El comportamiento de estas pastas es característico de una suspensión diluida de partículas no rígidas dispersas en un medio acuoso capaz de fluir y que no muestra un comportamiento de gel. La pasta preparada a 90 °C muestra módulos mayores que la preparada a 140 °C. Esta disminución puede atribuirse a la ruptura de los gránulos provocada por la alta temperatura a la que fueron sometidos. En la Figura 9 (derecha), se muestra que la viscosidad aparente disminuye conforme se aumenta la velocidad de cizalla para ambas temperaturas de tratamiento térmico. Sin embargo, la desintegración de los gránulos de almidón provocó una disminución considerable de la viscosidad. No obstante, ambos tratamientos produjeron pastas no newtonianas de tipo reofluidizante (shear-thinning). Vale la pena señalar que no se observa presencia de histéresis por arriba de 10 s^{-1} , es decir, la viscosidad cuando aumentó la velocidad de cizalla, fue prácticamente la misma que cuando

disminuyó dicha velocidad. Por debajo de 10 s^{-1} las viscosidades en ascenso son mayores que aquellas en descenso de velocidad de cizalla, pero este comportamiento puede atribuirse a un bajo torque detectado en el reómetro como consecuencia de la baja viscosidad de las pastas. Es posible afirmar que hubo ausencia de histéresis y en consecuencia no existió dependencia de la viscosidad con el tiempo como en los fluidos tixotrópicos.

5.3.2 Geles de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 % y 2.0 % de gelatina tratados a 90 °C

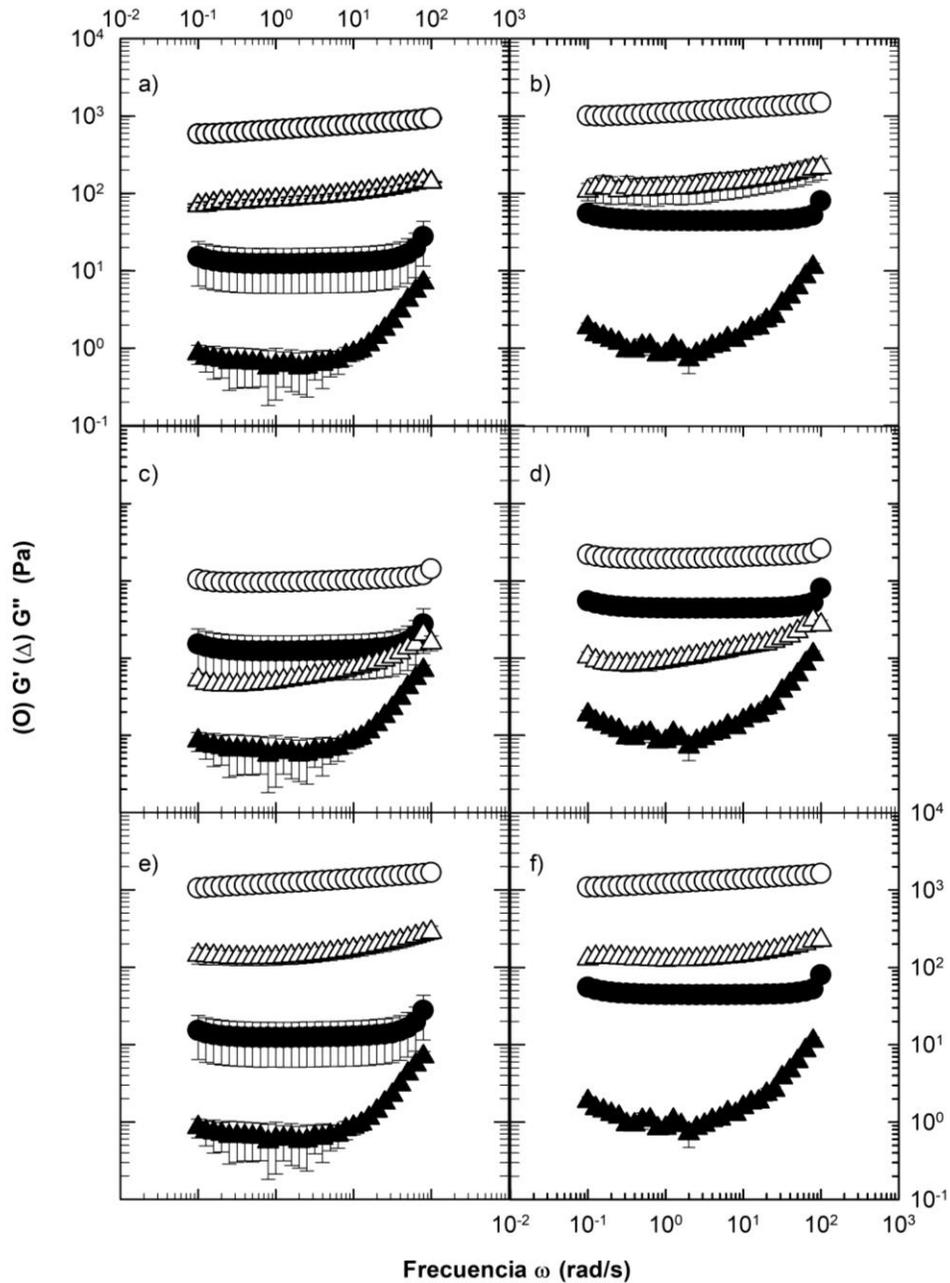


Figura 10. Espectros dinámicos de 1.5 y 2.0 % de gelatina (símbolos llenos) y sus mezclas (símbolos vacíos): (a) 1.5 % gelatina y 1.5 % gelatina + κ -carragenina; (b) 2.0 % gelatina y 2.0 % gelatina + κ -carragenina; (c) 1.5 % gelatina y 1.5 % gelatina + 2.0 % almidón; (d) 2.0 % gelatina y 2.0 % gelatina + almidón; (e) 1.5 % gelatina y 1.5 % gelatina + κ -carragenina + almidón; (f) 2.0 % gelatina + κ -carragenina + 2.0 % almidón. La concentración de κ -carragenina es 0.5 % en todos los casos.

En la columna izquierda de la Figura 10, se encuentran los espectros dinámicos de las mezclas con 1.5 % de gelatina y en la columna derecha, se encuentran los espectros dinámicos de las mezclas con 2.0 % de gelatina y sus contribuciones en las mezclas con 2.0 % de almidón y 0.5 % κ -carragenina. En las figuras 10a y 10b se observa que el módulo de almacenamiento del gel con 1.5 % de gelatina es 20 Pa y para el gel con 2.0 % de gelatina es de 60 Pa. Esto indica que un aumento de 0.5 % en la concentración de gelatina tuvo el efecto de aumentar tres veces G' . Sin embargo, en sus mezclas con 0.5 % de κ -carragenina no ocurrió el mismo efecto; se observa en estas figuras que el módulo de almacenamiento de ambas mezclas fue aproximadamente 1000 Pa. Estadísticamente, existe una diferencia significativa al aumentar 0.5 % la concentración de gelatina en el gel, y hubo influencia sobre el comportamiento viscoelástico de los geles de κ -carragenina y gelatina. Por otra parte, G' para la mezcla con 1.5 % de gelatina + 2.0 % de almidón (Figura 10c), fue diez veces menor, 100 Pa, que para la mezcla con κ -carragenina. Esto puede deberse a que el gránulo hinchado no permitió de manera satisfactoria la formación de un gel más fuerte o la existencia de cierto grado de incompatibilidad entre los componentes de tal manera que los gránulos no reforzaron las redes como se observa en presencia de κ -carragenina (Figura 10a) con un módulo G' aproximado de 1000 Pa. Para los geles con 2.0 % de gelatina y CH10, la situación fue similar; el módulo de almacenamiento es 200 Pa (Figura 10d); cinco veces menor a su homólogo en el gel con κ -carragenina (Figura 10b). Esto puede atribuirse a que la gelatina muestra “mayor afinidad” por la formación de gel con κ -carragenina que con el almidón con un valor diez veces mayor de G' .

Los geles con tres componentes (Figuras 10e y 10f) mostraron módulos de almacenamiento un poco mayores de 1000 Pa. Los espectros son muy similares a los mostrados en las Figuras 10a y 10b. La similitud puede atribuírsele a la conformación posible que toman las cadenas de κ -carragenina que pueden rodear parcialmente al gránulo de almidón interactuando a la vez con las hélices de la gelatina, para así formar una especie de “rejilla”. Existe un aumento significativo entre los módulos de almacenamiento de los espectros mostrados en las Figuras 10e y 10a y 10f y 10b, que muestran que almidón contribuyó a un aumentar de G' . La gelatina tiene la propiedad de formar triples hélices al gelificar. Sin embargo, en el proceso, primero se forman dos dobles hélices y si existe otra molécula que pueda interactuar con las cadenas de la gelatina, ocurrirá entrecruzamiento. En este caso las

dos cadenas de gelatina y una cadena de κ -carragenina se entrecruzarán y al enfriarse formarán un gel, como ocurre en el colágeno, pero sólo a lo largo de una parte de la molécula ya que las regiones helicoidales son relativamente cortas. Probablemente las moléculas de gelatina se doblen formando un ángulo agudo, en los llamados giros β y se formen así dobles hélices cortas (Fennema, 2002).

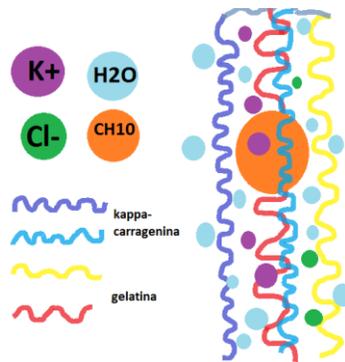


Figura 11. Posible conformación del gel formado por almidón, κ -carragenina y gelatina después del tratamiento a 90 °C.

Lo anterior significa que dependiendo de las proporciones de las mezclas, podrán generarse diferentes morfologías, arquitecturas y comportamientos reológicos, como resultado de diferentes formas de interacción física entre los componentes. (Espinosa-Dzib et al., 2014). En este caso, la viscoelasticidad de los geles con dos componentes; κ -carragenina + 1.5 y 2.0 % de gelatina y los de tres componentes; 0.5 % κ -carragenina + 2.0 % almidón + 1.5 y 2.0 % de gelatina, mostraron módulos de almacenamiento similares que permiten postular la posibilidad de que la gelatina contribuye de manera importante en el valor de G' para estas condiciones. El análisis estadístico mostró que sí existe diferencia entre las mezclas ternarias, lo que permite aseverar que sí hubo influencia de la gelatina en estos sistemas. Los geles así formados, en los que los gránulos de almidón hinchados se encuentran insertados en una red formada por un polisacárido, se les conocen como “gel compuesto”. (Espinosa-Dzib et al., 2014). Cabe la posibilidad de que la red no solo esté formada por un polisacárido sino también por una proteína. Vale la pena señalar que la fuerza del gel, i.e., carácter elástico, depende no solo de la cantidad de entrecruzamientos entre las redes, sino

también de otros factores como la concentración, el pH, la afinidad de los sistemas y la temperatura.

5.3.3 Geles de almidón con 0.5 % de κ -carragenina, 1.5 % y 2.0 % de gelatina tratados a 140 °C

Después de tratar los sistemas binarios y terciarios a 90 °C, se buscó la temperatura para la cual los gránulos de almidón pierden su integridad física. Se pensó que en condiciones de esterilización; 120 °C, 15 lb/in² los gránulos reventarían. Sin embargo, fue necesario aumentar la temperatura y la presión; 140 °C y 40 lb/in² para observar un daño aparente en la estructura del almidón y de esta forma trabajar en estas condiciones para las mezclas de dos y tres componentes sin dejar de lado a las muestras control.

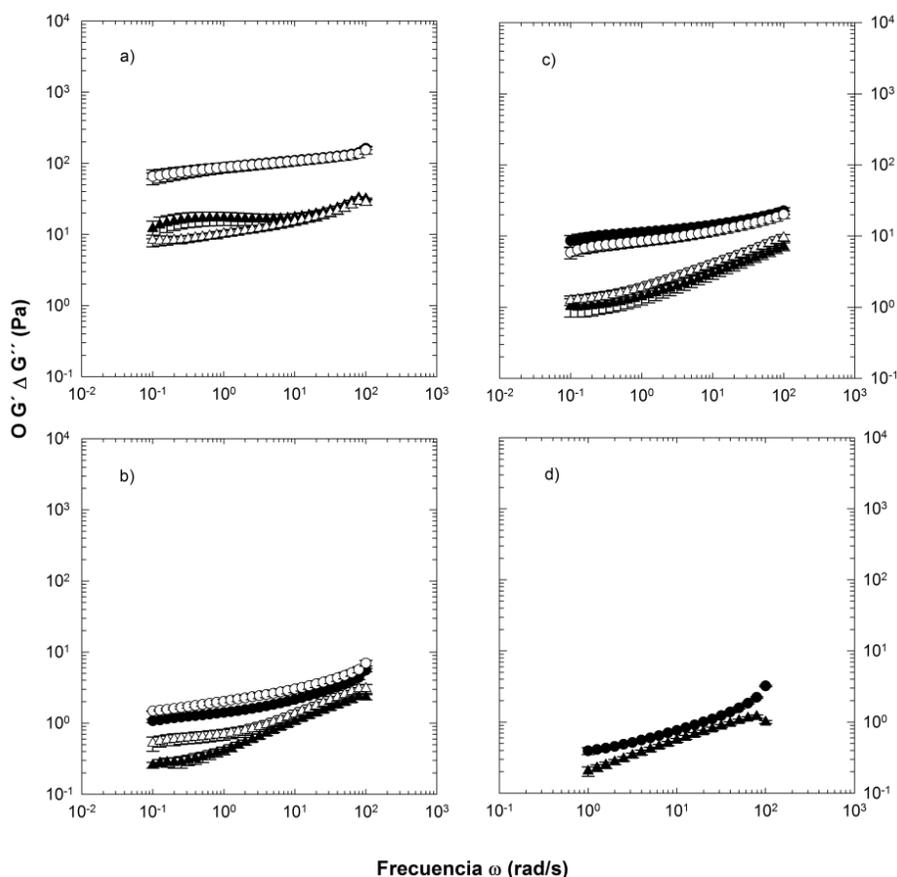


Figura 12. Espectros dinámicos de: a) 0.5 % κ -carragenina + 1.5 % gelatina y 2.0 % gelatina; b) 2.0 % almidón + 1.5 % gelatina y 2.0% gelatina; c) 0.5 % κ -carragenina + 2.0 % almidón + 1.5 % gelatina y 2.0 % gelatina; d) 0.5 % κ -carragenina + 20 mmol/dm³ KCl + 2.0 % almidón. Mezclas con 1.5 % gelatina (símbolos llenos) y mezclas con 2.0 % gelatina (símbolos vacíos).

En las Figuras 12a y 12c el módulo de almacenamiento con mayor valor entre las mezclas binarias con κ -carragenina y gelatina así como de la mezcla ternaria, aproximadamente 100 y 30 Pa, respectivamente, corresponde a los geles cuya composición contiene 1.5 % de gelatina, contrario a lo observado en estas mezclas tratadas a 90 °C (Figura 10). En la Figura 12a el módulo de almacenamiento de la mezcla con 1.5 % de gelatina + κ -carragenina se encuentra ligeramente por arriba y traslapado con el módulo de la mezcla con 2.0 % de gelatina cuyos valores se encuentran en el intervalo de 80 a 100 Pa; no hay diferencia significativa. Por otra parte, para las mezclas con gelatina y almidón (Figura 12c) los módulos de almacenamiento para las diferentes concentraciones de gelatina pueden distinguirse mejor; estos módulos están en el intervalo de 1 a 10 Pa. Se esperaría que los geles de mayor fuerza fueran aquellos que contienen una mayor concentración de gelatina, pero como se observa en las figuras 12a y 12c, a 140 °C el tamaño del gránulo y la compatibilidad de la κ -carragenina y el CH10, son los factores que gobiernan el comportamiento de estos geles.

Para las mezclas de gelatina + almidón (Figura 12b), el módulo de almacenamiento de la mezcla con 2.0 % de gelatina, es superior del módulo G' de la mezcla con 1.5 % de gelatina. La mezcla que no tiene almidón, muestra módulos mayores (Figura 12a) que en los geles con CH10 + gelatina y κ -carragenina. (Figura 12c) en los que se esperaba que por la presencia de κ -carragenina, habría un aumento en el módulo de almacenamiento como sucedió para los geles tratados a 90 °C.

Por otro lado, la mezcla con κ -carragenina + almidón (Figura 12d) mostró el módulo de almacenamiento más pequeño de las mezclas en un intervalo de 0.4 a 4 Pa. En un principio, se creía que la mezcla de κ -carragenina + almidón formarían un gel ya que, aunque el almidón a 90 y 140 °C no formó geles, la κ -carragenina sí lo hizo a estas temperaturas, así como en la mezcla con almidón a 90 °C.

Para explicar el comportamiento del almidón en las mezclas se hace referencia a la estructura que tiene el almidón a 140 °C y el modelo de gelificación que se propone (Figura 11). Como se discutió en la sección 5.2, los gránulos de almidón pierden su integridad física a 140 °C y la concentración de gelatina juega un rol importante en la integridad física del gránulo del almidón. La integridad de este puede resumirse en este orden decreciente en las mezclas binarias

1.5 % gelatina + almidón > 2.0 % gelatina + almidón > κ-carragenina + almidón

Para las mezclas que corresponden a los espectros mostrados en las Figuras 12a y 12c, el módulo G' que pertenece a la mezcla con 1.5 % de gelatina es mayor que el de 2.0 % de gelatina. Esto se debe a que con 1.5 % de gelatina, los gránulos se encuentran más hinchados (Figura 7b) que con 2.0 % de gelatina (Figura 7c). En el caso de la mezcla de almidón + κ-carragenina, que tuvo los módulos de almacenamiento y pérdida más pequeños entre las mezclas, se debe a que la integridad del gránulo se vio más afectada por la presencia de los fragmentos de almidón (Figura 7a). La viscoelasticidad en este tipo de mezclas depende más de la integridad del gránulo, propiciada por la concentración de gelatina y el poder gelificante de la κ-carragenina en estas condiciones.

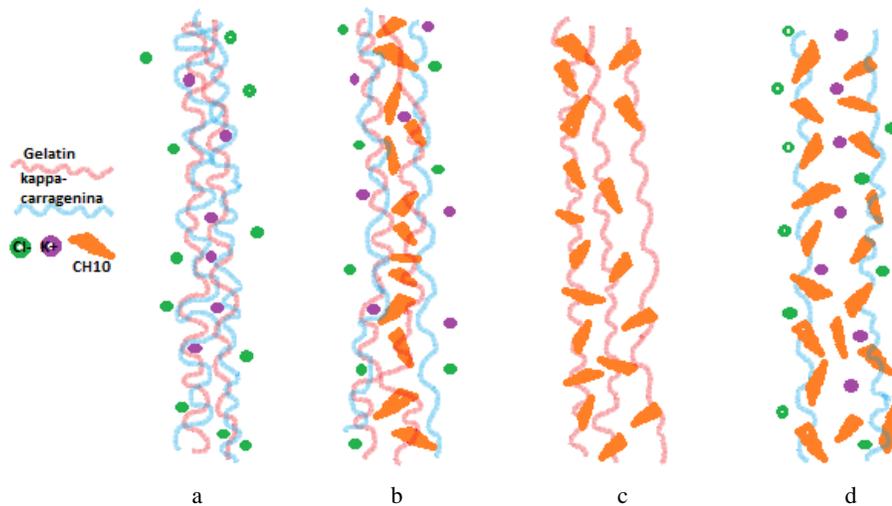


Figura 13. Posibles estructuras de los geles con dos y tres componentes después del tratamiento a 140 °C. (a): κ-carragenina + gelatina; (b): κ-carragenina + gelatina + almidón, (c); gelatina + almidón, y (d): κ-carragenina + almidón.

En la Figura 13 se muestran 4 posibles modelos para explicar la formación de geles y pastas a 140 °C así como una posible explicación de su comportamiento viscoelástico. En la Figura 13a las cadenas de κ-carragenina interactúan con los iones potasio así como con las hélices α de la gelatina. La gelatina forma triple hélices, partiendo de una doble hélice con la posible unión de otra hélice de la misma o diferente especie. Este comportamiento se tomó como referencia para diseñar el modelo. Para este modelo, a 140 °C la κ-carragenina,

funge como un protector de la gelatina de tal modo que, arriba de la temperatura de desnaturalización de la proteína, el entrecruzamiento con el hidrocoloide evitó la degradación de la gelatina y dio como resultado un efecto sinérgico que se evidencia por presentar los módulos de almacenamiento más grandes a 90 y 140 °C.

En el caso de la Figura 13b los gránulos de almidón se encuentran envueltos en la red de gelatina que a su vez está entrecruzada con la red de κ -carragenina. Sin embargo, por el hinchamiento del almidón, las hélices de gelatina y de κ -carragenina se encuentran a tal distancia, que provocan que el gel sea de menor fuerza. En la Figura 13c, los gránulos hinchados de almidón están protegidos parcialmente por la gelatina debido a la temperatura de 140 °C que pudo afectar ciertas secciones de la proteína, encargadas del entrecruzamiento. Con 1.5 % de concentración, el gránulo se hinchó más, ya que por su previa hidratación, el agua disponible para la gelatinización del almidón fue mayor y pudo así hincharse más. Por otra parte con 2.0 % de gelatina, el gránulo se hinchó menos, por el aumento de concentración de la gelatina, así como su capacidad de protección hacia el almidón. En la Figura 13d, las hélices de la κ -carragenina, para formar el gel interactúan con iones potasio. Sin embargo, entre estas hélices se encuentran los fragmentos de almidón, que no permiten o separan de tal modo las cadenas del hidrocoloide que las interacciones con el contra ion son muy débiles para formar un gel.

5.3.4 Curvas de flujo de mezclas con dos y tres componentes tratados a 140 °C

En la Figura 14a se muestra el comportamiento de la viscosidad de las pastas tratadas a 140 °C. Su resistencia al flujo disminuyó al aumentar la velocidad de cizalla, es decir, el comportamiento de flujo fue no newtoniano reofluidizante (shear-thinning) aunque en este caso se observa una ligera histéresis de viscosidad sobre el ascenso y descenso de velocidad de cizalla. Asimismo la pasta de almidón con 1.5 % de gelatina fue más viscosa que la pasta de almidón con 2.0 % de gelatina. Esto se debe a que en la primera, los gránulos de almidón se encuentran más hinchados y la viscosidad a estas condiciones depende más de qué tan íntegro se encuentre el gránulo que de la concentración de los otros componentes. Esto mismo se puede ver en la pasta de almidón y de κ -carragenina, en donde los gránulos

se encuentran más dañados y su viscosidad es la menor entre las pastas de almidón y gelatina.

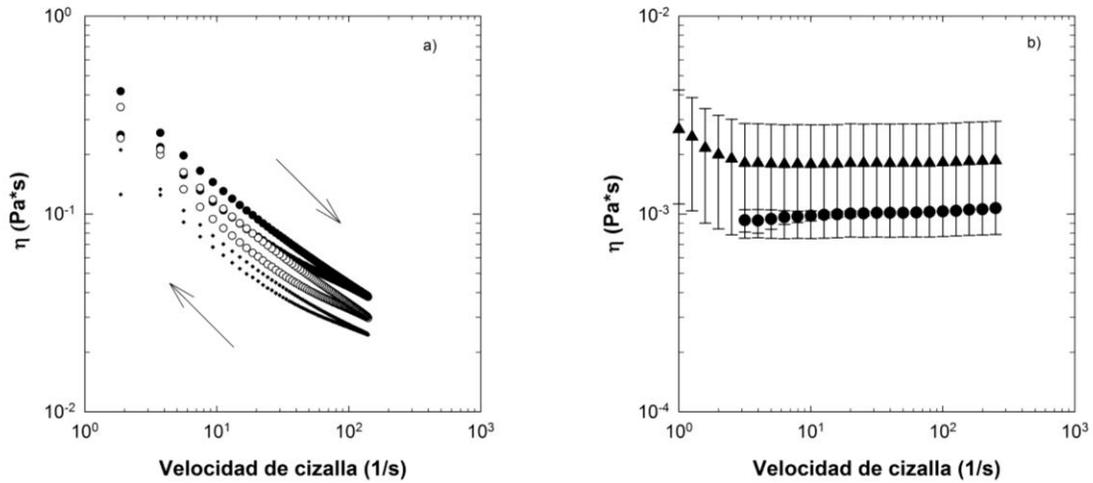


Figura 14. Viscosidad aparente de pastas de almidón con: a) 1.5 % gelatina (símbolos llenos), 2.0 % gelatina (símbolos vacíos) y κ -carragenina (puntos); b) 1.5 % gelatina (círculos) 2.0 % gelatina (triángulos).

La Figura 14b muestra el comportamiento de la viscosidad de las suspensiones de 1.5 y 2.0 % gelatina tratados a 140 °C. La resistencia al flujo de la suspensión con 2.0 % de gelatina disminuyó en un intervalo de 1 a $3s^{-1}$ y se mantuvo constante con un valor de 90 mPa·s. La viscosidad de la suspensión con 1.5 % de gelatina, no se vio afectada al aumentar la velocidad de cizalla. Su valor fue constante e igual 1 mPa·s en el mismo intervalo que la suspensión con 2.0 % de gelatina. Estos valores de viscosidad son muy cercanos al del agua; 1mPa·s a 20.2 °C. A 140 °C la gelatina está totalmente desnaturalizada y sus fragmentos son muy pequeños y tan solubles en agua, que la viscosidad de las suspensiones fue prácticamente igual a la del agua.

5.3.5 Tangente de delta

La tangente de delta (δ), definida como el cociente del módulo de pérdida entre el módulo de almacenamiento, $\tan \delta = G''/G'$, es una función que refiere el comportamiento viscoelástico de un sistema. Al aplicar un esfuerzo en una prueba oscilatoria sinusoidal el ángulo de desfase entre la respuesta y, i.e., la deformación y el esfuerzo aplicado es delta, δ . Si el valor del ángulo es muy cercano a 0° , se dice que el sistema tiende a un comportamiento elástico ideal descrito por la ecuación de Hooke. Si el desfase es igual a 90° , el sistema entonces se comporta como un líquido ideal llamado newtoniano. Para un sistema viscoelástico, el ángulo de desfase se encuentra en el intervalo $0^\circ < \delta < 90^\circ$. Así, esta relación proporciona información respecto a qué comportamiento tiende el sistema.

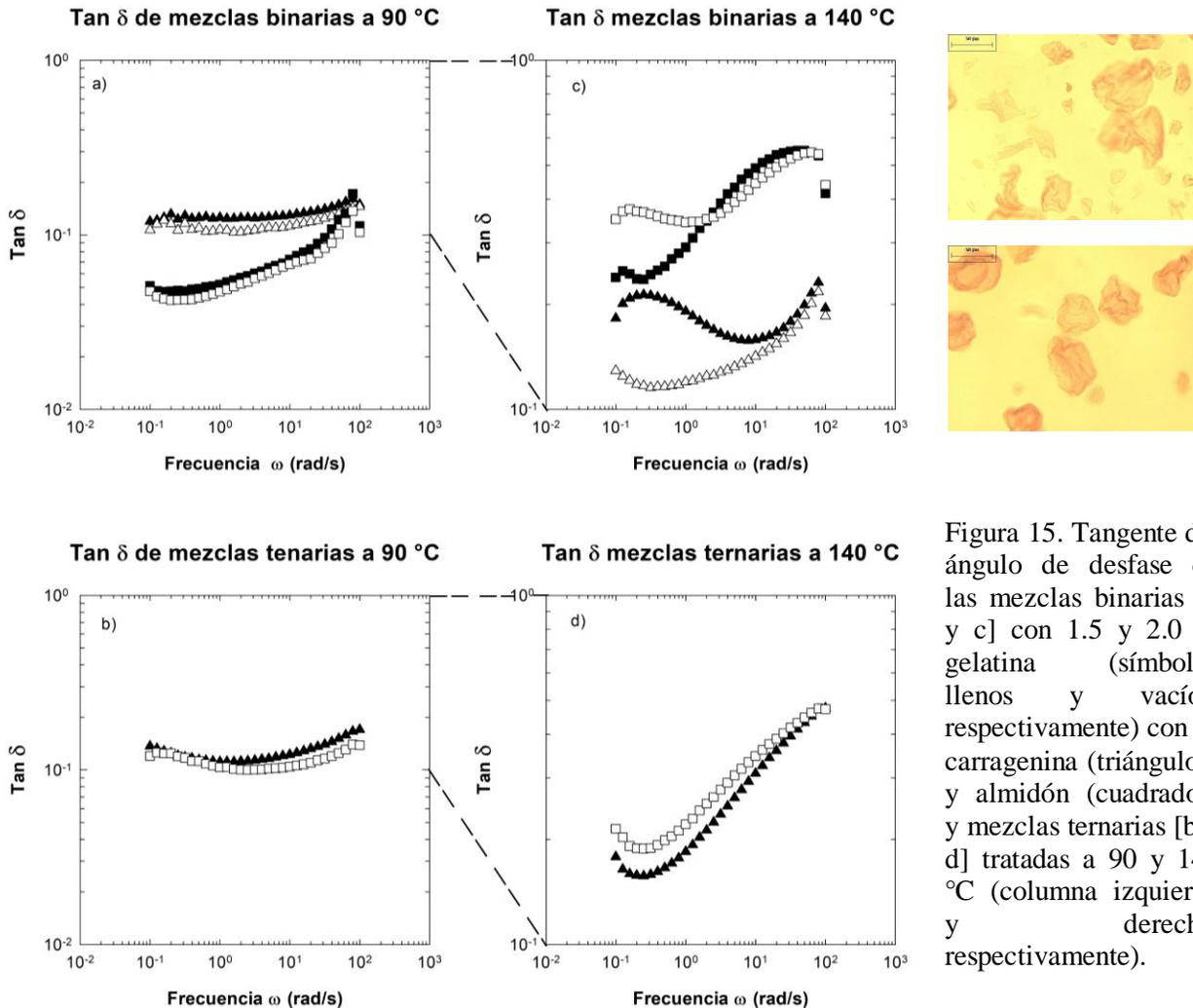


Figura 15. Tangente del ángulo de desfase de las mezclas binarias [a y c] con 1.5 y 2.0 % gelatina (símbolos llenos y vacíos, respectivamente) con κ -carragenina (triángulos) y almidón (cuadrados) y mezclas ternarias [b y d] tratadas a 90 y 140°C (columna izquierda y derecha, respectivamente).

En la Figura 15a, se observa que para las cuatro mezclas, la $\tan \delta$ es menor a 1, por lo que su comportamiento es más elástico que viscoso. Esto concuerda con el estado físico de los geles. Los valores de $\tan \delta$ 0.1 de las mezclas con κ -carragenina son mayores que los de las mezclas con almidón; 0.05. Lo anterior indica que la κ -carragenina le confiere al gel mayor carácter elástico que el almidón. Las mezclas con 1.5 % gelatina (símbolos llenos) se encuentran por arriba de las mezclas con 2.0 % gelatina (símbolos vacíos), lo que indica que, con 1.5% de gelatina, el carácter es más elástico que con 2.0 % gelatina, debido a la posible influencia del tamaño del gránulo en la red tridimensional del gel. Cabe señalar que para las mezclas con κ -carragenina este valor se mantuvo constante en casi todo el intervalo de frecuencia (0.1-100 rad/s), mientras que, para las mezclas con almidón, el valor de $\tan \delta$ aumentó conforme aumentó esta.

Por otra parte, las mezclas tratadas a 140 °C (Figura 15c) muestran comportamientos totalmente diferentes. Las curvas se encuentran por valores cercanos a la unidad, por lo que el comportamiento tiende a ser más viscoso que elástico debido a las posibles alteraciones en la integridad del gránulo y en las hélices de la gelatina por el tratamiento térmico. Esto concuerda con el estado físico de las muestras, porque las curvas de las mezclas con almidón se encuentran por arriba de las curvas con κ -carragenina (ver imágenes laterales de los gránulos). Además, las mezclas con κ -carragenina, no mantienen la relación G''/G' constante a través del intervalo de frecuencia de 0.1-100 rad/s. Las variaciones que se observan en las curvas al aumentar la frecuencia se deben en el caso con almidón, al tamaño del gránulo, ya que como se discutió anteriormente, esta característica es la que promueve un comportamiento elástico en las pastas debido a un mayor hinchamiento de los gránulos en las mezclas con 1.5 % de gelatina que en las mezclas con 2.0 % de gelatina.

En el caso de la mezcla de κ -carragenina con 2.0 % de gelatina, el aumento del carácter viscoso al aumentar la frecuencia de 0.1 a 100 rad/s parece ser exponencial. Sin embargo, esta aseveración sólo es cierta bajo estas condiciones y se requieren más repeticiones y aumentar el intervalo de frecuencia para confirmarla. Este comportamiento sugiere que al aumentar la frecuencia sin destrucción parcial o total del gel dentro de este intervalo de frecuencia, el gel puede mostrar un comportamiento viscoso independientemente de su estado físico. Para las mezclas ternarias (Figura 15b), las curvas para 1.5 % de gelatina (triángulos) se encuentra por arriba de la curva con 2.0 % de gelatina (cuadros) y en un

valor aproximado de $\tan \delta \sim 0.1$ ($\delta \sim 6^\circ$), mostrando una tendencia de comportamiento elástico ante el viscoso.

Estas curvas son similares a las curvas de los geles de κ -carragenina y gelatina Figura 14a. Este comportamiento, donde la adición de almidón a la mezcla de κ -carragenina y gelatina tienen un aporte significativo, se observó en los espectros de barrido de frecuencia (Figuras 10a-10f) cuyos valores de G' aumentan, permite señalar con mayor seguridad que el agregar almidón a la mezcla de κ -carragenina con gelatina no tiene influencia en la tendencia del sistema al comportamiento elástico. Así mismo, al aumentar la frecuencia no se observa un valor definido de $\tan \delta$ para todo el intervalo sino un ligero aumento en la $\tan \delta$ de 1 a 100 rad/s. Para el gel de κ -carragenina y gelatina (Figura 15a) el ascenso de la curva se hace evidente de 10 a 100 rad/s.

CONCLUSIONES

- Se encontraron las condiciones para las cuales los gránulos de AMRQ modifican su estructura física de tal forma que se encontraron fragmentos de estos en suspensión.
- El efecto de los diferentes tratamientos térmicos de las pastas de almidón se vio reflejado en la disminución de su viscosidad y módulo de almacenamiento.
- Existe una aparente sinergia entre la κ -carragenina y la gelatina que repercute en el comportamiento viscoelástico de geles formados entre dos componentes y que, influye de manera significativa en el aumento de su módulo de almacenamiento tratados a 90 y 140 °C.
- La concentración de gelatina no influyó significativamente en el comportamiento viscoelástico de los geles de tres componentes tratados a 90 °C pero sí en los geles tratados a 140 °C debido al daño en los gránulos de almidón.
- La gelatina tiene un aparente efecto protector sobre los gránulos de almidón: bajo el tratamiento térmico a 140 °C, con 2.0 % de gelatina, la integridad del gránulo se conservó más que con 1.5 % de gelatina.
- La viscosidad aparente de las pastas binarias de gelatina con almidón y κ -carragenina se vio afectada por el tamaño del gránulo de almidón y no por la concentración de gelatina.

REFERENCIAS

- Antonov, Y.A., & Gonçalves, M.P. (1999). Phase separation in aqueous gelatin-kappa - carrageenan systems. *Food Hydrocolloids* 13, 517–524.
- Abdulmola, N.A., Hember, M.W.N., Richardson, R.K., & Morris, E.R. (1996). Composite rheology in mixed biopolymer systems. In: Phillips, G.O., Williams, P.A., & Wedlock, D.J. (Eds.), *Gums and Stabilisers for the Food Industry*, vol. 8. IRL Press, Oxford, UK.
- Al-Ruqaie, I.M., Kasapis, S., & Abeysekera, R. (1997). Structural properties of pectin-gelatin gels. Part II: effect of sucrose/glucose syrup. *Carbohydrate Polymers* 34, 309–321.
- Alves, M.M., Antonov, Y.A., & Gonçalves, M.P. (2000). Phase equilibria and mechanical properties of gel-like water-gelatin-locust bean gum systems. *International Journal of Biological Macromolecules* 27, 41–47.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. 4ta. Edición. México, Ed. Addison Wesley Longman de México, S.A. de C.V. 104.
- Beijerinck, M.W. (1896). Über eine eigentümlichkeit der löslichen stärke. *Zentralblatt Bakteriol. Parasitenkd Infekt* 2Abt, 697-699. Citado por: Chen, J., & Rosenthal., A. (2015). *Modifying Food Texture, Volume 1: Novel Ingredients and Processing Techniques*. United Kingdom: Elsevier. 157-159.
- Beijerinck, M.W. (1910). Über emulsionsbildung bei der vermischung wasseriger lösungen gewisser gelatinierender kolloide. *Z. Chem. Ind. Kolloide (Kolloid Z)* 7, 16-20. Citado por: Chen, J., & Rosenthal., A. (2015). *Modifying Food Texture, Volume 1: Novel Ingredients and Processing Techniques*. United Kingdom: Elsevier. 157-159.
- Butler, M.F., & Heppenstall-Butler, M., (2003). Separación de fases en mezclas de gelatina/dextrana y gelatina/maltodextrina. *Food Hydrocolloids* 17, 815-830.
- Clark, A.H., Richardson, R.K., Ross-Murphy, S.B., & Stubbs, J.M. (1983). Structural and mechanical properties of agar/gelatin co-gels. Small-deformation studies. *Macromolecules* 16, 1367–1374.
- Cui, W. (2005). *Food Carbohydrates. Chemistry, Physical Properties, and Applications*. United States: Taylor & Francis. 301.

- Derkach, S. R., Voron'ko, N. G. Maklakova, A.A., & Kondratyuk, Yu. V. (2014). The rheological properties of gelatin gels containing κ -carrageenan. The role of polysaccharide. *Colloid Journal* 76, 146-152.
- Djabourov, M., Leblond, J., & Papon, J. (1988). Gelation of aqueous gelatin solutions. . Structural investigation. *Journal de Physique* 49 (2), 319-332.
- Dobry, A., & Boyer-Kawenoki, F. (1947). Phase separation in polymer solution. *Journal of Polymer Science* 2, 90-100. Citado por: Chen, J., & Rosenthal., A. (2015). *Modifying Food Texture, Volume 1: Novel Ingredients and Processing Techniques*. United Kingdom: Elsevier. 157-159.
- Dobry, A., & Boyer-Kawenoki, F. (1948). Sur l'incompatibilité des macromolécules en solution aqueuse. *Bulletin Societé Chimie Belge* 57, 280-285.
- Edelman, M.W., Van der Linden, E., De Hoog, E., & Tromp, R.H. (2001). Compatibility of gelatin and dextran in aqueous solution. *Biomacromolecules* 2, 1148–1154.
- Eliasson, CH. (2000). *Starch in Food Structure, Function and Applications*. United Kingdom: CRC Press. 483.
- Espinosa-Dzib, A., Ramírez-Gilly, M., & Tecante, A. (2014). Phase separation and gelation in mixtures of cross-linked corn starch, whey protein isolated and kappa-carrageenan: Viscoelasticity in Microstructure 301-328. In: Mitchell, G. (Eds.) *Rheology: Theory, Properties and Practical Applications*. Nova Science Publisher, Inc. N.Y.
- Fennema, R., & Tannenbaum, R. (2002). *Química de los Alimentos*. España: Acribia. 245, 253, 255, 323, 468, 1042 y 1066.
- Foster, T.J., Brown, C.R.T., & Norton, I.T. (1996). Phase inversion of water-in-water emulsions. In: Phillips, G.O., Williams, P.A., Wedlock, D.J. (Eds.), *Gums and Stabilisers for the Food Industry*, vol. 8. IRL Press, Oxford, UK.
- Gilsenan, P.M., Richardson, R.K., & Morris, E.R. (2003). Associative and segregative interactions between gelatin and low-methoxy pectin: part 1. Associative interactions in the absence of Ca^{+2} . *Food Hydrocolloids* 17, 723–737.
- Gotlieb, A.M., Plashchina, I.G., Braudo, E.E., Titova, E.F., Belavtseva, E.M., & Tolstoguzov, V.B. (1988). Investigation of mixed agarose-gelatin gels. *Nahrung Food* 32, 927–937.

- Harrington, W. F. & Rao, N. V. (1967). Pyrrolidine residues and stability of collagen. In G. N. Ramachandran (ed.), *Conformation of Biopolymers*, Academic Press, London. 513-531.
- Harrington, J.C., & Morris, E.R., (2009). Conformational ordering and gelation of gelatin in mixtures with soluble polysaccharides. *Food Hydrocolloids* 23, 327–336.
- Harris, P. (1990). *Food Gels*. United Kingdom: Elsevier Applied Science. 258.
- Haug, I. J., Draget, K. I. & Smidsrød, O. (2003). Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatine. *Food Hydrocolloids* 18, 203-213.
- Haug, I.J., Draget, K.I., Smidsrod, A., (2004). Physical behaviour of fish gelatin-kappa-carrageenan mixtures. *Carbohydrate Polymers* 56, 11–19.
- Hellio, D., & Djabourov, M. (2006). Physically and chemically crosslinked gelatin gels. *Macromolecular Symposia* 241, 23-27
- Hill, S.E., David A. Ledward, J.R. Mitchell., (1998). Second Edition, *Functional Properties of Food Macromolecules.*, U.K. Aspen Publication. 267-269
- Imeson, A. (1997). *Thickening and Gelling Agents for Food*. Second Edition, United Kingdom: Springer-Science+Business Media, B.V. 149-150.
- Kasapis, S., Morris, E.R., Norton, I.T., & Clark, A.H. (1993). Phase-equilibria and gelation in gelatin maltodextrin systems. Part IV: composition-dependence of mixed-gel moduli. *Carbohydrate Polymers* 21, 269–276.
- Lau, M.H., Tang, J., & Paulson, A.T. (2000). Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels. *Food Research International* 33, 665–671.
- Leuenberger, B. H. (1991). Investigation of viscosity and gelation properties of different mammalian and fish gelatins. *Food Hydrocolloids* 5(4) 353- 361.
- Liu, S., Huang, S., & Li, L. (2016). Thermoreversible gelation and viscoelasticity of κ -carrageenan hydrogels. *Journal of Rheology* 60(2), 203–214.
- Lore´n, N., & Hermansson, A.M. (2000). Phase separation and gel formation in kinetically trapped gelatin/maltodextrin gels. *International Journal of Biological Macromolecules* 27, 249–262.
- Michael, A., S, M.M. Mestdagh, & M.A.V. Axelos. (1997). Physico-chemical properties of carrageenan gels in presence of various cations. *International Journal of Biological Macromolecules* 21, 195-200

- Michon, C., Cuvelier, G., Launay, B., & Parker, A. (1996). Viscoelastic properties of L-carrageenan/gelatin mixtures. *Carbohydrate Polymers* 31, 161–169.
- Nickerson, M.T., Farnworth, R., Wagar, E., Hodge, S.M., Rousseau, D., Paulson, A.T. (2006). Some physical and microstructural properties of genipin-crosslinked gelatin-maltodextrin hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules* 38, 40–44.
- Nijenhuis, te., K. (1997). *Advances in Polymer Science. Thermoreversible Networks.* Germany: Springer. 160.
- NMX-F-428-1982. Alimentos. Determinación de humedad (método rápido de la termobalanza). Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- Ostwald, W., Hertel, R.H. (1929) Colloidal chemical reactions between brine and protein bodies and carbohydrate polymers. *I.Kolloid Z.* 47, 258-268. Citado por: Chen, J., & Rosenthal., A. (2015). *Modifying Food Texture, Volume 1: Novel Ingredients and Processing Techniques.* United Kingdom: Elsevier. 157-159.
- Papageorgiou, M., Kasapis, S., & Richardson, R.K. (1994). Steric exclusion phenomena in gellan gelatin systems. 1. Physical-properties of single and binary gels. *Food Hydrocolloids* 8, 97-112. Citado por: Chen, J., & Rosenthal., A. (2015). *Modifying Food Texture, Volume 1: Novel Ingredients and Processing Techniques.* United Kingdom: Elsevier. 157-159.
- Phillips, O., & Williams., A. (2009). *Handbook of Hydrocolloids. Second Edition.* United.Kingdom: CRC Press. 151.
- Piez, K. A. & Gross, J. G. (1960). The amino acid composition of some fish collagens: The relation between composition and structure. *Journal of Biological Chemistry* 235(4), 995-998.
- Poppe, J. (1997). Gelatin. En: Imeson, A. (Ed.) *Thickening and Gelling Agents for Food. Second Edition,* Springer-Science+Business Media, B.V. United Kingdom. p. 144-167.
- Samant, S.K., Singhal, R.S., Kulkarni, P.R., & Rege, D.V. (1993). Review: Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulations. *International Journal of Food Science and Technology* 28, 547-562.
- Sarabia, A.I., Goâ Mez-Guilleâ N, M.C. & Montero, P. (2000). The effect of added salts on the viscoelastic properties of fish skin gelatin, *Food Chemistry* 70, 71-76.

- Stephen, M., Phillips, O., & Williams, A. (2006). Modified Starches. En Food Polysaccharides and Their Applications. U.S.A: Taylor & Francis. 88-13, 98-100.
- Tromp, R.H., Edelman, M.W., & Linden, E.V. (2004). Gelatin/dextran solutions - a model system for food polymer mixtures. In: Williams, P.A., & Phillips, G.O. (Eds.), Gums and Stabilisers for the Food Industry, vol. 12. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. Citado por: Chen, J., & Rosenthal, A. (2015). Modifying Food Texture, Volume 1: Novel Ingredients and Processing Techniques. United Kingdom: Elsevier. 157-159.
- Usov, A.I., (1985). Progress in Carbohydrate Chemistry, Torgov, I.V., Ed., Moscow: Nauka, 77.
- Venugopal, V. (2011). Marine Polysaccharides. Food Applications. U.S.A: CRC Press. 111-116.
- Watase, M., & K, Nishinari. (1982). "Effect of alkali metal ion son the viscoelasticity of concentrated kappa-carrageenan and agarose gels. *Rheologica Acta* 21, 318-324.
- Wolterink, J.K., Barkema, G.T., Puri, S. (2006). Spinodal decomposition via surface diffusion in polymer mixtures. *Physics Reviews E* 74.
- Yada, Y. (2004). Proteins in Food Processing. U.S.A: CRC, 115.
- Zhang, B., Dhital, S., Flanagan, B. M., & Gidley, M. J. (2014). Mechanism for starch granule ghost formation deduced from structural and enzyme digestion properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62(3), 760–771.

ANEXO A

Aminoácidos que componen la gelatina (Poppe, 1997).

Residue	Weight (g)
Glycine	26–31
Alanine	8–11
Valine	2.6–3.4
Leucine	3–3.5
Isoleucine	1.4–2
Phenylalanine	2–3
Tryptophan	–
Serine	2.9–4.2
Threonine	2.2–2.4
Tyrosine	0.2–1
Proline	15–18
Hydroxyproline	13–15
Methionine	0.7–1
Cysteine	–
Cystine	Trace
Lysine	4–5
Arginine	8–9
Histidine	0.7–1
Aspartic acid	6–7
Glutamic acid	11–12
Hydroxylysine	0.8–1.2

ANEXO B

MEZCLAS BINARIAS Y TERNARIAS A 90 °C

En la Tabla B.1 se comparan las pendientes de los espectros dinámicos de la Figura 12 con temperatura, intervalo de frecuencia y la concentración de uno o dos componentes constantes, mientras que la concentración de gelatina fue variable.

Tabla B.1. Casos a 90 °C.

Caso	Espectro	¿Paralelismo entre pendientes?	Diferencia significativa entre pendientes
1	a vs b	No	Si
2	c vs d	Sí	No
3	e vs f	No	Si
4	a vs c	No	Si
5	b vs d	No	Si
6	a vs e	No	Si
7	b vs f	Sí	No
8	c vs e	No	Si
9	d vs f	No	Si

Tabla B.2. Valores de los intervalos de confianza (superior e inferior) de las pendientes y ordenadas al origen de cada formulación tratada a 90 °C.

Formulación	Pendiente	Intervalo de confianza inferior	Intervalo de confianza superior	Ordenada al origen	Intervalo de confianza inferior	Intervalo de confianza superior	<i>F</i>	Valor crítico de <i>F</i>
4	0,067723032	0,066025062	0,069421	6,49990837	6,49590209	6,50391464	6654,20885	8,13522E-36
1	0,03160063	0,02133917	0,04186209	4,58692645	4,56271507	4,61113783	39,6695639	7,0487E-07
6	0,06354909	0,06193097	0,0651672	7,09502674	7,09120888	7,09884461	6451,83682	1,2707E-35
7	0,058698684	0,05730781	0,06008956	7,09863292	7,09535122	7,10191463	7450,10365	1,5913E-36
5	0,058589188	0,05606144	0,06111694	7,00224609	6,99628199	7,00821019	2247,24381	4,9511E-29
2	0,020466962	0,011146216	0,02978771	5,29553547	5,27354365	5,31752729	20,1692414	0,00010408

Conclusiones basadas en los resultados estadísticos de los modelos de regresión utilizados

En general, en todos los casos, exceptuando el 2 y el 7, no existe una relación proporcional en el aumento del log de la frecuencia y el log de G' , es decir, existe cierto grado de independencia de estas variables. Este grado de independencia se debe a lo siguiente:

- Caso 1: La concentración de gelatina afectó el comportamiento viscoelástico del gel, pues al aumentar su concentración, los valores de G' de la mezcla de κ -carragenina + 2.0 % de gelatina, son mayores que con 1.5 % de gelatina (ver ordenada al origen) por lo que se puede decir que existe un aumento significativo en el módulo G' con 2.0 % de gelatina.
- Caso 2: Existe dependencia de la frecuencia con el módulo de almacenamiento, es decir, al aumentar la frecuencia, aumenta de manera proporcional G' y los valores de G' para el espectro con 2.0 % de gelatina + CH10 son mayores que con 1.5 % de gelatina. En este caso, ese incremento significativo se atribuye al aumento en la concentración de la gelatina.
- Caso 3: La relación entre las variables no es proporcional y no existe diferencia significativa en el aumento de 1.5 % a 2.0 % de gelatina en los espectros de mezclas ternarias. Si se observa, los valores de las ordenadas al origen son casi iguales, lo que indica que ese aumento en la concentración de gelatina no tuvo un efecto importante en el aumento del módulo elástico en los geles de tres componentes para ambas concentraciones.
- Caso 4 y 5: La diferencia es evidente, respecto a los valores que toma G' . A primera vista, la interacción entre la gelatina y la κ -carragenina es mayor que la interacción entre la gelatina y el almidón, debido a que el módulo de almacenamiento de este último es diez veces menor, independientemente de la concentración de gelatina para ambos casos. Existe diferencia significativa entre sus ordenadas y se atribuye a la sinergia que puede existir entre la gelatina y la κ -carragenina.
- Caso 6: La relación entre la frecuencia y G' no es proporcional. Los valores de G' son mayores para la mezcla ternaria con 1.5 % de gelatina que con la mezcla binaria. Sin embargo, el incremento significativo en los valores de G' , se debe principalmente a la κ -carragenina, y no al posible hinchamiento del gránulo de almidón.
- Caso 7: No existe diferencia significativa en la relación entre la frecuencia y el módulo de almacenamiento, es decir, se guarda una relación proporcional entre las variables. Al comparar las ordenadas se observa que para el caso de la mezcla ternaria, hubo un aumento

significativo respecto al de la mezcla binaria. Aquí, la diferencia se le atribuye a la κ -carragenina y al aumento en la concentración de la gelatina, como pasó en el Caso 2.

- Casos 8 y 9: La diferencia es evidente, respecto a los valores que toma G' . La contribución en los valores mayores de G' de las mezclas ternarias, respecto a las binarias se debe, como en los Casos 4 y 5, a la interacción entre la κ -carragenina y la gelatina, que son los que promueven un aumento en el valor de G' .

MEZCLAS BINARIAS Y TERNARIAS A 140 °C

En la tabla B.3 se comparan las pendientes de los espectros dinámicos de la Figura 12, con temperatura, intervalo de frecuencia y concentración de uno o dos componentes constantes, mientras que la concentración de la gelatina fue variable.

Tabla B.3. Casos a 140 °C.

Caso	Espectro	¿Paralelismo entre pendientes?	Diferencia significativa entre variables
1	a vs b	Si	No
2	c vs d	Si	No
3	e vs f	No	Sí
4	a vs c	No	SÍ
5	b vs d	No	SÍ
6	a vs e	Si	No
7	b vs f	No	SÍ
8	c vs e	No	SÍ
9	d vs f	No	SÍ

Tabla B.4. Valores de los intervalos de confianza (superior e inferior) de las pendientes y ordenadas al origen de cada formulación tratada a 140 °C.

Formulación	Pendiente	Intervalo de confianza inferior	Intervalo de confianza superior	Ordenada al origen	Intervalo de confianza inferior	Intervalo de confianza superior	<i>F</i>	Valor crítico de <i>F</i>
4	0,11063746	0,10568678	0,1155882	4,46225339	4,45057238	4,47393435	2089,049424	1,40765E-28
1	0,20501895	0,1837555	0,22628235	0,39588083	0,34571091	0,44605081	388,871123	2,4057E-18
6	0,12034748	0,11215497	0,12853999	2,43687576	2,41754597	2,45620556	902,660465	2,1084E-23
7	0,1560657	0,14724468	0,16488671	2,15036917	2,12955645	2,1711819	1309,36886	1,0987E-25
5	0,10472523	0,1002202	0,10923026	4,45128577	4,44065638	4,46191516	2260,42972	4,5531E-29
2	0,19670109	0,18128146	0,21212074	0,73292508	0,69654317	0,76930684	680,690122	1,0958E-21

Conclusiones basadas en los resultados estadísticos de los modelos de regresión utilizados

- Para los Casos 1, 2 y 6, el aumento en la frecuencia es proporcional al aumento en el módulo elástico, para los otros seis casos, ese incremento es variable.
- Casos 1 y 2: Las mezclas con 1.5 % de gelatina tienen valores mayores del módulo G' a los de las mezclas con 2.0 % de gelatina debido a que el hinchamiento del gránulo es mayor en las mezclas con 1.5 % de gelatina que con 2.0 % de gelatina.
- Caso 3: Las mezclas con 1.5 % de gelatina tienen un aumento significativo del módulo G' respecto a las de las mezclas con 2.0 % de gelatina debido al hinchamiento del gránulo.
- Casos 4 y 5: Los valores que toma G' son mayores para el caso con κ -carragenina + gelatina que con almidón + gelatina y se encuentran por arriba los valores de G' para las formulaciones con 1.5 % de gelatina de las formulaciones con 2.0 % de gelatina. No hay paralelismo y hay ese incremento significativo en el valor de los módulos con κ -carragenina. Como en los Casos 4 y 5 a 90 °C. Caso 6: Si hay paralelismo entre las pendientes y la disminución en el valor de G' se debe posiblemente al daño que sufrieron los gránulos de almidón. Se puede decir que el almidón juega un papel importante como “sostén” de las estructuras de la κ -carragenina y el almidón. Se esperaría que estos valores fuesen mayores ya que, en el caso a 90 °C, G' fue mayor. Al parecer, la interacción entre la gelatina y el almidón a 140 °C influye de manera significativa en el comportamiento de los geles.

- Caso 7: No hay paralelismo y la disminución en el valor de G' se debe posiblemente al daño que sufrieron los gránulos de almidón. Se esperaba que estos valores, en la mezcla ternaria, fuesen mayores ya que, en el caso a 90 °C, G' fue mayor. Al parecer, la interacción entre la gelatina y el almidón a 140 °C influye de manera significativa en el comportamiento de los geles.
- Caso 8 y 9: No hay paralelismo, el módulo G' de la mezcla de almidón + 2.0 % de gelatina está por arriba del módulo de almidón + 1.5 % gelatina. Este comportamiento es el mismo que en el caso a 90 °C. Entonces, aunque el tratamiento térmico dañó la estructura del gránulo, más en el caso con 1.5 % de gelatina la concentración de la gelatina (2.0 %) es la que influyó de manera significativa en el comportamiento viscoelástico de la pasta, ya que, posiblemente, la gelatina fungió como un protector al gránulo. Ahora bien, la disminución en el valor de G' de ambas pastas, se debe al daño que sufrieron los gránulos de almidón. Se esperaba que estos valores fuesen mayores ya que, en el caso a 90 °C, los módulos elásticos de estas formulaciones aumentaron de manera significativa.