



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

REOLOGÍA Y ESTABILIDAD DE EMULSIONES ACEITE EN AGUA ELABORADAS
CON POLISACÁRIDOS FUNCIONALES (GLUCOMANANO DE KONJAC Y
FRUCTANOS DE AGAVE) Y PROTEÍNAS DE SUERO DE LECHE

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

IQ ANA GABRIELA GUTIÉRREZ MATA

DRA. LAURA PATRICIA MARTÍNEZ PADILLA
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

CIUDAD DE MEXICO, FEBRERO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURAGO ASIGNADO

| | | |
|-------------------|-----------------------------------------------|----------------|
| Presidente | Dra. Amelia Guadalupe Farrés González-Saravia | FQ-UNAM |
| Vocal | Dr. Alberto Tecante Coronel | FQ-UNAM |
| Vocal | Dr. David Quintanar Guerrero | FES-Cuautitlán |
| Vocal | Dra. Adriana Inés Rodríguez Hernández | UAEH |
| Secretario | Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza | FES-Cuautitlán |

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA

Laboratorio de Propiedades Reológicas y Funcionales en Alimentos (LAPRYFAL),
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 1, UNAM.

TUTORA

Dra. Laura Patricia Martínez Padilla

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas.

Al proyecto PAPIIT IN118214: “Propiedades reológicas y fisicoquímicas de biomoléculas funcionales de interés en la formación de sistemas coloidales alimenticios”.

Ana Gabriela Gutiérrez Mata agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para estudios de Maestría con No. de becario 594784/691287.

Ana Gabriela Gutiérrez Mata agradece al programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la UNAM por el apoyo otorgado para la participación y asistencia al 9° Congreso Internacional “Sobre Inocuidad, Calidad y Funcionalidad de los Alimentos y Servicios de Alimentación” (SOMEICCA), que se llevó a cabo en la ciudad de Cancún, Quintana Roo, México, del 30 de octubre al 1 de noviembre del 2017.

Ana Gabriela Gutiérrez Mata agradece especialmente a la **Dra. Laura Patricia Martínez Padilla** y a la **Dra. María Guadalupe Sosa Herrera** por su total asesoría durante la elaboración de este proyecto de investigación.

Al jurado asignado, **Dra. Amelia Farrés**, **Dr. Alberto Tecante**, **Dr. David Quintanar**, **Dra. Adriana Rodríguez** y **Dra. Luz Zambrano**, por sus comentarios y atinadas correcciones para hacer de este trabajo de investigación una mejor aportación, por compartirme conocimientos y experiencias profesionales y sobre todo por ser parte de mi formación académica dentro y fuera del aula.



Para el amor más puro y bello, **Oliver†**
La eternidad será nuestro momento que no terminará jamás.
Será ahí dónde nos volveremos a encontrar, para vivir siempre sin fin...

¡Te amaré por siempre mi niño hermoso!



DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a Dios y a la vida por permitirme existir, por poder vivir esta experiencia que soñé durante tantos años. Aunque el camino no ha sido fácil, me ha traído tantas cosas buenas, me ha rodeado de personas increíbles e incluso conocer nuevos lugares. Hoy, puedo concluir esta etapa, con la esperanza de que siempre de tu mano vendrán nuevas e increíbles oportunidades que harán de mí una mejor persona.

A mis papás Arturo y Paty que sin su incondicional apoyo jamás lo hubiera logrado. Muchas gracias por todo su amor y cariño, por no dejarme abandonar mis sueños, incluso cuando parecía haber perdido la fe. Mamá, muchas gracias por tu valiosa compañía en momentos de mucha presión, por siempre escucharme y ser por siempre mi mejor amiga. Papá, nunca dejes de alentar mis sueños, el que lo hagas me da fortaleza para seguir luchando por ellos ¡Los amo!

A mis hermanos Beto y Kary por todo lo vivido durante este tiempo. Gracias por hacer de nuestra familia un lugar sorprendente del que nunca quisiera dejar de pertenecer. Sin ello, no podríamos ser la familia que somos ahora, que enfrenta y se levanta de grandes pruebas que sólo Dios sabe para qué...

A Fer, Nane y Romis por todos los momentos de aventuras y diversión, que siempre están llenos de risas, llantos, enojos y complicidad. Cada instante que pasamos juntas es único y especial, cuentan conmigo toda la vida. Bienvenida a este extraordinario mundo bella Nicole.

A Sugey, de no haber escrito aquel mensaje en esa tarde de octubre, nada de esto hubiera pasado. Hemos compartido tantas cosas durante estos 13 años de amistad que simplemente no los imagino sin ti. Muchas gracias por estar siempre amiga.

A mi asesora, la Dra. Laura Patricia Martínez Padilla por siempre apoyarme y compartirme infinidad de veces sus conocimientos durante todo este tiempo. Admiro su energía, dedicación y entrega para lograr siempre lo que se propone. Agradezco su paciencia y comprensión en momentos difíciles ¡Muchas gracias por todo Dra. Paty!

A la Dra. María Guadalupe Sosa Herrera, por su generosa asesoría durante la elaboración de este trabajo, le estaré eternamente agradecida por todo su apoyo y confianza. Admiro mucho el amor y compromiso que le tiene a su profesión y a la vida misma. Por siempre tener las palabras precisas para alentar mi camino. Es una maravillosa persona.

A la comunidad LAPRYFAL por las instalaciones, la capacitación adecuada de los equipos del laboratorio para la elaboración de este trabajo, los momentos de pláticas y convivencia, mi sincero agradecimiento.

A la **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO** por permitirme ser parte de esta institución desde aquel agosto del 2006 como estudiante de licenciatura y hacerme sentir orgullosamente universitaria. A mi querida **FES CUATITLÁN**, por ser parte indispensable de mi formación académica, por todas las experiencias vividas y por las que están por venir...

Con admiración y respeto
Gabry Gtz. Mata

ÍNDICE

| | Página |
|--------------------------------------------------------------|--------|
| ÍNDICE..... | i |
| ÍNDICE DE CUADROS..... | iv |
| ÍNDICE DE FIGURAS..... | v |
| LISTA DE ABREVIATURAS..... | viii |
| RESUMEN..... | ix |
| INTRODUCCIÓN..... | x |
| | |
| I. ANTECEDENTES | |
| 1.1 Emulsión..... | 14 |
| 1.1.1 Tipos de emulsión..... | 16 |
| 1.1.2 Formación de la emulsión..... | 18 |
| 1.1.3 Propiedades de la emulsión..... | 21 |
| 1.1.3.1 Carga de la gota..... | 21 |
| 1.1.3.2 Distribución de tamaño de gota..... | 22 |
| 1.1.3.3 Fracción volumen de la fase dispersa..... | 26 |
| 1.1.3.4 Propiedades en la interfase..... | 28 |
| 1.1.4 Factores que afectan la estabilidad de emulsiones..... | 29 |
| 1.1.4.1 Cremado y sedimentación..... | 31 |
| 1.1.4.2 Floculación..... | 31 |
| 1.1.4.3 Coalescencia..... | 32 |
| 1.1.4.4 Ruptura..... | 33 |
| 1.1.4.5 Inversión de fase..... | 33 |
| 1.1.4.6 Técnicas de medición de estabilidad..... | 34 |
| 1.1.5 Reología de emulsiones..... | 36 |
| 1.1.6 Agentes emulsionantes..... | 38 |
| 1.1.7 Agentes estabilizantes..... | 41 |
| 1.1.8 Interacción proteína–polisacárido..... | 43 |
| 1.2 Concentrado de suero de leche..... | 45 |
| 1.2.1 Obtención..... | 46 |
| 1.2.2 Estructura química..... | 46 |
| 1.2.3 Propiedades funcionales..... | 47 |
| 1.2.4 Propiedades reológicas..... | 48 |
| 1.2.5 Interacción con polisacáridos..... | 49 |
| 1.3 Glucomanano de konjac..... | 49 |
| 1.3.1 Obtención..... | 50 |
| 1.3.2 Estructura química..... | 51 |
| 1.3.3 Propiedades funcionales..... | 52 |
| 1.3.4 Propiedades reológicas..... | 53 |
| 1.3.5 Interacción con otros polisacáridos..... | 54 |
| 1.4 Fructanos de agave..... | 54 |
| 1.4.1 Obtención..... | 55 |
| 1.4.2 Estructura química..... | 55 |
| 1.4.3 Propiedades funcionales..... | 57 |

| | | |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.4.4 | Propiedades reológicas..... | 58 |
| 1.4.5 | Interacción con otros polisacáridos..... | 58 |
| II. | <u>METODOLOGÍA</u> | |
| 2.1 | Hipótesis..... | 60 |
| 2.2 | Objetivos..... | 60 |
| 2.3 | Materiales..... | 61 |
| 2.4 | Métodos..... | 62 |
| 2.4.1 | Formulación..... | 62 |
| 2.4.2 | Preparación de las muestras..... | 63 |
| 2.4.2.1 | Sistemas acuosos..... | 63 |
| 2.4.2.2 | Emulsiones..... | 64 |
| 2.4.3 | Humedad..... | 64 |
| 2.4.4 | pH..... | 65 |
| 2.4.5 | Densidad..... | 65 |
| 2.4.6 | Comportamiento reológico..... | 66 |
| 2.4.7 | Tamaño de gota..... | 66 |
| 2.4.8 | Estabilidad por transmisión y retrodispersión de luz..... | 68 |
| 2.4.9 | Análisis estadístico..... | 70 |
| III. | <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> | |
| 3.1 | pH de sistemas acuosos y emulsiones..... | 71 |
| 3.2 | Densidad de sistemas acuosos y emulsiones..... | 73 |
| 3.3 | Comportamiento reológico sistemas acuosos..... | 74 |
| 3.3.1 | Propiedades viscoelásticas..... | 75 |
| 3.3.1.1 | Disoluciones de glucomanano de konjac solo..... | 75 |
| 3.3.1.2 | Disoluciones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche en mezcla..... | 76 |
| 3.3.1.3 | Disoluciones de glucomanano de konjac y fructanos de agave en mezcla..... | 77 |
| 3.3.1.4 | Disoluciones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche en mezcla..... | 79 |
| 3.3.2 | Propiedades de flujo estacionario..... | 83 |
| 3.3.2.1 | Disoluciones de fructanos de agave y concentrado de suero de leche, solos y en mezcla..... | 83 |
| 3.3.2.2 | Disoluciones de glucomanano de konjac solo..... | 85 |
| 3.3.2.3 | Disoluciones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche en mezcla..... | 87 |
| 3.3.2.4 | Disoluciones de glucomanano de konjac y fructanos de agave en mezcla..... | 88 |
| 3.3.2.5 | Disoluciones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche en mezcla..... | 89 |
| 3.3.2.6 | Parámetros reológicos..... | 91 |
| 3.4 | Comportamiento reológico de emulsiones..... | 94 |
| 3.4.1 | Propiedades viscoelásticas..... | 95 |
| 3.4.1.1 | Emulsión de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche..... | 95 |

| | | |
|---------|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.4.2 | Propiedades de flujo estacionario..... | 96 |
| 3.4.2.1 | Emulsiones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche..... | 96 |
| 3.4.2.2 | Emulsiones de glucomanano de konjac y fructanos de agave..... | 98 |
| 3.4.2.3 | Emulsiones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche..... | 101 |
| 3.4.2.4 | Parámetros reológicos..... | 104 |
| 3.5 | Tamaño de gota de las emulsiones..... | 106 |
| 3.5.1 | Emulsiones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche..... | 107 |
| 3.5.2 | Emulsiones de glucomanano de konjac y fructanos de agave..... | 108 |
| 3.5.3 | Emulsiones de fructanos de agave y concentrado de suero de leche..... | 110 |
| 3.5.4 | Emulsiones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche..... | 111 |
| 3.6 | Estabilidad de emulsiones..... | 116 |
| 3.6.1 | Emulsiones de fructanos de agave y concentrado de suero de leche..... | 117 |
| 3.6.2 | Emulsiones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche..... | 119 |
| 3.6.3 | Emulsiones de glucomanano de konjac y fructanos de agave..... | 122 |
| 3.6.4 | Emulsiones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche..... | 126 |
| | CONCLUSIONES..... | 134 |
| | RECOMENDACIONES | 136 |
| | REFERENCIAS..... | 137 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | | |
|------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1.1 | Denominación de las emulsiones dependiendo del tamaño de gota..... | 17 |
| 1.2 | Comparación de diferentes tipos de homogeneizadores..... | 19 |
| 1.3 | Organización, tipo y características de las gotas dependiendo del valor de la fracción volumen de la fase dispersa de una emulsión aceite en agua..... | 27 |
| 1.4 | Clasificación de hidrocoloides..... | 42 |
| 1.5 | Semejanzas y diferencias generales entre proteínas y polisacáridos como biopolímeros funcionales en sistemas alimenticios..... | 43 |
| 2.1 | Resumen de las formulaciones elaboradas..... | 62 |
| 3.1 | pH de sistemas acuosos y emulsiones a 25 °C..... | 71 |
| 3.2 | Densidad promedio del agua, aceite, sistemas acuosos y emulsiones estudiados a 20 °C..... | 73 |
| 3.3 | Puntos de cruce de los módulos G' y G'' de las disoluciones de GMK al 0.5 % solo y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25 °C... | 81 |
| 3.4 | Viscosidad de CSL al 2 %, FA al 10 y 20 % solos, en mezcla y medio acuoso a 25 °C..... | 84 |
| 3.5 | η_0 y parámetros reológicos del modelo Carreau para las disoluciones de GMK al 0.25 y 0.5 %, solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25 °C..... | 92 |
| 3.6 | η_0 y parámetros reológicos del modelo Carreau para las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 %, en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25 °C..... | 105 |
| 3.7 | Diámetros representativos de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %, sin y con la aplicación de ultrasonido, a 25 °C..... | 108 |
| 3.8 | Diámetros representativos de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido a 25 °C..... | 113 |
| 3.9 | Diámetros de gotas del porcentaje acumulado al 10, 50 y 90 % y los valores de dispersión relativa (DR) de emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido, a 25 °C..... | 115 |
| 3.10 | Valores de tiempos y cinéticas de desestabilización de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %, a 25 °C..... | 121 |
| 3.11 | Valores de tiempos y cinéticas de desestabilización de las emulsiones de GMK al 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 %, a 25 °C..... | 125 |
| 3.12 | Valores de tiempos y cinéticas de desestabilización de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %, a 25 °C..... | 131 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.1 | Tipos y regiones de emulsiones..... | 16 |
| 1.2 | Mezclador de alta velocidad..... | 20 |
| 1.3 | Representación esquemática de emulsiones monodispersas y polidispersas..... | 23 |
| 1.4 | Diseño para un instrumento analizador de gotas de una emulsión diluida..... | 24 |
| 1.5 | Distintas representaciones de distribución de tamaño de gota, a) Histograma b) Distribución frecuencia c) Distribución acumulativa..... | 25 |
| 1.6 | Procesos de inestabilidad de emulsiones..... | 30 |
| 1.7 | Dispositivo de transmisión y retrodispersión de luz aplicado a una muestra que es escaneada verticalmente..... | 35 |
| 1.8 | Ejemplos de gráficos de retrodispersión de luz en modo referencia a través de una muestra..... | 35 |
| 1.9 | Orientación de los grupos polares y no polares de un agente emulsionante macromolecular | 39 |
| 1.10 | Comportamiento de las mezclas de proteínas y polisacáridos..... | 44 |
| 1.11 | Estructura química de la β -lactoglobulina..... | 47 |
| 1.12 | Estructura química del glucomanano de konjac..... | 51 |
| 1.13 | Diferentes tipos de fructanos A) inulina B) levana C) graminados D) neo-inulina E) neo-levana..... | 56 |
| 1.14 | Estructura química propuesta para los fructanos de agave..... | 57 |
| 2.1 | Ejemplo de histograma de densidad de distribución de tamaño de gota y valores acumulativos (línea)..... | 67 |
| 2.2 | Fenómenos de desestabilización identificados en perfiles típicos de transmisión y retrodispersión en modo crudo (A) y en modo referencia (B) de emulsiones en función del tiempo y la altura del tubo..... | 69 |
| 3.1 | Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de las disoluciones de GMK al 0.25 y 0.5 % a 25°C..... | 76 |
| 3.2 | Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida(G'') en función de la frecuencia angular de los sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % solos y en mezcla con CSL al 2 % a 25 °C..... | 77 |
| 3.3 | Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de los sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 (a) y 0.5 % (b) solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % a 25 °C..... | 78 |
| 3.4 | Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de los sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 (a) y 0.5 % (b) solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25 °C..... | 80 |

| | | |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.5 | Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de CSL al 2 %, FA al 10 % y 20 %, solos y en mezcla a 25 °C..... | 83 |
| 3.6 | Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % a 25 °C..... | 86 |
| 3.7 | Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % solos y en mezcla con CSL al 2 % a 25 °C..... | 87 |
| 3.8 | Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 %, solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % a 25 °C..... | 89 |
| 3.9 | Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25°C..... | 90 |
| 3.10 | Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de la emulsión (E) y la fase acuosa (F) de GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % y la disolución de GMK al 0.5 % a 25 °C..... | 96 |
| 3.11 | Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones (E) y sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 % y la disolución de GMK al 0.25 y 0.5 % a 25° C..... | 97 |
| 3.12 | Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones (E) y sistemas acuosos (F) de GMK 0.5 % FA 10 % (a) y GMK 0.5 % FA 20 % (b) y la disolución de GMK al 0.5 %, a 25° C..... | 100 |
| 3.13 | Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones (E) y sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 % (a) y 0.5 % (b) en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % y fases acuosas de GMK al 0.25 y 0.5 %, a 25 °C..... | 102 |
| 3.14 | Distribución de tamaño de gota de emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido (*), a 25 °C..... | 107 |
| 3.15 | Distribución de tamaño de gota de emulsiones de GMK al 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % sin y con la aplicación de ultrasonido (*), a 25 °C..... | 109 |
| 3.16 | Distribución de tamaño de gota de la emulsión de FA al 20 % en mezcla con CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido (*), a 25 °C..... | 110 |
| 3.17 | Distribución de tamaño de gota de emulsiones de GMK al 0.25 (a) y 0.5 % (b) en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %, sin y con la aplicación de ultrasonido (*), a 25 °C..... | 112 |
| 3.18 | Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de FA 20 % CSL 2 %, a 25 °C..... | 117 |
| 3.19 | Velocidad de desestabilización (clarificado) de la emulsión de FA 20 % CSL 2 %, a 25 °C..... | 118 |
| 3.20 | Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.25 % y CSL 2 %, a 25 °C..... | 119 |

| | | |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.21 | Retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % CSL 2 %, a 25 °C..... | 120 |
| 3.22 | Velocidad de desestabilización (clarificado) de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %, a 25 °C..... | 121 |
| 3.23 | Retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK al 0.5 % FA 10 %, a 25 °C.... | 123 |
| 3.24 | Retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % FA 20 %, a 25 °C..... | 123 |
| 3.25 | Velocidad de desestabilización de las emulsiones de GMK al 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 %, a 25 °C..... | 124 |
| 3.26 | Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.25 % FA 10 % y CSL 2 %, a 25 °C..... | 128 |
| 3.27 | Retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.25 % FA 20 % y CSL 2 %, a 25 °C..... | 128 |
| 3.28 | Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % FA al 10 % CSL 2 %, a 25 °C..... | 129 |
| 3.29 | Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % FA 20 % y CSL 2 %, a 25 °C..... | 129 |
| 3.30 | Velocidad de desestabilización (clarificado) de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %, a 25 °C..... | 130 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| GMK | Glucomanano de konjac |
| FA | Fructanos de agave |
| CSL | Concentrado de suero de leche |
| F | Sistemas acuosos |
| E | Emulsión |
| DR | Parámetro de dispersión relativa |
| G' | Módulo de almacenamiento |
| G'' | Módulo de pérdida |
| η_0 | Viscosidad a baja velocidad de cizalla |
| η_∞ | Viscosidad a alta velocidad de cizalla |
| λ | Constante de tiempo característico de un fluido del modelo reológico de Carreau |
| p | Exponente adimensional del modelo reológico de Carreau |
| $\dot{\gamma}$ | Velocidad de cizalla |

RESUMEN

En la presente investigación se estudiaron las propiedades reológicas de sistemas acuosos de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche, por separado, en mezclas y en distintas concentraciones. También se determinaron las propiedades reológicas y fisicoquímicas de las emulsiones con 30 % de aceite de cártamo, elaboradas a partir de los sistemas acuosos de las mezclas binarias y terciarias, con la finalidad de correlacionar las propiedades de la fase continua y el efecto de la concentración de los biopolímeros que la componen, en las emulsiones aceite en agua. A todos los sistemas se les midió el pH y la densidad como medio de control, en donde los valores de pH mostraron tendencia a la neutralidad conforme se incrementó la concentración de los biopolímeros y se adicionó el aceite. La densidad de los sistemas acuosos fue aumentando a medida que incrementó la concentración de los componentes, mientras que en las emulsiones disminuyó debido a la presencia del aceite. En los sistemas acuosos se observó que las propiedades de flujo de fructanos de agave, concentrado de suero de leche y las mezclas entre ellos, tienen un comportamiento newtoniano, mientras que las disoluciones que contienen glucomanano de konjac presentan un comportamiento característico de un material fluidificante (no-newtoniano), ajustándose al modelo reológico de Carreau, al igual que las emulsiones. Las propiedades viscoelásticas mostraron que las disoluciones acuosas de glucomanano de konjac en baja concentración presentaron un comportamiento tipo disolución diluida, mientras que en las disoluciones acuosas de las mezclas entre los hidrocoloides y a una mayor concentración de glucomanano de konjac exhiben un comportamiento tipo disolución concentrada. En la emulsión que se caracterizó, se observó predominio de la componente elástica. La distribución de tamaño de gota de las emulsiones en general fue polidispersa con tendencia a formar flóculos. Se observó que al aplicar ultrasonido las emulsiones que contenían la mayor concentración de biopolímeros mostraron los menores tamaños de gota, así como, tiempos de estabilidad mayores de 25 días tras el seguimiento por un medio óptico. Esta investigación denota la posibilidad de aplicación de estos biopolímeros en la elaboración de emulsiones funcionales estables.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la industria alimentaria se ha enfocado en desarrollar nuevos productos que sean bajos en azúcares y grasas, y a su vez, sean altos en fibras dietéticas y prebióticos, esto con el propósito de satisfacer las demandas de alimentos saludables y de fácil digestión.

Las proteínas y polisacáridos son biopolímeros naturales que se utilizan en aplicaciones tecnológicas en la industria de alimentos, farmacéutica y cosmética, que pueden ayudar a minimizar el efecto de la modificación de la formulación en el desarrollo de alimentos funcionales, por lo que el estudio de la mezcla de estos biopolímeros se ha incrementado (Dickinson, 2003; Li & Nie, 2016; Rodríguez-Patino & Pilosof, 2011).

Además, los biopolímeros se pueden encontrar entre los ingredientes de una amplia gama de sistemas coloidales alimenticios, destaca su aplicación en la formulación de sistemas basados en emulsiones, debido a que alimentos de consumo habitual son emulsiones aceite en agua, como por ejemplo, mayonesas, aderezos para ensalada, helados, salsas, entre otros (Neiryneck, Van lent, Dewettinck, & Van der Meeren, 2007).

Las proteínas poseen actividad superficial, lo que les permite desempeñar un papel importante en la formación y estabilización de emulsiones mediante una combinación de mecanismos electrostáticos y estéricos (Dickinson, 2003; McClements, 2005; Rodríguez-Patino & Pilosof, 2011). En específico, las proteínas lácteas se han distinguido por su poder emulsionante o espumante, y en mezcla con otros aditivos como los polisacáridos contribuyen a la formación, estabilización, impartición de textura e incremento de la vida útil de sistemas dispersos (Perez,

Carrara, Sánchez, Santiago & Rodríguez-Patino, 2009b; Schorsch, Jones, & Norton, 1999).

De particular importancia son las proteínas obtenidas del suero lácteo en forma de concentrado, que por su carácter anfifílico muestran una fuerte tendencia a la adsorción y a una lenta propagación en la interfase, creando partículas pequeñas (Perez, Carrara, Sánchez, Santiago, et al., 2009a). Esto les permite desarrollar buenas propiedades emulsionantes, que dependiendo de la composición de la fase continua y las condiciones de procesamiento, contrarresten los procesos más comunes de inestabilidad, coalescencia y cremado (Damianou & Kiosseoglou, 2006; Dickinson, 2003; Gaspoz & Carrara, 2008; McClements, 2005; Sánchez-Carrera & Rodríguez-Patino, 2005).

Los polisacáridos, por su parte, se usan como agentes espesantes y gelificantes, mejorando la estabilidad en los sistemas coloidales alimentarios a los que se agregan (Dickinson, 2003; Neiryck et al., 2007). Además, debido a su fuerte carácter hidrofílico, estos permanecen en la fase acuosa controlando las propiedades reológicas y la estructura de la fase continua, lo que retarda la separación de fases y la formación de cremado inducido por la acción de la fuerza de gravedad en emulsiones aceite en agua (Dickinson, 2003, 2008; McClements, 2000).

Diversos estudios confirman que algunos polisacáridos poseen efectos prebióticos que los hacen sumamente atractivos para su uso como un aditivo en alimentos, dentro de estos destacan el glucomanano de konjac y los fructanos de agave (Carabin & Flamm, 1999; Tester & Al-Ghazzewi, 2017).

Los fructanos de agave son fibras dietéticas altamente solubles para los cuales se ha reportado afinidad por interactuar en interfase con proteínas lácteas en medio acuoso (Sosa-Herrera, Martínez-Padilla, Delgado-Reyes, & Torres-Robledo, 2016). Además, en diversos estudios *in vitro* e *in vivo* de fructanos obtenidos a partir del

agave, se han reportado que tienen actividad prebiótica potencial debido a su capacidad para promover el crecimiento de bifidobacterias y lactobacilos (Crispín-Isidro, Lobato-Calleros, Espinosa-Andrews, Alvarez-Ramirez, & Vernon-Carter, 2015), actúa como activador del sistema inmunológico reducen el colesterol en plasma, contribuyen a la saciedad, controlan la glucemia, entre otras (Carabin & Flamm, 1999). Por estas razones, la incorporación de fructanos en los alimentos procesados es un enfoque atractivo para mejorar la calidad de los alimentos (Sosa-Herrera & Delgado-Reyes, 2016). En otros estudios se ha demostrado que los fructanos de agave en combinación con otros polisacáridos, pueden influir en el comportamiento reológico de estos (Meyer, 2009).

El glucomanano de konjac debido a su alta masa molar y su gran afinidad por el agua es considerado un excelente espesante. Al igual que los fructanos, posee propiedades nutraceuticas potenciales (Tester & Al-Ghazzewi, 2017). En diversos estudios, se ha encontrado que el glucomanano de konjac reduce el colesterol al provocar el aumento de los niveles de ácidos grasos de cadena corta (Dai, Jiang, Shah & Corke, 2017), reduce el nivel de azúcar en la sangre, es favorable para la pérdida de masa, tiene la capacidad de promover la actividad intestinal y activar el sistema inmunológico (Behera & Ray, 2016). Por lo que estas propiedades hacen que el glucomanano de konjac sea una opción para su uso como agente estabilizante en emulsiones alimentarias (Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016; Zhang, Xie, & Gan, 2005).

El aplicar dichos biopolímeros funcionales en emulsiones, es de interés, ya que su uso propone alternativas para el desarrollo de nuevos y atractivos productos alimenticios desde el punto de vista nutricional. Sin embargo, el estudio de la interacción entre macromoléculas es limitado, y el resultado de la estructura final del producto dependerá de las diferencias en estructura química de cada biopolímero empleado y de las interacciones respectivas.

Por ello, el propósito de este estudio es analizar el efecto de la concentración de glucomanano de konjac y fructanos de agave en emulsiones aceite en agua elaboradas a base de concentrado de suero de leche, sobre las propiedades reológicas de estas, su distribución de tamaño de gota, así como su estabilidad en función del tiempo de almacenamiento, en donde la estrategia de estudio consistió en determinar la influencia de cada biopolímero por separado y en mezcla en el comportamiento reológico de la fase acuosa, y su efecto en las emulsiones de estudio, con la finalidad de proponer su aplicación en la elaboración de emulsiones alimenticias con mayor estabilidad.

I. ANTECEDENTES

1.1 Emulsión

En términos generales una emulsión se refiere a una dispersión coloidal de gotas de un líquido en otra fase líquida. Una emulsión es un sistema heterogéneo constituido por al menos dos fases líquidas inmiscibles (usualmente aceite y agua), donde una de las fases está dispersada uniformemente en forma de pequeñas gotas esféricas dentro de otra fase que las engloba o encierra (Brewer, Franco & García-Zapateiro, 2016; Dickinson, 2003; McClements, 2005). La sustancia que compone las gotas en una emulsión se denomina fase dispersa, discontinua o interna, mientras que la sustancia que compone el líquido circundante se denomina fase continua o externa (Dickinson, 2003; McClements, 2005).

Por lo general, en la mayoría de las emulsiones alimenticias los diámetros de las gotas se encuentran entre 0.1 y 100 μm . Sin embargo, la concentración de gotas en una emulsión está usualmente descrita en términos de fracción volumen de la fase dispersa (ϕ). Asimismo, la composición y las propiedades de una emulsión varía de una región a otra, puesto que las emulsiones alimenticias pueden considerarse consistentes en tres regiones distintas: el interior de las gotas, la fase continua y la interfase (Dickinson & Stainsby, 1982; McClements, 2005).

Las emulsiones por naturaleza y con el fin de encontrar el equilibrio son sistemas inestables que eventualmente se descomponen las fases que la constituyen, después de un tiempo determinado. Cuando se considera la “estabilidad” en una emulsión, es de gran importancia distinguir entre la estabilidad termodinámica y la estabilidad cinética (Dickinson & Stainsby, 1982; McClements, 2005).

La inestabilidad termodinámica de una emulsión se puede demostrar fácilmente si se agita aceite y agua puros contenidos en un recipiente sellado, tras la agitación se puede observar una dispersión ópticamente opaca que inicialmente está formada por roturas de agitación, pero con el tiempo, la apariencia del sistema cambia mostrando rápidamente como se revierten los componentes individuales. El origen de esta inestabilidad se debe a un cambio de energía libre presente entre la fase acuosa y la fase oleosa antes y después de la emulsificación. Por definición, la diferencia de la energía libre en la interfase entre el estado inicial y final ($\Delta G_{formación}$) es igual al incremento del área de contacto o superficie entre la fase acuosa y oleosa (ΔA) multiplicado por la tensión en la interfase (γ) (McClements, 2005).

$$\Delta G_{formación} = \gamma \Delta A \quad (1.1)$$

Con la Ecuación 1.1, es posible representar el cambio de energía asociado con la creación de una emulsión alimenticia, en donde el cambio de energía libre en la interfase ($\gamma \Delta A$) siempre es positivo, debido al incremento del área de superficie después de la homogeneización. Este cambio en la energía libre determina si una emulsión es termodinámicamente estable o no, pero no proporciona ninguna información de la velocidad a la que ocurren los cambios de las propiedades de una emulsión con respecto al tiempo, así como el tipo de cambios que ocurren o los mecanismos físicos responsables de estos cambios (Aranberri, Binks, Clint & Fletcher, 2006; McClements, 2005).

La importancia de los efectos cinéticos resalta al comparar la estabilidad a largo plazo de las emulsiones con la misma concentración, pero con diferentes tamaños de gotas. Generalmente, una emulsión que contiene pequeños tamaños de gota tiene mayor vida de anaquel (mayor estabilidad cinética) a comparación con una emulsión que contiene gotas más grandes, a pesar de que es termodinámicamente más inestable (debido a su mayor área en la interfase, ΔA) (McClements, 2005).

Aunque las emulsiones alimenticias existen en un estado termodinámicamente inestable, muchas de ellas permanecen cinéticamente estables (metaestables), durante un periodo de tiempo que puede llegar hasta meses o incluso años. Esta variación de tiempo depende de los agentes emulsionantes y agentes estabilizantes utilizados en la creación de una emulsión, dado que estos se encargan de retardar o inhibir los mecanismos de desestabilización de esta. Por lo anterior, es de particular importancia tener conocimiento del tiempo de estabilidad de las emulsiones para la creación de productos alimenticios, conservando sus propiedades durante un intervalo amplio de tiempo bajo distintas condiciones ambientales (Dickinson, Ma & Povey, 1994; McClements, 2005).

1.1.1 Tipos de emulsión

Las emulsiones se pueden clasificar de acuerdo con la distribución espacial relativa de la fase acuosa y la fase oleosa. Un sistema que consiste en gotas de aceite dispersos en una fase acuosa se denomina emulsión aceite en agua, por ejemplo, leche, crema, aderezos, mayonesa, bebidas, cremas de licores, sopas y salsas. Un sistema que consiste en gotas de agua dispersos en una fase oleosa se llama emulsión agua en aceite, por ejemplo, margarina, mantequilla y algunos semisólidos untables. En la Figura 1.1 se representan los tipos de emulsiones de acuerdo con las fases que la componen (McClements, 2005).

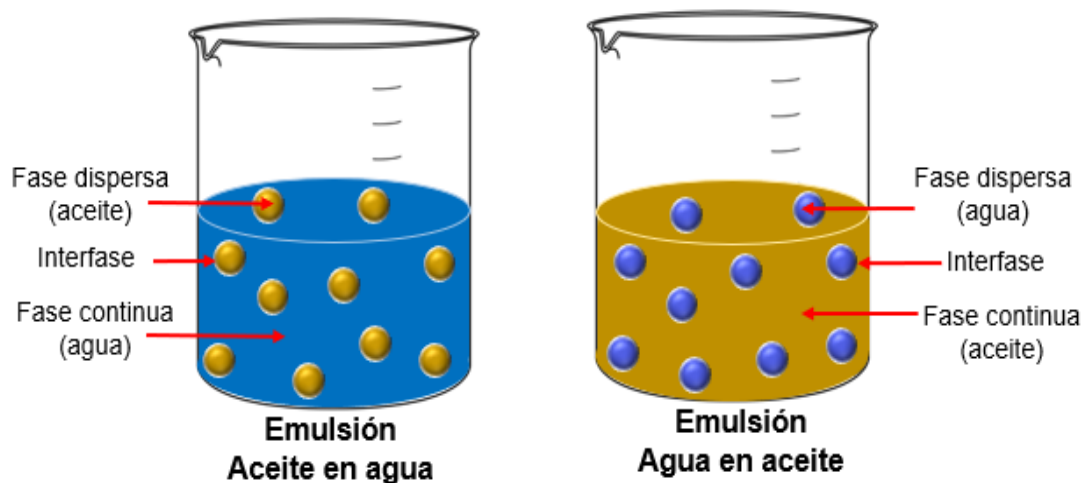


Figura 1.1 Tipos y regiones de emulsiones (Adaptado de McClements, 2005).

Es posible preparar otro tipo de emulsiones, se trata de emulsiones dobles o múltiples. Están constituidas por una fase dispersa inmisible en la fase continua, donde la fase dispersa contiene a su vez gotas que son inmiscibles en ella. Esta clase de emulsiones puede ser de dos tipos, agua en aceite en agua o aceite en agua en aceite. Por ejemplo, una emulsión múltiple agua en aceite en agua consiste en gotas de agua dispersas dentro de gotas de aceite más grandes, que a su vez se dispersan en una fase acuosa continua (McClements, 2005; Perez-Moral, Watt, & Wilde, 2014).

Existe una subclasificación de las emulsiones de acuerdo con el tamaño de gota, en el Cuadro 1.1 se presenta la denominación de las emulsiones de acuerdo con el tamaño de gota.

Cuadro 1.1 Denominación de las emulsiones dependiendo del tamaño de gota (Tadros, 2013).

| Denominación | Tipo | Tamaño | Apariencia |
|---------------------------|----------------------------------------|----------------------|---------------------------------|
| Normales | | | |
| Macroemulsión | Aceite-Agua Agua-Aceite | 0.5-50 μm | Blanca |
| Nanoemulsión | | 20-100 nm | Semitransparente |
| Microemulsión | | 10-100 nm | Semitransparente o transparente |
| Múltiples o dobles | Aceite-Agua-Aceite Agua-Aceite-Agua | 0.5-5 μm | Blanca |

El estudio de las emulsiones ha sido durante mucho tiempo de gran interés, ya que se han encontrado numerosas aplicaciones en alimentos, cosméticos (cremas corporales, cremas faciales, labiales), medicina, pinturas, asfalto, polimerización, impresión, procesamiento de metales y procesamiento de madera (Abdel-Raouf, 2012; Chen & Tao, 2005; Cohen-Addad & Höhler, 2014).

Sin embargo, existe un particular interés en emulsiones alimenticias aceite en agua, debido a que muchos alimentos que hoy en día son mayormente consumidos son de este tipo (McClements, 2005).

1.1.2 Formación de la emulsión

Antes de convertir las fases en una emulsión, es necesario dispersar diversos ingredientes dentro de la fase en la que son más solubles, por ejemplo, las vitaminas, colores y antioxidantes son comúnmente mezclados con la fase oleosa, mientras que las proteínas, polisacáridos, azúcares y sales se mezclan con agua (McClements & Jafari, 2018). En algunos casos, es conveniente incorporar los ingredientes en polvo directamente en una mezcla de aceite y agua, independientemente de la fase en la que sean más solubles, o incluso mezclar los ingredientes en polvo antes de agregarlos al recipiente de mezclado, esto puede ayudar a prevenir la aglomeración e incluso podría facilitar la dispersión durante el proceso de homogeneización (McClements, 1999, 2005).

Como se ha mencionado, las emulsiones son sistemas que no ocurren de manera espontánea (Reyes & Di Scipio, 2012) y, para que una emulsión pueda formarse, debe superarse la tensión en la interfase aportando energía en el sistema. Esto se puede lograr mediante agitación o mezclado (Di Scipio, Escalona, Quijada, & Millán, 2008). Sin embargo, el proceso de homogeneización es el método más utilizado para la elaboración de emulsiones alimenticias, el cual consiste de forma general en mezclar vigorosamente la fase acuosa y la fase oleosa en presencia de uno o más emulsionantes en el sistema (McClements & Jafari, 2018).

Este proceso generalmente se lleva a cabo utilizando dispositivos mecánicos conocidos como homogeneizadores que, por lo regular, se someten a los líquidos a una intensa agitación mecánica. Existen varios tipos de dispositivos capaces de formar una emulsión, tales como mezcladores de alta velocidad, molinos coloidales, homogeneizadores de válvula de alta presión, homogeneizadores ultrasónicos, microfluidizadores y homogeneizadores de membrana. En el Cuadro 1.2 se comparan algunas características generales de estos homogeneizadores (McClements, 2005). La elección de un homogeneizador en particular depende del volumen del material a homogeneizar, el rendimiento, la naturaleza de los

ingredientes que componen las fases, la distribución de tamaño de gota deseada, las propiedades fisicoquímicas de las fases y del producto final, costo, disponibilidad y funcionamiento del equipo.

Al elegir el homogeneizador, es imprescindible seleccionar las condiciones de operación como velocidad de flujo, temperatura, tiempo de homogeneización, diseño del agitador o cabezal y velocidad de rotación (Fernandez-Avila y Trujillo, 2016; McClements, 1999, 2005). Por lo general, en el procesamiento de emulsiones alimenticias es muy común utilizar mezcladores de alta velocidad, molinos coloidales u homogeneizadores de válvula de alta presión (Dickinson, 2009). Por tal motivo, en este proyecto de investigación se utilizará un mezclador de alta velocidad para formar las emulsiones aceite en agua.

Cuadro 1.2 Comparación de diferentes tipos de homogeneizadores (McClements, 1999, 2005).

| Tipo de homogeneizador | Rendimiento | Eficiencia energética relativa | Tamaño mínimo de gota (µm) | Viscosidad de la muestra |
|--------------------------------|--------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| Mezcladores de alta velocidad | Lote o continuo | Bajo | 2 | Bajo a medio |
| Molinos coloidales | Continuo | Intermedio | 1 | Medio a alto |
| Homogeneizador de alta presión | Continuo | Alto | 0.1 | Bajo a medio |
| Sonda ultrasónica | Lote o continuo | Bajo | 0.1 | Bajo a medio |
| Microfluidización | Continuo | Alto | < 0.1 | Bajo a medio |
| Homogeneizador de membrana | Lote o continuo | Muy alto | 0.3 | Bajo a medio |

Los mezcladores de alta velocidad son los equipos más utilizados para homogeneizar directamente la fase acuosa y la fase oleosa. Los líquidos que son homogeneizados se colocan en un recipiente, el cual puede contener volúmenes pequeños y grandes. En seguida, las fases se agitan por un cabezal que gira a altas velocidades, generando una combinación de gradientes de velocidad longitudinal,

rotacional y radial en los líquidos, por lo que desorganiza las interfases entre el aceite y el agua provocando que se entremezclen y a su vez, se dividan las gotas en partículas más pequeñas. Una homogeneización eficiente se logra cuando los perfiles de flujo horizontal y vertical distribuyen los líquidos uniformemente por todo el recipiente, así como, el diseño del agitador o cabezal, tal y como se muestra en la Figura 1.2 (Fernandez-Avila & Trujillo, 2016; McClements, 2005).

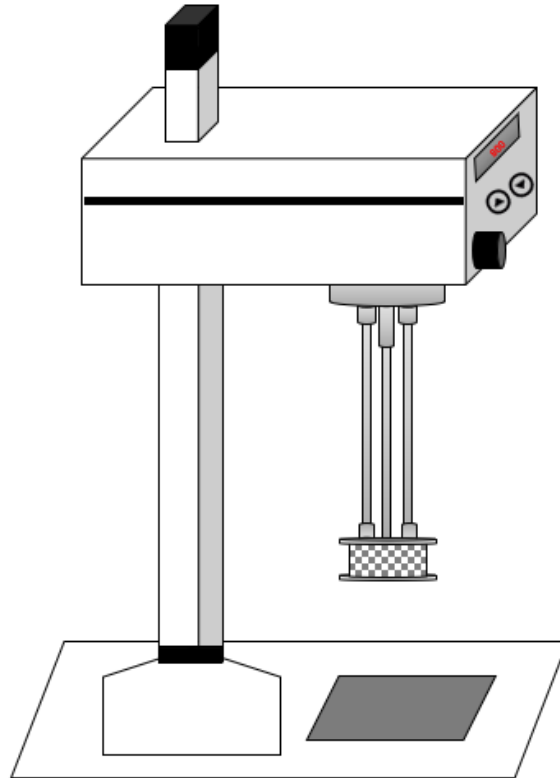


Figura 1.2 Mezclador de alta velocidad (diseñado por la autora).

Este tipo de mezcladores son particularmente útiles para preparar emulsiones con viscosidades bajas o intermedias. El tamaño de las gotas generalmente disminuye a medida que aumenta el tiempo y la velocidad de homogeneización, hasta que se alcanza un límite inferior que depende de la naturaleza y concentración de los ingredientes utilizados, así como, de la potencia del equipo. El tamaño de las gotas producidas con el uso de este mezclador varían entre 2 y 10 μm de diámetro (McClements, 2005).

La duración e intensidad del proceso de homogeneización depende del tiempo requerido para solvatar y distribuir uniformemente los ingredientes. Una solvatación adecuada es importante para la funcionalidad de varios componentes alimenticios. En el caso particular de las proteínas y los polisacáridos, se ha encontrado que sus propiedades funcionales mejoran al permitirles una hidratación en agua durante minutos u horas antes de la homogeneización (McClements, 2005; McClements & Jafari, 2018).

1.1.3 Propiedades de la emulsión

Muchas de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de las emulsiones aceite en agua de los sistemas alimenticios, tales como, reología, estabilidad, comportamiento, apariencia, textura, sabor y vida de anaquel, están definidas por las propiedades que impactan sobre las tres regiones que componen una emulsión, principalmente la concentración, tamaño y carga de los gotas de grasa o aceite dispersadas en la fase continua, así como las características de la interfase (McClements, 2005). En este tipo de sistemas, los aceites empleados para formar la emulsión, cuando se emplea a baja concentración, actúan básicamente como relleno, es decir, ocupan un espacio, pero no interaccionan física o químicamente con el resto del sistema (Sosa-Herrera, 2008).

1.1.3.1 Carga de la gota

Las sustancias con propiedades de superficie activa como las proteínas tienen grupos de cabeza hidrofílicos que pueden ser neutros, con carga positiva o carga negativa dependiendo del pH de la disolución en comparación con su punto isoeléctrico. Los polisacáridos de superficie activa también pueden tener una carga eléctrica dependiendo de los grupos funcionales que contienen a lo largo de la cadena. Las gotas de la fase dispersa de una emulsión pueden tener carga eléctrica que depende de los tipos de moléculas anfífilas presentes en el sistema y del pH de la fase acuosa. Esta carga determina la naturaleza de las interacciones y

comportamiento con otras especies cargadas, ya que, influye significativamente con la calidad de las emulsiones alimenticias. Dos especies que tienen cargas de signo opuesto se atraen en sí, mientras que dos especies que tienen cargas de signo similar se repelen (McClements & Jafari, 2018)

Sin embargo, todas las gotas en una emulsión suelen estar cubiertas con el mismo tipo de emulsionante, por lo tanto, tienen la misma carga eléctrica. Si la carga es lo suficientemente grande se impide que las gotas se agreguen debido a la repulsión electrostática entre ellas, ya que, la agregación de las gotas a menudo conduce al aumento de la viscosidad en la emulsión generando el rápido crecimiento de estas. La acumulación de las gotas depende del signo de su carga en relación con la de la superficie, la fuerza de la interacción electrostática, concentración y la presencia de cualquier otra especie cargada que pueda competir en la interfase (McClements, 2005).

1.1.3.2 Distribución de tamaño de gota

Muchas de las propiedades principales de productos alimenticios basados en emulsiones aceite en agua, son determinadas por la concentración y el del tamaño de sus gotas. Por lo general, el número de gotas en una emulsión es extremadamente grande (Dickinson & Stainsby, 1982; McClements, 2005). Si todas las gotas de una emulsión son del mismo tamaño se refiere a una emulsión monodispersa, si hay un intervalo de tamaños de gotas presente en el sistema se le conoce como emulsión polidispersa (Figura 1.3) (McClements, 2005).

Las emulsiones monodispersas algunas veces son preparadas y usadas para estudios fundamentales, debido a la simple interpretación de los datos experimentales a comparación con las emulsiones polidispersas. Sin embargo, las emulsiones alimenticias reales siempre presentan una distribución del tamaño de los gotas (McClements, 1999).

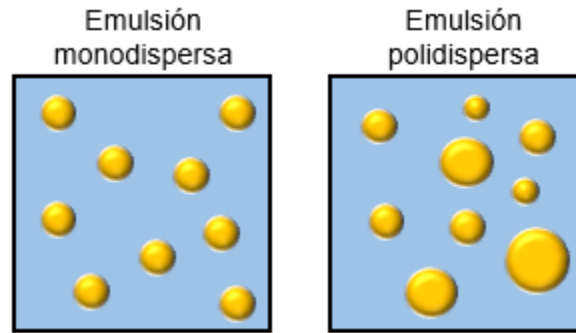


Figura 1.3 Representación esquemática de emulsiones monodispersas y polidispersas (adaptado de McClements, 2005).

Los instrumentos de análisis de tamaño de gota basados en el principio de difracción láser son ampliamente utilizados para fines de investigación, desarrollo y control de calidad en la industria alimentaria, destacando su aplicación en la mayoría de las emulsiones, ya que, permite determinar el tamaño de partículas entre 0.1 y 500 μm . Estos instrumentos se basan en el principio de que un rayo de luz dirigido a través de una muestra es dispersado por las gotas de una manera bien definida. Las mediciones de intensidad pueden realizarse a un ángulo fijo o en un intervalo de ángulos ($\theta = 0, 45, 90$ o 180°), para ángulos bajos se presenta sensibilidad a tamaños de gota grandes, mientras que las mediciones a ángulos grandes son más sensibles a tamaños de gota pequeños. El tamaño de la gota a la que un instrumento es sensible depende de la longitud de onda utilizada, este puede ser a una longitud de onda fija o en un intervalo de longitudes de onda. Asimismo, la intensidad de la luz puede ser medida directamente a través de la emulsión (luz no dispersa) o caso contrario, la que ha sido dispersada por las gotas de la emulsión. Sin embargo, la variación de las mediciones depende directamente de la técnica usada y el diseño del instrumento (McClements, 2005; Storti & Balsamo, 2010).

En la Figura 1.4 se representa el diseño para un instrumento de medición de gotas que utiliza la dispersión de luz láser. Un rayo láser se pasa a través de una emulsión diluida contenida dentro de una celda de medición, la intensidad de la luz dispersada a diferentes ángulos de dispersión se mide usando una serie de detectores, con las

teorías adecuadas se logra convertir el patrón de dispersión en una distribución de tamaño de gota.

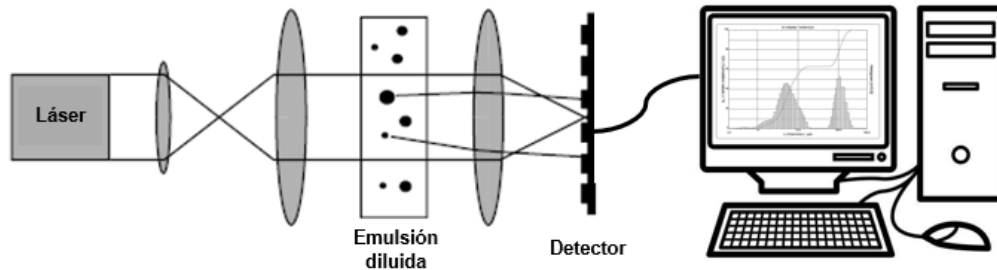


Figura 1.4 Diseño para un instrumento analizador de gotas de una emulsión diluida (adaptado de McClements, 2005).

Las teorías que relacionan los datos de dispersión de luz con las distribuciones de tamaño de gotas se basan en un análisis matemático de la propagación de una onda electromagnética a través de un conjunto de gotas. Existe una cantidad de teorías disponibles, que varían según su complejidad matemática y el tipo de sistemas a los que se pueden aplicar. No obstante, estos instrumentos están completamente automatizados, son fáciles de usar y brindan información sobre la distribución completa del tamaño de las gotas de una emulsión en pocos minutos, por lo que facilita el análisis de datos (McClements, 2005).

La variación obtenida del tamaño de gota puede considerarse de un valor mínimo y un valor máximo, por lo que los datos de distribución del tamaño de gota obtenidos con programas gráficos pueden presentarse en forma tabular, con un histograma, función de distribución frecuencia o función de distribución acumulativa.

En la Figura 1.5 se muestran los gráficos representativos de la distribución de tamaño de gota. Los histogramas representan con la altura de cada barra la cantidad de gotas en cada clase de tamaño. La clase de tamaño que contiene la mayor cantidad de gotas se denomina tamaño modal de las gotas. La distribución frecuencia representa la relación numérica en una clase de tamaño en particular y la distribución acumulativa representa el porcentaje de las gotas, obteniendo una

curva resultante en forma de "S" que varía de 0 a 100 % a medida que el tamaño de gota aumenta desde el valor más pequeño (McClements, 1999, 2005).

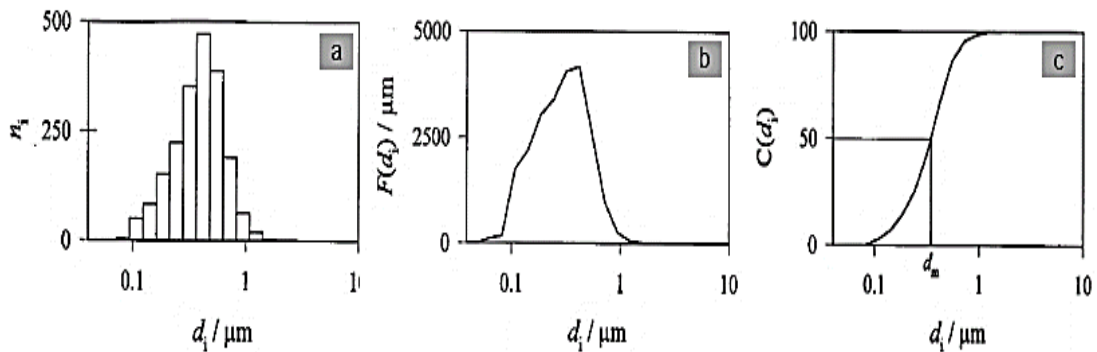


Figura 1.5 Distintas representaciones de distribución de tamaño de gota, a) Histograma b) Distribución frecuencia c) Distribución acumulativa (McClements, 1999).

La norma ASTM International E799-03, proporciona procedimientos para determinar el tamaño de muestra, el ancho de clase de tamaño, los tamaños de las gotas características y la medida de dispersión de la distribución del tamaño de gota, que puede ser muy útil cuando se compara entre una muestra y otra. Es posible conocer la medida de dispersión de los tamaños de las gotas a través del lapso de distribución de tamaño de gota basado en el volumen, mediante un parámetro conocido como dispersión relativa (DR o "span relative"), que representa la anchura de la distribución del tamaño de gota de muestras líquidas.

Este parámetro se puede calcular a partir de los diámetros promedio obtenidos del porcentaje de valor acumulado al 10, 50 y 90 % de cada emulsión que suele calcular el software de los instrumentos de análisis de tamaño de gota en general basados en el principio de difracción láser. El cual se determina restando el valor del diámetro al 10 % ($D_{0.1}$) del valor del diámetro al 90 % ($D_{0.9}$), dividido por el valor del diámetro al 50 % ($D_{0.5}$) (Ecuación 1.2).

$$DR = \frac{(D_{0.9} - D_{0.1})}{D_{0.5}} \quad (1.2)$$

Cuanto menor sea el número del parámetro DR, menor será la variación entre el tamaño de las gotas, lo que indicará que tan separadas están los tamaños de gota al 10 y 90 % a partir del diámetro donde la mitad de la población está situada, es decir al 50 % del valor acumulado.

1.1.3.3 Fracción volumen de la fase dispersa

La concentración de las gotas en una emulsión está usualmente descrita por la fracción volumen de la fase dispersa (ϕ), que es igual al volumen de las gotas de la emulsión (V_D) dividido por el volumen total de la emulsión (V_E); $\phi = V_D/V_E$. Generalmente la concentración de las gotas es expresada como un porcentaje de volumen o masa más que como fracción. La fracción volumen crítica en emulsiones generalmente es de 0.74, aunque esto puede variar para emulsiones alimenticias reales debido a que las gotas de aceite son deformables, además de que varios tipos de fuerzas coloidales atractivas y repulsivas actúan entre ellas (McClements, 1999; Sosa-Herrera, 2008).

La fracción volumen de la fase dispersa puede obtenerse con facilidad porque la concentración de los ingredientes usados para formular la emulsión es conocida. Uno de los métodos más simples para determinar la fracción volumen de la fase dispersa de una emulsión es medir su densidad, por lo que la densidad de una emulsión (ρ_e), está relacionada con la densidad de la fase continua (ρ_1), y densidad de la fase dispersa (ρ_2).

La Ecuación 1.3 permite determinar la fracción volumen de la fase dispersa si se conoce la densidad de las fases que integran una emulsión (McClements, 1999).

$$\phi = \frac{\rho_e - \rho_1}{\rho_2 - \rho_1} \quad (1.3)$$

La densidad de la fase continua y la fase dispersa en una emulsión alimenticia son apreciablemente diferentes, siendo aproximadamente 1000 kg/m³ para fases

acuosas y 900 kg/m^3 para aceites líquidos. El hecho de que la densidad de los aceites líquidos sea inferior a la del agua significa que la densidad de una emulsión generalmente disminuye al aumentar el contenido de aceite. Tener conocimiento de la concentración de las gotas dispersas permite conocer su organización dentro de la emulsión, que van desde una nula interacción hasta el empacamiento de las gotas. En el Cuadro 1.3 se resumen las distintas organizaciones de gotas de acuerdo con el valor de la fracción volumen de la fase dispersa (McClements, 2005).

Cuadro 1.3 Organización, tipo y características de las gotas dependiendo del valor de la fracción volumen de la fase dispersa de una emulsión aceite en agua (adaptado de McClements, 1999, 2005; Sosa-Herrera, 2008).

| Fracción volumen de la fase dispersa | Tipo de sistema | Organización de las gotas | Comportamiento reológico de las emulsiones |
|--------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\phi < 0.05$ | Diluido | Gotas alejadas, por lo que no interaccionan unas con otras. Su movimiento sólo está determinado por fuerzas brownianas | Fluidas con relativamente baja viscosidad de la fase continua |
| $0.05 < \phi < 0.49$ | Concentrado | Las gotas interaccionan perceptiblemente unas con otras a través de interacciones hidrodinámicas y colisiones entre ellas, se dificulta el movimiento | Fluidas, incrementa la viscosidad y la concentración de las gotas presentes. |
| $0.49 < \phi < 0.54$ | Parcialmente cristalino | Separación de gotas en dos fases. 1. Fase "cristalina" con gotas estrechamente empacadas. 2. "Fase fluida" con gotas móviles con menor empacamiento | |
| $0.54 < \phi < 0.64$ | Vítreo | Fuerte aproximación entre las gotas, considerando que están atrapadas en una red. El movimiento de las gotas es severamente restringido | Actúan como sólidos a bajos esfuerzos de cizalla y como fluido una vez que excede un esfuerzo crítico. |
| $\phi > 0.64$ | Cristalino | Completamente empaquetadas que no permiten tener movimiento vibracional o traslacional considerable | Se comportan como sólidos elásticos |

1.1.3.4 Propiedades en la interfase

La interfase es una región estrecha que separa el aceite de la fase acuosa dentro de la emulsión. La región ocupa una pequeña fracción significativa del volumen total de una emulsión, puesto que representa un papel importante para la determinación de muchas de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de las emulsiones alimenticias. La composición y estructura de la interfase está determinada por el tipo, concentración y propiedades de las especies de superficie activa presentes en el sistema. Dentro de las características en la interfase que determinan las propiedades de emulsiones alimenticias se encuentran, la composición, estructura, propiedades eléctricas, energía y la reología en la interfase (McClements, 1999, 2005).

Las moléculas en una emulsión se distribuyen en las tres regiones que la componen (McClements, 1999). Las moléculas no polares tienden a ubicarse en la fase oleosa, tales como triglicéridos, ácidos grasos libres, esteroides y vitaminas. Las moléculas polares se ubican en la fase acuosa como azúcares, sales, ácidos, bases, proteínas y carbohidratos y las moléculas con propiedades de superficie activa (anfifílicas) suelen agregarse en la interfase, por ejemplo, proteínas, fosfolípidos, alcoholes y partículas sólidas. Cabe destacar que incluso en el equilibrio cuando son adicionados los componentes, existe un intercambio continuo de moléculas entre las diferentes regiones que se produce a una velocidad que depende del transporte de masa de las moléculas a través de las diferentes regiones del sistema, por ejemplo, cristales grasos, cristales líquidos, micelas de surfactantes o agregados de proteína debido al efecto electrostático o estérico (Dickinson & Stainsby, 1982; McClements, 2005).

Las interacciones moleculares que operan entre las fases son enlaces hidrógeno relativamente fuertes entre las moléculas del agua, las moléculas de aceite solamente son capaces de formar enlaces de van der Waals relativamente débiles entre sí. En la interfase aceite-agua existe una inestabilidad termodinámica debido

al efecto hidrofóbico, por lo que las moléculas de aceite sólo pueden formar enlaces de van der Waals débiles con las moléculas de agua, ya que no tiene grupos polares que les permitan formar enlaces de hidrógeno. El aumentar el número de interacciones y el área de la interfase entre las moléculas de aceite con el agua es desfavorable, ya que esto implica reemplazar los enlaces agua-agua considerados fuertes con los enlaces agua-aceite relativamente débiles. Por lo que es necesario suministrar energía al sistema para aumentar el área de contacto entre las moléculas de la fase continua y la fase dispersa de una emulsión (McClements, 1999, 2005).

1.1.4 Factores que afectan la estabilidad de emulsiones

El término “emulsión estable” se refiere a la capacidad de una emulsión para resistir cambios en sus propiedades a lo largo del tiempo, cuanto más estable es la emulsión, más lento será el cambio en sus propiedades. Una emulsión comienza a ser inestable debido a diferentes procesos físicos y químicos. La inestabilidad física resulta de una alteración en la distribución espacial o una organización estructural de las moléculas, mientras que la inestabilidad química resulta de una alteración en las moléculas presentes (Dickinson & Stainsby, 1982; McClements, 2005).

La inestabilidad termodinámica de las emulsiones aceite en agua es el resultado de la diferencia de las características fisicoquímicas entre las fases que la componen. En primer lugar, el contacto entre las moléculas de aceite y agua es energéticamente desfavorable, por lo que el sistema tiende a reducir el área de contacto entre el aceite y el agua. En segundo lugar, los aceites alimenticios líquidos, normalmente tienen una densidad menor que las soluciones acuosas, por lo que el aceite tiende a moverse hacia arriba promoviendo la descomposición de una emulsión que puede manifestarse a través de varios mecanismos (McClements, 1999, 2000).

La velocidad a la que se descompone una emulsión y el mecanismo por el cual ocurre este proceso dependen de su composición y microestructura, así como, de las condiciones ambientales que experimenta durante su vida útil, por ejemplo, variaciones de temperatura, agitación mecánica y condiciones de almacenamiento (McClements, 1999). Incluso pueden depender de la distribución del tamaño de gota, a la diferencia de densidad entre las gotas dispersas y la fase continua, así como, al movimiento que se genera por cambios térmicos en la fase continua (movimiento browniano) (McClements, 2005; Tadros, 2013).

En la Figura 1.6 se ilustran los principales procesos de inestabilidad que puede presentar una emulsión aceite en agua. Estos fenómenos suelen presentarse debido al continuo movimiento de las gotas de la emulsión debido a los efectos de la energía térmica, la gravedad o las fuerzas mecánicas aplicadas induciendo la colisión con los gotas vecinas (McClements, 1999; McClements & Jafari, 2018).

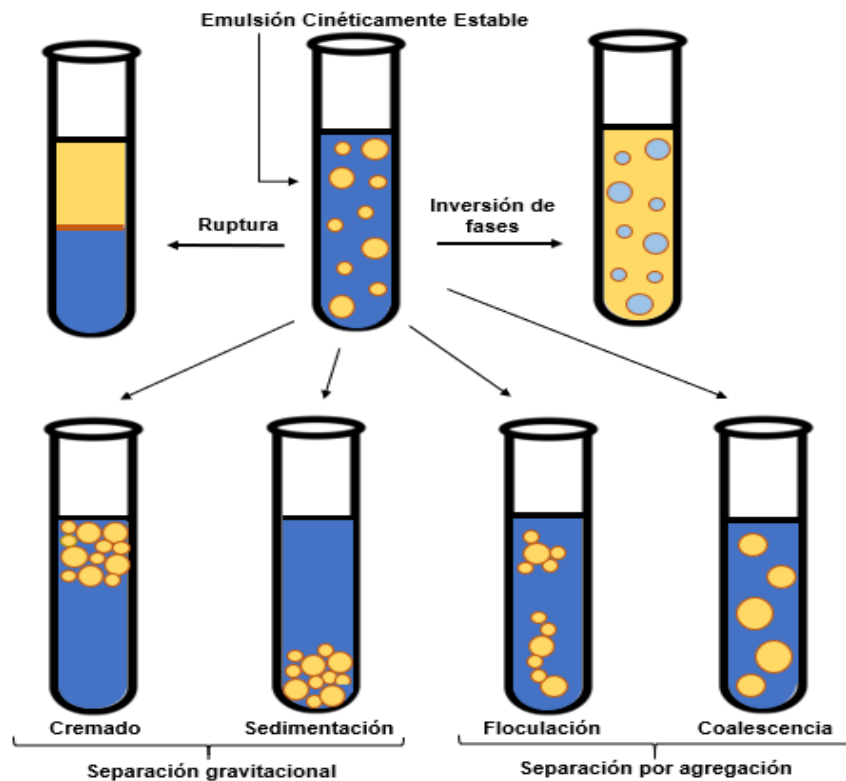


Figura 1.6 Procesos de inestabilidad de emulsiones (adaptado de McClements, 2005; McClements & Jafari, 2018; Tadros, 2013).

1.1.4.1 Cremado y sedimentación

Estos fenómenos son el resultado de las fuerzas externas generalmente gravitacionales o centrífugas. En general, las gotas de una emulsión tienen una densidad distinta a la del líquido que las rodea, por lo que una fuerza gravitacional neta actúa sobre ellas debido al movimiento browniano formando un gradiente de concentración en el sistema (Dickinson & Stainsby, 1982; Tadros, 2013). Si las gotas tienen una densidad menor que el líquido circundante, presentan tendencia a moverse hacia arriba, lo que se conoce como formación de cremado. Por el contrario, si las gotas tienen una densidad más alta que el líquido que las rodea, tienden a moverse hacia abajo, que es referido como sedimentación.

Las gotas de una emulsión alimenticia aceite en agua tienden al cremado, mientras que las emulsiones agua en aceite tienden a la sedimentación. Esto se debe a la diferencia de densidades entre el aceite y el agua, por lo que el aceite se acumula en la parte superior y el agua en la parte inferior de la emulsión. En el caso particular de las emulsiones aceite en agua, contienen un intervalo de diferentes tamaños de gotas, por lo que la velocidad de formación de cremado es distinta, siendo menor en las emulsiones concentradas que en las emulsiones diluidas debido a las interacciones hidrodinámicas entre las gotas y a que las gotas de mayor tamaño crecen más rápido que las gotas pequeñas. Asimismo, a medida que las gotas de una emulsión se mueven hacia arriba, un volumen igual de fase continua debe moverse hacia abajo para compensar el sistema (McClements, 1999, 2005).

1.1.4.2 Floculación

Este fenómeno se refiere a la agregación de las gotas sin perder su integridad individual, es decir, no presentan cambio en el tamaño de las gotas en unidades más grandes (McClements, 2000). Las gotas tienden a floccular cuando las interacciones atractivas (como de van der Waals, hidrofóbicas y depleción) que

actúan sobre las gotas superan a las interacciones repulsivas (como la estérica y electrostática) (McClements & Jafari, 2018).

Por lo general, la floculación acelera la separación gravitacional en emulsiones diluidas, por lo que resulta indeseable debido a la reducción en su vida útil. Además, causa un aumento pronunciado en la viscosidad de la emulsión e incluso puede conducir a la formación de una red tridimensional. Dependiendo de la naturaleza de la emulsión la floculación de las gotas puede ser una ventaja en algunos productos cuando es controlada, ya que, conduce a la creación de una emulsión con textura deseable. Por otro lado, este fenómeno puede ser una desventaja debido al aumento de viscosidad en el sistema, lo cual, afectaría la calidad del producto alimenticio basado en emulsiones (McClements, 2005).

Las emulsiones alimenticias pueden flocular por la adición de polímeros como los polisacáridos. En donde, la floculación de las gotas puede ocurrir por dos mecanismos, por depleción: que se refiere a la unión de los glóbulos causada por la presencia de una pequeña cantidad de polímero soluble en agua o por agotamiento: cuando la presencia de polímeros coloidales promueve la atracción entre las gotas como consecuencia de un efecto osmótico (Dickinson, 2015).

1.1.4.3 Coalescencia

Es el proceso mediante el cual dos o más gotas se fusionan para formar una sola gota de mayor tamaño. La coalescencia ocurre cuando las gotas están cerca una de otra y las membranas en la interfase se rompen, por lo que la velocidad a la que se produce este proceso es altamente dependiente de la naturaleza del agente emulsionante utilizado para estabilizar el sistema. Este fenómeno es el mecanismo principal por el cual una emulsión se mueve hacia su estado termodinámicamente más estable, porque implica una disminución en el área de contacto entre la fase acuosa y la fase oleosa. En el caso de las emulsiones aceite en agua, la coalescencia finalmente conduce a la formación de una capa de aceite en la parte

superior, mejor conocido como aceitado. En emulsiones agua en aceite, conduce a la acumulación de agua en el fondo del sistema (McClements & Jafari, 2018).

Es de gran utilidad distinguir dos situaciones distintas por las cuales suele ocurrir la coalescencia, puede ser inducida por colisiones, la cual ocurre inmediatamente después de que dos o más gotas se encuentren durante una colisión, ya que las gotas tienen movimiento libre logrando chocar entre sí. Incluso también puede ocurrir cuando las emulsiones son sometidas a elevadas velocidades de cizalla, ya que las fuerzas de impacto que actúan sobre las gotas como resultado de una colisión puede ser suficiente para provocar la ruptura de las membranas en la interfase. La segunda situación es la coalescencia inducida por contacto prolongado, la cual ocurre de manera espontánea después de que las gotas han estado en contacto durante un período prolongado, generalmente se presenta este fenómeno en emulsiones con alta concentración de gotas, en emulsiones con gotas floculadas o en emulsiones que contienen gotas acumuladas en la parte superior de la muestra debido a la formación de cremado (Lam & Nickerson, 2013; McClements, 2005).

1.1.4.4 Ruptura

Este fenómeno puede considerarse como el equilibrio en una emulsión, en la cual se observa el rompimiento de las fases que la componen mostrando la completa separación. El tiempo de ruptura puede variar desde pocos minutos hasta varios años, dependiendo de la composición y microestructura de la emulsión, así como de las condiciones ambientales a las que se somete durante el almacenamiento (McClements, 2005).

1.1.4.5 Inversión de fase

Es el proceso mediante el cual un sistema cambia de una emulsión aceite en agua a una emulsión agua en aceite o viceversa. Este fenómeno generalmente se

desencadena por alguna alteración en la composición o condiciones ambientales a la que está expuesta la emulsión, por ejemplo, fracción volumen de la fase dispersa, concentración y tipo de emulsionante, temperatura y agitación mecánica (Dickinson & Stainsby, 1982; McClements, 2005). Este fenómeno es considerado un paso esencial en la fabricación de varios productos alimenticios, tales como, mantequilla y margarina. En algunos alimentos no es deseable porque tiene un efecto adverso sobre su apariencia, textura, estabilidad y sabor.

1.1.4.6 Técnicas de medición de estabilidad

Un método sofisticado que permite monitorear los mecanismos de desestabilización basados en la medida de migración de gotas o variación de tamaño de gotas en una emulsión es a través de la dispersión de la luz. El Turbiscan maneja un método rápido y no destructivo que se ha utilizado cada vez más para detectar la desestabilización física de emulsiones diluidas o concentradas (Liu, Yang & Zhang, 2014). Consiste en colocar la emulsión en un tubo de vidrio el cual es escaneado verticalmente con un haz de luz infrarrojo ($\lambda = 850/880$ nm).

El porcentaje de luz transmitida y dispersada se miden como una función de la altura de la emulsión escaneada de arriba hacia abajo de la muestra, con la ayuda de un motor, tal y como se muestra en la Figura 1.7. La variación en la concentración de las gotas con la altura de la emulsión se puede deducir a partir del porcentaje de luz que fue transmitida o dispersada durante el análisis. Sin embargo, su aplicación se centra en el estudio de las cinéticas de cremado, sedimentación y/o floculación en emulsiones bastante diluidas, ya que no es posible transmitir luz a través de emulsiones concentradas (Liu et al., 2014; McClements, 2005).

Con la aplicación de este equipo es posible obtener curvas de transmisión y retrodispersión de la luz en función de la altura del tubo, el cual permite identificar los mecanismos de desestabilización de una emulsión en función del tiempo de

almacenamiento (Figura 1.8), y a partir de los gráficos se puede obtener las cinéticas a las cuales ocurre la desestabilización.

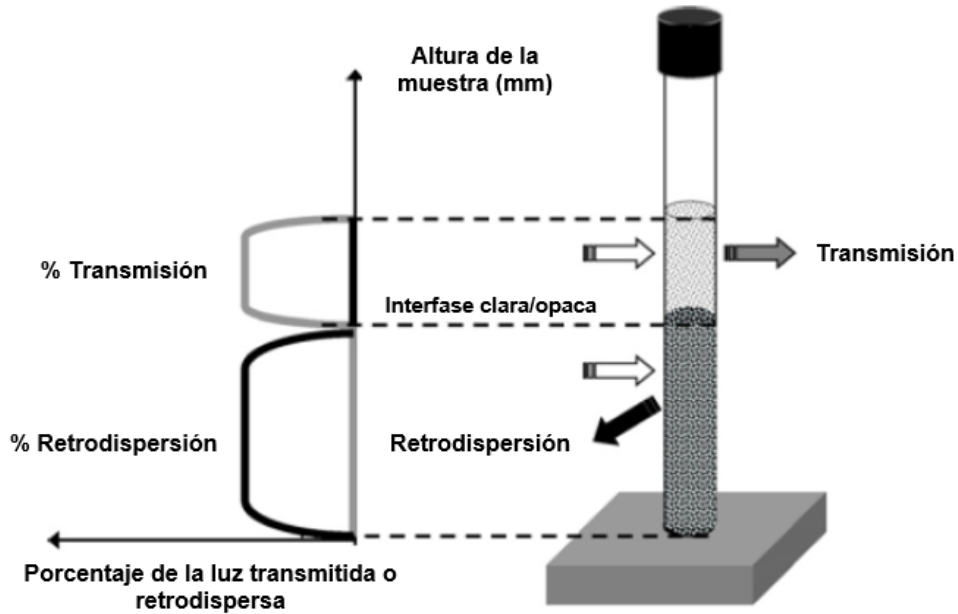


FIGURA 1.7 Dispositivo de transmisión y retrodispersión de luz aplicado a una muestra que es escaneada verticalmente (Liu et al., 2014).

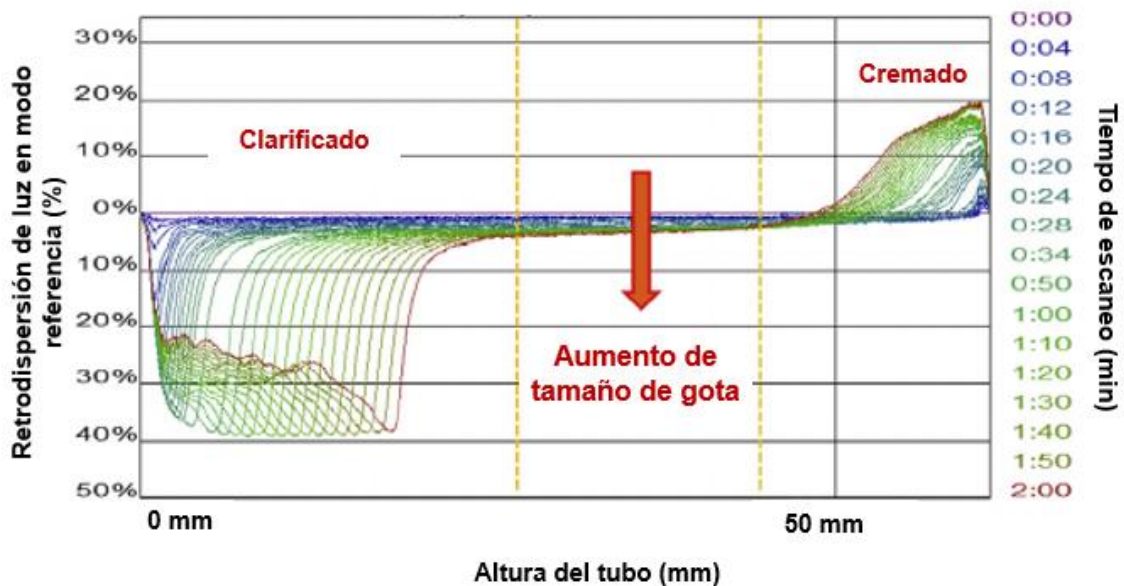


Figura 1.8 Ejemplos de gráficos de retrodispersión de luz en modo referencia a través de una muestra (Adaptado y proporcionado por el equipo Turbiscan MA 2000).

En la actualidad, muchos investigadores consideran una ventaja aplicar esta técnica para evaluar la estabilidad de emulsiones en productos lácteos o sus ingredientes, ya que permite conocer la velocidad de desestabilización de las proteínas lácteas (Liu et al., 2014; McClements, 2005).

Para tener un mejor conocimiento de la velocidad a la cual ocurre la desestabilización en una emulsión, es importante tener información sobre las densidades de la fase dispersa y continua, la distribución del tamaño de las gotas y las propiedades reológicas de la fase continua. La densidad de los líquidos se puede medir usando un densímetro de tubo en U oscilante, la distribución del tamaño de gota se puede medir por dispersión de luz y las propiedades reológicas de la fase continua se pueden caracterizar utilizando varios tipos de reómetros de corte dinámicos, para así ser comparadas sus propiedades con las de las emulsiones aceite en agua (McClements, 2005).

1.1.5 Reología de emulsiones

El conocimiento de las propiedades reológicas de una emulsión es importante por diversas razones, ya que muchas de las atribuciones sensoriales de las emulsiones alimenticias están directamente relacionadas con sus propiedades reológicas, por ejemplo, cremosidad, suavidad, extensibilidad, fluidez, fragilidad y dureza. La vida de anaquel de muchas emulsiones depende de las características reológicas de las fases que la componen, tal y como ocurre con el cremado, del cual depende de la viscosidad de la fase acuosa (McClements, 2005).

Por definición, la reología es la ciencia que se ocupa de la relación entre las fuerzas aplicadas, la deformación y el flujo de la materia (Steffe, 1996). La caracterización viscoelástica ha demostrado ser una herramienta útil para evaluar las propiedades de las emulsiones (Felix, Romero & Guerrero, 2017).

En teoría, la viscosidad de las emulsiones está relacionada con la viscosidad de la fase continua, por lo que cualquier modificación en la reología de la fase continua influirá en la reología de toda la emulsión. Para las emulsiones alimenticias aceite en agua con concentraciones de gotas por debajo de la fracción máxima de empaquetamiento, el medio más efectivo para modificar la reología es agregar agentes espesantes, por tal razón los polisacáridos y las proteínas se incorporan a menudo en la fase acuosa de las emulsiones alimentarias para modificar su textura y mejorar la estabilidad (McClements, 1999).

Por lo general, los agentes espesantes muestran comportamiento adelgazante al cizallamiento y estabilidad frente a la formación de microgotas. Sin embargo, muchos biopolímeros promueven la formación de una red tridimensional de gotas agregadas debido a su capacidad para promover la floculación por agotamiento, por lo que se modifica de manera significativa las propiedades reológicas.

La formación de una red de gotas agregadas tiende a aumentar la viscosidad y el grado de adelgazamiento por cizallamiento en emulsiones aceite en agua que contienen biopolímeros no adsorbidos en la fase acuosa. Los biopolímeros que promueven la agregación de gotas a través de un mecanismo de floculación por puenteo también pueden influenciar con la reología de la emulsión (McClements, 2005, Steffe, 1996).

Las emulsiones exhiben un amplio intervalo de propiedades reológicas que van desde líquidos de baja viscosidad hasta sólidos, el comportamiento reológico de un alimento depende en particular del tipo y concentración de los ingredientes que lo componen, así como de las condiciones de procesamiento y almacenamiento. Por lo que los factores que afectan la reología de las emulsiones son principalmente la fracción volumen de la fase dispersa, el comportamiento reológico de la fase continua, el tamaño de gota, las interacciones coloidales, así como la carga de la partícula (McClements, 2005).

1.1.6 Agentes emulsionantes

Para que una emulsión sea cinéticamente estable es necesario un agente emulsionante que facilite y promueva la formación de la emulsión disminuyendo la tensión en la interfase entre la fase acuosa y la fase oleosa y, que además, aporte una estabilidad física durante un periodo de tiempo razonablemente largo, del cual va a depender del tipo y composición del emulsionante seleccionado (Muñoz, Alfaro, & Zapata, 2007), ya que, un agente emulsionante no debe ser propenso a una fuerte agregación o gelación, de lo contrario, el aumento de viscosidad resultante de la fase acuosa inhibirá la ruptura de la fase oleosa dispersa en pequeñas gotas (Dickinson, 2017b).

Los agentes emulsionantes son moléculas de naturaleza anfífilica superficialmente activas capaces de migrar y adsorberse rápidamente en la interfase aceite-agua debido a que tienen una parte hidrofílica, la cual tiene afinidad con el agua y otra parte lipofílica que tiene afinidad con el aceite. Tras la emulsificación se favorece la formación de pequeñas gotas de aceite, de la cual resulta una membrana protectora que evita que se combinen, retardando la aproximación entre las gotas y su posterior agregación (Dickinson, 2017b; McClements & Jafari, 2018).

Existe una gran cantidad de agentes emulsionantes naturales y sintéticos que pueden ser usados en la industria de alimentos, de las cuales se incluyen proteínas, polisacáridos, fosfolípidos y surfactantes (Cohen-Addad & Höhler, 2014; Ozturk & McClements, 2016). De acuerdo con lo reportado por Dickinson (2003), los agentes emulsionantes se pueden clasificar en dos grupos:

- i. Agentes emulsionantes de baja masa molar, también conocidos como tensoactivos, se distinguen por ser moléculas anfífilicas con partes polares y no polares principalmente iónicos (aniónicos, catiónicos, anfóteros o neutrales). Algunos ejemplos de estos y aplicados en alimentos son las moléculas sintéticas como polisorbatos, ésteres y monoglicéridos y las

moléculas naturales como los fosfolípidos y lecitinas. Las propiedades funcionales de estos tensoactivos están determinadas por su estructura química, composición y dimensiones.

- ii. Agentes emulsionantes de alta masa molar, también conocidos como agentes macromoleculares, entre los cuales se encuentran las lipoproteínas, los polisacáridos y las proteínas (principalmente las de leche y huevo). Estos biopolímeros contienen cantidades importantes de grupos polares y no polares de superficie activa. Cuando el biopolímero se adsorbe en la interfase, puede adoptar una conformación como se muestra en la Figura 1.9, donde los grupos polares están localizados en la fase acuosa y los grupos no polares en la fase oleosa, lo cual reduce el área de contacto entre las moléculas del agua y el aceite, por consiguiente, la tensión en la interfase disminuye.

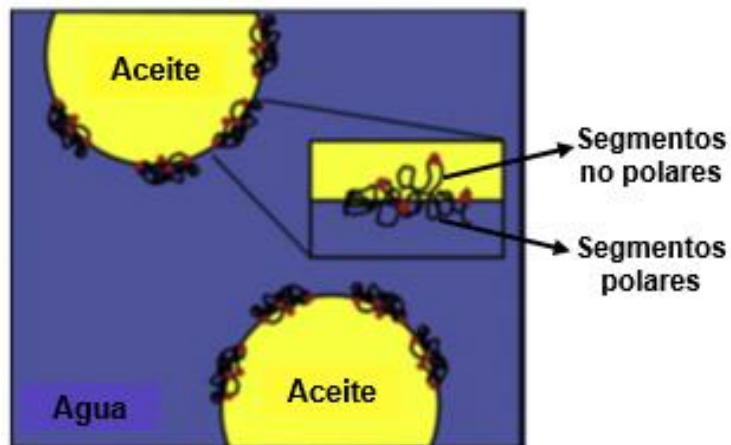


Figura 1.9 Orientación de los grupos polares y no polares de un agente emulsionante macromolecular (adaptado de Lam y Nickerson, 2013).

Actualmente, las proteínas naturales son ampliamente utilizadas como agentes emulsionantes para facilitar la formación, mejorar la estabilidad y proporcionar propiedades funcionales y fisicoquímicas específicas en emulsiones alimenticias aceite en agua (McClements, 2004). Esto se debe a que una gran cantidad de proteínas de grado alimenticio contienen una mezcla de aminoácidos hidrófilos e

hidrófobos a lo largo de sus cadenas polipeptídicas. Por consiguiente, pueden adsorberse a las interfases aceite-agua y recubrir las gotas de aceite formadas durante la homogeneización. A su vez, pueden estabilizar las gotas de la agregación porque contienen aminoácidos que poseen cargas negativas ($-COO^-$) o cargas positivas ($-NH_3^+$), en consecuencia, pueden generar una repulsión electrostática entre las gotas. De igual forma, pueden inhibir la agregación a través de la repulsión estérica formando capas gruesas en la interfase o teniendo restos de hidratos de carbono unidos (Ozturk & McClements, 2016).

Dentro de las proteínas naturales de mayor aplicación en la industria alimentaria, destacan las proteínas derivadas de la leche bovina: caseínas y proteínas de suero de leche, dado que, contienen grupos hidrofílicos e hidrofóbicos en la misma molécula, lo que permite una buena solubilidad en agua y una buena actividad superficial (Ozturk y McClements, 2016).

Las proteínas lácteas muestran dos estructuras distintas, por un lado, las caseínas son un grupo de proteínas anfifílicas con estructuras flexibles, mientras que las proteínas del suero son un grupo de proteínas globulares con estructuras bastante rígidas, en donde esta conformación afecta las propiedades de la interfase formada, después de que se adsorben en la superficie de las gotas de la emulsión de la que forman parte (Dickinson, 2009, 2017b).

Asimismo, las propiedades eléctricas juegan un papel importante en la determinación de la estabilidad física y química de las emulsiones y, generalmente pasan de ser positivas con valores bajos de pH a negativas a pH alto, con un punto de carga cero en el punto isoeléctrico (pI). El pI de las proteínas lácteas tienen un valor de pH de 5 aproximadamente, pero esto depende de la composición de aminoácidos que suelen presentarse valores más bajos o más altos (McClements y Jafari, 2018).

1.1.7 Agentes estabilizantes

Un agente estabilizante es un compuesto químico de naturaleza macromolecular que hidratado en la fase acuosa confiere a una emulsión aceite en agua una estabilidad física durante un tiempo prolongado. Un buen estabilizante mantiene las gotas separadas en la emulsión una vez que se ha formado, retardando o inhibiendo la formación de cremado, floculación o coalescencia durante el almacenamiento (Muñoz et al., 2007).

Los agentes estabilizantes mayormente utilizados en emulsiones alimenticias son los polisacáridos, que son hidrocoloides de fuerte carácter hidrofílico y alta masa molar, donde su principal función es aumentar la viscosidad de la fase continua, promoviendo la formación de una barrera macromolecular entre las gotas de aceite dispersadas. La reología de la fase continua está fuertemente influenciada con el uso de un polisacárido como estabilizante debido a que son conocidos por sus propiedades espesantes. Por lo que juegan un papel esencial en la estabilidad de las emulsiones permitiendo controlar el comportamiento reológico y la estructura de la fase continua de las emulsiones de la que forman parte (Dickinson, 2003; Felix et al., 2017; Muñoz et al., 2007; Rodriguez-Patino & Pilosof, 2011).

Los polisacáridos interactúan fuertemente a través de enlaces hidrógeno con las moléculas de agua que lo rodean, esto se debe a la fuerte tendencia que presentan las macromoléculas hidrofílicas a solaparse y unirse en redes entrelazadas, puesto que tienen la capacidad de funcionar como modificadores de viscosidad y agentes espesantes y gelificantes en medio acuoso a concentraciones relativamente bajas. Por consiguiente, inhibe el movimiento de las gotas de aceite retardando la formación de cremado o cualquier separación en una emulsión (Dickinson, 2017b; McClements, 2000).

De acuerdo con lo reportado por Li y Nie (2016), los polisacáridos se pueden clasificar según su fuente y estructura química. En el Cuadro 1.4 se enlistan algunos de los hidrocoloides más utilizados en la industria alimentaria.

Cuadro 1.4 Clasificación de hidrocoloides.

| Base | Clase | Ejemplo |
|-------------------|---------------|--------------------------------------------------------------------|
| Origen | Vegetal | Pectina, inulina, konjac, goma arábica, goma tragacanto, almidones |
| | Animal | Quitosana, gelatina |
| | Algas | Carragenina, agar, alginato |
| | Microbiano | Xantana, gelana |
| | Sintético | Carboximetil celulosa |
| Estructura | Fructanos | Inulina |
| | Galactomanano | Goma guar, goma tara |
| | Glucomanano | Konjac, alginato |
| | Proteína | Gelatina |

En la actualidad, hay una fuerte tendencia por consumir productos alimenticios saludables y naturales por parte de los consumidores preocupados por su salud, por lo que esta situación se convirtió en uno de los factores impulsores para el desarrollo de nuevos polisacáridos capaces de proveer propiedades funcionales (Li y Nie, 2016). Diversos estudios confirman que algunos polisacáridos poseen efectos prebióticos que los hacen sumamente atractivos para su uso en emulsiones alimenticias, dentro de estos destacan el glucomanano de konjac y los fructanos de agave (Carabin & Flamm, 1999; Tester & Al-Ghazzewi, 2017).

Sosa-Herrera et al. (2016) reportaron que los fructanos de agave en medio acuoso muestran tendencia a interaccionar en la interfase con proteínas lácteas, por lo que permite influir en la estabilidad y el comportamiento reológico de las emulsiones alimenticias de las que podrían formar parte, por lo que atrae considerablemente su uso como agente estabilizante (Meyer, 2009). Por su parte, el glucomanano de konjac es considerado un excelente espesante por su alta masa molar y su gran afinidad con el agua, incentivando su uso como agente estabilizante en emulsiones aceite en agua (Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016; Zhang et al., 2005). Sin

embargo, el aplicar dichos polisacáridos funcionales en emulsiones aceite en agua, causa un gran interés, ya que su uso propone alternativas para el desarrollo de nuevos y atractivos productos alimenticios desde el punto de vista nutricional. No obstante, con base a las investigaciones relacionadas con el estudio de las propiedades que se pueden relacionar con su funcionalidad, aún es limitado.

1.1.8 Interacción proteína-polisacárido

Las proteínas y los polisacáridos son los dos tipos de biopolímeros más utilizados como ingredientes funcionales en muchas emulsiones alimenticias aceite en agua. En el Cuadro 1.5 se presenta a groso modo algunas de las características comparando las proteínas con los polisacáridos como biopolímeros funcionales en sistemas alimenticios. Ambos biopolímeros contribuyen con las propiedades texturales y estructurales de los alimentos por su comportamiento de agregación y gelificación (Dickinson, 2003, 2009).

Cuadro 1.5 Semejanzas y diferencias generales entre proteínas y polisacáridos como biopolímeros funcionales en sistemas alimenticios (Dickinson, 2003).

| Semejanzas | |
|-------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Polímeros naturales | |
| Usados en productos alimenticios, farmacéuticos, cosméticos | |
| Estructura compleja | |
| Agregación de complejos | |
| Agentes estabilizantes y gelificantes | |
| Diferencias | |
| Proteínas | Polisacáridos |
| Reactivo | No reactivo |
| Monodispersos | Polidispersos |
| Cadena lineal | Cadena lineal o ramificada |
| Cadena flexible | Cadena rígida |
| Baja masa molar | Alta masa molar |
| Pequeño volumen molecular | Largo volumen molecular |
| Anfifílico | Hidrofílico |
| Superficie activa | Sin superficie activa |
| Polielectrolito | No iónico o cargado |
| Emulsionante / espumante | Espesante / retención de agua |
| Sensible a la temperatura | Insensible a la temperatura |

Sin embargo, los efectos sinérgicos resultantes de las mezclas entre ellos son de gran importancia para la mejora de muchos alimentos, ya que en conjunto controlan la consistencia, textura y estabilidad de las emulsiones (Benichou, Aserin & Garti, 2002; Rodríguez-Patino & Pilosof, 2011).

Las interacciones proteína-polisacárido se dividen en dos grandes grupos: interacciones atractivas y repulsivas. Estas pueden ocurrir por varios tipos de fuerzas, por su estructura química y su composición, respectivamente (Chen & Dickinson, 1995; McClements, 2005). En la Figura 1.10 se representan las posibles interacciones que pueden ocurrir al mezclarse.

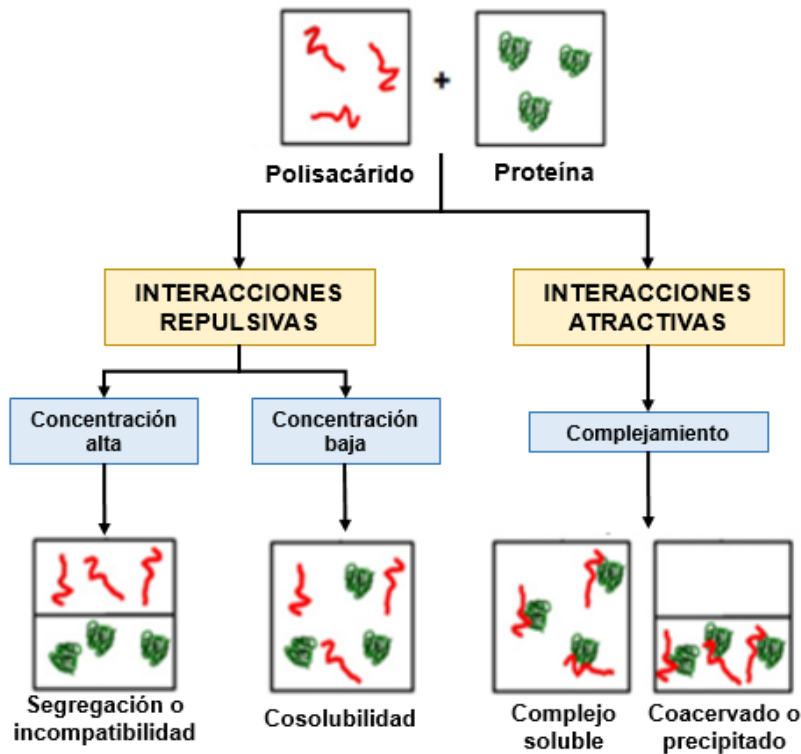


Figura 1.10 Comportamiento de las mezclas de proteínas y polisacáridos (adaptado de Rodríguez-Patino & Pilosof, 2011).

Dichas interacciones son las responsables de la formación de complejos y de la inmiscibilidad de biopolímeros, de tal manera, que la interacción entre los biopolímeros puede ser segregativa, es decir, cuando los biopolímeros se repelen unos a otros por lo que se definen como incompatibles, o asociativa cuando son de

diferentes cargas y se atraen unos a otros. En disoluciones segregativas la mezcla generada es estable debido al efecto predominante de la entropía de mezclado y a que la proteína y el polisacárido son cosolubles.

Cuando se aumenta la concentración de los biopolímeros pueden ocurrir los fenómenos llamados asociación o segregación. Por otro lado, existe asociación entre las moléculas de los distintos biopolímeros (carga neta opuesta) que pueden producirse la formación de complejos no solubles que precipitan obteniéndose dos fases separadas, una fase coaservada que contiene a los complejos y la otra fase diluida con baja concentración de ambos biopolímeros, a esto se le conoce como coacervación compleja y es un fenómeno de complejamiento.

Las atracciones electrostáticas pueden llevar a la formación de complejos solubles, obteniéndose un sistema de una sola fase. En este caso es debido a un efecto de solubilidad por complejamiento. Por último, en condiciones donde predominan las fuerzas de repulsión entre los biopolímeros (misma carga neta), puede obtenerse un sistema de dos fases. Esto se debe a la incompatibilidad entre las proteínas y polisacáridos en medio líquido, por lo que se hace presente el fenómeno de segregación (Dickinson, 2003; Rodríguez-Patino & Pilosof, 2011).

1.2 Concentrado de suero de leche

El suero es la sustancia líquida que se obtiene por la separación de la leche coagulada, tras la obtención de crema, quesos y otros productos lácteos. La parte semisólida es principalmente caseína y grasa, el líquido amarillo verdoso restante, es el suero de la leche. El suero se puede obtener de cualquier tipo de leche, pero la principal fuente natural de proteína de suero de leche utilizado en la industria alimentaria proviene de la leche bovina que contiene aproximadamente 3.5 % de proteína, de las cuales 80 % es caseína y el 20 % restante son proteínas de suero de leche (Damianou & Kiosseoglou, 2006; Morr, Swenson & Richter, 1973).

El concentrado de suero de leche (CSL) es un ingrediente soluble en un intervalo amplio de pH de 2 a 9, de baja masa molar aproximado a 18.4 kDa, con propiedades anfífilas, es decir, parte de la molécula del CSL tiene afinidad por moléculas polares, así como moléculas no polares, lo que presenta altas tendencias de adsorción en interfases aceite en agua de una emulsión. Las proteínas de CSL son ampliamente utilizadas desde el punto de vista tecnológico en productos alimenticios debido a sus propiedades nutricionales y funcionales (Ozturk & McClements, 2016; Singh, 2011).

1.2.1 Obtención

El método más utilizado para la obtención del CSL es por ultrafiltración del suero resultante de la elaboración de productos lácteos, por medio de una membrana semipermeable, la cual selectivamente permite pasar materiales de baja masa molar como agua, iones y lactosa, mientras que retiene materiales de alta masa molar como la proteína. El retenido es así concentrado por evaporación y liofilizado.

En términos promedio, el suero de leche contiene más de la mitad de los sólidos presentes en la leche original, esto es alrededor de 20 % de las proteínas (lactoalbúminas y lactoglobulinas), la mayor parte de la lactosa, minerales (Ca, P, Na y Mg) y vitaminas hidrosolubles (timina, ácido pantoténico, riboflavina, piridoxina, ácido nicotínico, cobalamina y ácido ascórbico) (Guerrero *et al.*, 2011;Perez *et al.*, 2009b).

1.2.2 Estructura química

El CSL es un conjunto de proteínas compuesto principalmente de β -lactoglobulina, que representa el 50 % del contenido de suero y 7 a 12 % del total de las proteínas de la leche y la proteína α -lactoalbúmina que comprende cerca del 20 % de las proteínas del suero de leche y en menor cantidad albúmina de suero sanguíneo (Perez *et al.*, 2009a; Tobin, Fitzsimons, Chaurin, Kelly & Fenelon, 2012).

La β -lactoglobulina como principal proteína del CSL es de estructura globular rígida con una cadena polipeptídica simple de 162 aminoácidos, 84 de estos esenciales. El centro de la proteína es hidrofóbico, por lo que es capaz de fijar moléculas hidrófobas, debido a la presencia de una importante cantidad de residuos hidrofóbicos. Es una proteína muy soluble en agua, ya que la mayoría de los residuos no polares están ocultos en el interior de la molécula y la mayoría de los grupos polares están expuestos en la superficie (Singh, 2011).

En la Figura 1.11 se representa la conformación en forma de red tridimensional de la β -lactoglobulina del CSL estabilizada por enlaces disulfuro que resulta de un balance de varias fuerzas atractivas y repulsivas que ocurren en diferentes partes de la cadena polipeptídica (Singh, 2011).

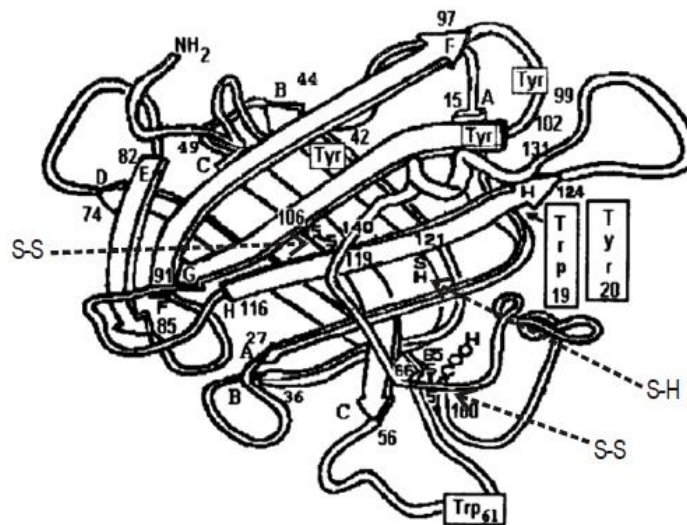


Figura 1.11 Estructura química de la β -lactoglobulina (Singh, 2011).

1.2.3 Propiedades funcionales

Las proteínas del concentrado de suero de leche son ampliamente utilizadas como agentes emulsionantes en la industria de alimentos evidentemente en emulsiones alimenticias aceite en agua, donde la eficiencia está en función de su estructura en la interfase. Las moléculas del CSL se adsorben rápidamente en las superficies de las gotas de aceite formando capas en la interfase cargadas eléctricamente, que

pueden adoptar diversas conformaciones en la interfase dependiendo de las interacciones y su estructura molecular.

Las emulsiones estabilizadas con proteínas globulares rígidas como el CSL forman una delgada capa viscoelástica cohesiva en la interfase (2-3 nm) por lo que puede desplegarse parcialmente después de la adsorción, las emulsiones estabilizadas con proteínas flexibles como la caseína forman una capa gruesa (13-15 nm) en la interfase por lo que experimentan rápidamente cambios conformacionales (Dickinson, 2003; Tobin et al., 2012)

Las emulsiones que contienen CSL se estabilizan mediante carga electrostática, en donde las gotas de aceite pueden flocular cuando el pH de la proteína se acerca a su punto isoeléctrico. Sin embargo, la estabilidad de las emulsiones con CSL como agente emulsionante se puede mejorar mediante la unión de una capa estérica a través de la interacción con un polisacárido, lo cual, inhibe la formación de agregados de gotas mediante repulsión estérica (Ozturk y McClements, 2016; Wooster y Augustin, 2006).

Desde el punto de vista medicinal, el CSL juega un papel fundamental en áreas de la salud, como integridad y motilidad intestinal, funcionamiento y fortalecimiento del sistema inmunológico, prevención del cáncer (mama, colon, próstata), sistema cardiovascular, mejoría del desempeño cardiorrespiratorio, incremento de los niveles de glutatión (se refiere al aumento de la vulnerabilidad de las células tumorales y el tratamiento de los pacientes con VIH), actividades antimicrobianas y antivirales, incremento de la respuesta de saciedad, efectos inmunomoduladores y actividad prebiótica (Marshall, 2004).

1.2.4 Propiedades reológicas

Se ha reportado para sistemas acuosos de CSL en un intervalo de concentración de 10 a 25 % m/m y a temperatura ambiente, un comportamiento newtoniano a

velocidades de cizalla superiores a 50 s^{-1} , y una viscosidad cercana a $2 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ (Martínez-Padilla, García-Rivera, Romero-Arreola & Casas-Alencáster, 2015).

En emulsiones alimenticias, además de conferirle estabilidad y facilitar la formación, pueden modificar el comportamiento reológico del sistema adsorbiéndose en la superficie de las gotas. En un estudio de emulsiones de CSL en mezcla con glucomanano de konjac, observaron que el comportamiento reológico estuvo en función del polisacárido y la estabilidad de la emulsión se vio mejorada a medida que incrementó la concentración del glucomanano de konjac (Lu, Zheng & Miao, 2018).

1.2.5 Interacción con polisacáridos

El CSL ha sido estudiado y aplicado como agente emulsionante en emulsiones aceite en agua, donde se ha reportado que en combinación con polisacáridos podría mejorar las propiedades funcionales de las emulsiones alimenticias (Hu, Li, Zhang, Kou & Zhou, 2018). Se ha estudiado en mezcla con glucomanano de konjac (Lu et al., 2018), dextrana (Wooster & Augustin, 2006) o carboximetilcelulosa (Damianou & Kiosseoglou, 2006), con el propósito de evaluar el efecto que tiene la presencia del polisacárido en la estabilidad de una emulsión y comprender las interacciones entre la proteína y los polisacáridos.

1.3 Glucomanano de konjac

El Glucomanano de konjac (GMK) es un polisacárido neutro y natural derivado de los tubérculos *Amorphophallus konjac* K. Koch, procedente de una planta perenne perteneciente a la familia Araceae, que ha sido cultivada durante siglos en países asiáticos, principalmente China, Japón y el sur de Indonesia, para su aplicación como fuente de alimento (fideos, tofu, aperitivos, entre otros). Sin embargo, debido a su alta masa molar y a su gran afinidad con el agua es ampliamente utilizado como agente espesante, estabilizante o gelificante en productos alimenticios, cosméticos

o farmacéuticos (Abhyankar, Mulvihill, Chaurin & Auty, 2011; Chua, Baldwin, Hocking & Chan, 2010).

Ha sido aprobado el uso del GMK como aditivo alimentario por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés) de E.U.A., y en Europa, como parte del grupo de espesantes, estabilizantes, gelificantes y emulsionantes (E425), por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (Chua et al., 2010; Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016).

1.3.1 Obtención

El cultivo de la planta *Amorphophallus konjac* para la obtención del polvo de GMK, requiere un tiempo prolongado de aproximadamente 3 o 4 años, ya que los tubérculos de konjac únicamente adquieren un tamaño y una proporción de GMK suficiente a ese tiempo (Chua et al., 2012, 2010; Takigami, Takiguchi & Phillips, 1997).

De los tubérculos de la planta *Amorphophallus konjac* se comienza por el lavado para eliminar la suciedad misma de la tierra donde fue cultivado, el tubérculo es cortado en rebanadas para después pasar al proceso de secado. Se pulveriza en seco dando como origen un polvo blanco con impurezas (almidón, proteínas, celulosa y azúcares de baja masa molar). Por consiguiente, es necesaria la separación del polvo obtenido mediante tamizado o por lavado-precipitación con alcohol u otros disolventes, seguido de la extracción acuosa a temperatura ambiente.

Cabe destacar que los procesos de extracción y purificación son prescindibles para su uso como aditivo en alimentos, ya que pueden afectar la calidad del GMK, lo que alteraría las propiedades fisicoquímicas relacionadas con la funcionalidad propia del GMK (Chua et al., 2010; Liu et al., 2004; Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016).

1.3.2 Estructura química

La estructura química del GMK independientemente del origen, método de procesamiento y el tiempo de almacenamiento, está compuesta por D-glucosa y D-manosa unidos mediante enlaces glucosídicos β -1-4, que forman parte de la cadena principal, con pequeñas ramificaciones (11-16 unidades) unidos con enlaces glucosídicos β -1-3 (cada 50-60 unidades de azúcar).

En la Figura 1.12 se representa la estructura química del GMK como unidad repetitiva, en donde la secuencia M-M-G representa la cadena principal y la secuencia Ac-M-G representa los grupos acetilo que se unen aleatoriamente en la posición C-6 de una unidad de manosa (Behera & Ray, 2016).

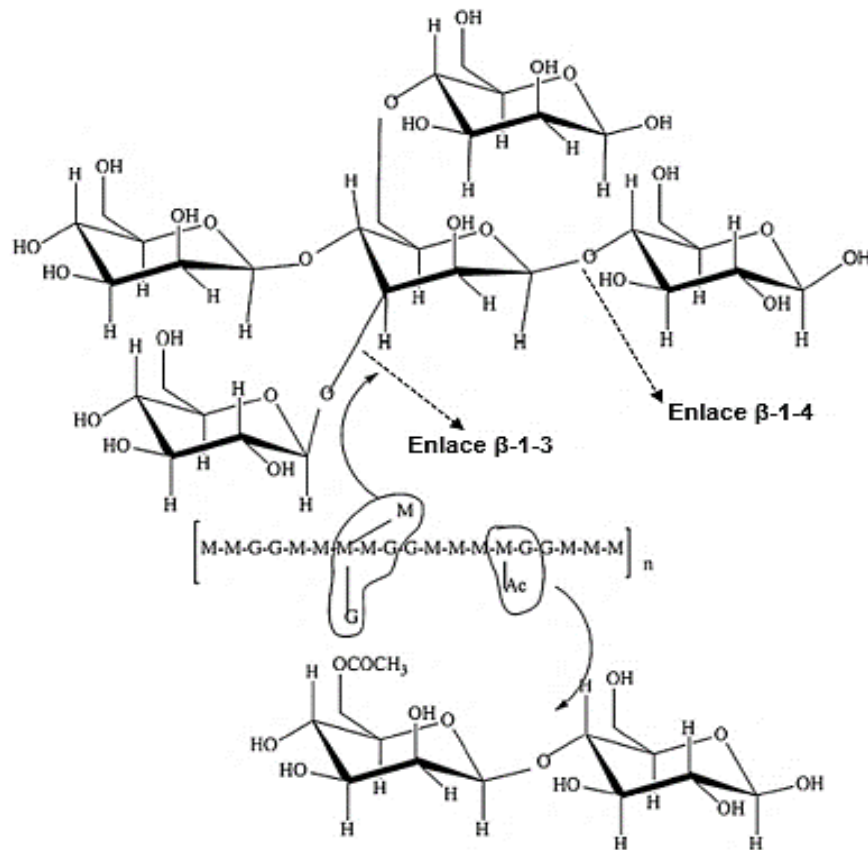


Figura 1.12 Estructura química del glucomanano de konjac (Behera & Ray, 2016).

La relación molar que compone las unidades de manosa y glucosa es de 1.6:1, y los grupos acetilo que están aleatoriamente distribuidos a lo largo de la cadena del

GMK en la posición C-6, varían con frecuencia de 1 a 19 unidades monosacáridas, con algunas ramificaciones limitadas en la posición C-3 de los residuos de manosa, responsables de la solubilidad en agua (Abhyankar et al., 2011; Behera & Ray, 2016; Fang & Wu, 2004; Yin, Zhang, Huang & Nishinari, 2008).

1.3.3 Propiedades funcionales

El GMK se caracteriza por dispersarse fácilmente en agua (20-25 °C, 20 a 30 min), que puede verse mejorada la solubilidad cuando se aplica agitación mecánica e incremento de la temperatura, ocupando un gran volumen hidrodinámico que le confiere alta capacidad de absorción de agua, reportándose desde 50 hasta 200 gramos de agua por gramo de muestra, formando disoluciones altamente viscosas en un intervalo de pH entre 4.0 y 7.0, por lo que es considerado un excelente aditivo por su poder espesante capaz de modificar el comportamiento reológico, que aunque no presenta propiedades emulsionantes, lo convierte en un potencial agente estabilizante al sistema que se añade. Dichas propiedades son atribuidas a su elevada masa molar que oscila de 500 a 2000 kDa y a su buena interacción con el agua, debido a la gran cantidad de grupos hidroxilo, así como, por la presencia de grupos acetilo que dificultan la asociación intermolecular entre sí, mejorando la solvatación (Chua et al., 2010; Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016; Nishinari, Williams & Phillips, 1992; Zhang, Chen & Yang, 2014).

Desde el punto de vista medicinal, el GMK ha sido ampliamente utilizado como suplemento nutricional para el tratamiento de la obesidad y pérdida de peso, donde una vez ingerido y relacionando su efectividad de absorción de agua, en el estómago se hincha el GMK proporcionando sensación de saciedad y plenitud, aumenta la viscosidad del contenido gastrointestinal retrasando el vaciado gástrico, por lo que favorece la reducción del apetito. Además, disminuye la velocidad de absorción de los alimentos en el intestino delgado, considerando que las fibras solubles reducen la absorción de grasa y proteína.

Entre otros beneficios a la salud tras el consumo de GMK son, disminuir los niveles de colesterol en sangre, normalizar la concentración de triglicéridos en la sangre, mejorar los niveles de azúcar, reducir la inflamación o la hinchazón, promover la actividad intestinal, por lo que se considera como una fibra dietética no digerible con propiedades prebióticas por lo que promueve la producción de ácidos grasos de cadena corta, induciendo la apoptosis y la diferenciación de las células de cáncer de colon y la disminución del pH fecal. Debido a las múltiples aplicaciones y beneficios hacia la salud, los productos que contienen GMK, son considerados como uno de los “10 mejores alimentos saludables” por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Behera & Ray, 2016; Chua et al., 2010; Lu et al., 2018; Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016).

1.3.4 Propiedades reológicas

Las disoluciones de GMK a concentraciones menores a 0.1 % muestran comportamiento newtoniano (He, Luo, Lin & Zhang, 2012). En concentraciones más altas, los sistemas acuosos de GMK presentan un comportamiento no newtoniano fluidificante a la cizalla como la mayoría de los polisacáridos de alta masa molar. Sin embargo, a diferencia de otros polisacáridos fluidificantes como la xantana, muestra una viscosidad constante en un amplio intervalo de bajas velocidades de cizalla ($0.001-1 \text{ s}^{-1}$, dependiendo de la concentración). Una vez que se alcanza una velocidad de cizalla suficiente para modificar la estructura por cizallamiento, el GMK es altamente fluidificante, es decir, su viscosidad disminuye fuertemente al incrementar la velocidad de cizalla (Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016).

El modelo de Carreau (Ecuación 1.4) se ha empleado para ajustar el comportamiento reológico de fluidos como el GMK.

$$\eta(\dot{\gamma}) = \eta_{\infty} + (\eta_0 - \eta_{\infty}) [1 + \lambda(\dot{\gamma})^2]^{-p} \quad (1.4)$$

Donde η_0 es la viscosidad (Pa·s), a baja velocidad de cizalla y representa el estado agregado y ordenado de los materiales que se someterán a cizallamiento, η_{∞} es la

viscosidad (Pa·s), a alta velocidad de cizalla y representa el estado disgregado y desordenado de los materiales sometidos a cizallamiento, $\dot{\gamma}$ es la velocidad de cizalla aplicada al material, λ es una constante de tiempo (s) característico del fluido y p es un exponente adimensional que contiene la dependencia de la viscosidad con respecto a la velocidad de cizalla.

1.3.5 Interacción con otros polisacáridos

Como resultado de su alta viscosidad puede añadirse a otras disoluciones de polisacáridos para aumentar la viscosidad de los sistemas en mezcla y mejorar las propiedades de estos. Se ha reportado interacción sinérgica de GMK en mezcla con polisacáridos gelificantes como: carragenina o gelana, o polisacáridos no gelificantes como xantana, goma guar y carboximetil celulosa, produciendo la formación de hidrogeles fuertes y termorreversibles (Alvarez-Manceño, Landin, Lacik & Martínez-Pacheco, 2008; Davé & McCarthy, 1997). Solamente se ha demostrado una interacción sinérgica en mezcla con xantana, en estudios cuya concentración máxima fue de 1 % (Liang et al., 2011).

1.4 Fructanos de agave

Los fructanos son un grupo de oligosacáridos y fructooligosacáridos presentes en la naturaleza que se encuentran acumulados en cantidades de miligramos en una gran variedad de plantas, incluyendo la achicoria, la alcachofa de Jerusalén, el ajo, la cebolla, los espárragos, las plantas de la especie *agavaceae* (Praznik, Löppert, Cruz-Rubio, Zangger & Huber, 2013) y también son producidos por algunas especies de bacterias. A pesar de sus similitudes, los fructanos son distintos el uno del otro en su origen, la estructura y las características de fermentación (Apolinário et al., 2014; Sosa-Herrera & Delgado-Reyes, 2016).

Sin embargo, las plantas que contienen fructanos y su aplicación en la industria de alimentos aún es limitada, entre ellas están la achicoria y la alcachofa de Jerusalén que contienen fructanos tipo inulina siendo mayormente lineales, mientras que los

fructanos de agave (*Agave tequilana*) poseen una estructura de tipo mixta que les provee la característica de ser ramificados (Roberfroid & Delzenne, 1998).

1.4.1 Obtención

En general, la acumulación de fructanos en las plantas de agave puede tomar desde 3 hasta 8 años, acumulando entre 13 y 17 % en plantas maduras, lo cual es similar a la cantidad encontrada en achicoria (15.2 a 20.5 %). México es considerado el centro de origen del género y biodiversidad del agave, debido a que un gran número de especies se encuentran en su territorio, además de que es la única planta permitida para la producción de tequila (Crispín-Isidro et al., 2015).

Los fructanos de agave (FA) son polisacáridos obtenidos de la extracción acuosa de las piñas de *Agave tequilana* Weber variedad Azul, en donde el proceso de extracción se lleva a cabo en agaves maduros a los cuales se les retira las hojas, las piñas resultantes se cortan en trozos para extraer el jugo que después pasar por el proceso de filtración y desmineralización. El siguiente paso es que el fluido obtenido pasa por un sistema de evaporación con vacío en el cual se elimina la mayor cantidad de agua para finalmente aplicar un proceso de secado para la obtención de fructanos de agave en polvo color blanco, sin olor y con sabor ligeramente dulce (Fernandez-Avila & Trujillo, 2016; Urías-Silvas et al., 2008).

1.4.2 Estructura química

Los fructanos están presentes como mezclas heterogéneas con diferentes grados de polimerización y diversas estructuras químicas, que esto va a depender de la especie, desarrollo de la planta y condiciones ambientales. Se han identificado cinco tipos de fructanos con diferentes estructuras químicas, en la Figura 1.13, se representan las estructuras químicas de los diferentes tipos de fructanos (Apolinário et al., 2014; Sosa-Herrera & Delgado-Reyes, 2016; Van Laere & Van den Ende, 2002).

- A. Tipo inulina: estructura lineal con enlaces β -2-1 entre las moléculas de fructosa.
- B. Tipo levana: estructura lineal con enlaces β -2-6, con ramificaciones y con una unidad de glucosa terminal o interna.
- C. Tipo levana mixto o gramíneos: mezcla de fructanos con enlaces β -2-1 y β -2-6.
- D. Tipo neo-inulina: contiene una unidad de glucosa entre dos unidades de fructofuranosil con enlaces β -2-1.
- E. Tipo neo-levana: formada por enlaces β -2-1 y β -2-6, donde en cada extremo de una molécula de sacarosa central hay un residuo de fructofuranosil.

Investigaciones recientes han demostrado que la estructura molecular de los FA incluye tres tipos básicos de fructanos, inulina, levana y neo-inulina, por lo que se considera una molécula compleja con una gran cantidad de ramificaciones

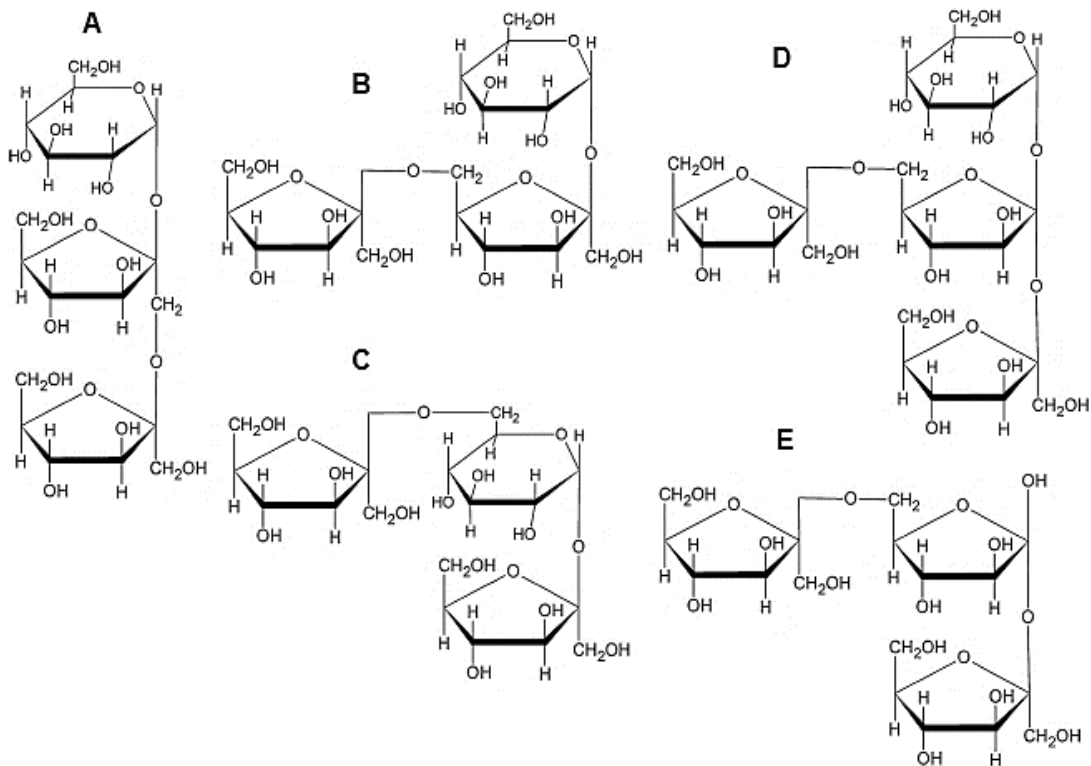


Figura 1.13 Diferentes tipos de fructanos A) inulina B) levana C) gramíneos D) neo-inulina E) neo-levana (adaptado de Apolinário et al., 2014).

En la Figura 1.14 se representa la estructura química propuesta de los fructanos de agave. Presenta enlaces β -2-1 y β -2-6, siendo más abundantes del tipo inulina, con una proporción de 1:15 unidades de glucosa-fructosa. Es una molécula soluble en agua, debido a los grupos OH presentes, con un intervalo de masa molar entre 527 a 4739 Da, donde esta variación depende del grado de polimerización y el tipo de especie.

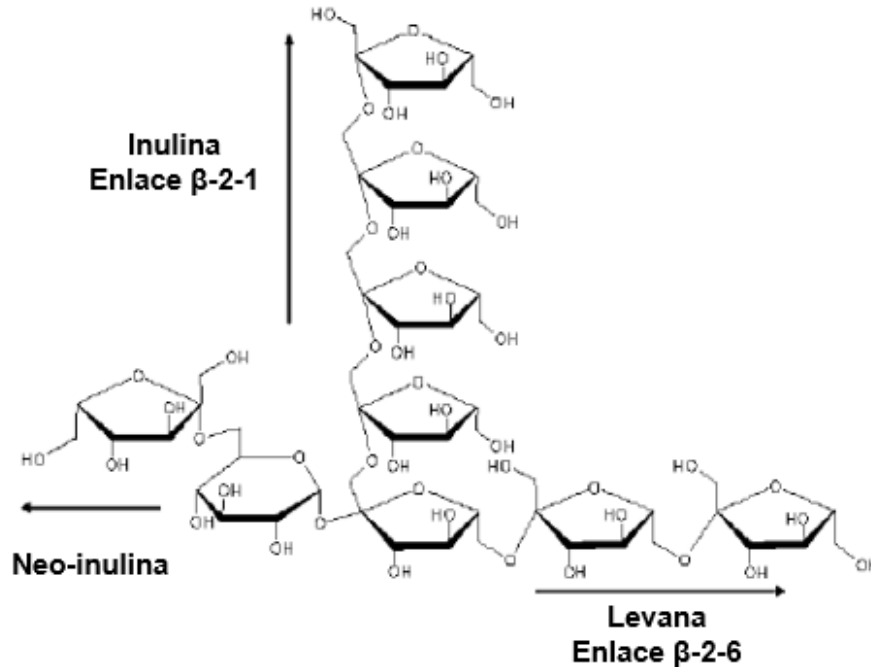


Figura 1.14 Estructura química propuesta para los fructanos de agave (adaptado de Lopez, Mancilla-Margalli & Mendoza-Diaz, 2003).

1.4.3 Propiedades funcionales

Los FA presentan propiedades de superficie por lo que pueden ser aplicados como agentes estabilizantes en emulsiones aceite en agua, desarrollan disoluciones de baja viscosidad similares a los de azúcares simples (Sosa-Herrera et al., 2016).

En estudios recientes se ha reportado el uso de FA en formulaciones de helado como sustituto de azúcar y grasa, en la cual demostraron tener la capacidad de disminuir la formación de cristales de hielo, ya que forman una red tridimensional que atrapan el agua provocando un derretimiento lento, mejorando la calidad del

producto proponiendo una alternativa viable como un sustituto que no proporciona calorías (Pintor-Jardines et al., 2018).

Entre la funcionalidad más atractiva desde el punto de vista medicinal, son los beneficios para la salud humana, ya que se trata de una fibra alimentaria que favorece el crecimiento de bacterias ácido-lácticas, tales como *Lactobacilos* y *Bifidobacterias*. Los FA se han definido como un prebiótico que provoca cambios específicos en la composición o actividad de la microbiota gastrointestinal, por su resistencia al ambiente gástrico y no ser digerible por las enzimas digestivas humanas debido a los enlaces β presentes en la estructura (Shoaib et al., 2016; Sosa-Herrera & Delgado-Reyes, 2016).

1.4.4 Propiedades reológicas

La aplicación de polisacáridos como los FA en emulsiones, probablemente presenten un impacto en la fase continua actuando como agente estabilizante, ya que podría controlar y modificar las interacciones entre los componentes de la emulsión, teniendo un impacto significativo en sus propiedades, la estabilidad, el comportamiento al flujo y la textura (McClements y Jafari, 2018).

Aunque el estudio del comportamiento reológico de los FA aún es limitado, se ha reportado para sistemas acuosos de FA a concentraciones de 1 a 50 % m/m y a temperatura ambiente un comportamiento similar al de un fluido newtoniano presentando valores de viscosidad entre 1.6 a 38 mPa·s, donde señalaron que el efecto de la concentración de FA en la viscosidad, es similar a soluciones de fructosa y sacarosa (Sosa-Herrera et al., 2016).

1.4.5 Interacción con otros polisacáridos

Se ha demostrado que los fructanos tipo inulina en mezcla con otros polisacáridos puede influir el comportamiento reológico de estos, presentando una disminución o aumento de la viscosidad a la fase que se agregan. En un estudio reportaron el

efecto de la adición de inulina y fructanos de agave en yogurt con la finalidad de reemplazar la grasa, mejor el sabor y la sensación en la boca de los productos lácteos dando paso a nuevas aplicaciones tecnológicas (Crispín-Isidro et al., 2015)

II. METODOLOGÍA

2.1 Hipótesis

La formación y estabilidad de emulsiones a base de concentrado de suero de leche serán favorecidas al adicionar fructanos de agave y glucomanano de konjac, en donde estará reforzada la película formada en la interfase debido a la capacidad de los fructanos de agave por interactuar con las proteínas, así como, a las propiedades reológicas de sus fases acuosas, asociadas a la presencia del glucomanano de konjac.

2.2 Objetivos

Objetivo general

Evaluar el efecto de la concentración de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche por separado y en mezcla en medio acuoso mediante pruebas reológicas y su aplicación en emulsión aceite en agua a través de su reología, tamaño de gota y estabilidad, con la finalidad de proponer su aplicación en la elaboración de emulsiones alimenticias.

Objetivos particulares

- i. Medir el pH y la densidad de sistemas acuosos por separado y en mezcla, así como, de las emulsiones aceite en agua de las mezclas binarias y terciarias de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche a diferentes concentraciones como pruebas de control de las muestras.

- ii. Determinar la influencia de cada biopolímero por separado y en mezcla sobre las propiedades de flujo y viscoelásticas de sistemas acuosos de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche a diferentes concentraciones estableciendo su relación con la reología y estabilidad de emulsiones formadas.
- iii. Medir las propiedades de flujo y viscoelásticas, distribución de tamaño de gota y estabilidad en función del tiempo de almacenamiento refrigerado, de las emulsiones aceite en agua elaboradas a partir de sistemas acuosos de las mezclas binarias y terciarias de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche a distintas concentraciones planteando su aplicación como emulsión base en alimentos funcionales.

2.3 Materiales

Los componentes empleados fueron glucomanano de konjac (Ticagel, Tic gums de México, lote No. 13042114) con $7.7 \% \pm 0.18$ de humedad, fructanos de agave, *Agave Tequilana* Weber, variedad azul (Mieles Campos Azules, México, lote No. 01P2806160), con $3.69 \% \pm 0.09$ de humedad y concentrado de suero de leche de 33 a 35 % de proteína (Hegart de México, lote No. 31103211) con $3.68 \% \pm 0.16$ de humedad.

Los sistemas acuosos se prepararon con agua purificada baja en sodio marca E-pura (Grupo PepsiCo, México).

A los sistemas con concentrado de suero de leche, se les adicionó 0.01 g de azida de sodio (NaN_3) como agente conservador. Es ampliamente utilizado para el estudio de sistemas de almacenamiento tipo emulsión teniendo como base proteínas lácteas. La finalidad de su uso es prevenir la contaminación bacteriana y fúngica por largos intervalos de tiempo (Barcina et al., 1987; Lu et al., 2018; Sešĳena y Jankevica, 2007).

En las emulsiones se utilizó aceite comestible 100 % de cártamo marca Oléico (Coral Internacional S.A de C.V., México).

2.4 Métodos

2.4.1 Formulación

Con el fin de cumplir el objeto de estudio y a partir de las pruebas preliminares, se prepararon diferentes sistemas acuosos por separado y en mezcla de glucomanano de konjac en concentraciones de 0.25 y 0.5 %, fructanos de agave en concentraciones de 10 y 20 % y concentrado de suero de leche al 2 %. Todas las concentraciones se expresan como porcentaje en masa.

A partir de la fase acuosa correspondiente, a excepción de los sistemas de un solo componente, se prepararon las emulsiones con 30 % de aceite y 70 % de fase acuosa. Dichas formulaciones se presentan en el Cuadro 2.1, donde el total de sistemas elaborados fue 17 sistemas acuosos y 12 emulsiones.

Cuadro 2.1 Resumen de las formulaciones elaboradas.

| Sistema | Clave |
|---------|----------------------------|
| 1 | GMK 0.25 % |
| 2 | GMK 0.5 % |
| 3 | FA 10 % |
| 4 | FA 20 % |
| 5 | CSL 2 % |
| 6 | FA 10 % CSL 2 % |
| 7 | FA 20 % CSL 2 % |
| 8 | GMK 0.25 % CSL 2 % |
| 9 | GMK 0.25 % FA 10 % |
| 10 | GMK 0.25 % FA 20 % |
| 11 | GMK 0.5 % CSL 2 % |
| 12 | GMK 0.5 % FA 10 % |
| 13 | GMK 0.5 % FA 20 % |
| 14 | GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % |
| 15 | GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 % |
| 16 | GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % |
| 17 | GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % |

2.4.2 Preparación de muestras

2.4.2.1 Sistemas acuosos

Las disoluciones acuosas se prepararon por separado y adicionando gradualmente la cantidad asignada en base seca en agua purificada a 25 °C. Para la elaboración de las disoluciones acuosas de glucomanano de konjac a 0.25 %, fructanos de agave a 10 y 20 % y concentrado de suero de leche a 2 %, se mantuvo una velocidad de agitación magnética aproximada a 650 rpm durante 30 min. Para la elaboración de la disolución de glucomanano de konjac al 0.5 %, se aumentó la velocidad de agitación de 220 a 1000 rpm durante 60 min, utilizando un agitador de hélice de cuatro hojas IKA RW 20 digital (Alemania). Para asegurar la completa hidratación todas las muestras se dejaron reposar en refrigeración durante 24 h aproximadamente antes de realizar su análisis.

En las mezclas de FA-CSL, previamente se hidrataron por separado con la mitad del agua purificada para cada componente, dejándolas reposar bajo refrigeración durante 24 h, aproximadamente. Posteriormente, se adicionaron a temperatura ambiente (25 °C) los fructanos de agave al concentrado de suero de leche a una velocidad de agitación magnética aproximada a 650 rpm durante 30 min. Las mezclas se mantuvieron en reposo en refrigeración durante 24 h para asegurar al igual que los sistemas por separado una completa hidratación de los biopolímeros antes de comenzar su análisis.

En las mezclas de GMK-FA y GMK-CSL, previamente se hidrataron por separado con 100 g de agua purificada para el glucomanano de konjac y el resto del agua para los fructanos de agave o el concentrado de suero de leche respectivamente, de igual forma se dejaron reposar en refrigeración aproximadamente 24 h. Posteriormente, se adicionaron a la disolución de glucomanano de konjac y a

temperatura ambiente (25 °C) los fructanos de agave o el concentrado de suero de leche, dependiendo de la muestra.

Las mezclas de GMK-FA-CSL, se hidrataron por separado con 100 g de agua purificada para el glucomanano de konjac y el resto del agua se repartió equitativamente entre los fructanos de agave y el concentrado de suero de leche dejándolas reposar en refrigeración durante 24 h. Consecutivamente, se incorporó gradualmente a la disolución de glucomanano de konjac y a temperatura ambiente (25 °C), el concentrado de suero de leche seguido de la adición de los fructanos de agave.

Cabe mencionar que para incorporar todos los componentes de las mezclas que contenían glucomanano de konjac a 0.25 %, se mantuvo una velocidad de agitación magnética aproximada a 650 rpm durante 30 min. En el caso de las mezclas que contenían glucomanano de konjac a 0.5 % se fue aumentando la velocidad de agitación de 220 a 1000 rpm durante 60 min empleando un agitador de hélice de cuatro hojas IKA RW 20 digital (Alemania).

2.4.2.2 Emulsiones

La preparación de las emulsiones consistió en la adición de aceite a 30 % m/m al sistema acuoso correspondiente. En seguida, se homogenizó la muestra empleando un mezclador de alta velocidad Silverson L4R (Inglaterra) a una velocidad aproximada de 8000 rpm durante 2 min a temperatura ambiente (25 °C). Las emulsiones se caracterizaron de inmediato.

2.4.3 Humedad

Se determinó la humedad de cada uno de los polisacáridos en una termobalanza Ohaus MB45 (EUA), mediante el perfil de desecación con criterio de finalización cronometrada A60 (1 mg en 60 s) a 100 °C. Se empleó aproximadamente 1 g de

glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche, realizando tres repeticiones para cada uno de los polisacáridos. De los resultados obtenidos del porcentaje de humedad se calculó el promedio y la desviación estándar. Posteriormente, con el valor promedio de la humedad se realizó un balance de materia para determinar la cantidad en base seca de cada componente y con ello preparar las disoluciones.

2.4.4 pH

El pH se midió en los sistemas acuosos y las emulsiones empleando un potenciómetro Bench Meter 700, Eutech Instruments, Oakton (Singapur) a temperatura ambiente (25 °C), por triplicado e inmediatamente después de su elaboración. Previo a la medición de las muestras, se calibró el equipo con dos disoluciones amortiguadoras de pH 4.0 y 7.0. Posteriormente, se depositó la cantidad necesaria de muestra (~30 mL) a un vaso de precipitado de 50 mL de forma que quedara completamente cubierto el electrodo de referencia al ser sumergido en la muestra. De los resultados obtenidos se calculó el promedio y la desviación estándar.

2.4.5 Densidad

La densidad se determinó en los sistemas acuosos y las emulsiones empleando un densímetro digital DMA 500, Anton Paar (Austria) a 20 °C, por triplicado e inmediatamente después de su elaboración. Previo a la medición de las muestras, se verificó que el equipo estuviera en óptimas condiciones de limpieza y funcionamiento, siendo necesaria la medición de la densidad del aire y después la del agua. Posteriormente, se inyectó la cantidad necesaria de muestra (~1 mL) y sin formación de burbujas al tubo en U. De los resultados obtenidos se calculó el promedio y la desviación estándar.

2.4.6 Comportamiento reológico

La caracterización reológica se realizó por triplicado en todos los sistemas acuosos y las emulsiones que pudieron ser caracterizadas a 25 °C en un Reómetro Physica MCR 301, Anton Paar (Austria) con un dispositivo de cono (75 mm de diámetro y un ángulo de 1 °, CP75-1). Una vez encendido y puesto en marcha el equipo, se colocó suavemente 2 mL de muestra aproximadamente sobre la placa del equipo para comenzar su análisis. El software Rheoplus del equipo proporciona directamente los valores (Anton Paar, 2007).

Para las pruebas de comportamiento al flujo se realizaron dos ciclos de ascenso-descenso a una velocidad de cizalla de 5 a 300 s⁻¹ con 20 puntos y 5 a 1000 s⁻¹ con 35 puntos de lectura y un intervalo de tiempo de 10 s por punto, dependiendo de la muestra. Se realizaron gráficos de viscosidad en función de la velocidad de cizalla, posteriormente se ajustó a un modelo reológico. De los resultados obtenidos se calculó el promedio y la desviación estándar de los parámetros reológicos del modelo matemático que mejor se ajustó a los datos experimentales.

Para determinar las propiedades viscoelásticas de los sistemas acuosos y de la emulsión con apariencia más viscosa, se empleó el mismo dispositivo realizando un barrido de deformación para identificar la zona viscoelástica lineal de 0.6 a 2 % y de 1 a 5 % dependiendo de la muestra, manteniendo la frecuencia constante a 1 Hz en todas las pruebas. Posteriormente se realizó un barrido de frecuencia angular de 0.628 a 62.8 rad/s (0.1 a 10 Hz), manteniendo la deformación constante a 0.6 % y 2 % dependiendo de la muestra. Se realizaron gráficos de los módulos G' (módulo de almacenamiento) y G'' (módulo de pérdida) en función de la frecuencia.

2.4.7 Tamaño de gota

El análisis de tamaño de gota se determinó en las emulsiones que pudieron ser caracterizadas a temperatura ambiente (25°C) en un granulómetro Cilas 930 (Francia). Se depositó la cantidad necesaria (de 3 a 20 gotas) de muestra, con

ayuda de un gotero, en un contenedor del equipo que es alimentado vía líquida en donde se dispersó la muestra verificando el porcentaje de obscuración entre 8 a 15 %, aproximadamente.

Al terminar la prueba, se obtuvo un histograma como el de la Figura 2.1, proporcionado por el software Size Expert V9.08 del equipo. Posteriormente, se aplicó ultrasonido a 55 kHz sobre la misma muestra para disgregar posibles flóculos o agregados de gotas, ya que, la aplicación de ultrasonido se utiliza para dispersar las gotas de una muestra uniformemente entre los líquidos (Storti y Balsamo, 2010). Las pruebas se realizaron por triplicado sin y con la aplicación de ultrasonido a 55 kHz. Se realizaron las gráficas de distribución de población en función del diámetro de gota y se obtuvieron los datos de los diámetros representativos (modas) identificados para cada población, calculándose el promedio y la desviación estándar de las muestras.

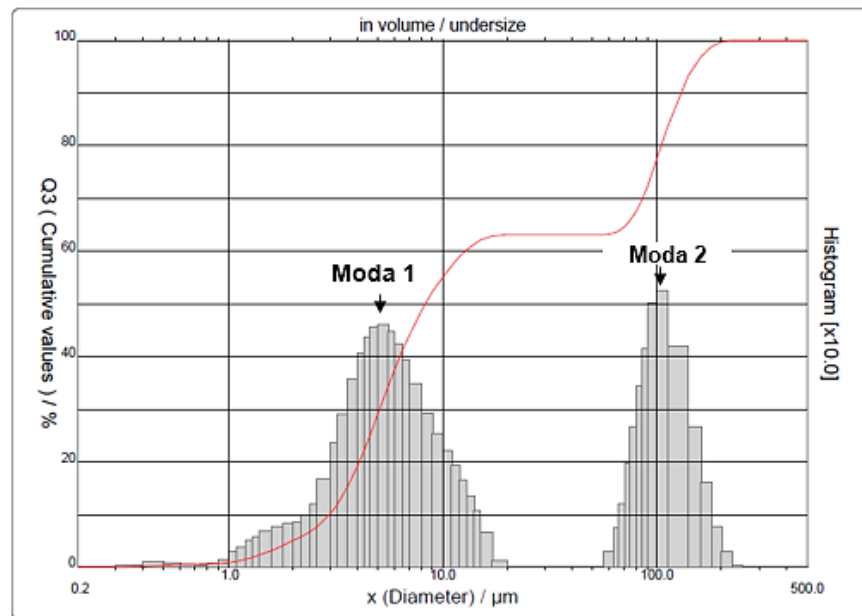


Figura 2.1 Ejemplo de histograma de densidad de distribución de tamaño de gota y valores acumulativos (línea) (Storti & Balsamo, 2010).

A las emulsiones que contenían los tres biopolímeros en la fase acuosa, se les determinó la medida de dispersión de los tamaños de las gotas a través del lapso de distribución de tamaño de gota con el parámetro de dispersión relativa (DR o

span relative), basado en la norma ASTM International E799-03. En donde a partir de los diámetros promedio del porcentaje de valor acumulado al 10, 50 y 90 % que proporciona el software del equipo, se calculó el parámetro DR, de acuerdo con la Ecuación 1.2. De los resultados obtenidos se obtuvo el promedio y la desviación estándar de los diámetros al 10, 50 y 90 %, y a partir del valor obtenido de la media se calculó el valor de DR para cada emulsión.

2.4.8 Estabilidad por transmisión y retrodispersión de luz

El análisis de estabilidad se determinó por triplicado en todas las emulsiones empleando un analizador óptico de transmisión-retrodispersión de luz, Turbiscan MA 2000, Formulacion (Francia) a temperatura ambiente (25 °C). Se depositó la cantidad necesaria de muestra en una celda de medición cilíndrica de vidrio a una altura de llenado de aproximadamente 6 cm, la celda se tapó y se introdujo en el equipo para comenzar su análisis. El tubo fue sometido a una fuente de luz y se cuantificó la transmisión-retrodispersión de luz en función del tiempo de almacenamiento. Las muestras se escanearon cada cinco minutos por dos horas, cada dos horas por tres semanas o dos veces al día durante un mes, dependiendo de la muestra, con el fin de delimitar e identificar las zonas que presentaron inestabilidad.

Una vez concluidos los escaneos de las emulsiones en el software “Turbisoft” en función del tiempo de almacenamiento, se realizaron las cinéticas de desestabilización a través del análisis de espesor absoluto o valores medios, con base a los mecanismos de inestabilidad identificados en el sistema disperso que está siendo evaluado (Liu et al., 2014; Mengual, Meunier, Cayré, Puech & Snabre, 1999).

En la Figura 2.2A y 2.2B se muestra un ejemplo de los perfiles de retrodispersión y transmisión de luz en modo crudo y en modo referencia, en donde se identifican los probables fenómenos de desestabilización que se pudieran encontrar en las emulsiones alimenticias.

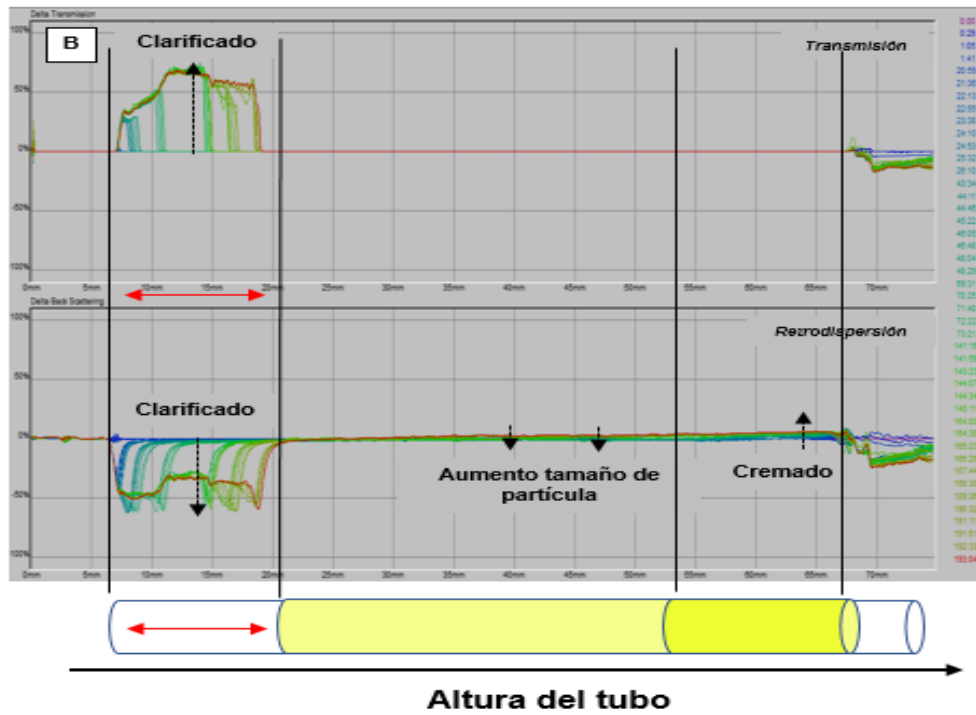
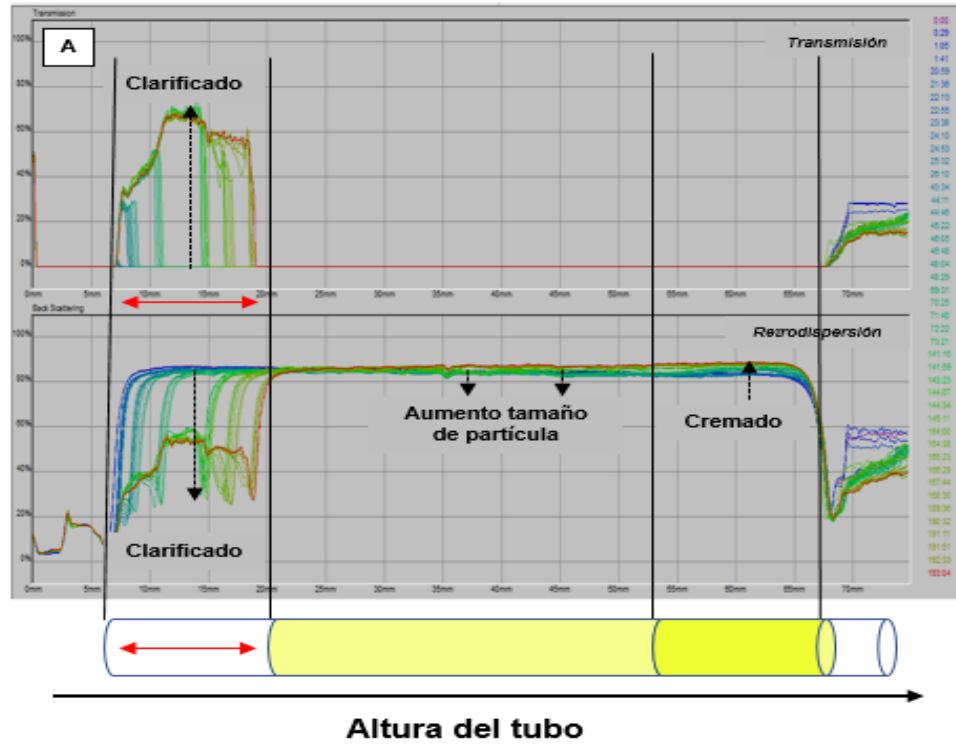


Figura 2.2 Fenómenos de desestabilización identificados en perfiles típicos de transmisión y retrodispersión en modo crudo (A) y en modo referencia (B) de emulsiones en función del tiempo y la altura del tubo. (Gráficos proporcionados por el equipo).

Se puede observar que el clarificado se identifica con un pico negativo en la parte inferior del tubo en los perfiles de retrodispersión o como un pico positivo en el gráfico de transmisión. El incremento de tamaño debido a la agregación de las gotas se observa con el decrecimiento progresivo en el perfil de retrodispersión en la parte media del tubo. Finalmente, el cremado se puede identificar con un pico positivo en el perfil de retrodispersión.

Se obtuvieron los valores de espesor absoluto en modo referencia del clarificado identificado en el fondo del tubo o los valores medios en modo crudo de aumento de tamaño de gota a lo largo del tubo, de los perfiles de transmisión o retrodispersión de luz, dependiendo de la muestra. Se graficaron los resultados en función del tiempo ajustando a un modelo matemático del tipo lineal, cuya pendiente o parámetros corresponden a la velocidad de aumento o disminución de transmisión o retrodispersión de luz, que indirectamente representa la migración de gotas o el aumento de tamaño a lo largo del tubo (formación de flóculos). De los cinéticas y tiempos de desestabilización obtenidos, se calculó el promedio y la desviación estándar (Mengual et al., 1999).

2.4.9 Análisis estadístico

Se hizo un análisis de varianza de un solo factor empleando un nivel de confianza de 95 % para obtener los coeficientes correspondientes al efecto de los factores sobre las variables de respuesta analizadas. Los datos fueron tratados utilizando un software estadístico (MINITAB 17).

III. RESULTADOS

3.1 pH de sistemas acuosos y emulsiones

En el Cuadro 3.1 se presenta el pH promedio de los sistemas acuosos y de las emulsiones con glucomanano de konjac (GMK), fructanos de agave (FA) y concentrado de suero de leche (CSL) solos, en mezcla y en diferentes concentraciones.

Cuadro 3.1 pH de sistemas acuosos y emulsiones a 25 °C.

| Sistema | Fase acuosa | Emulsión |
|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| GMK 0.25 % | 6.61 ^{abc} ± 0.06 | - |
| GMK 0.5 % | 6.44 ^{cd} ± 0.17 | - |
| FA 10 % | 5.16 ^{efg} ± 0.01 | - |
| FA 20 % | 5.02 ^g ± 0.02 | - |
| CSL 2 % | 6.73 ^{ab} ± 0.03 | - |
| GMK 0.25 % CSL 2 % | 6.79 ^a ± 0.01 | 6.85 ^{ab} ± 0.03 |
| GMK 0.25 % FA 10 % | 5.29 ^{ef} ± 0.06 | 5.54 ^f ± 0.02 |
| GMK 0.25 % FA 20 % | 5.12 ^{fg} ± 0.01 | 5.28 ^f ± 0.05 |
| GMK 0.5 % CSL 2 % | 6.77 ^a ± 0.01 | 6.77 ^{abc} ± 0.01 |
| GMK 0.5 % FA 10 % | 5.33 ^e ± 0.00 | 5.62 ^e ± 0.05 |
| GMK 0.5 % FA 20 % | 5.12 ^{fg} ± 0.02 | 5.40 ^f ± 0.06 |
| FA 10 % CSL 2 % | 6.63 ^{abc} ± 0.01 | 6.73 ^{abcd} ± 0.01 |
| FA 20 % CSL 2 % | 6.40 ^d ± 0.00 | 6.83 ^a ± 0.09 |
| GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % | 6.54 ^{bcd} ± 0.01 | 6.66 ^{bcd} ± 0.05 |
| GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 % | 6.38 ^{cd} ± 0.02 | 6.58 ^{cd} ± 0.15 |
| GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % | 6.57 ^{bcd} ± 0.03 | 6.75 ^{abc} ± 0.05 |
| GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % | 6.39 ^d ± 0.01 | 6.54 ^d ± 0.04 |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

En fase acuosa se observó que los sistemas que contienen FA son los sistemas más ácidos, ya que provienen de una hidrólisis ácido-térmica. Los sistemas con FA al 20 % es la muestra más ácida y su promedio es estadísticamente diferente a todas las formulaciones. Los sistemas acuosos de GMK presentaron un pH cercano a la neutralidad. En los sistemas de FA en mezcla con GMK se observó que el pH disminuye a medida que aumenta la concentración de fructanos, mostrando valores de pH ligeramente más ácidos que el GMK solo y varían entre 5.12 a 5.33, siendo estadísticamente diferentes a los valores de GMK solo. Las fases acuosas restantes presentaron valores de pH con tendencia hacia la neutralidad, que van desde 6.38 hasta 6.79, el cual incrementó conforme la concentración de GMK y CSL aumentó.

El pH de los sistemas de GMK-CSL no tuvieron diferencia significativa comparado con los valores obtenidos de los sistemas con GMK solo, confirmando la nula influencia del CSL en el pH de la mezcla. La medida del pH es importante en las fases acuosas que contienen mezclas con proteínas, ya que determinan la carga neta de la mismas.

En general, los valores obtenidos de pH para las emulsiones aumentaron con respecto a su fase acuosa, presentando tendencia hacia la neutralidad. Las emulsiones de GMK-FA son estadísticamente diferentes a todas las emulsiones, en donde se observaron los valores de pH más ácidos, siendo menores conforme se incrementó la concentración de FA en el sistema acuoso, con valores entre 5.28 y 5.62.

Las emulsiones de GMK-CSL, FA-CSL y GMK-FA-CSL no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas ($\alpha = 0.05$), presentaron valores finales más altos de pH con tendencia a la neutralidad que van de 6.54 a 6.85, por lo que podría proponerse que el pH de la emulsión está dado por la adición y funcionalidad de la proteína (CSL), incluso a las dos concentraciones de GMK y FA en estudio, con tendencia a aumentar en las emulsiones binarias conforme disminuye la

concentración de GMK y a disminuir el pH en las emulsiones terciarias conforme incrementa la concentración de FA.

3.2 Densidad de sistemas acuosos y emulsiones

En el Cuadro 3.2 se resumen la densidad promedio a 20 °C del agua purificada, el aceite, los sistemas acuosos y de las emulsiones conteniendo GMK, FA y CSL, solos, en mezcla y a diferentes concentraciones. Todos los sistemas acuosos presentaron valores de densidad por encima de la unidad, ya que el componente mayoritario de las muestras es agua. La separación de las fases en una emulsión dependerá, entre otras variables, de la diferencia de densidad de los componentes.

Cuadro 3.2 Densidad promedio del agua, aceite, sistemas acuosos y emulsiones estudiados a 20 °C.

| Sistema | Fase acuosa | Emulsión |
|----------------------------|------------------------------------------|-------------------------------|
| | Densidad (g/cm ³) | Densidad (g/cm ³) |
| GMK 0.25 % | 0.99 ⁿ ± 2 x 10 ⁻⁴ | - |
| GMK 0.5 % | 1.00 ⁿ ± 2 x 10 ⁻⁴ | - |
| FA 10 % | 1.04 ^k ± 3 x 10 ⁻⁴ | - |
| FA 20 % | 1.08 ^f ± 1 x 10 ⁻⁴ | - |
| CSL 2 % | 1.01 ^m ± 0.00 | - |
| GMK 0.25 % CSL 2 % | 1.01 ^{lm} ± 0.00 | 0.98 ^f ± 0.00 |
| GMK 0.25 % FA 10 % | 1.04 ^k ± 1 x 10 ⁻⁴ | 1.03 ^{cde} ± 0.02 |
| GMK 0.25 % FA 20 % | 1.08 ^e ± 1 x 10 ⁻³ | 1.06 ^a ± 0.02 |
| GMK 0.5 % CSL 2 % | 1.01 ^l ± 1 x 10 ⁻⁴ | 0.97 ^f ± 0.00 |
| GMK 0.5 % FA 10 % | 1.04 ^j ± 1 x 10 ⁻⁴ | 1.00 ^e ± 0.00 |
| GMK 0.5 % FA 20 % | 1.09 ^d ± 1 x 10 ⁻³ | 1.03 ^c ± 0.01 |
| FA 10 % CSL 2 % | 1.05 ⁱ ± 1 x 10 ⁻³ | 1.03 ^{cd} ± 0.01 |
| FA 20 % CSL 2 % | 1.09 ^c ± 6 x 10 ⁻⁴ | 1.05 ^b ± 0.02 |
| GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % | 1.05 ^h ± 2 x 10 ⁻⁴ | 1.00 ^e ± 0.00 |
| GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 % | 1.09 ^b ± 4 x 10 ⁻⁴ | 1.03 ^{cd} ± 0.00 |
| GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % | 1.05 ^g ± 1 x 10 ⁻⁴ | 1.01 ^{de} ± 0.01 |
| GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % | 1.09 ^a ± 2 x 10 ⁻⁴ | 1.04 ^{bc} ± 0.00 |
| Agua purificada | 0.998 ^o ± 0.00 | |
| Aceite | 0.916 ^g ± 0.00 | |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

Los sistemas acuosos de CSL solo y GMK-CLS no mostraron diferencia significativa, en donde se confirma una nula influencia del GMK sobre la densidad del CSL (1.01 g/cm^3). En general, en los sistemas acuosos restantes, se observó una diferencia estadísticamente significativa, ya que la densidad de las fases acuosas fue aumentando conforme se incrementó la concentración de sólidos, oscilando entre 0.99 y 1.09 g/cm^3 .

Las emulsiones binarias de GMK-CSL son estadísticamente diferentes a todas las emulsiones, presentando los valores de densidad más bajos. En general, en las emulsiones restantes se observaron valores muy similares sin diferencias significativas ($\alpha = 0.05$), que fueron de 1.00 a 1.06 g/cm^3 . En donde, la densidad de las emulsiones disminuyó con respecto a su fase acuosa, debido a la presencia del aceite, ya que, la densidad del aceite (0.916 g/cm^3) es menor a la del agua (0.998 g/cm^3).

Se observó que los valores obtenidos de densidad están dentro de lo reportado para emulsiones alimenticias, siendo aproximadamente 1 g/cm^3 para la fase continua y 0.9 g/cm^3 para la fase dispersa (McClements, 2005; McClements & Jafari, 2018).

3.3 Comportamiento reológico de sistemas acuosos

En esta sección se presentan por separado los resultados obtenidos de los sistemas acuosos elaborados que forman parte de la fase continua de la emulsión correspondiente.

El propósito de presentar por separado los sistemas acuosos que contienen GMK, FA y CSL, solos y en mezcla, es evaluar el efecto de la concentración de los componentes en las disoluciones, sus propiedades viscoelásticas y de flujo, con la finalidad de relacionar su aplicación en las emulsiones obtenidas más estables

3.3.1 Propiedades viscoelásticas

Se ha reportado para disoluciones de GMK en pruebas de baja cizalla oscilatoria en la zona de viscoelasticidad lineal, un espectro característico de un material fluido para frecuencias angulares bajas, el módulo de pérdida (G'') predomina sobre el módulo de almacenamiento (G'), presentando un punto de cruce donde se invierte este comportamiento a frecuencias angulares altas. El punto donde interceptan los módulos tiende a desplazarse hacia frecuencias más bajas conforme aumenta la concentración de GMK en el medio. Cabe aclarar que la magnitud de los módulos y el punto de cruce, dependen de la pureza, grado de acetilación, masa molar y proceso de extracción (Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016; Wang, Liu, Shuai, Cui, & Nie, 2014; Xu et al., 2014).

3.3.1.1 Disoluciones de glucomanano de konjac solo

Se determinó el comportamiento viscoelástico de GMK al 0.25 y 0.5 %, se estableció la zona viscoelástica lineal donde G' y G'' fueran independientes de la deformación aplicada. El intervalo de viscoelasticidad lineal se encontró entre 0.2 a 2 %, a partir de ello se seleccionó una deformación para obtener el espectro mecánico, G' y G'' en función de la frecuencia angular. En la Figura 3.1 se presentan los espectros mecánicos de las disoluciones acuosas de GMK al 0.25 y 0.5 % a una deformación constante de 0.6 %.

En las fases acuosas de GMK se confirma un comportamiento viscoelástico, predominantemente fluido, ya que, en ambas concentraciones G'' es superior a G' y una alta dependencia de los módulos con la frecuencia angular. En la concentración menor (0.25 %) se observa un comportamiento tipo solución diluida y a mayor concentración (0.5 %) el comportamiento mostrado es el de una disolución concentrada con un punto de cruce en 30 1/s, aproximadamente.

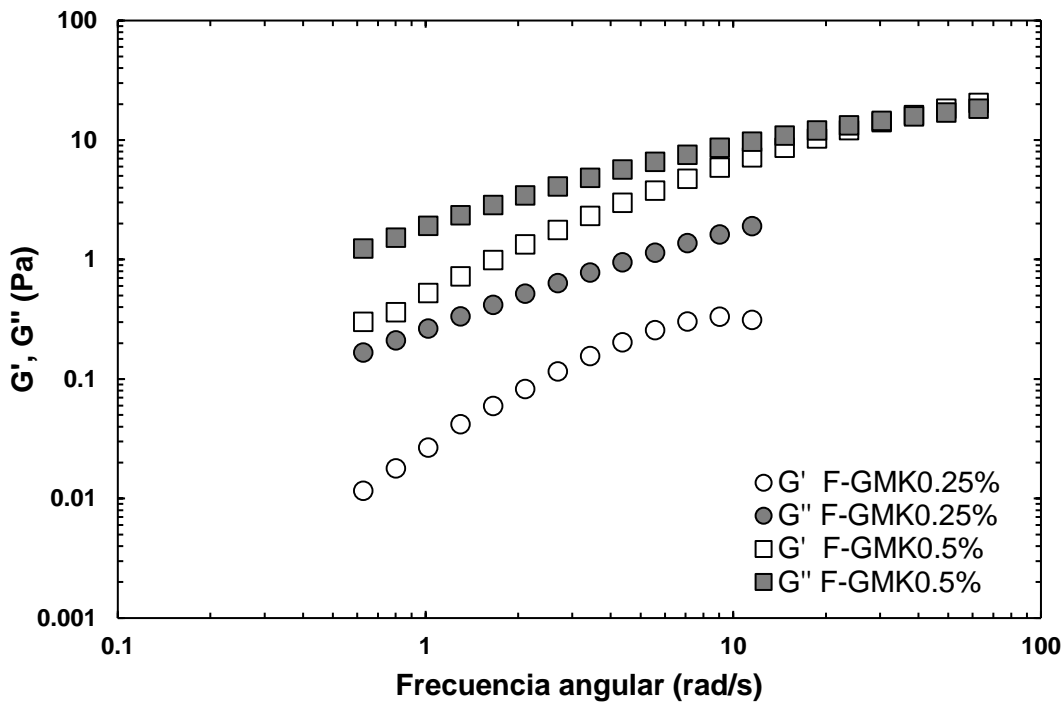


Figura 3.1 Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de las disoluciones de GMK al 0.25 y 0.5 % a 25 °C.

3.3.1.2 Disoluciones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche en mezcla

Se determinó el comportamiento viscoelástico de las mezclas de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %. De igual manera, se estableció la zona viscoelástica lineal, en el intervalo de 1 a 5 %.

En la Figura 3.2 se presentan los espectros mecánicos de las disoluciones de GMK 0.25 % CSL 2 % y GMK 0.5 % CSL 2 %, a una deformación constante del 2 %. Además, se muestran los espectros mecánicos de los sistemas acuosos de GMK al 0.25 y 0.5 % solos.

Similar a las disoluciones de GMK sin mezclar, en todos los sistemas se observó dependencia de los módulos con la velocidad angular aplicada. El efecto de la adición de CSL en las mezclas con GMK, parece no influir en los valores de los

módulos del GMK solo (gráficos superpuestos). Además, el punto de cruce de la mezcla GMK 0.5 % CSL 2 % fue similar al de la disolución al 0.5 % de GMK únicamente.

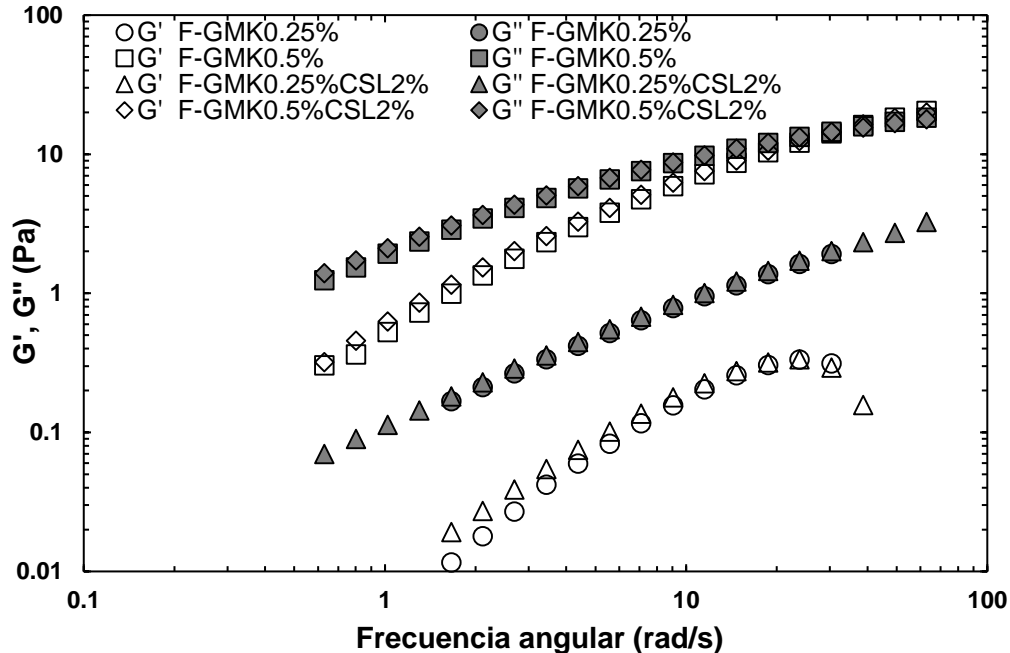


Figura 3.2 Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de los sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % solos y en mezcla con CSL al 2 % a 25 °C.

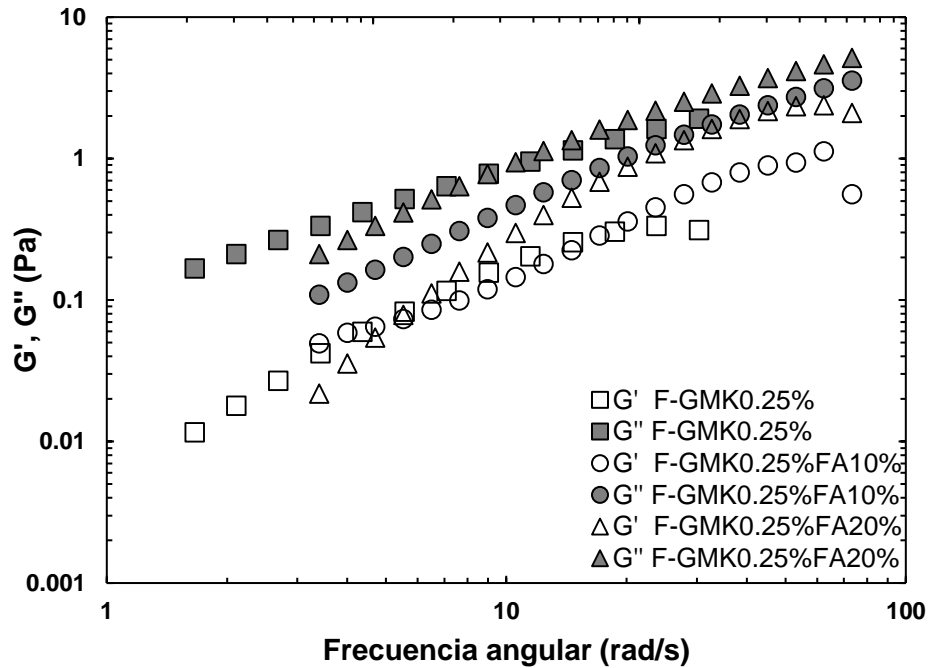
3.3.1.3 Disoluciones de glucomanano de konjac y fructanos de agave en mezcla

En las Figuras 3.3a y 3.3b se presentan los espectros mecánicos de las disoluciones de GMK 0.25 % FA 10 %, GMK 0.25 % FA 20 %, GMK 0.5 % FA 10 % y GMK 0.5 % FA 20 %, a una deformación constante del 2 %. También se comparan con los espectros mecánicos de los sistemas acuosos de GMK al 0.25 y 0.5 % solos.

Al adicionar fructanos en alta concentración, se observan espectros mecánicos similares al del GMK solo, donde sigue predominando el comportamiento fluido ($G'' > G'$), con alta dependencia de los módulos con la frecuencia. Al adicionar el 20

% de FA, se observó un incremento de los módulos en ambas concentraciones de GMK.

(a)



(b)

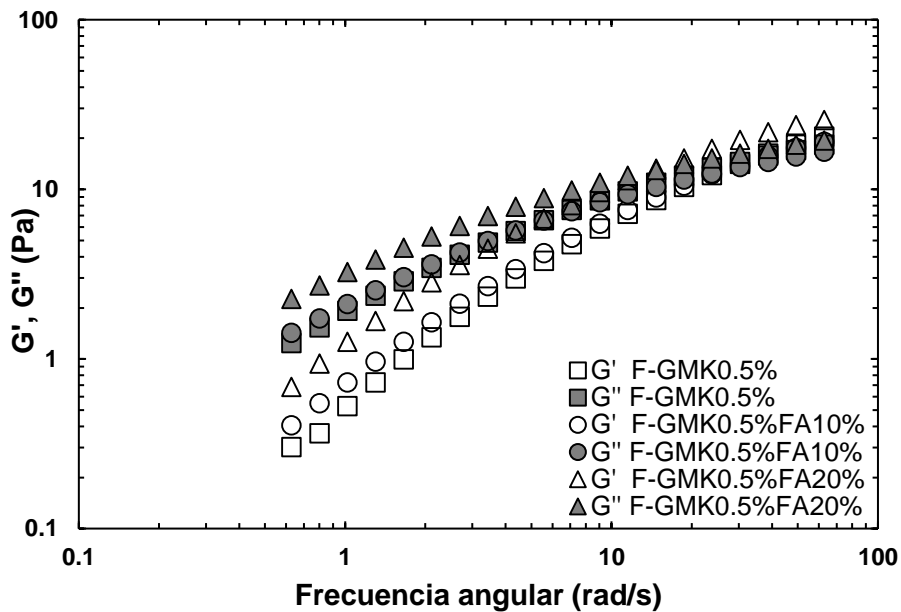


Figura 3.3 Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de los sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 (a) y 0.5 % (b) solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % a 25 °C.

En los sistemas que contienen 0.25 % de GMK, se puede suponer que las interacciones entre las cadenas de biopolímero son menores, registrándose valores pequeños de los módulos, por lo que pudieron ser medidos en un intervalo restringido de la frecuencia angular.

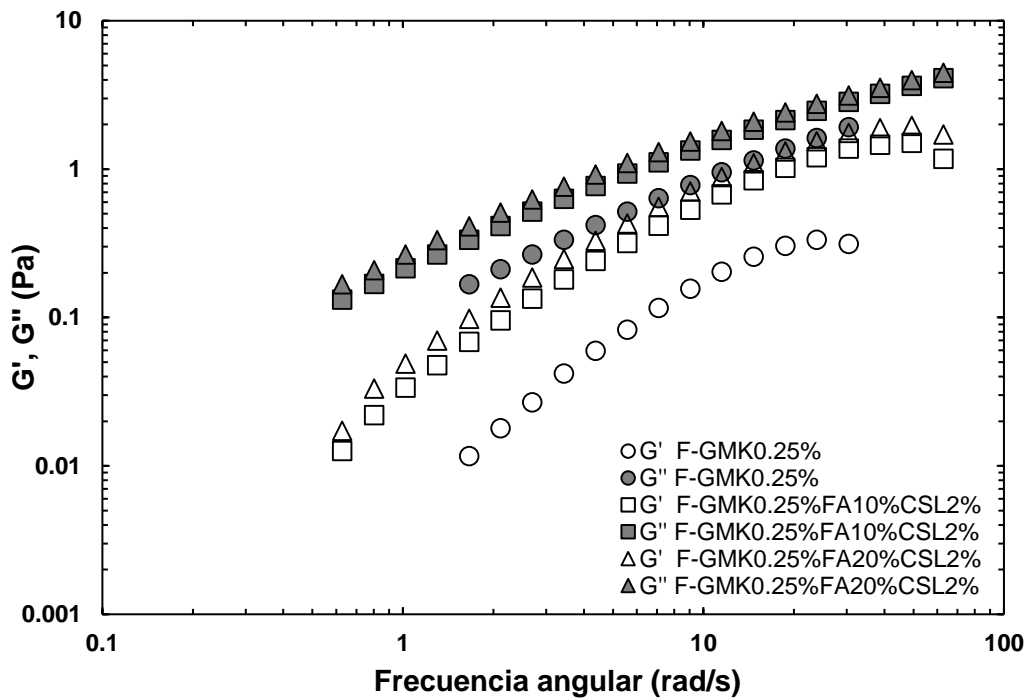
Al agregar los fructanos, solamente al 20 % se observa un incremento de los módulos, principalmente en las frecuencias angulares altas, pero no se observa cruce de estos, confirmando la menor asociación entre cadenas de biopolímero. En este sistema, al adicionar el 10 % de FA, se obtuvo un intervalo mayor de medición en la velocidad angular, y módulos inferiores a los obtenidos con el 20 % de FA, como era de esperarse.

3.3.1.4 Disoluciones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche en mezcla

En las Figuras 3.4a y 3.4b se presentan los espectros mecánicos de las disoluciones con tres componentes (GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 %, GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 %, GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % y GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 %), los cuales fueron determinados a una deformación constante del 2 %. Se muestran también los espectros mecánicos de los sistemas acuosos de GMK al 0.25 y 0.5 % sin mezclar.

De igual manera que en los sistemas binarios, los módulos presentaron alta dependencia con la frecuencia angular aplicada, y un comportamiento viscoelástico muy parecido a las disoluciones de GMK solo, donde predomina G'' a G' . En las mezclas con GMK al 0.25 % se observa la influencia de la adición de FA y CSL, aumentándose progresivamente los módulos, siendo mayores en las disoluciones que contienen los FA al 20 % y CSL al 2 %.

(a)



(b)

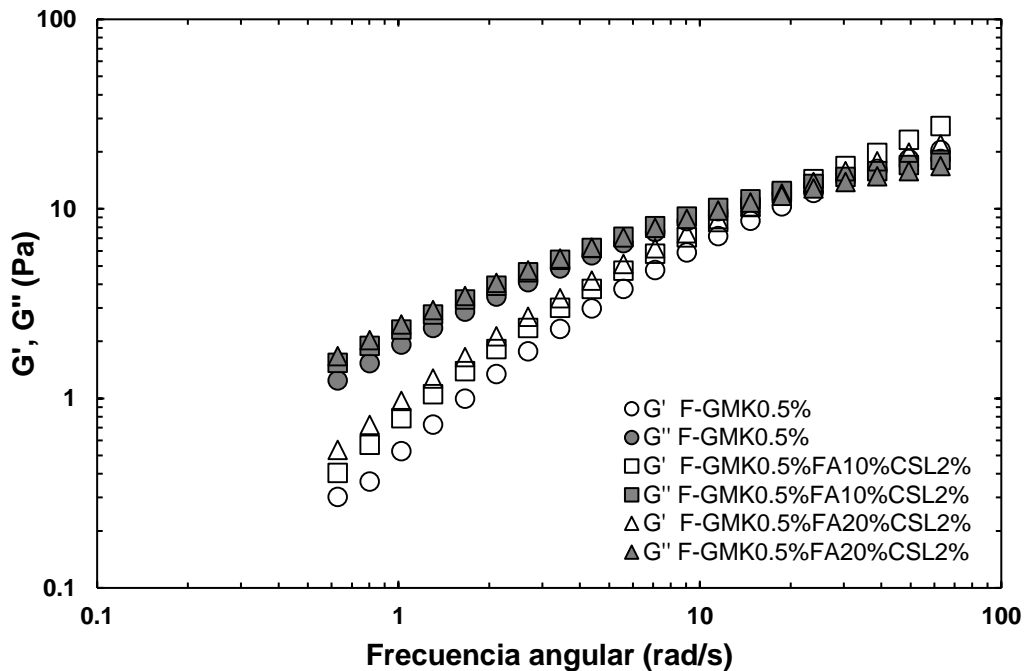


Figura 3.4 Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de los sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 (a) y 0.5 % (b) solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25 °C.

En el Cuadro 3.3 se presentan los puntos donde interceptan los módulos G' y G'' para los sistemas de GMK al 0.5 % solo y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %.

Cuadro 3.3 Puntos de cruce de los módulos G' y G'' de las disoluciones de GMK al 0.5 % solo y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25 °C.

| Sistema acuoso | Frecuencia angular (rad/s) | Tiempo característico (s) |
|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| GMK 0.5 % | 36.33 ^a ± 4.62 | 0.027 |
| GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % | 19.00 ^b ± 0.00 | 0.053 |
| GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % | 16.33 ^b ± 2.31 | 0.061 |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

En las disoluciones con 0.5 % de GMK, la adición de FA y CSL modificó más el módulo de almacenamiento en donde no hubo diferencia estadísticamente significativa comparado con la disolución de GMK sin mezclar, aunque es posible observar que el punto de cruce se desplaza conforme se adicionan FA y CSL, encontrándose a menores frecuencias angulares, lo cual indica un comportamiento más elástico. Se puede demostrar que la frecuencia angular, en el punto de cruce de los módulos, disminuye y que el tiempo característico del material, calculado como el inverso de la frecuencia angular, se incrementa implicando un fluido más estructurado.

El comportamiento observado en los espectros mecánicos de todos los sistemas acuosos, principalmente de las fases que contienen 0.5 % de GMK, fueron similares a los obtenidos en un estudio de GMK en mayor concentración (0.8-1 %) y con la aplicación de un tratamiento térmico (80 °C, 1 h) en mezcla con proteínas aisladas de soya (1-2 %) en medio acuoso (Yin & Zhang, 2007). En dicho estudio se reportó un efecto sinergista debido a la proteína, en donde se observó un aumento significativo en la viscoelasticidad de la mezcla (incremento de G' y G''), como

consecuencia de la interacción entre los biopolímeros, atribuido a la formación de enlaces hidrógeno entre las moléculas del GMK y las proteínas aisladas de soya.

El efecto sinérgico también fue reportado en geles sólidos de proteínas aisladas de suero de leche (11 %, 80 °C, 30 min) en mezcla con GMK, observándose un comportamiento predominantemente elástico ($G' > G''$) en el intervalo de 0.1 a 100 rad/s, atribuido a interacciones segregativas entre las proteínas de suero y el GMK (Tobin et al., 2012).

En cuanto a la adición de fructanos, no hay estudios reportados. No obstante Yin et al., (2008), han reportado que al agregar azúcares al GMK los módulos G' y G'' muestran dependencia con la frecuencia aplicada (0.01 a 10 Hz), e incrementaron proporcionalmente conforme aumentó la concentración de sólidos.

De igual forma observaron que la adición de algunas sales (NaCl , NaNO_3 , NaSCN , Na_2SO_4) no afecta en gran medida el carácter viscoelástico, ya que presentaron valores del espectro mecánico similares a los módulos que contenían únicamente GMK. El comportamiento reológico de las disoluciones de GMK se atribuyó al enmarañamiento de las cadenas de GMK; a bajas frecuencias las cadenas moleculares de GMK se desenredan durante el período de oscilación, mientras que a altas frecuencias no fue posible desenmarañar las cadenas de GMK, por lo que formaron una estructura de red temporal. Por lo tanto, la disolución cambia de comportamiento predominante fluido a bajas frecuencias a comportamiento similar a un sólido a frecuencias más altas (Yin et al., 2008).

Finalmente, en sistemas de GMK carboximetilado, han reportado que los módulos disminuyeron al aumentar el grado de sustitución y el punto de cruce se incrementa, sin afectar la adición de sal (NaCl) (Kobayashi, Tsujihata, Hibi & Tsukamoto, 2002) confirmando los resultados de Yin et al. (2008).

3.3.2 Propiedades de flujo estacionario

3.3.2.1 Disoluciones de fructanos de agave y concentrado de suero de leche solos y en mezcla

En la Figura 3.5 se presentan las curvas de viscosidad en función de la velocidad de cizalla de las disoluciones de CSL al 2 %, FA al 10 y 20 %, y las mezclas de FA 10 % CSL 2 % y FA 20 % CSL 2 %. En el intervalo estudiado, no se observó dependencia con el tiempo de cizallamiento. La viscosidad (η) de las disoluciones se mantuvo constante para todo el intervalo de velocidad de cizalla aplicado, por lo que las disoluciones mostraron un comportamiento newtoniano.

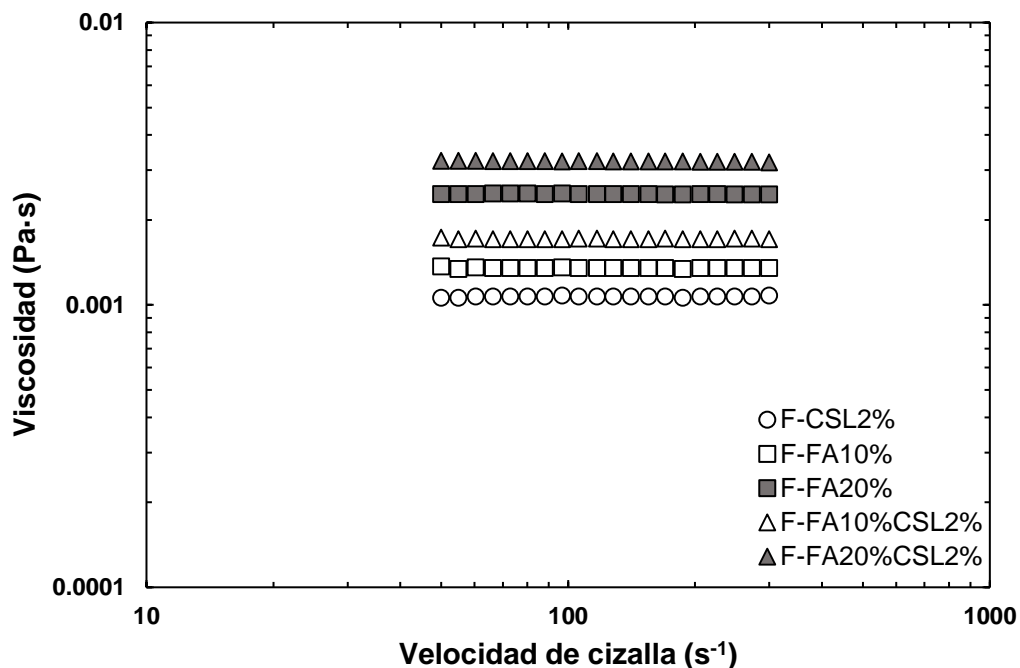


Figura 3.5 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de CSL al 2 %, FA al 10 y 20 %, solos y en mezcla a 25 °C.

En general, se observa que la viscosidad aumentó a medida que se incrementó la concentración de sólidos. En adición, el efecto de la concentración de CSL al 2 % en las mezclas con FA al 10 y 20 %, de igual manera, provoca el aumento de la

viscosidad del sistema correspondiente, comparada con las disoluciones de FA solas.

En el Cuadro 3.4 se presentan los valores promedio de las viscosidades puntuales obtenidos durante el intervalo de velocidad de cizalla de 50 a 300 s⁻¹, para las disoluciones acuosas. Todos los sistemas acuosos presentaron diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$) aumentando este parámetro conforme se incrementó la concentración de sólidos. En donde el CSL al 2 % en medio acuoso exhibió la viscosidad más baja siendo de 1.06×10^{-3} Pa·s, mientras que la disolución de FA % CSL 2 % presentó la viscosidad más alta con un valor de 3.22×10^{-3} Pa·s. Se ha reportado para el CSL (10-25 %, 25 °C) con 34 % de proteínas en medio acuoso, comportamiento newtoniano a velocidades de cizalla superiores a 50 s⁻¹, obteniendo valores de viscosidad entre 1.9×10^{-3} a 6.7×10^{-3} Pa·s (Martínez-Padilla et al., 2015).

Cuadro 3.4 Viscosidad de CSL al 2 %, FA al 10 y 20 % solos, en mezcla y medio acuoso a 25 °C.

| Sistemas acuosos | η (Pa·s) |
|------------------|---------------------------------------------------------|
| CSL 2 % | $1.06 \times 10^{-3} \text{ e} \pm 5.10 \times 10^{-6}$ |
| FA 10 % | $1.35 \times 10^{-3} \text{ d} \pm 6.40 \times 10^{-6}$ |
| FA 20 % | $2.46 \times 10^{-3} \text{ b} \pm 6.86 \times 10^{-6}$ |
| FA 10 % CSL 2 % | $1.71 \times 10^{-3} \text{ c} \pm 5.98 \times 10^{-6}$ |
| FA 20 % CSL 2 % | $3.22 \times 10^{-3} \text{ a} \pm 1.12 \times 10^{-6}$ |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones \pm desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

Los valores de viscosidad de FA en medio acuoso, obtenidos en este estudio son similares a los reportados en estudios previos en el laboratorio, que varían entre 1.6×10^{-3} y 3.8×10^{-2} Pa·s en concentraciones de FA del 1 al 50 % en medio acuoso (Sosa-Herrera et al., 2016). En dicho estudio reportaron que los FA tienden a interaccionar en la interfase con proteínas lácteas, tales como el caseinato de sodio (1 %, 25 °C), en donde el comportamiento al flujo en función de la concentración de FA y las mezclas de FA con caseinato de sodio, son similares a las de azúcares

simples, mostrando una variación con el aumento de la viscosidad de las mezclas, atribuido a la asociación de agregados con estructura esférica en la superficie de las partículas del caseinato.

3.3.2.2 Disoluciones de glucomanano de konjac solo

Para los sistemas acuosos que presentaron comportamiento no-newtoniano, se presentan los resultados obtenidos de viscosidad en función de la velocidad de cizalla y el ajuste al modelo Carreau, siendo este el que mejor representó a los datos experimentales obtenidos en este estudio. Al final de la sección se presenta el resumen de los parámetros reológicos obtenidos del ajuste para los sistemas acuosos correspondientes.

En la Figura 3.6 se presentan las curvas de viscosidad en función de la velocidad de cizalla de los sistemas acuosos de GMK al 0.25 y 0.5 % y, su ajuste al modelo Carreau. La viscosidad aumentó al incrementar la concentración de GMK. En ambas concentraciones se mostró dependencia con la velocidad de cizalla aplicada (5 a 1000 s^{-1}), en donde es posible observar que la viscosidad disminuye conforme aumenta la velocidad de cizalla, lo cual indica un comportamiento fluidificante a la cizalla bien definido, siendo más evidente en la disolución de GMK al 0.5 % a velocidades de cizalla altas.

El comportamiento reológico del GMK se atribuye a las interacciones con el medio, principalmente puentes de hidrógeno, de las cuales pueden ser de dos tipos: intramoleculares (que ayudan a estabilizar las conformaciones) e intermoleculares (crean redes tridimensionales que atrapan e inmovilizan el agua) resultando una función de espesamiento o gelificación (Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016).

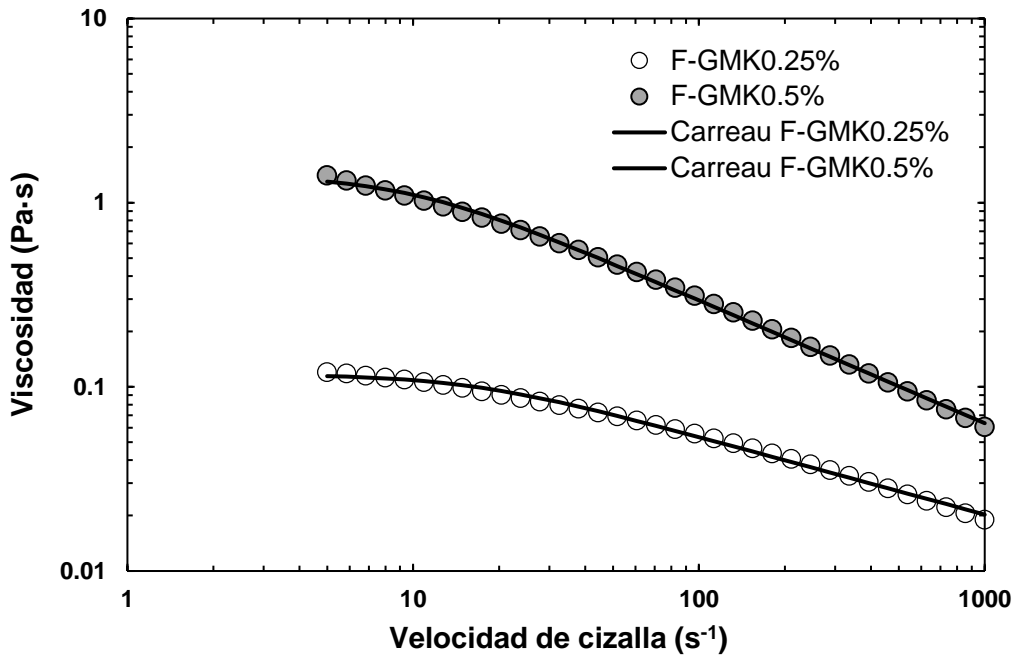


Figura 3.6 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % a 25 °C.

Se ha reportado que el GMK en medio acuoso y por debajo de concentraciones de 0.3 % tiene un comportamiento newtoniano, mientras que a concentraciones más altas pero inferiores al 7 u 8 % muestra características típicas de un material fluidificante, finalmente a concentraciones por arriba del 8 % puede lograrse la formación de geles con características similares a un plástico de Bingham. La diferencia del comportamiento reológico, además del efecto de la concentración, es atribuida de igual manera, al tipo o especie de GMK estudiado (Wang et al., 2014).

Sin embargo, a diferencia de otros polisacáridos fluidificantes a la cizalla, el GMK muestra una viscosidad constante en un amplio intervalo de bajas velocidades de cizalla (0.001 a $1 s^{-1}$, dependiendo de la concentración), denominada η_0 , la cual suele ser superior a la de otros polisacáridos a la misma concentración. Una vez que se alcanza una velocidad de cizalla suficiente para modificar la estructura por cizallamiento, el GMK es altamente fluidificante, es decir, su viscosidad disminuye

fuertemente al incrementar la velocidad de cizalla (Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016).

3.3.2.3 Disoluciones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche en mezcla

En la Figura 3.7 se presentan las curvas de viscosidad en función de la velocidad de cizalla de los sistemas acuosos de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %. Además, se comparan con las curvas de viscosidad de las disoluciones de GMK al 0.25 y 0.5 % solos. En todos los casos se presenta el ajuste al modelo Carreau.

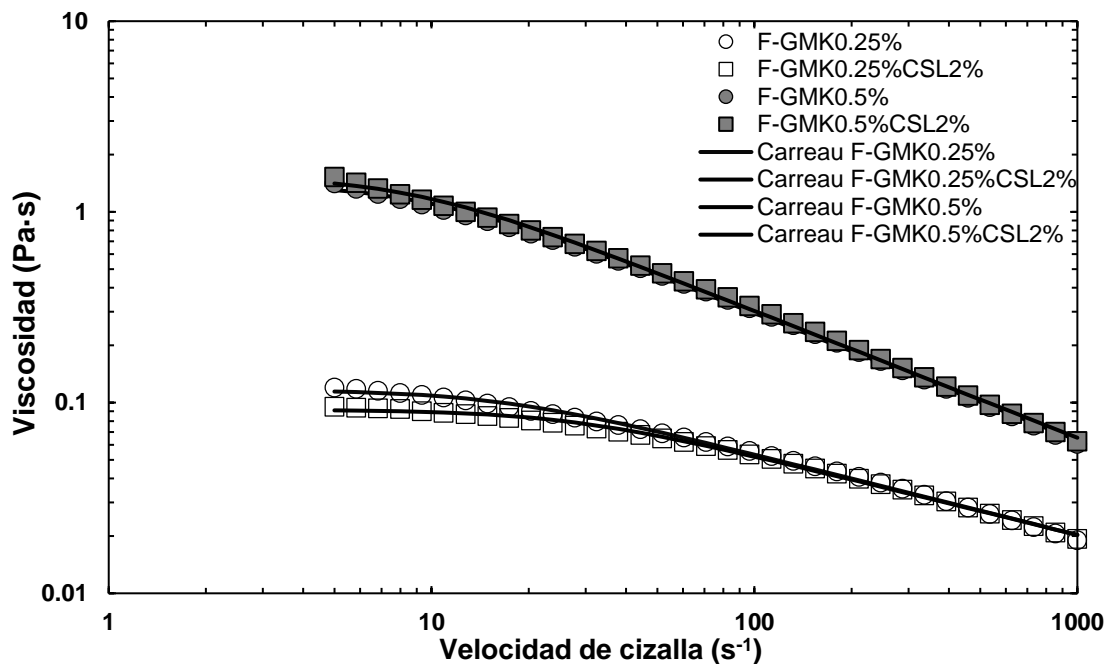


Figura 3.7 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % solos y en mezcla con CSL al 2 % a 25 °C.

En general, las mezclas de GMK-CSL siguen la misma tendencia de GMK solo, respectivamente. Por lo que el efecto de la concentración de CSL en las mezclas, al parecer no interfiere con la asociación de moléculas de GMK, a pesar de encontrarse en menor concentración, confirmando los resultados obtenidos en el espectro mecánico de las muestras. Se observó que ambas mezclas muestran

dependencia con la velocidad de cizalla aplicada, siendo más evidente el comportamiento fluidificante en la disolución de GMK 0.5 % CSL 2 % a velocidades de cizalla altas.

En la disolución de GMK 0.25 % CSL 2 % se observó una ligera disminución de la viscosidad a bajas velocidades de cizalla ($< 100 \text{ s}^{-1}$), con respecto a la disolución de GMK al 0.25 % solo, mientras que la disolución de GMK 0.5 % CSL 2 % presentó un ligero aumento de la viscosidad en todo el intervalo de velocidad de cizalla aplicado, comparado con la disolución de GMK al 0.5 % solo, asociado al aumento de concentración de sólidos en la mezcla.

3.3.2.4 Disoluciones de glucomanano de konjac y fructanos de agave en mezcla

En la Figura 3.8 se presentan las curvas de viscosidad en función de la velocidad de cizalla de los sistemas acuosos de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 %. Además, se comparan con las curvas de viscosidad de las disoluciones de GMK al 0.25 y 0.5 % solos.

Las mezclas de GMK-FA siguen la misma tendencia que las disoluciones acuosas de GMK, respectivamente. Todas las mezclas presentaron dependencia con la velocidad de cizalla aplicada, siendo más evidente el comportamiento fluidificante en las disoluciones que contienen GMK al 0.5 %. En general, la adición de FA en todas las mezclas con GMK incrementó la viscosidad conforme aumentó la concentración de sólidos.

Al agregar FA al 20 % en ambas concentraciones de GMK, se observa un incremento de la viscosidad, principalmente a bajas velocidades de cizalla. Sin embargo, el efecto de la adición de FA al 10 o 20 % fue más evidente en las disoluciones con GMK al 0.25 %.

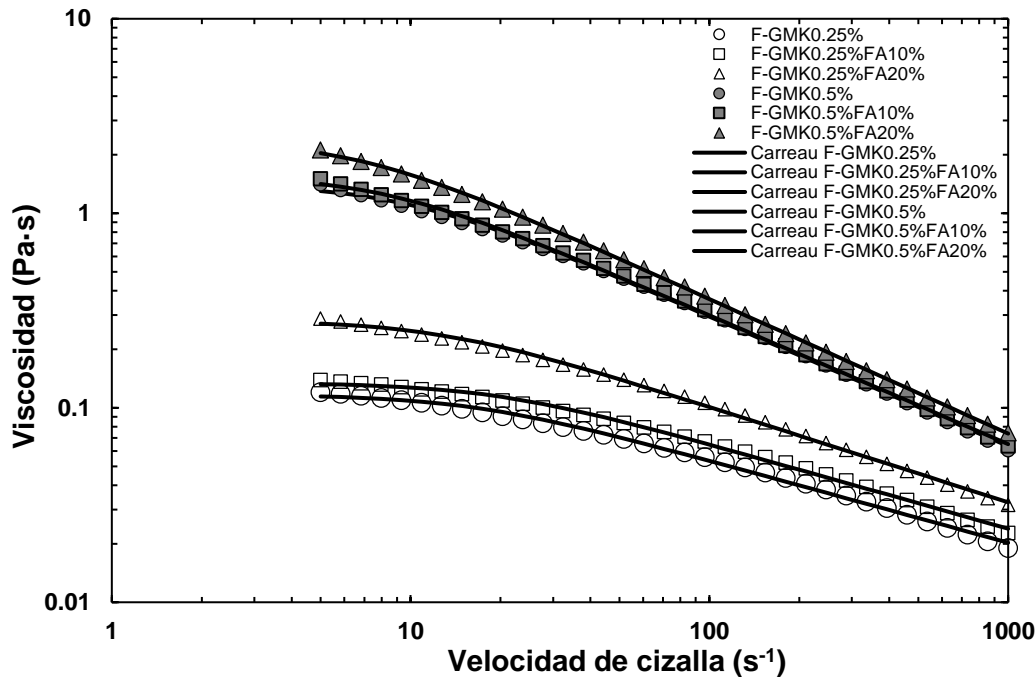


Figura 3.8 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 %, solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % a 25 °C.

La viscosidad obtenida de las mezclas fue superior a la de los polisacáridos por separado. Los valores obtenidos sugieren que las disoluciones probablemente experimentaron un fenómeno de incompatibilidad termodinámica, en donde las fuerzas de repulsión entre GMK y FA provocó que las moléculas de ambos polisacáridos se excluyeran unas a otras, debido a la alta concentración de GMK y FA, generándose la segregación de los polisacáridos. Este comportamiento es similar a lo reportado por Martínez-Padilla et al. (2015) en mezclas de xantana con concentrado de suero de leche.

3.3.2.5 Disoluciones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche en mezcla

En la Figura 3.9 se presentan las curvas de viscosidad en función de la velocidad de cizalla de los sistemas acuosos de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10

y 20 % y CSL al 2 %. Además, se comparan con las curvas de viscosidad de las disoluciones de GMK al 0.25 y 0.5 % solos.

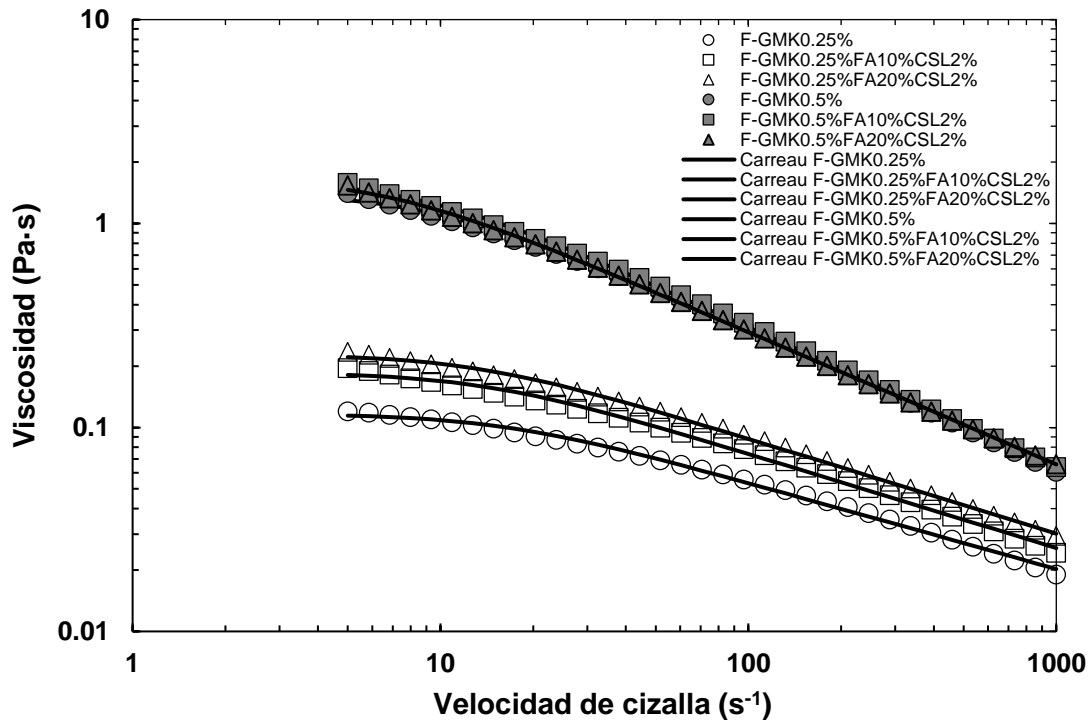


Figura 3.9 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25 °C.

Las mezclas de GMK-FA-CSL siguieron la misma tendencia de GMK solo, respectivamente. Al igual que los sistemas binarios, todas las mezclas presentaron alta dependencia con la velocidad de cizalla aplicada, siendo más evidente el comportamiento fluidificante en las disoluciones que contienen GMK al 0.5 %. La adición de FA y CSL en todas las mezclas con GMK incrementó la viscosidad conforme aumentó la concentración de sólidos. El efecto de la adición de FA y CSL fue más evidente en los sistemas que contienen GMK al 0.25 %, en donde la viscosidad aumentó progresivamente, siendo mayor en la disolución que contiene FA al 20 % y CSL al 2 %.

En las disoluciones que contienen GMK al 0.5 %, la adición de FA y CSL al parecer no interfiere con la asociación de moléculas de GMK, por lo que se observa que los

valores de viscosidad obtenidos de las mezclas se superponen con los valores obtenidos del GMK solo, lo que sugiere el comportamiento predominante del GMK en este nivel de concentración.

En un estudio de geles de GMK al 0.5 % m/v de diferentes grados de acetilación (variedad de origen: japonés, europeo y americano) solos y en mezcla con xantana a diferentes proporciones, mostraron que las disoluciones en mezcla eran más eficientes que la disolución de xantana sola para formar geles. Las variedades japonesas y europeas de GMK interactúan sinérgicamente con xantana, por el contrario, el GMK americano no muestra tal efecto aunado a la formación de disoluciones de menor viscosidad. Se reportaron mayores valores de η_0 de GMK japonés (5.65 Pa·s), respecto al GMK europeo (0.046 Pa·s) (Alvarez-Manceñido et al., 2008).

3.3.2.6 Parámetros reológicos

Debido a que las curvas de viscosidad de las disoluciones que contienen GMK al 0.25 o 0.5 % mostraron un descenso de la viscosidad durante todo el intervalo de velocidad de cizalla aplicado y un comportamiento característico de un material fluidificante, se utilizó el modelo de Carreau el cual describe mediante diferentes parámetros las propiedades de flujo. En el Cuadro 3.5. se muestran los valores de η_∞ , η_0 además de los parámetros λ y p del ajuste de este modelo reológico.

En todos los casos los valores de η_∞ (viscosidad constante que se alcanza a velocidades de cizalla bastante elevadas) se consideró despreciable, ya que los valores de viscosidades obtenidos del ajuste fueron inferiores a la viscosidad del agua. Además, se presentaron valores de coeficiente de determinación entre 0.992 a 0.998, por lo que se considera cercano a la unidad, demostrando que el modelo de Carreau presentó un buen ajuste a los datos experimentales.

Cuadro 3.5. η_0 y parámetros reológicos del modelo Carreau para las disoluciones de GMK al 0.25 y 0.5 %, solos y en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %, a 25 °C.

| Sistema acuoso | η_0 (Pa·s) | λ (s) | p |
|----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| GMK 0.25 % | $0.114^e \pm 2.1 \times 10^{-3}$ | $0.055^a \pm 7.3 \times 10^{-3}$ | $0.215^e \pm 3.6 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.5 % | $1.468^d \pm 5.7 \times 10^{-2}$ | $0.103^a \pm 6.0 \times 10^{-4}$ | $0.335^b \pm 1.5 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.25 % CSL 2 % | $0.091^e \pm 3.1 \times 10^{-2}$ | $0.037^a \pm 6.0 \times 10^{-5}$ | $0.208^f \pm 4.9 \times 10^{-4}$ |
| GMK 0.25 % FA 10 % | $0.133^e \pm 1.8 \times 10^{-3}$ | $0.053^a \pm 1.5 \times 10^{-3}$ | $0.216^e \pm 1.5 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.25 % FA 20 % | $0.283^e \pm 5.6 \times 10^{-3}$ | $0.331^a \pm 4.3 \times 10^{-1}$ | $0.245^c \pm 4.0 \times 10^{-4}$ |
| GMK 0.5 % CSL 2 % | $1.570^d \pm 2.0 \times 10^{-2}$ | $0.115^a \pm 1.2 \times 10^{-3}$ | $0.333^b \pm 5.0 \times 10^{-4}$ |
| GMK 0.5 % FA 10 % | $1.553^d \pm 1.9 \times 10^{-2}$ | $0.117^a \pm 4.1 \times 10^{-3}$ | $0.332^b \pm 1.4 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.5 % FA 20 % | $2.415^b \pm 2.4 \times 10^{-2}$ | $0.153^a \pm 1.0 \times 10^{-3}$ | $0.346^a \pm 1.2 \times 10^{-4}$ |
| GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % | $0.181^e \pm 4.2 \times 10^{-3}$ | $0.070^a \pm 3.0 \times 10^{-3}$ | $0.229^d \pm 1.6 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 % | $0.227^e \pm 1.6 \times 10^{-3}$ | $0.076^a \pm 1.1 \times 10^{-3}$ | $0.232^d \pm 1.0 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % | $2.133^c \pm 1.9 \times 10^{-2}$ | $0.131^a \pm 1.2 \times 10^{-3}$ | $0.348^a \pm 9.8 \times 10^{-4}$ |
| GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % | $3.363^a \pm 3.0 \times 10^{-1}$ | $0.212^a \pm 2.2 \times 10^{-2}$ | $0.348^a \pm 1.0 \times 10^{-3}$ |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones \pm desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

A partir de las disoluciones presentadas por separado, se pudo observar que η_0 , λ y p , fueron aumentando conforme se incrementó la concentración de sólidos en las fases acuosas de GMK, GMK-FA, GMK-CSL y GMK-FA-CSL. Lo cual puede indicar que los sistemas que contienen GMK al 0.5 % presentan una mayor resistencia al flujo, a diferencia de los sistemas que contienen GMK al 0.25 % solo y en mezcla con FA y CSL que presentaron valores de η_0 más bajos.

En los resultados de η_0 y λ de los sistemas acuosos que contienen GMK al 0.25 %, no existió diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$), aunque los valores más bajos de η_0 los presentaron las disoluciones de GMK solo y en mezcla con CSL al 2 %, mientras que los valores más altos los mostraron las fases acuosas de GMK en mezcla únicamente con FA al 20 % y la disolución en mezcla con 20 % de FA y 2 % de CSL. Sin embargo, el valor más alto de la η_0 obtenido para el sistema binario GMK 0.25 % FA 20 %, puede atribuirse a que la mezcla entre ambos polisacáridos provoca cierta competencia por un volumen de hidratación que se llevan a cabo entre las cadenas de GMK y las cadenas de FA.

El exponente adimensional p del modelo de Carreau, presentaron diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$) en los sistemas de GMK solo y en las disoluciones acuosas binarias, mientras que en las disoluciones terciarias en esta concentración de GMK no hubo diferencia estadísticamente significativa, lo cual indica la dependencia del material a tener un comportamiento fluidificante a la cizalla, presenta valores que van desde 0.208 hasta 0.245. Mientras que el tiempo característico λ , que corresponde al recíproco de la velocidad de corte cuando comenzó el comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento (Carreau, 1972), mostraron valores que van desde 0.037 a 0.331 s sin existir diferencia estadísticamente significativa.

En los resultados de η_0 de los sistemas acuosos que contienen GMK al 0.5 % solo y en mezcla con FA al 10 % o CSL al a 2 % no tuvieron diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, al incrementar la concentración de FA al 20 % tanto en

las disoluciones binarias como terciarias, todos los sistemas presentaron diferencia estadísticamente significativa en donde los valores mínimos de η_0 fueron para la disolución de GMK solo y la fase acuosa de GMK en mezcla con FA al 10 %, por otro lado, la η_0 más alta fue para el sistema que contiene CSL al 2 % y la mayor concentración de FA (20 %), como era de esperarse.

Los valores del parámetro p para los sistemas acuosos que contienen GMK al 0.5 % solo y en mezcla con FA al 10 % o CSL al a 2 % no tuvieron diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$), así como los sistemas que contienen el 20 % de FA. Mostraron una ligera variación que van desde 0.332 hasta 0.335, así como, los valores obtenidos del tiempo característico en todas las disoluciones en esta concentración de GMK, no existió diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$), los resultados variaron de 0.103 a 0.212.

Se observó predominio de la reología de las disoluciones acuosas de GMK ya sea al 0.25 o 5 % de las mezclas con FA, CSL y FA-CSL, debido a su gran capacidad de retención de agua y su elevada masa molar, por lo que se sugiere que al ser mezclado con otros polisacáridos como los FA y CSL puede aumentar la funcionalidad del GMK y mejorar las propiedades de estos. Algunos ejemplos de polisacáridos estudiados en mezcla con el GMK son: xantana, goma guar, carragenina, alginato de sodio y carboximetilcelulosa (Davé & McCarthy, 1997). Solamente se ha demostrado una interacción sinergista en mezcla con xantana al 1 % (Liang, Patel, Matia-Merino, Ye & Golding, 2013).

3.4 Comportamiento reológico de emulsiones

En esta sección se muestran por separado los resultados obtenidos de las emulsiones más estables al 30 % de aceite y 70 % de fase acuosa. El presentar los resultados por separado ayuda a comprender el efecto de la concentración de los componentes de la fase continua, así como, sus propiedades viscoelásticas y de flujo. En todos los casos, se comparan los resultados obtenidos de las emulsiones

con su fase acuosa y con la disolución acuosa de GMK sin mezclar, a la concentración que le corresponde.

3.4.1 Propiedades viscoelásticas

3.4.1.1 Emulsión de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche

Se presenta el comportamiento de la emulsión que fue posible caracterizar dentro de la zona viscoelástica lineal. Se trata de la emulsión que contenía en la fase continua la mayor concentración de GMK y FA en mezcla con CSL al 2 %. Las condiciones para determinar la zona viscoelástica lineal y el espectro dinámico de la emulsión fueron idénticas a las condiciones utilizadas para las fases acuosas.

En la Figura 3.10 se presentan los espectros mecánicos de la emulsión de GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % comparado con su sistema acuoso, así como, la disolución de GMK al 0.5 %.

En todos los casos, se observó que los módulos tienen alta dependencia con la velocidad angular aplicada y un comportamiento viscoelástico.

En general, las propiedades viscoelásticas del GMK predominan, incluso al agregar 20 % de FA y 2 % de CSL a la fase continua, así como, al adicionar 30 % de aceite. Se observó que los módulos aumentan conforme se incrementa la concentración de sólidos y la presencia del aceite.

A diferencia de los sistemas acuosos, los módulos G' y G'' fueron muy cercanos, y casi con la misma dependencia con la frecuencia, aun así, presentaron un punto de cruce, desplazado a frecuencias angulares menores (1.1 ± 2.81 rad/s y un tiempo característico de 0.90 s).

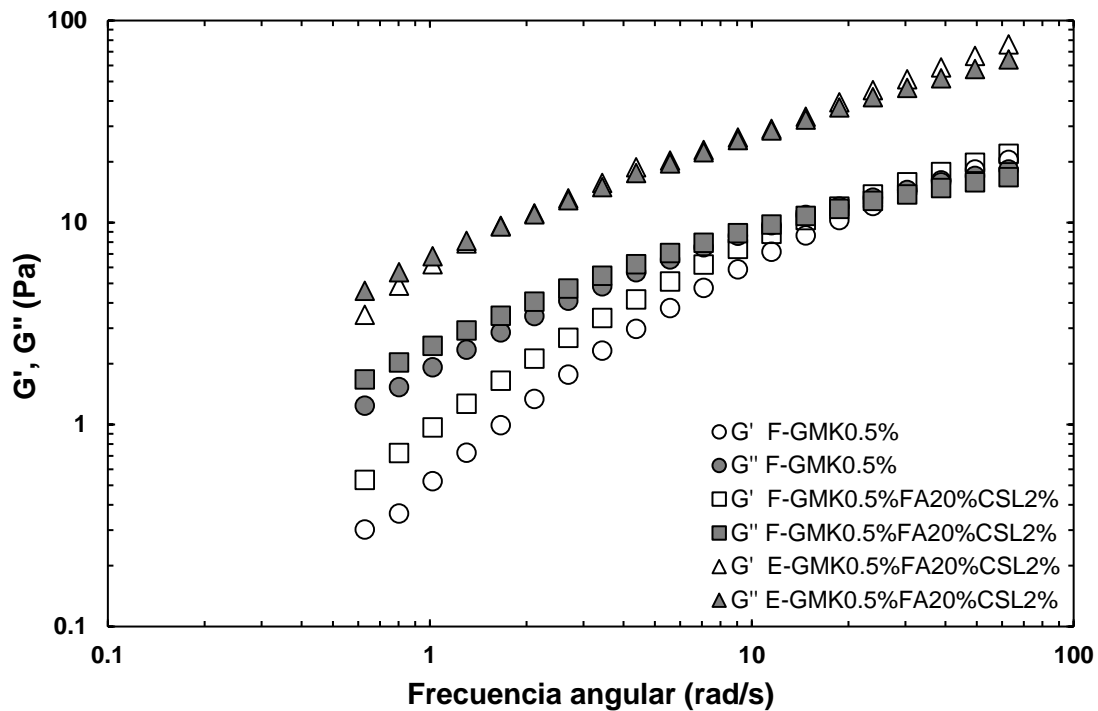


Figura 3.10 Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia angular de la emulsión (E) y la fase acuosa (F) de GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % y la disolución de GMK al 0.5 % a 25 °C.

3.4.2 Propiedades de flujo estacionario

En todas las emulsiones se presentan los resultados obtenidos de viscosidad en función de la velocidad de cizalla y su ajuste al modelo de Carreau, siendo este el que mejor se aproximó a los datos experimentales obtenidos en este estudio.

3.4.2.1 Emulsiones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche

En la Figura 3.11 se presentan las curvas de viscosidad en función de la velocidad de cizalla de emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 % y su ajuste al modelo de Carreau, comparado con sus fases acuosas. Además, se agregan los sistemas acuosos de GMK al 0.25 y 0.5 %.

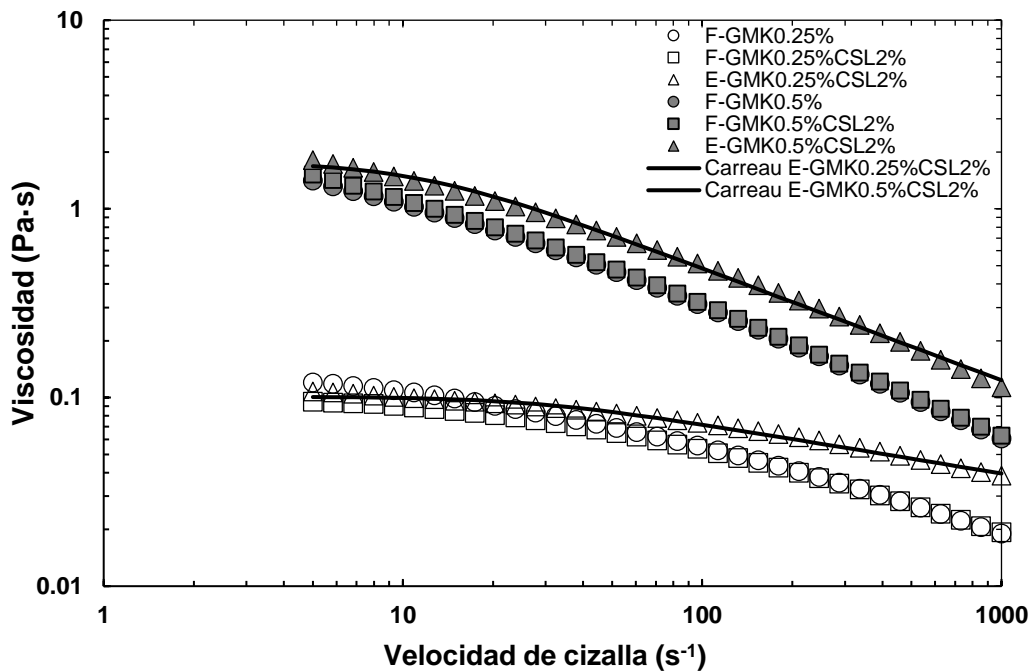


Figura 3.11 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones (E) y sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 % y la disolución de GMK al 0.25 y 0.5 % a 25° C.

En general, las emulsiones de GMK-CSL siguen la misma tendencia que las disoluciones acuosas de GMK, respectivamente. De igual manera a las disoluciones que contenían únicamente GMK, se observa dependencia con la velocidad de cizalla aplicada (5-1000 s⁻¹), mostrando un comportamiento claramente fluidificante a la cizalla, siendo más evidente en las emulsiones que contienen GMK al 0.5 %.

En la emulsión de GMK 0.25 % CSL 2 %, se observa una ligera disminución de la viscosidad a bajas velocidad de cizalla ($\dot{\gamma} < 20 \text{ s}^{-1}$) y un aumento de la viscosidad a altas velocidades de cizalla debido probablemente a la presencia de gotas de aceite que se disgregan con el cizallamiento ($\dot{\gamma} > 60 \text{ s}^{-1}$), comparado con la disolución de GMK al 0.25 %. Por otro lado, el incremento de la viscosidad de la emulsión comparada con la fase acuosa de la mezcla fue mayor durante el cizallamiento, siendo más evidente a velocidades de cizalla superiores a 80 s⁻¹.

La emulsión de GMK 0.5 % CSL 2 % presentó un aumento de viscosidad a todas las velocidades de cizalla aplicadas comparado con su fase acuosa y con la disolución de GMK al 0.5 %, asociada al aumento de concentración de sólidos de la fase continua que compone la emulsión, al contenido del aceite al 30 % y a la formación de agregados de gotas de aceite.

El incremento de la viscosidad de las emulsiones podría ser atribuido a dos factores: el incremento de la viscosidad de la fase acuosa (sistema GMK-CSL) y a la floculación de las gotas mediante el agotamiento inducido por las partículas de CSL no adsorbidas sobre la superficie de las gotas (Lu et al., 2018; McClements & Jafari, 2018).

El análisis reológico de un estudio de emulsiones de GMK (0.05, 0.1, 0.2 %, 25 °C) estabilizadas con proteínas aisladas de suero (2 %, 25 °C) en agua ultra pura, se observó que la viscosidad tanto de la fase acuosa como de la emulsión disminuyó al aumentar la velocidad de cizalla (0-300 s⁻¹, 25 °C), siendo más evidente en las emulsiones a altas velocidades de cizalla ($\dot{\gamma} > 50$ s⁻¹), lo que indica un comportamiento fluidificante por cizallamiento (Lu et al., 2018).

Además, reportaron un aumento proporcional de la viscosidad en los sistemas al incrementar el contenido de GMK, lo que sugiere que el GMK puede aumentar significativamente la viscosidad de la fase continua y de las emulsiones, similar al comportamiento observado en los sistemas de GMK-CSL de este estudio.

3.4.2.2 Emulsiones de glucomanano de konjac y fructanos de agave

En este caso en particular, se trata de emulsiones poco estables debido a la ausencia del concentrado de suero de leche como agente emulsionante. Sin embargo, se presentan los valores obtenidos con el fin de analizar la funcionalidad de los componentes desde la fase acuosa hasta su aplicación en emulsión en este y los demás sistemas analizados. Cabe mencionar que fue posible caracterizar el

comportamiento al flujo por un tiempo determinado de las emulsiones con GMK al 0.5 %, en mezcla con FA. Esto se le atribuye al fuerte carácter hidrofílico y a su mayor capacidad de retención de agua del GMK, que lo caracteriza como un buen agente espesante, asociado a su elevada masa molar (Martínez-Padilla & Casas-Alencáster, 2016).

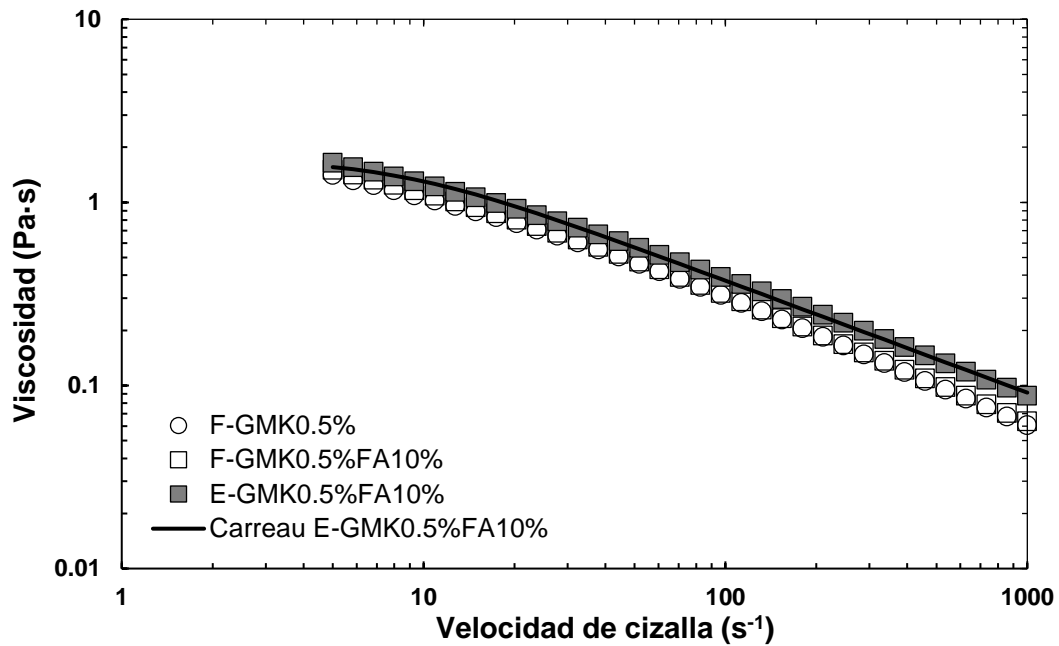
En las Figuras 3.12a y 3.12b se presentan las curvas de viscosidad en función de la velocidad de cizalla de las emulsiones de GMK 0.5 % FA 10 % y GMK 0.5 %FA 20 % y su ajuste al modelo de Carreau. Además, se comparan con las curvas de viscosidad de su fase acuosa, así como, de la disolución de GMK al 0.5 %.

En general, las emulsiones de GMK 0.5 % en mezcla con FA, siguen la misma tendencia de la disolución que contiene únicamente GMK, en donde la viscosidad aumentó proporcionalmente conforme se agregaron los FA. Similar a los sistemas acuosos binarios, pero en menor dependencia con la velocidad de cizalla aplicada, un comportamiento característico de un material fluidificante al cizallamiento.

La diferencia del efecto de la concentración de los FA al 10 o 20 % en la fase continua, y a la presencia del aceite al 30 %, fue más evidente en las emulsiones a velocidades de cizalla altas ($\dot{\gamma} > 150 \text{ s}^{-1}$), comparada con la disolución de GMK al 0.5 % y su respectivo sistema acuoso.

En el caso de los sistemas que contienen el 20 % de FA, fue más notoria la adición de los componentes. Comparada con su fase acuosa, las emulsiones presentaron una disminución de la viscosidad a velocidades de cizalla bajas ($\dot{\gamma} < 15 \text{ s}^{-1}$), esto puede atribuirse a la presencia de agregados de gotas de aceite que se disgregan con el cizallamiento.

(a)



(b)

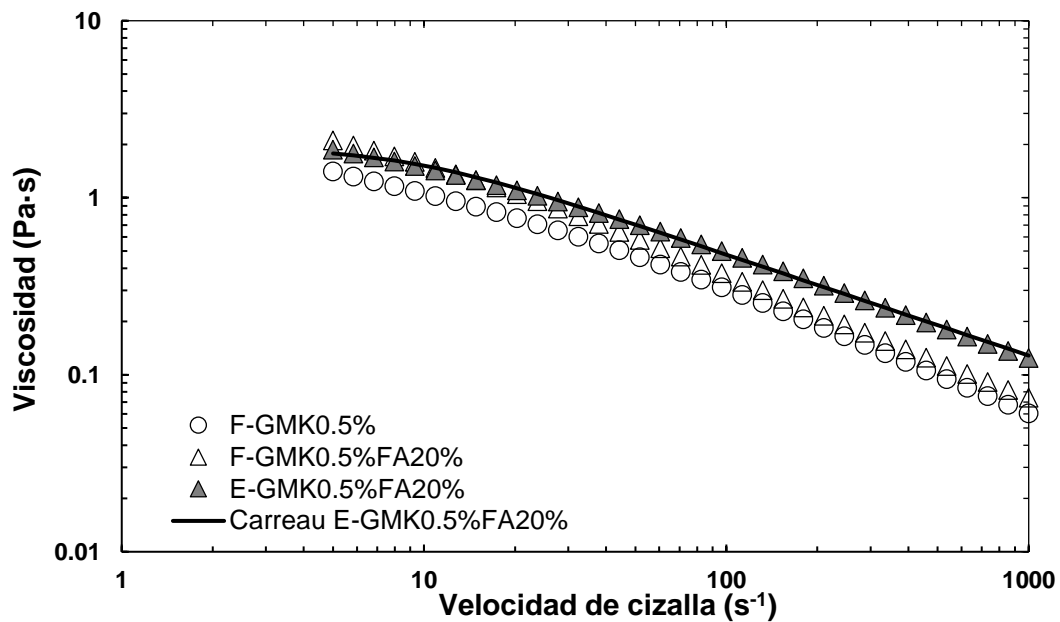


Figura 3.12 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones (E) y sistemas acuosos (F) de GMK 0.5 % FA 10 % (a) y GMK 0.5 % FA 20 % (b) y la disolución de GMK al 0.5 %, a 25° C.

3.4.2.3 Emulsiones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche

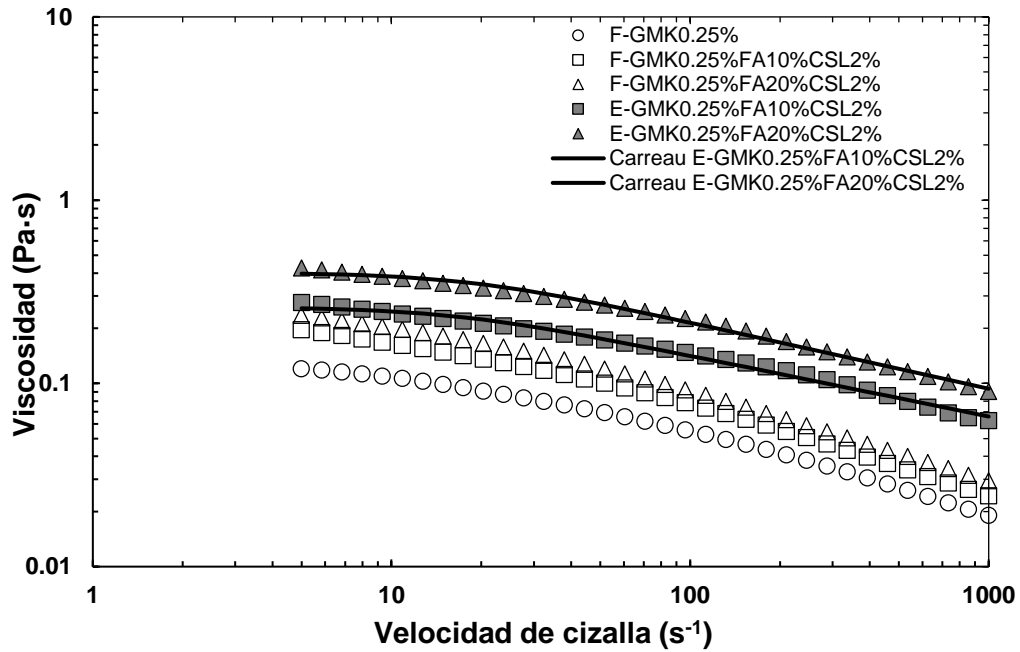
En las Figuras 3.13a y 3.13b se presentan los resultados obtenidos de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de las emulsiones de tres componentes, (GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 %, GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 %, GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % y GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 %) y su ajuste al modelo de Carreau. Al igual que los sistemas binarios, las emulsiones son comparadas con su fase acuosa y con el sistema acuoso de GMK sin mezclar, que le corresponde.

En general, todas las emulsiones siguen la misma tendencia de la disolución del GMK solo, ya sea al 0.25 o al 0.5 %. De igual manera que las emulsiones binarias, se observó dependencia con la velocidad de cizalla aplicada, lo que indica un comportamiento característico de un material fluidificante al cizallamiento.

En los sistemas que contienen GMK al 0.25 % fue más evidente el efecto de la concentración de FA y CSL presentes en la fase continua, por lo que la viscosidad aumentó proporcionalmente a medida que se incrementó la concentración de sólidos, así como, al adicionar el 30 % de aceite, presentaron los valores más altos la emulsión que contiene FA al 20 % y CSL al 2 %, durante todo el tiempo de cizallamiento.

En el caso de los sistemas que contienen GMK al 0.5 %, mostraron menor dependencia con la velocidad de cizalla aplicada, conforme se adicionan los sólidos en la fase continua y el 30 % de aceite. Sin embargo, fue menor el efecto de los componentes, donde al parecer la adición de FA y CSL no interfieren con la asociación de las moléculas de GMK en la fase continua, por lo que el comportamiento al flujo está en función del GMK.

(a)



(b)

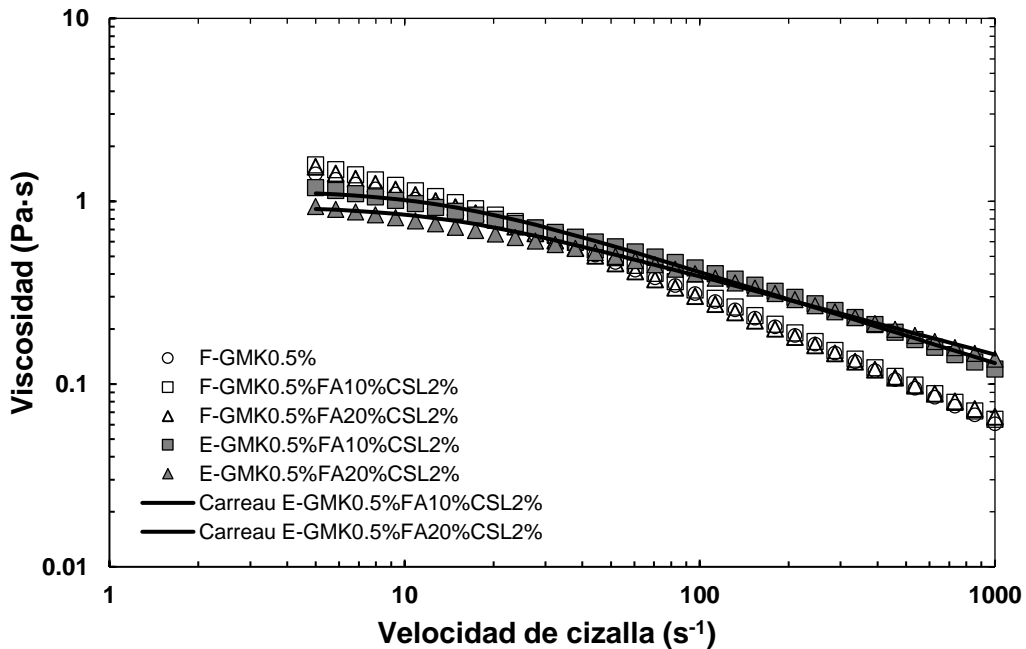


Figura 3.13 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones (E) y sistemas acuosos (F) de GMK al 0.25 % (a) y 0.5 % (b) en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % y fases acuosas de GMK al 0.25 y 0.5 %, a 25 °C.

La diferencia del aumento de la concentración de FA y CSL en la emulsión al 30 % de aceite, se observó una disminución de la viscosidad a bajas velocidades de cizalla, siendo mayor al agregar FA al 20 % ($\dot{\gamma} < 45 \text{ s}^{-1}$), comparada con la disolución que contiene únicamente GMK al 0.5 % y su fase continua.

Esto puede atribuirse a la competencia de los FA y el GMK sobre la superficie de CSL en las gotas de aceite, lo que probablemente pueda interferir con la funcionalidad del GMK como agente espesante, por lo cual se propone que el GMK y los FA interactuaban entre los grupos acetilo ($\text{CH}_3\text{CO}-$) del GMK y los grupos hidroxilo ($-\text{OH}$) de los FA, de tal manera que ambos perdían sus propiedades como agentes espesantes y estabilizantes, pero a la vez proporcionar mayor estabilidad a la emulsión probablemente a la gran cantidad de interacciones electrostáticas entre los tres biopolímeros, debido a la facilidad con la que el CSL se adsorbe en la interfase aceite-agua y el reforzamiento de los FA sobre la superficie de las gotas de aceite.

En emulsiones estables aceite en agua como el queso procesado bajo en grasa (compuesto de proteínas lácteas, grasas, sales emulsionantes y otros ingredientes), determinaron el efecto de la adición de GMK comercial y nativo (0.5 %, 55 °C) sobre las propiedades reológicas del queso con distintas reducciones de grasa (25, 50, 75 y 100 %), con el principal objetivo de evaluar la funcionalidad del GMK como sustituto de grasa. Observaron que dentro de la zona viscoelástica lineal, el módulo de almacenamiento (G') fue mayor al módulo de pérdida (G'') en todas las muestras, durante todo el intervalo de frecuencia aplicada (0.01 a 10 Hz), lo que los autores atribuyen a la formación de estructuras con un comportamiento elástico fuerte (Felix da Silva, Barbosa de Souza Ferreira, Bruschi, Britten & Matumoto-Pintro, 2016), similar a los resultados obtenidos de las propiedades viscoelásticas de la emulsión más estable en este estudio (GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 %), probablemente al aumento de la concentración de GMK en el sistema.

Por otro lado, en un estudio de emulsiones al 10 % de aceite de girasol y 90 % de fase acuosa compuesta por GMK (0.05, 0.1 o 0.2 %, 25 °C) y proteínas aisladas de suero (2 %, 0.01 % azida de sodio como agente antimicrobiano) estudiadas para evaluar el efecto de la estructuración de la fase acuosa para su aplicación en emulsiones aceite en agua, así como, el efecto sobre la liberación de nutrientes bioactivos encapsulados de β -caroteno (0.2 % en la fase oleosa), después de pasar a través de una digestión simulada del tracto gastrointestinal. Reportaron que las propiedades de flujo de las emulsiones estuvieron en función de la concentración de GMK, similar a lo obtenido en las emulsiones en este estudio, ya que reportaron que la viscosidad de las fases acuosas y las emulsiones aumentó conforme se incrementó la concentración de GMK y la adición de 10 % de aceite, respectivamente.

Además, concluyeron que la velocidad de liberación de β -caroteno encapsulado, fue disminuyendo con el contenido creciente de GMK, por lo que proporcionó mejora significativa de la cremosidad y la estabilidad de las emulsiones a la máxima concentración de GMK (0.2 %), por lo que sugieren el desarrollo de emulsiones a partir de ingredientes funcionales en su fase acuosa para posibilitar la liberación controlada de compuestos encapsulados o simplemente con la intención de beneficiar en la medida de lo posible, la funcionalidad de los biopolímeros al ser mezclados con otros polisacáridos (Lu et al., 2018), tal y como se propone en este estudio al mezclar el glucomanano de konjac con los fructanos de agave.

3.4.2.4 Parámetros reológicos

En el Cuadro 3.6 se muestran los parámetros reológicos obtenidos del ajuste al modelo Carreau de las emulsiones más estables. En todos los casos se logró observar que los datos experimentales se ajustaron al modelo de Carreau, lo que indica que la reología de la emulsión depende de la composición de la fase continua (McClements & Jafari, 2018).

Cuadro 3.6. η_0 y parámetros reológicos del modelo Carreau para las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 %, en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % a 25 °C.

| Emulsión | η_0 (Pa·s) | λ (s) | p |
|----------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| GMK 0.25 % CSL 2 % | $0.101^f \pm 1.0 \times 10^{-3}$ | $0.036^e \pm 1.1 \times 10^{-3}$ | $0.130^f \pm 1.0 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.5 % CSL 2 % | $1.735^a \pm 7.1 \times 10^{-2}$ | $0.087^b \pm 1.8 \times 10^{-3}$ | $0.296^a \pm 2.0 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.5 % FA 10 % | $1.806^a \pm 1.1 \times 10^{-1}$ | $0.120^a \pm 2.6 \times 10^{-3}$ | $0.309^a \pm 3.3 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.5 % FA 20 % | $1.888^a \pm 5.9 \times 10^{-2}$ | $0.111^a \pm 5.5 \times 10^{-3}$ | $0.285^b \pm 7.0 \times 10^{-5}$ |
| GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % | $0.276^e \pm 2.2 \times 10^{-2}$ | $0.065^{cd} \pm 9.5 \times 10^{-3}$ | $0.168^e \pm 2.4 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 % | $0.446^d \pm 4.3 \times 10^{-2}$ | $0.061^c \pm 5.4 \times 10^{-3}$ | $0.180^e \pm 3.1 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % | $1.138^b \pm 2.6 \times 10^{-3}$ | $0.075^{bc} \pm 1.3 \times 10^{-3}$ | $0.249^c \pm 2.5 \times 10^{-3}$ |
| GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % | $0.913^c \pm 1.8 \times 10^{-2}$ | $0.075^{bc} \pm 1.4 \times 10^{-3}$ | $0.213^d \pm 1.5 \times 10^{-3}$ |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones \pm desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

Por lo que se propone que el comportamiento reológico está en función del GMK, dado que le confiere mayor viscosidad. Se obtuvieron valores de coeficiente de determinación entre 0.990 y 0.997. De igual manera que en las fases acuosas, el valor de η_∞ se consideró despreciable.

En los resultados de η_0 , todas las emulsiones que contenían GMK al 0.25 %, así como las emulsiones terciarias con GMK al 0.5 % presentaron diferencia estadísticamente significativa, mientras que las emulsiones binarias de GMK al 0.5 % en mezcla con FA y CSL no tuvieron diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$). Los valores de η_0 , λ y p de las emulsiones, aumentaron a medida que la concentración de la fase continua se incrementó a excepción de las emulsiones de tres componentes con GMK al 0.5 %, en donde los valores de η_0 y p no corresponden con la tendencia observada ya que disminuyeron, siendo el valor más bajo de $\eta_0 = 0.913 \pm 1.8 \times 10^{-2}$ Pa·s y $p = 0.213$ para la emulsión de GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 %. En el caso de los valores del tiempo característico de ambas emulsiones, al parecer no presenta un cambio significativo a diferencia de la emulsión de GMK a 0.25 % en mezcla con CSL al 2 % que presentó diferencia estadísticamente significativa con el resto de las emulsiones. Esto puede asociarse a una probable competencia de las moléculas de GMK y de los FA sobre la superficie de la gota de aceite, lo que podría interferir con la funcionalidad del GMK como agente espesante (Dickinson, 2017a).

3.5 Tamaño de gota de las emulsiones

Por su naturaleza, las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, por lo que tener conocimiento del tamaño de gota de estas, permite comprender los cambios o mecanismos por los cuales ocurre la desestabilización durante la producción o el almacenamiento. De igual forma, proporciona información útil para la definición de la estructura, dimensión y organización de los componentes que integran las emulsiones alimenticias (McClements, 1999; McClements & Jafari, 2018).

Con la intención de determinar el papel que juegan los hidrocoloides, se cuantificó el tamaño de gota de las emulsiones elaboradas con mezclas binarias entre ellas, así como las emulsiones con los tres biopolímeros sin y con la aplicación de ultrasonido para evidenciar formación de flóculos.

3.5.1 Emulsiones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche

En la Figura 3.14 se muestra la distribución de tamaño de gota de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %. En general, en las curvas sin la aplicación de ultrasonido se observó una distribución polidispersa distinguiéndose al menos dos diámetros representativos (modas). Al aplicar ultrasonido, en ambas emulsiones ya no se observaron gotas de mayor tamaño de entre 50 a 100 μm , aproximadamente, por lo que se pudo identificar un diámetro representativo (Cuadro 3.7).

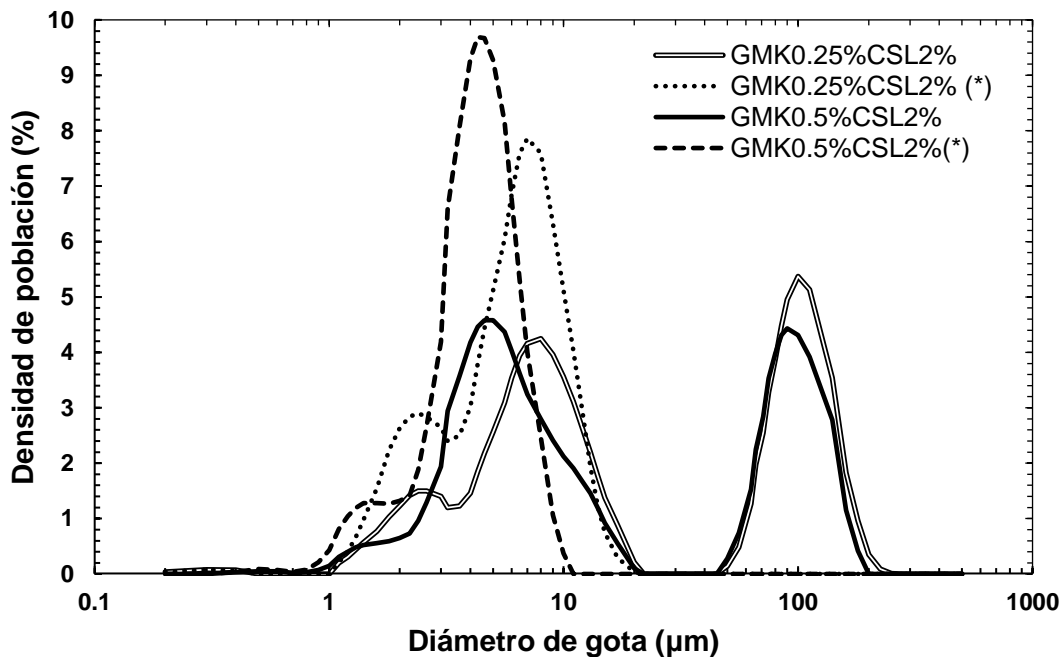


Figura 3.14 Distribución de tamaño de gota de emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido (*), a 25 °C.

Ambas emulsiones presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas ($\alpha = 0.05$), esto puede asociarse a la probable movilidad de las gotas de aceite en un medio de mayor a menor viscosidad. Aunque en menor medida, la distribución de tamaños de las gotas sigue siendo polidispersa de 1 a 20 μm .

Cuadro 3.7 Diámetros representativos de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %, sin y con la aplicación de ultrasonido, a 25 °C.

| Emulsión | Tamaño de gota (μm) | | |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------|-----------------|
| | Sin ultrasonido | | Con ultrasonido |
| | Población 1 | Población 2 | Población 1 |
| GMK 0.25 % CSL 2 % | $8^a \pm 0.0$ | $100^a \pm 0.0$ | $6.7^a \pm 0.3$ |
| GMK 0.5 % CSL 2 % | $5^b \pm 0.0$ | $90^b \pm 0.0$ | $4.3^b \pm 0.0$ |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones \pm desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

Sin ultrasonido, en la emulsión que contenía GMK al 0.25 % se obtuvieron los tamaños de gota más grandes comparada con la emulsión al 0.5 % de GMK, esto puede asociarse a una probable interacción entre los agregados del CSL con las moléculas de GMK. Además, asociando de que el GMK como un polisacárido natural dispersable en agua, puede modificar la viscosidad del medio dependiendo de su concentración y masa molar (Lazaridou, Biliaderis & Izydorczyk, 2003).

El efecto de la disgregación de las gotas por ultrasonido fue más evidente en la emulsión que contenía GMK al 0.5 % ya que se obtuvo una distribución polidispersa en un menor tamaño de gota.

El resultado del comportamiento monomodal de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %, al aplicar ultrasonido, fue similar al reportado en un estudio de emulsiones al 20 % de aceite y proteínas de suero puro al 2 % a temperatura ambiente, en donde obtuvieron para esta emulsión un tamaño de gota de 6.7 μm al aplicar ultrasonido (Akhtar & Dickinson, 2007).

3.5.2 Emulsiones de glucomanano de konjac y fructanos de agave

La distribución del tamaño de gota de las emulsiones sin concentrado de suero de leche como agente emulsionante (GMK 0.5 % FA 10 % y GMK 0.5 % FA 20 %), se

muestran en la Figura 3.15, así como la curva obtenida al aplicar ultrasonido. Cabe mencionar que las emulsiones elaboradas con GMK al 0.25 % con FA al 10 y 20 % fueron poco estables, por lo que no fue posible la determinación del tamaño de la gota en dichos sistemas.

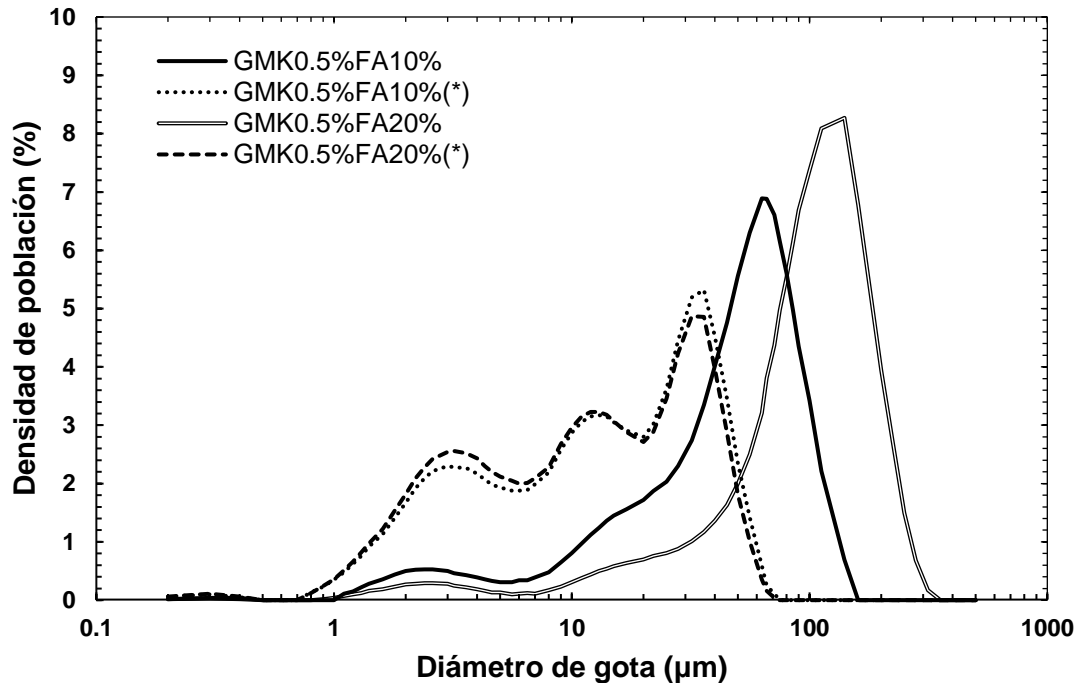


Figura 3.15 Distribución de tamaño de gota de emulsiones de GMK al 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % sin y con la aplicación de ultrasonido (*), a 25 °C.

Sin ultrasonido, en la emulsión que contenía el 10 % de FA se observó una distribución polidispersa entre 1 a 160 µm aproximadamente, con un diámetro representativo identificado de 71 ± 6.9 µm. Al aumentar la concentración de FA al 20 %, la distribución polidispersa de la emulsión se encontró entre 1 a 300 µm, identificando un mayor valor de diámetro representativo de 140 ± 0.0 µm, comparado con la emulsión de GMK al 0.5 % con FA al 10 %.

Con la aplicación de ultrasonido, en ambas emulsiones se observó un aumento de la polidispersidad sin poder definir valores de modas en específico, dentro del intervalo de 0.8 a 80 µm, aproximadamente. Esto puede atribuirse a la floculación de los gotas de aceite (Lam & Nickerson, 2013), ya que probablemente el carácter

apolar de las moléculas de GMK y FA no está bien definido sobre la superficie de la gota de aceite, puesto a que no se adicionó un agente emulsionante en la fase continua como el CSL, por lo que se sugiere que las interacciones intermoleculares entre las moléculas de GMK y FA de la fase continua y el aceite no son lo suficientemente fuertes como para vencer las fuerzas atractivas y repulsivas típicas de las emulsiones alimenticias (Benichou et al., 2002).

3.5.3 Emulsiones de fructanos de agave y concentrado de suero de leche

La distribución de tamaño de gota de la emulsión de FA al 20 % y CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido se presenta en la Figura 3.16. En ambas curvas se observó una distribución polidispersa, cuando no se aplicó ultrasonido los tamaños de gota oscilaron entre 1 y 90 μm , aproximadamente, distinguiéndose un diámetro representativo de 20.7 ± 1.2 . Por otro lado, la aplicación de ultrasonido al parecer favorece la disminución de la polidispersidad acotándose la distribución en un intervalo entre 1 a 50 μm , identificando un diámetro representativo de $18 \pm 1.7 \mu\text{m}$.

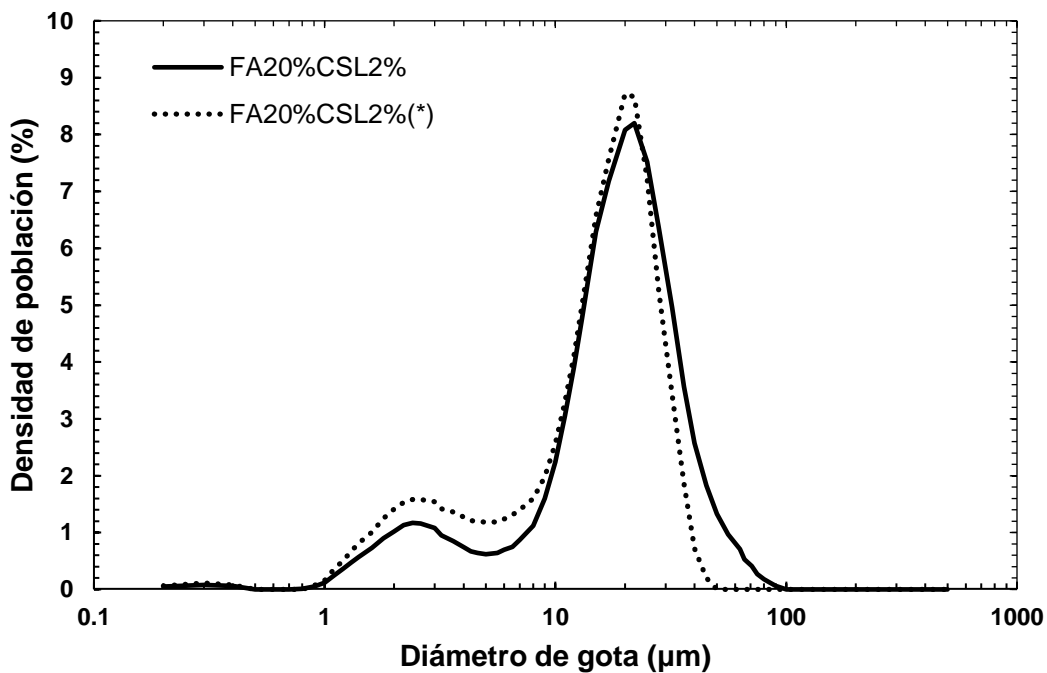


Figura 3.16 Distribución de tamaño de gota de la emulsión de FA al 20 % en mezcla con CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido (*), a 25 °C.

Es importante mencionar que no fue posible caracterizar la emulsión que contenía FA al 10 %, ya que se observó una clara separación de las fases en poco tiempo, esto pudo ser debido a una probable agregación de las gotas, considerando el aumento de la concentración de FA al 20 % y a que tienen una gran cantidad de grupos hidroxilo lo que hace que se propicien con mayor facilidad interacciones tipo puentes de hidrógeno con los grupos polares del CSL adsorbidos en la superficie de las gotas de aceite (Burchard, 2001).

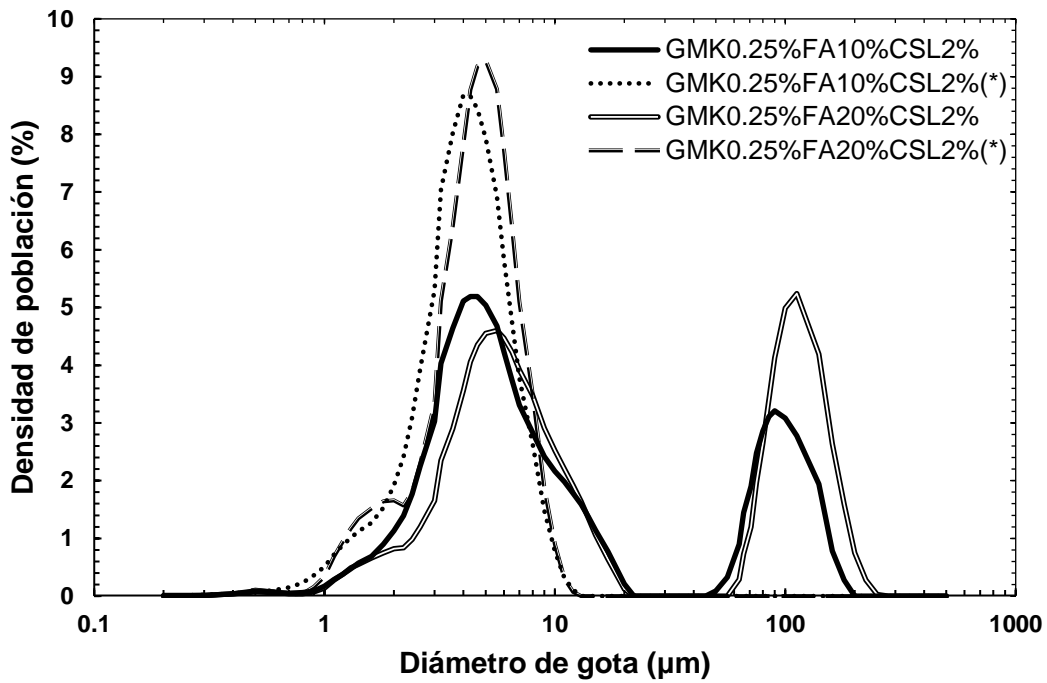
Aunque no hay estudios reportados sobre la aplicación de FA en emulsiones alimenticias, se ha reportado en estudios previos la distribución de tamaño de partícula para disoluciones acuosas de FA (1, 3 y 10 %, 25 °C) solas y en mezcla con caseinato de sodio (1 %, 25 °C) (Sosa-Herrera et al., 2016), en donde observaron que el FA interfiere con la asociación del caseinato por lo que afectó el tamaño de partícula, en donde reportaron una distribución multimodal (tres modas) con tamaños de partícula cercanos a 3.3, 128 y 795 nm para 1, 3 y 10 % FA, respectivamente.

Se puede asociar el comportamiento de dicho estudio a los resultados obtenidos de la emulsión de FA 20 % CSL 2 %, atribuido a que el comportamiento de la emulsión está dado por la composición de su fase continua. Además, se puede concluir que los tamaños de gota obtenidos están en función de las moléculas de CSL adsorbidas en las gotas de aceite.

3.5.4 Emulsiones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche

En la Figura 3.17a y 3.17b se presentan los resultados obtenidos de la distribución de tamaño de gota de las emulsiones de tres componentes (GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 %, GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 %, GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % y GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 %) sin y con la aplicación de ultrasonido.

(a)



(b)

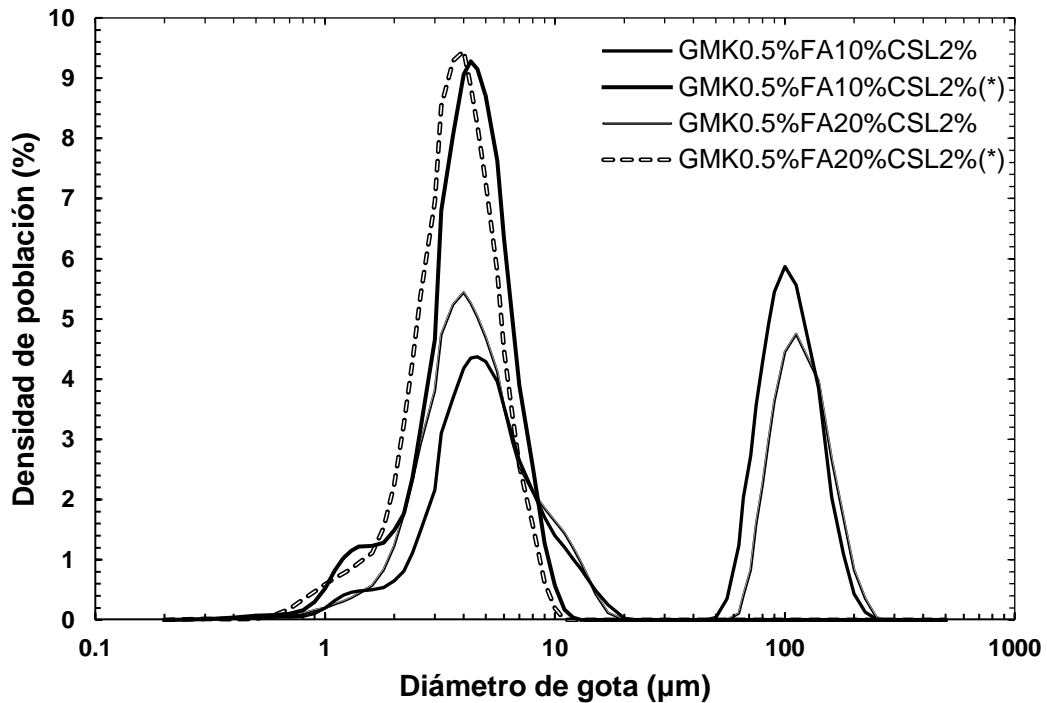


Figura 3.17 Distribución de tamaño de gota de emulsiones de GMK al 0.25 (a) y 0.5 % (b) en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %, sin y con la aplicación de ultrasonido (*), a 25 °C.

En todos los casos fue posible observar una distribución bimodal cuando no se aplicó ultrasonido, esto puede explicarse debido a que las moléculas del GMK probablemente induce a las gotas de aceite a agruparse por efecto de depleción, aunado a que los polisacáridos por su naturaleza , inducen a la floculación en las emulsiones cuando exceden una concentración definida debido a un efecto osmótico (Dickinson, 2009; McClements, 2000).

Al disgregar las gotas con la aplicación de ultrasonido en todas las emulsiones elaboradas el comportamiento cambió a una distribución monomodal lo cual confirma al igual que las emulsiones binarias, la formación de agregados de gotas de aceite.

En el Cuadro 3.8, se presentan los diámetros representativos identificados de la distribución de tamaño de gota de todas las emulsiones de GMK-FA-CSL sin y con la aplicación de ultrasonido.

Cuadro 3.8 Diámetros representativos de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido, a 25 °C.

| Emulsión | Tamaño de gota (µm) | | |
|----------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| | Sin ultrasonido | | Con ultrasonido |
| | Población 1 | Población 2 | Población 1 |
| GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % | 4.3 ^b ± 0.2 | 99 ^b ± 1.7 | 4.3 ^b ± 0.1 |
| GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 % | 5.6 ^a ± 0.0 | 112 ^a ± 0.0 | 5.0 ^a ± 0.0 |
| GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % | 4.6 ^b ± 0.0 | 108 ^{ab} ± 6.9 | 4.3 ^b ± 0.0 |
| GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % | 4.0 ^c ± 0.0 | 112 ^a ± 0.0 | 4.0 ^c ± 0.0 |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

Sin la aplicación de ultrasonido se observó que a menores tamaños de gota y a la misma concentración de FA (10 %) y CSL (2 %) independientemente de la concentración de GMK, no existió diferencia estadísticamente significativa comparada con las emulsiones que contenían FA al 20 %. En los tamaños de gotas

identificadas en las emulsiones en la población 2 sin aplicar ultrasonido, en general no hay diferencia significativa presentándose valores entre 99 y 112 μm . Cuando se aplicó ultrasonido, fue posible observar que el tamaño de gota es igual a diferente concentración de GMK, FA al 10 % y CSL al 2 % sin presentar diferencia estadísticamente significativa.

Sin embargo, las emulsiones con FA al 20 % presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambas emulsiones, en donde se observó que al incrementar la concentración de GMK al 0.5 % se obtuvieron los menores tamaños de gotas, por lo que podría asociarse que influye la funcionalidad del GMK en la fase continua de la emulsión. Además, todas las emulsiones presentan la misma concentración de CSL, por lo que podría proponerse que el tamaño de gota de las emulsiones con tres componentes en su fase continua, cuando se aplica ultrasonido, está dado por las moléculas de CSL adsorbidas en la interfase, lo que indica que la naturaleza anfifílica del CSL es responsable de la adsorción y la capacidad de reorientar a los polisacáridos de la fase continua (Perez et al., 2009b).

Esto puede relacionarse, a que las moléculas de CSL suelen asociarse con la interfase de las gotas de aceite, los FA podrían formar una segunda capa estabilizadora sobre la superficie de las gotas (Dickinson, 2011), ya que se ha reportado para los FA afinidad por interactuar en la interfase con proteínas lácteas en medio acuoso (Sosa-Herrera et al., 2016). Por lo que se sugiere que la funcionalidad del CSL mejoró en presencia de FA y GMK, similar a lo reportado en estudios de sistemas acuosos de CSL al 34 % de proteína (10, 15, 20 y 25 %, 25 °C) en mezcla con xantana (0.05 y 0.15 %, 25 °C) para su aplicación en espumas (Martínez-Padilla et al., 2015).

Por lo tanto, podría proponerse que el espesor de la capa formada sobre la superficie de las gotas entre el CSL y FA, así como, la viscosidad proporcionada por la funcionalidad del GMK en la fase continua y sus interacciones hidrodinámicas con la superficie de las gotas, proporciona los menores tamaños de gota, por lo que la

diferencia de la concentración de los polisacáridos se podría ver reflejada sobre la estabilidad de la emulsión correspondiente (Rodríguez-Patino & Pilosof, 2011).

Con la ecuación 1.2 se calculó la medida de dispersión de los tamaños de las gotas a través del parámetro conocido como dispersión relativa (DR), que representa la anchura de la distribución del tamaño de gota de las emulsiones que contienen GMK, FA y CSL. En el Cuadro 3.9 se presentan los diámetros promedio obtenidos del porcentaje acumulado al 10, 50 y 90 %, así como, el valor de la dispersión relativa de las emulsiones sin y con la aplicación de ultrasonido.

Cuadro 3.9 Diámetros de gotas del porcentaje acumulado al 10, 50 y 90 % y los valores de dispersión relativa (DR) de emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 % sin y con la aplicación de ultrasonido, a 25 °C.

| Tamaño de gota al 10, 50 y 90 % (µm) y el valor de DR (adimensional) | | | | | | | | |
|----------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|------|
| Emulsión | Sin ultrasonido | | | | Con ultrasonido | | | |
| | 10 % | 50 % | 90 % | DR | 10 % | 50 % | 90 % | DR |
| GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % | 2.6 ^b ±0.3 | 8.2 ^a ±5.2 | 116.2 ^a ±18.2 | 13.8 | 2.1 ^a ±0.2 | 4.1 ^{ab} ±0.2 | 7.7 ^a ±1.1 | 1.37 |
| GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 % | 3.2 ^a ±0.2 | 32.3 ^a ±39.3 | 137.0 ^a ±8.5 | 4.1 | 1.9 ^a ±0.0 | 4.3 ^a ±0.0 | 6.9 ^{ab} ±0.1 | 1.2 |
| GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % | 2.7 ^{ab} ±0.2 | 6.6 ^a ±2.0 | 115.4 ^a ±8.2 | 17.0 | 1.9 ^a ±0.0 | 4.0 ^b ±0.0 | 6.5 ^{ab} ±0.2 | 1.2 |
| GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % | 2.5 ^b ±0.0 | 6.0 ^a ±0.1 | 134.4 ^a ±3.8 | 22.0 | 1.9 ^a ±0.0 | 3.5 ^c ±0.0 | 5.8 ^b ±0.0 | 1.1 |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

Los diámetros obtenidos de las emulsiones al 10 % del porcentaje acumulado sin aplicar ultrasonido, presentaron diferencias estadísticamente significativas a diferencia del 50 y 90 %, en donde no existió diferencia estadísticamente significativa con respecto al incremento de la concentración de los componentes. Aunque fue posible observar que las emulsiones mostraron mayor variación de la distribución del tamaño de gota, siendo más evidente en la emulsión que contiene

0.5 % de GMK y 20 % de FA al mostrar el valor DR más alto (22), a diferencia de la emulsión que contenía GMK 0.25 % FA 20 % (4.1).

Con la separación de las gotas de los flóculos formados, mediante la aplicación de ultrasonido se observó diferencia estadísticamente significativa entre los diámetros obtenidos al 50 y 90 % del porcentaje acumulado, en el cual se identificó que la emulsión de menor valor de dispersión relativa fue la que contenía la mayor concentración de GMK (0.5 %) y FA (20 %).

3.6 Estabilidad de emulsiones

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, por lo que la estabilidad está dada por la capacidad que presentan al resistir cambios en sus propiedades en función del tiempo de almacenamiento. Por esta razón, los agentes emulsionantes y estabilizantes están incluidos en la formulación para mejorar su estabilidad a largo plazo (McClements & Jafari, 2018).

Con la intención de establecer el papel que juegan los hidrocoloides, se realizó el seguimiento de la estabilidad por un medio óptico de las emulsiones elaboradas al 30 % de aceite con mezclas binarias de FA-CSL, GMK-FA, GMK-CSL, así como, las emulsiones con los tres biopolímeros, por lo que se presentan los tiempos (el primer valor del tiempo de almacenamiento en donde comienza a desestabilizarse la emulsión) y las cinéticas de desestabilización de las emulsiones correspondientes del proceso de separación observado.

El análisis de estabilidad se hizo a partir del programa de control del instrumento en donde primero se identificaron las zonas en donde se detectó un cambio en la transmisión o retrodispersión de luz. En la mayoría de los casos, se observó un clarificado en la parte inferior del tubo. A partir de esto se obtuvieron las cinéticas de espesor absoluto en modo referencia delimitando la zona de clarificado en los perfiles de transmisión o retrodispersión de luz, dependiendo de la muestra.

En todos los casos se ajustó al modelo matemático lineal, en donde se obtuvieron valores de coeficiente de determinación mayores a 0.9. La analogía de este método sugiere que la pendiente de la ecuación de la recta ($y = mx + b$) corresponde a la velocidad del proceso de desestabilización de las muestras (Mengual et al., 1999).

3.6.1 Emulsiones de fructanos de agave y concentrado de suero de leche

En la Figura 3.18 se presenta el gráfico de la desestabilización observada en transmisión y retrodispersión en modo referencia de la emulsión que contenía FA 20 % CSL 2 %, en función del tiempo de almacenamiento.

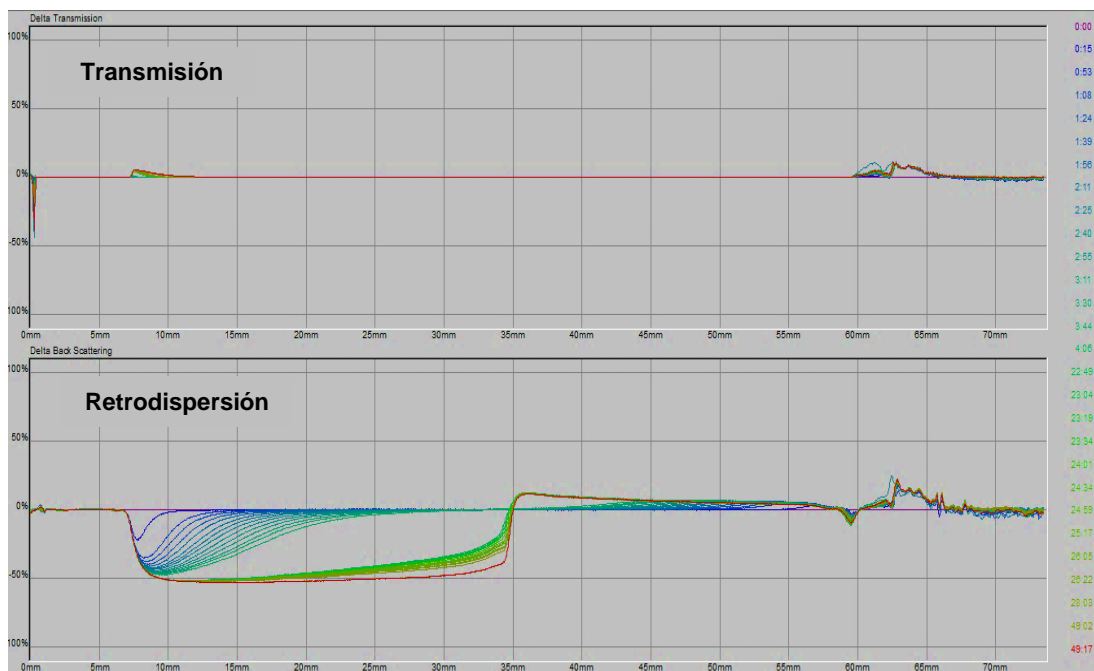


Figura 3.18 Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de FA 20 % CSL 2 %, a 25 °C.

El incremento del ancho y altura del pico negativo en la gráfica de retrodispersión representa el clarificado progresivo en función del tiempo, mientras que la gráfica de transmisión mostró un pequeño pico positivo, el cual indica la migración de las gotas de aceite hacia la superficie de la emulsión, propiciando la separación de las

fases que se pudo ver en el gráfico de retrodispersión a partir de 34 mm de altura del tubo que contenía la muestra, al día siguiente.

El análisis de la estabilidad se realizó en la gráfica de retrodispersión en modo referencia, identificando la zona clarificado en la parte inferior del tubo de vidrio a una altura de 6.5 a 35 mm.

En la Figura 3.19 se representa la gráfica del ajuste lineal en la emulsión FA 20 % CSL 2 %. La velocidad de desestabilización obtenida fue de $0.03 \pm 3.0 \times 10^{-3}$ mm/min y un tiempo pequeño de estabilidad de 53.7 ± 0.8 min. Esto puede atribuirse a la baja viscosidad de la fase continua y al aumento de tamaño o formación de flóculos, observados en las pruebas que definieron su comportamiento al flujo de la disolución correspondiente, y a la distribución de tamaño de gota.

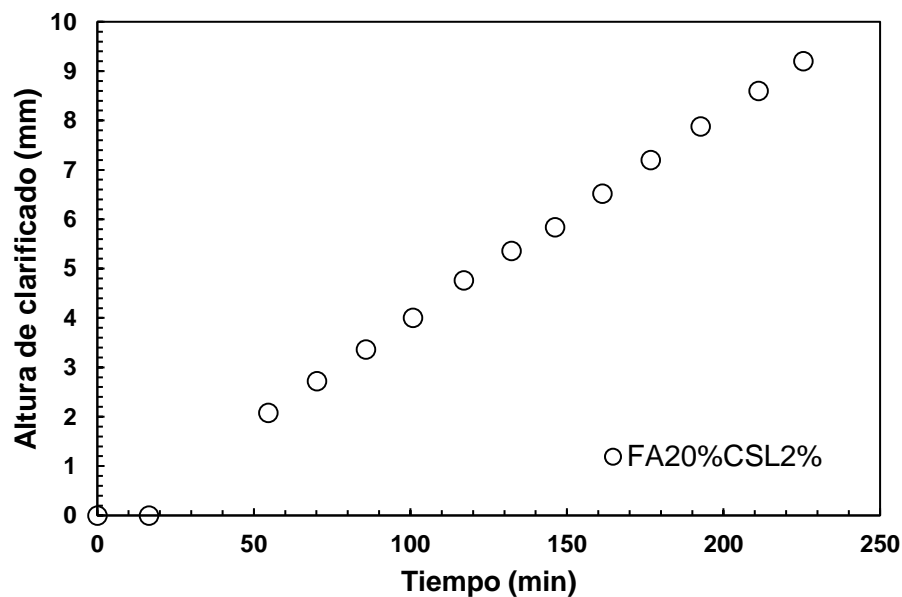


Figura 3.19 Velocidad de desestabilización (clarificado) de la emulsión de FA 20 % CSL 2 %, a 25 °C.

Akhtar y Dickinson (2007), reportaron para una emulsión al 20 % en volumen de aceite de naranja estabilizada con proteínas de suero de leche al 2.5 % fue altamente susceptible a la separación de fases y a la precipitación, por lo que al

añadir maltodextrina al 1.5 % observaron que la emulsión fue uniforme después de un período de almacenamiento a temperatura ambiente de 13 días. Por lo que podría proponerse que el CSL por sí solo no estabiliza lo suficiente a la emulsión y a pesar de la adición de FA al 20 % se puede asumir que el aumento de la concentración de sólidos permitió aumentar la viscosidad del medio y una estabilidad de casi una hora, pero no fue lo suficientemente espesante como para conferirle a las gotas de aceite una fuerte repulsión estérica o electrostática entre ellos (Benichou et al., 2002).

3.6.2 Emulsiones de glucomanano de konjac y concentrado de suero de leche

En los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia de la emulsión que contienen GMK al 0.25 % y CSL al 2 % (Figura 3.20) fue posible observar en la parte inferior del tubo entre 7 a 22 mm un aumento o disminución de la luz transmitida o retrodispersa, lo que también evidenció una clarificación como resultado de la migración de las gotas de aceite hacia la parte superior del tubo.

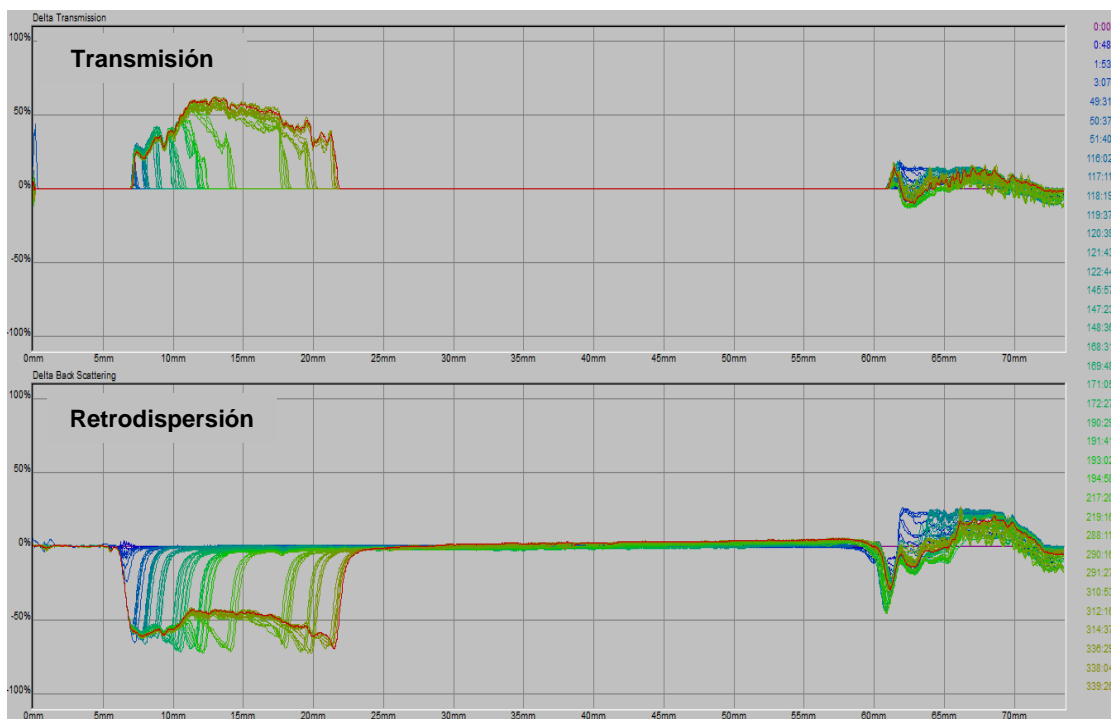


Figura 3.20 Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.25 % CSL 2 %, a 25 °C.

Al igual que en la emulsión que contenía GMK al 0.25 %, fue posible identificar en la emulsión de GMK 0.5 % CSL 2 % un pico negativo en el gráfico de retrodispersión de luz (Figura 3.21) indicando de igual manera, la formación de un clarificado debido a la migración de las gotas de grasa, similar a los reportado en emulsiones aceite en agua estabilizadas con proteínas lácteas (caseinato de sodio, proteínas de leche concentradas y bajas en calcio, concentrado de suero de leche al 80 % y proteínas aisladas de suero, al 8 % y 25 °C) en mezcla con tween 20 (0.5 %, 25 °C) (Liang et al., 2013). Sin embargo, la zona de clarificado fue menor en la emulsión en la concentración de 0.5 % de GMK.

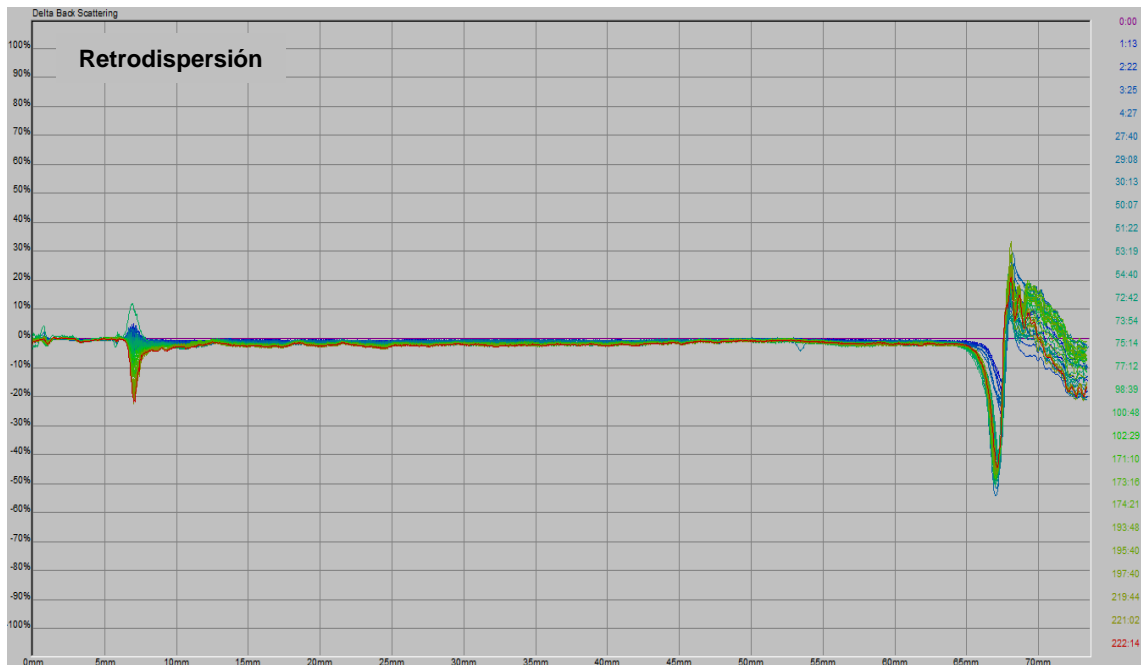


Figura 3.21 Retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % CSL 2 %, a 25 °C.

En la Figura 3.22 se presentan la gráfica del ajuste lineal en las emulsiones de las cinéticas de espesor absoluto seleccionando la zona donde se identificó el clarificado en retrodispersión o transmisión de luz, dependiendo de la muestra obteniendo (Cuadro 3.10).

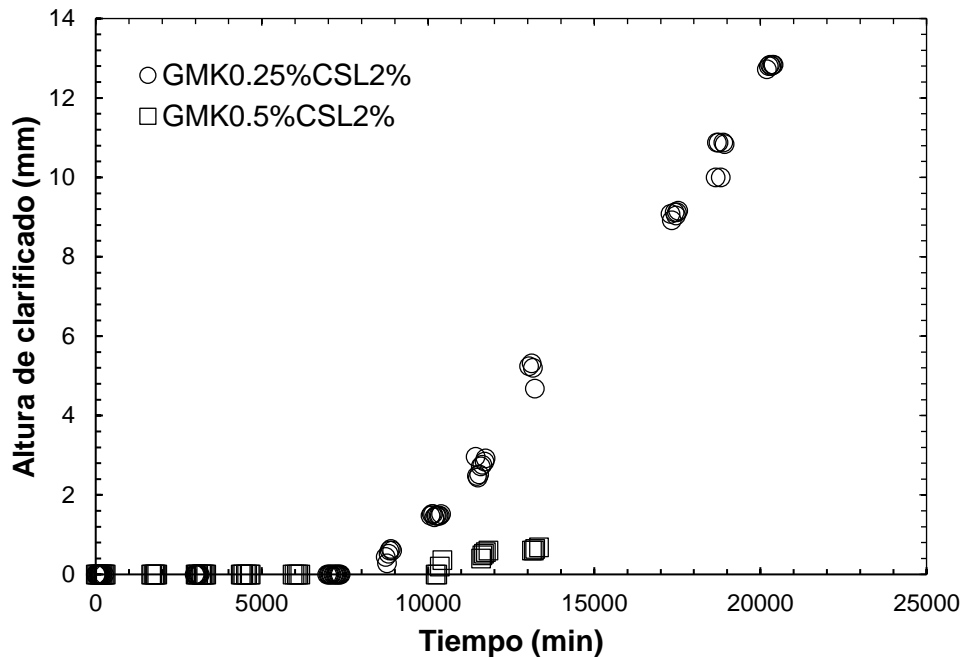


Figura 3.22 Velocidad de desestabilización (clarificado) de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %, a 25 °C.

Cuadro 3.10 Valores de tiempos y cinéticas de desestabilización de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con CSL al 2 %, a 25 °C.

| Emulsión | Zona delimitada (mm) | Tiempo inicio de desestabilización (días) | Velocidad de clarificado (mm/min) |
|-----------------------|------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| GMK 0.25 % CSL 2 % | 6.9 a 22 Trasmisión | 5.2 ^b ± 0.7 | 9.3×10 ⁻⁴ ^a ± 1.5 × 10 ⁻⁴ |
| GMK 0.5 % CSL 2 % | 6.2 a 8.5 Retrodispersión | 7.1 ^a ± 0.0 | 8×10 ⁻⁴ ^a ± 0.0 |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

Los resultados obtenidos para el tiempo de inicio de desestabilización presentaron diferencia estadísticamente significativa a diferencia de los resultados obtenidos de la velocidad de clarificado que no existió diferencia estadísticamente significativas ($\alpha= 0.05$), con respecto al incremento de la concentración de GMK, en donde dicha emulsión presentó dos días más de estabilidad y menor velocidad de clarificado comparada con la emulsión que contenía GMK al 0.25 %, ya que a ese nivel de concentración el GMK (0.5 %) puede atribuirse a la disminución de la agregación de

las gotas, debido al incremento de la viscosidad de la fase acuosa tal y como se indicó en el apartado de reología en condiciones de flujo.

Se podría proponer que las moléculas de GMK situadas en la fase continua y las moléculas de CSL adsorbidas en la superficie de las gotas, probablemente incrementan la repulsión estérica y electrostática entre las gotas de aceite, evitando que se agreguen (McClements & Jafari, 2018), propiciando posiblemente un límite viscoso capaz de retardar el movimiento de las gotas por un tiempo determinado (Xiong et al., 2018).

3.6.3 Emulsiones de glucomanano de konjac y fructanos de agave

El análisis de estabilidad de las emulsiones de GMK al 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % se realizó en el perfil de retrodispersión en modo referencia debido a que no se observó disminución de señal de la transmisión de luz durante el tiempo de observación (2 horas).

A la vista, se identificó un clarificado semi opaco debido a la rápida separación de las fases por la ausencia de un agente emulsionante en la formulación. En la Figura 3.23 y 3.24 se muestran los gráficos de retrodispersión de luz obtenidos de las emulsiones, respectivamente.

En la Figura 3.23 se muestra el seguimiento de estabilidad en función del tiempo a lo largo del tubo, donde igualmente se observó un clarificado en la zona baja del tubo en una altura de 6 a 15 mm, aproximadamente, debido a la formación de agregados en la zona de 20 a 50 mm.

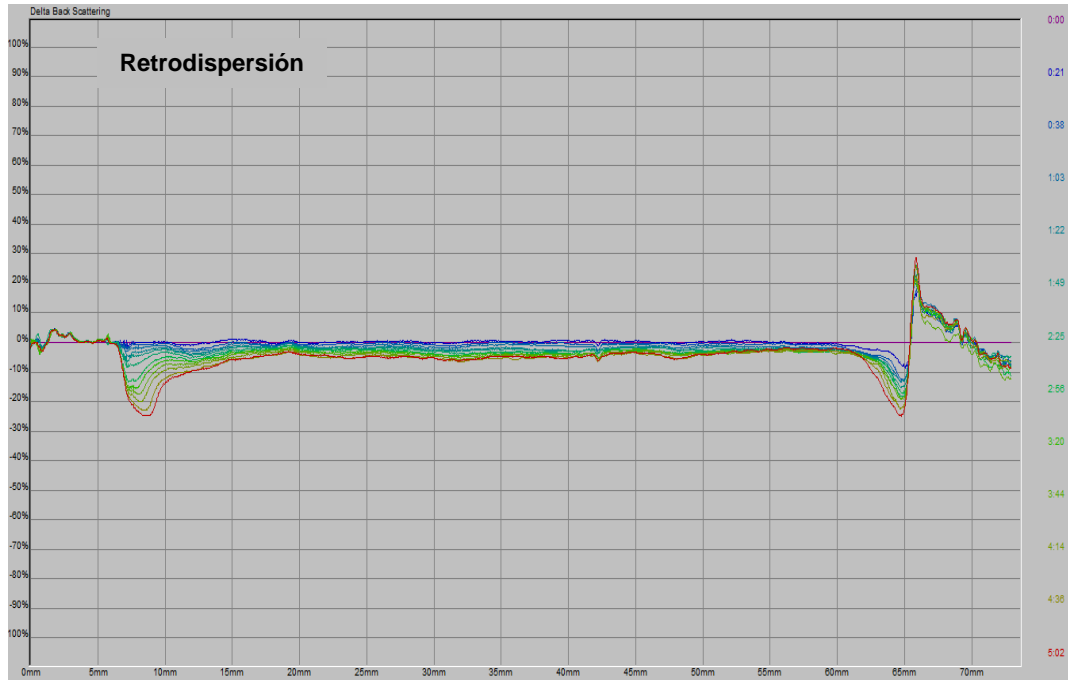


Figura 3.23 Retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % FA 10 %, a 25 °C.

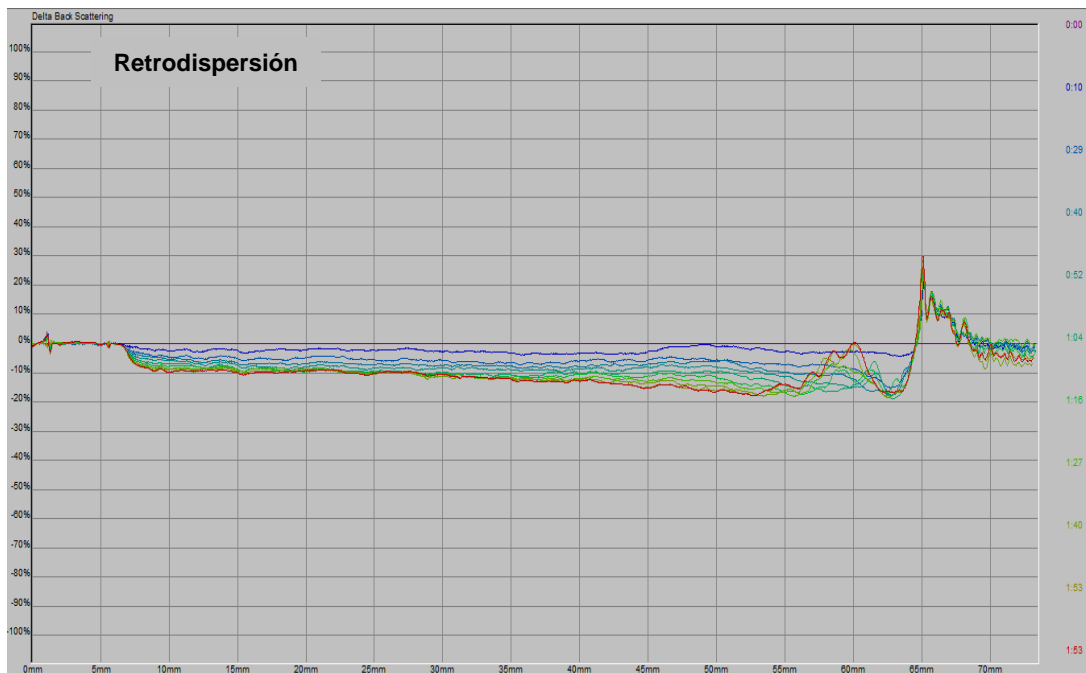


Figura 3.24 Retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % FA 20 %, a 25 °C.

A diferencia de la emulsión que contenía la misma concentración de GMK y un aumento de concentración de FA al 20 % se detectó un incremento del tamaño de las gotas. Esto se representa en la Figura 3.24, ya que visualmente se observó la separación de las fases, comprobando en los resultados obtenidos del perfil de retrodispersión un aumento proporcional de las gotas, evidenciando una zona de separación de fases después de 60 minutos en observación.

Por lo que se sugiere que las partículas del GMK y los FA inducen a la floculación de las gotas cuando exceden una concentración en particular debido a un efecto osmótico, ya que los dos polisacáridos podrían estar compitiendo por el agua, por lo que al aumentar la concentración de FA al 20 % se favoreció la agregación de las gotas debido a una incompatibilidad termodinámica y, sobre todo, a la ausencia de un agente emulsionante en la formulación.

En la Figura 3.25 se muestran las gráficas del ajuste lineal en las emulsiones, de las cuales se obtuvieron las velocidades a la cual ocurre la desestabilización en cada sistema.

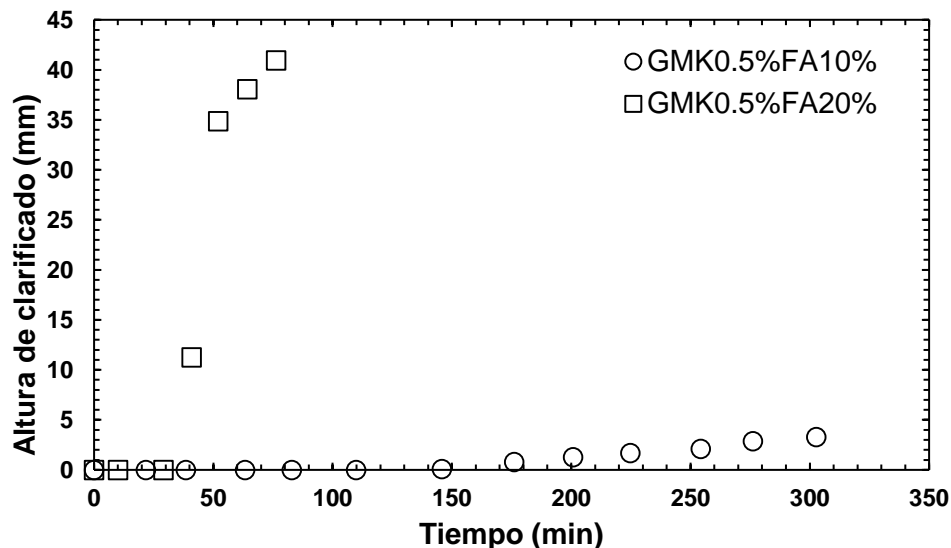


Figura 3.25 Velocidad de desestabilización de las emulsiones de GMK al 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 %, a 25 °C.

En el Cuadro 3.11 se resumen los tiempos de inicio de desestabilización y la zona delimitada del tubo donde se llevó a cabo el análisis de estabilidad, en donde el tiempo de inicio de desestabilización de las emulsiones presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas, pero sin existir diferencia estadísticamente significativa en la velocidad de desestabilización ($\alpha = 0.05$).

Cuadro 3.11 Valores de tiempos y cinéticas de desestabilización de las emulsiones de GMK al 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 %, a 25 °C.

| Emulsión | Zona delimitada (mm) | Tiempo inicio de desestabilización (min) | Velocidad de desestabilización (mm/min) |
|----------------------|----------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|
| GMK 0.5 % FA 10 % | 6.3 a 14 | 145.8 ^a ± 0.16 | 0.02 ^a ± 6.9 × 10 ⁻³ |
| GMK 0.5 % FA 20 % | 6.8 a 50 | 40.8 ^b ± 0.05 | 0.03 ^a ± 0.0 |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

El hecho de que no se haya agregado un agente emulsionante en la fase continua, tuvo como propósito evaluar la funcionalidad de los polisacáridos como agentes estabilizantes en presencia del aceite. Se puede atribuir que el GMK a este nivel de concentración y por su gran capacidad de retención de agua (Martínez-Padilla y Casas-Alencáster, 2016) propició un tiempo de estabilidad a la emulsión debido al aumento de la viscosidad tanto de la fase continua como de la emulsión comparada con la emulsión que contenía FA al 10 %, tal y como se observó en la reología de dicho sistema, presentado una diferencia de 105 días de estabilidad entre cada emulsión

En efecto, la adición de FA al 20 % en la fase continua, propició una menor estabilidad comparada con la emulsión que contiene FA al 10 %, por lo que se confirma con el aumento de tamaño de las gotas con una distribución polidispersa observada en el análisis de distribución de tamaño de gota. Por lo que se propone que sin la presencia de un agente emulsionante como el CSL, las gotas tienden a flocular cuando las interacciones atractivas por efecto de depleción entre las

moléculas del GMK y los FA situados en la fase continua y las gotas del aceite superan las interacciones repulsivas por la probable combinación de un efecto estérico y electrostático actuando sobre las gotas de aceite de la emulsión (Mun, Decker & McClements, 2006).

3.6.4 Emulsiones de glucomanano de konjac, fructanos de agave y concentrado de suero de leche

Los análisis de estabilidad de las emulsiones de tres componentes se presentan en las Figuras 3.26, 3.27, 3.28 y 3.29 respectivamente, en la cual se muestran los perfiles de transmisión o retrodispersión de la luz en función del tiempo, dependiendo de la muestra. En general, se observó un comportamiento similar entre las cuatro emulsiones en donde se identificó como en la mayoría de las emulsiones un clarificado en la zona baja del tubo, además de que fueron las emulsiones más estables analizadas en este estudio, presentando un tiempo de estabilidad distinto, de acuerdo con el incremento de la concentración de los componentes.

En la Figura 3.26 se muestran los gráficos de transmisión y retrodispersión de luz de la emulsión de GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % en función del tiempo. En una zona aproximada de 6 a 20 mm de la parte baja del tubo, se detectó un clarificado en ambos perfiles, sin embargo, la migración de las gotas fue lenta, al no observarse un cambio en la retrodispersión de luz en un intervalo de altura entre 25 y 60 mm. En la parte superior del tubo se observó la formación de un pequeño cremado (60 a 75 mm) que pudo ser analizado en el perfil de retrodispersión de la emulsión.

En la Figura 3.27 se presentan los resultados obtenidos del perfil de retrodispersión de luz de la emulsión que contiene GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 %. De igual forma, se presentó la formación de pequeño clarificado en la zona inferior del tubo durante el tiempo de observación, el cual evidencia una lenta migración de las gotas hacia la superficie de la muestra.

El seguimiento de estabilidad para las emulsiones de GMK al 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %, se muestran en las Figuras 3.28 y 3.29, las cuales representan los gráficos de transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia.

En las dos emulsiones se observó un clarificado en la parte baja del tubo, siendo menos pronunciada la anchura del pico positivo en transmisión y el pico negativo en retrodispersión de la emulsión que contiene la mayor concentración de FA (20 %). En el perfil de retrodispersión de ambas emulsiones también se detectó una lenta migración de las gotas de aceite durante el tiempo de observación. Además, a simple vista, se observó una lenta formación del clarificado.

En todos los casos se puede atribuir la estabilidad de las emulsiones al aumento progresivo de la viscosidad de la fase continua al incrementarse la concentración de sólidos y a los menores tamaños de gota detectados en los análisis anteriores.

El efecto de la concentración del GMK y los FA sobre las gotas rodeadas por partículas de CSL debido a su carácter anfifílico, podría estar relacionado con las interacciones atractivas y repulsivas sobre las gotas de aceite.

El análisis de estabilidad de las emulsiones está en función de la concentración del GMK, ya que se demostró mediante el comportamiento reológico que el control lo ejerce el glucomanano de konjac tanto en las disoluciones como en las emulsiones que lo contienen, similar a lo reportado en sistemas acuosos de xantana en mezcla con yema de huevo deshidratada por aspersion, en donde observaron que la adición de la proteína no modificó significativamente el comportamiento reológico de las mezclas en medio acuoso (Muñoz, Hudson, Vélez, Alfaro & Ferguson, 2001).

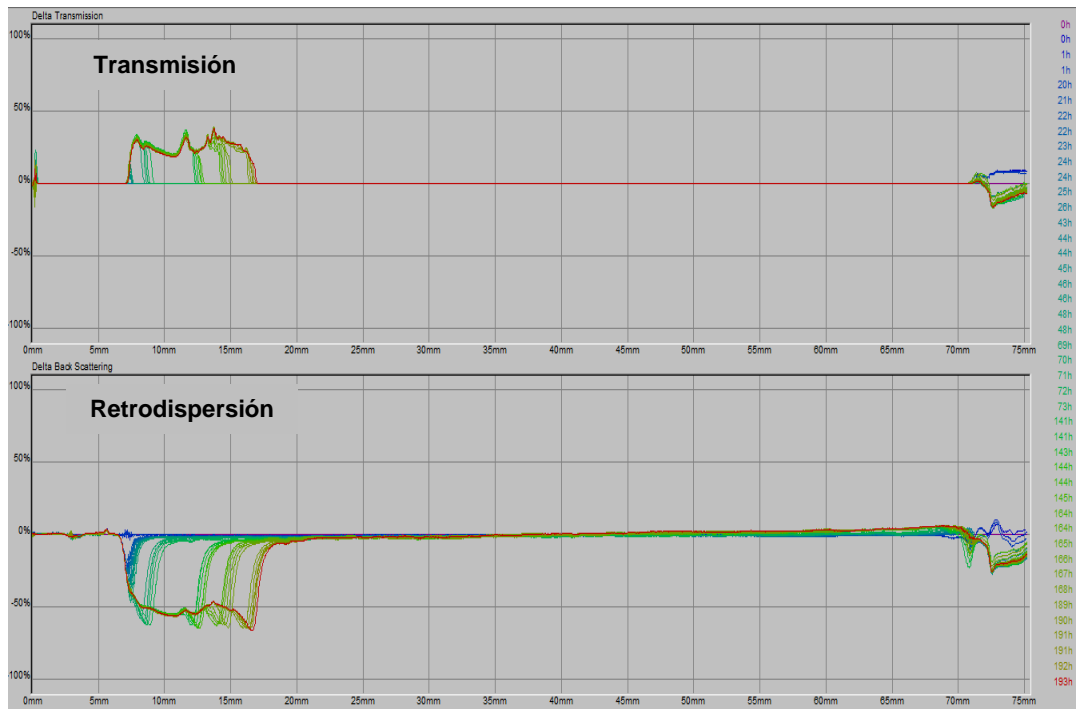


Figura 3.26 Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 %, a 25 °C.

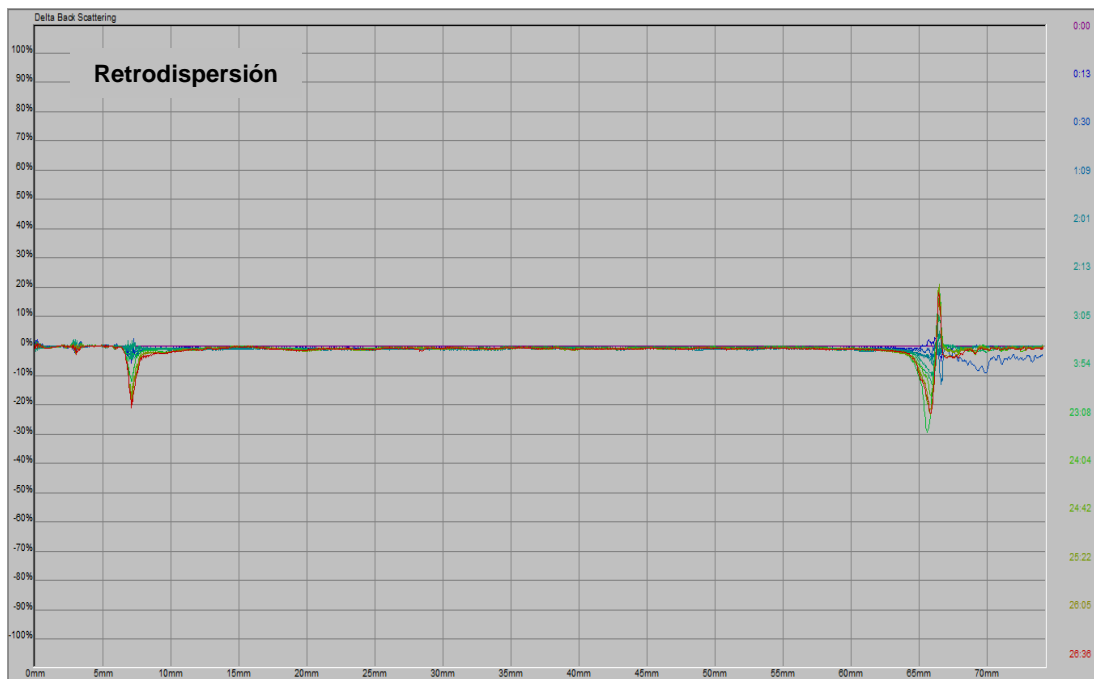


Figura 3.27 Retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 %, a 25 °C.

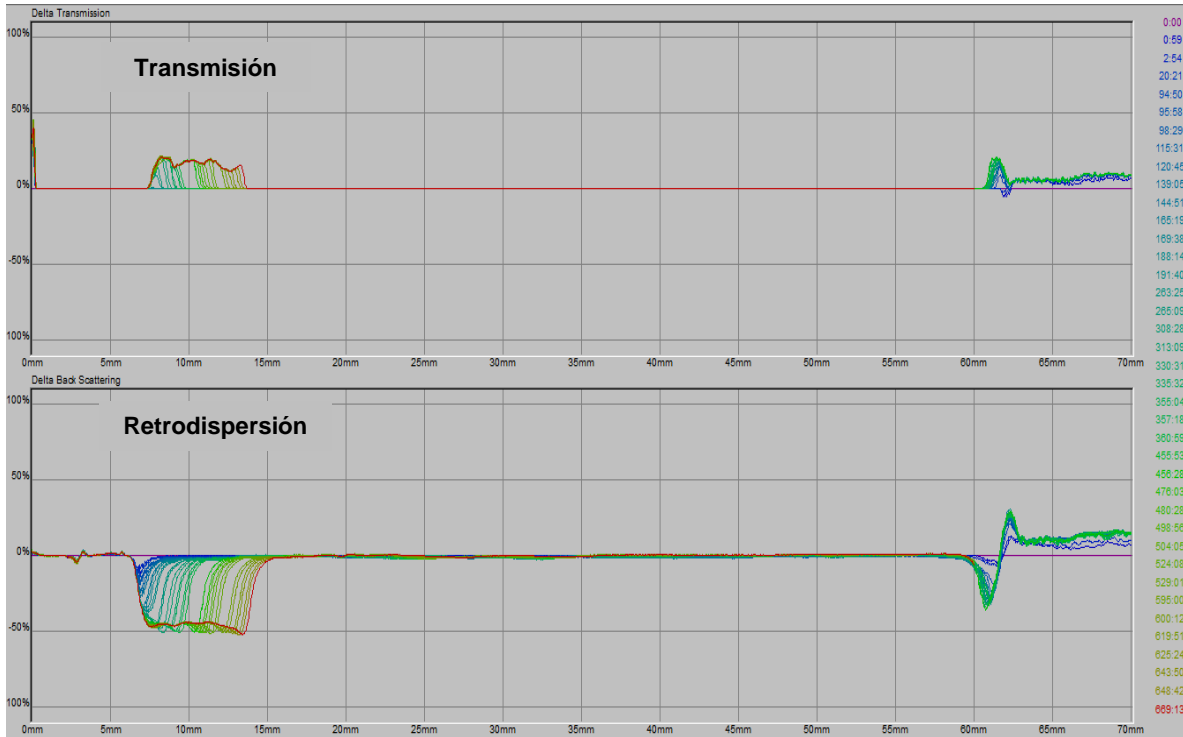


Figura 3.28 Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 %, a 25 °C.

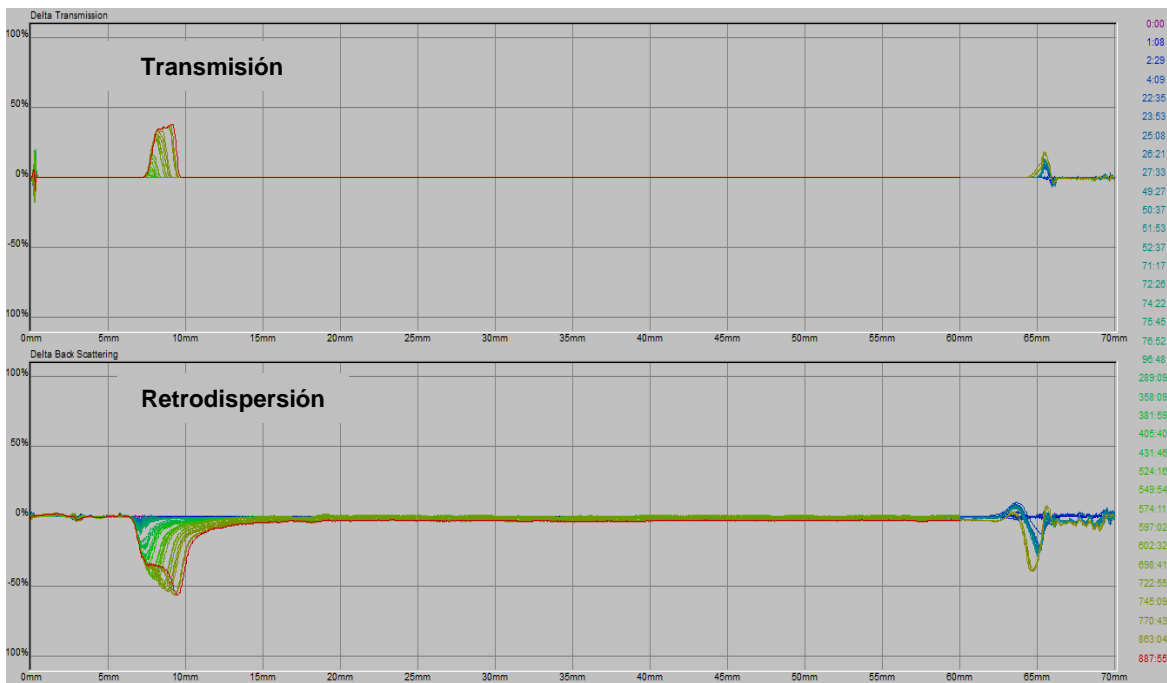


Figura 3.29 Transmisión y retrodispersión de luz en modo referencia en función del tiempo de almacenamiento de la emulsión de GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 %, a 25 °C.

En la Figura 3.30 se muestran las gráficas del ajuste lineal de las emulsiones en la zona de clarificado, en donde el valor de la pendiente está relacionado con la velocidad a la que ocurre la desestabilización de las muestras.

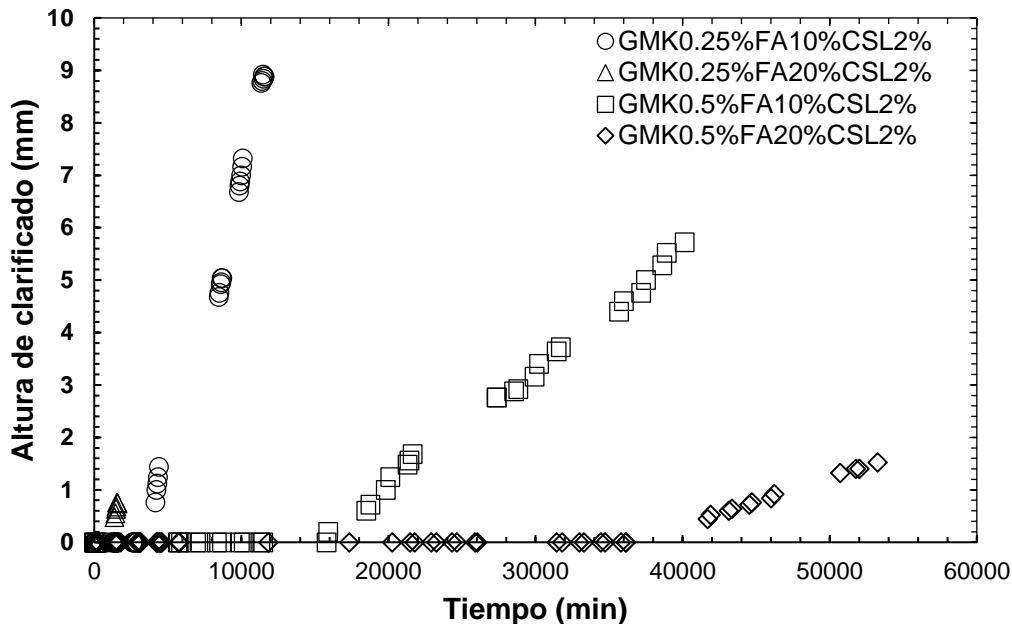


Figura 3.30 Velocidad de desestabilización (clarificado) de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %, a 25 °C.

En el Cuadro 3.12 se resumen los resultados obtenidos de las cinéticas, los tiempos de desestabilización, así como, la altura delimitada de donde se identificó el clarificado en las emulsiones.

El tiempo de inicio de desestabilización de las emulsiones que contenían GMK al 0.25 % no mostraron diferencia estadísticamente significativa ($\alpha = 0.05$), en donde exhibieron el menor tiempo de estabilidad asociado con la menor viscosidad de la fase continua y su aplicación en emulsión, donde presentaron inestabilidad el mismo día de análisis al adicionar 20 % de FA y casi al tercer día de observación para la emulsión con FA al 10 % en donde se presentó diferencia estadísticamente significativa en la velocidad de clarificado identificada entre ellas.

Cuadro 3.12 Valores de tiempos y cinéticas de desestabilización de las emulsiones de GMK al 0.25 y 0.5 % en mezcla con FA al 10 y 20 % y CSL al 2 %, a 25 °C.

| Emulsión | Zona delimitada (mm) | Tiempo inicio de desestabilización (días) | Velocidad de clarificado (mm/min) |
|----------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| GMK 0.25 % FA 10 % CSL 2 % | 7.1 a 17 Transmisión | $2.9^c \pm 0.02$ | $1.1 \times 10^{-3} \text{ } ^b \pm 0.0$ |
| GMK 0.25 % FA 20 % CSL 2 % | 6 a 9 Retrodispersión | $0.9^c \pm 7.6 \times 10^{-3}$ | $1.3 \times 10^{-3} \text{ } ^a \pm 5.7 \times 10^{-5}$ |
| GMK 0.5 % FA 10 % CSL 2 % | 7 a 13.5 Transmisión | $12.4^b \pm 1.9$ | $2 \times 10^{-4} \text{ } ^c \pm 0.0$ |
| GMK 0.5 % FA 20 % CSL 2 % | 7 a 9 Transmisión | $26.4^a \pm 3.5$ | $5 \times 10^{-5} \text{ } ^d \pm 5.6 \times 10^{-5}$ |

Cada valor representa el promedio de tres repeticiones \pm desviación estándar.

*Superíndices diferentes, existe diferencia estadísticamente significativa.

Por lo que se podría proponer que el GMK a este nivel de concentración (0.25 %) y en mezcla con FA inducen a una incompatibilidad termodinámica debido a las interacciones repulsivas y electrostáticas que se producen por efecto de exclusión de volumen, el cual consiste en que el volumen ocupado en este caso por el GMK, no puede ser ocupado por las partículas de FA que se encuentran a mayor concentración en el resto del volumen disponible sobre la superficie de las gotas de aceite (Muñoz et al., 2007) y a la probable floculación de las gotas (Mao, Cates & Lekkerkerker, 1995), por lo que a una alta concentración de FA (20 %) en ese caso en particular, pudo haber inducido el aumento de las interacciones repulsivas entre las gotas debido a un exceso de partículas de los componentes no adsorbidas, sobre la superficie de las gotas (Klinkesorn, Sophanodora, Chinachoti & McClements, 2004; Lu et al., 2018).

En el caso opuesto, el tiempo de inicio de desestabilización y la velocidad de clarificado para las emulsiones que contenían GMK al 0.5 % presentaron diferencia estadísticamente significativas entre ellas ($\alpha = 0.05$), se comprobó que al aumentar la concentración de GMK al 0.5 % se vio favorecida la estabilidad de las emulsiones

aunado a un incremento de la viscosidad de la fase continua, así como, de la emulsión y a los menores diámetros representativos identificados, lo que indujo a la disminución de la velocidad de la migración de las gotas de aceite del clarificado identificado en el fondo el tubo. Similar a lo reportado por Lu et al. (2018) donde observaron que la estabilidad de emulsiones de GMK (0.05, 0.1 o 0.2 %) en mezcla con proteínas aisladas de suero (2 %) fue mayor al incrementar la concentración de GMK, por lo que retardó la desestabilización (cremado) de las emulsiones.

Esto puede asociarse a que las moléculas de GMK pueden probablemente rellenar el espacio entre las moléculas de proteínas no adsorbidas y las gotas de aceite dispersas en las emulsiones, induciendo potencialmente al aislamiento de las gotas de aceite entre sí, lo que reduce el contacto inducido por el movimiento browniano de las partículas de CSL que pudieran estar libres y las gotas de aceite. Sugiriendo que a mayor concentración de GMK (0.5 %) en la fase continua, mayor será la densidad del espacio ocupado, y por lo tanto, será más significativa la inhibición de la agregación de las gotas de aceite por agotamiento (Lu et al., 2018).

El efecto de la adición y aumento de la concentración de FA favoreció considerablemente la estabilidad durante el tiempo de observación aplicado, por lo que se obtuvieron las menores velocidades de desestabilización, siendo más evidente al adicionar el 20 % de FA, presentando una diferencia de 14 días de estabilidad entre ellas. Esto puede atribuirse al aumento de las interacciones repulsivas entre las partículas adsorbidas en la superficie de las gotas y las partículas de los polisacáridos que estabilizan la fase continua.

Se sugiere que al añadir FA a los sistemas acuosos forman una doble capa en la interfase de la emulsión, por lo que incrementa la repulsión estérica y electrostática entre los gotas de aceite, retardando la agregación o migración de las gotas, por lo que mejora significativamente la estabilidad de las emulsiones por un tiempo determinado y mejorando la funcionalidad del CSL (McClements & Jafari, 2018).

Además, se puede inducir a una probable formación de una estructura tridimensional en la fase acuosa denotando una probable interacción de las macromoléculas de GMK-FA-CSL, lo que podría limitar la movilidad de las gotas de aceite por impedimento estérico (Lu et al., 2018).

En estudios previos de estabilidad por transmisión de luz de espumas elaboradas a partir de sistemas acuosos de leche descremada en polvo sola (10, 15, 20, 25 %) y en mezcla (10 %) con caseinato de sodio (1 a 5 %) o concentrado de suero de leche (5, 7.5, 10, 12.5, 15 %) a 25 °C, en general, observaron un pico negativo en el perfil de retrodispersión evidenciando un drenado opaco del fluido en la zona baja del tubo y un pico positivo en el perfil de transmisión identificado como el colapso de la espuma en la parte superior del tubo, asociado con el aumento del diámetro de la burbuja, en donde las cinéticas de desestabilización se ajustaron a un modelo lineal o logarítmico dependiendo de la muestra. Concluyeron que los sistemas dispersos de leche descremada fortificada con concentrado de suero de leche, fueron los más estables comparados con los que contenían caseinato de sodio, ya que permanecieron más tiempo sin drenado, aumentando la estabilidad de la espuma conforme incrementó la concentración de CSL (4 a 14 min) (Martínez-Padilla, García-Mena, Casas-Alencáster & Sosa-Herrera, 2014).

Con base a lo anterior y de acuerdo a lo observado con el CSL, se puede asociar un comportamiento similar en los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz obtenidos de las emulsiones al identificarse clarificado, aumento de la formación de agregados o cremado en las diferentes zonas a lo largo del tubo de vidrio, asociado a que las proteínas de suero en forma de concentrados tienen buenas propiedades emulsionantes y espumantes (Araujo-Mantovani, Fazani-Cavallieri & Lopes-Cunha, 2016), en donde al adicionarse en la fase continua, generarán una barrera estructural de partículas de CSL dentro de los espacios de las gotas de aceite o las burbujas de aire, por lo que le confiere una mayor estabilidad al sistema disperso del que forman parte (Dickinson, 2017a).

CONCLUSIONES

En esta investigación se demostró que la combinación de dos polisacáridos funcionales, tales como, el glucomanano de konjac y los fructanos de agave en presencia de proteínas con propiedades de superficie como las del suero de leche, pueden utilizarse como base de emulsión para la elaboración de productos alimenticios atractivos desde el punto de vista nutricional.

Los niveles altos de concentración de los polisacáridos funcionales propuestos en este estudio proporcionaron las emulsiones más estables, aproximadamente 25 días, siendo las propiedades reológicas del glucomanano de konjac las que predominaron tanto en las disoluciones acuosas como en las emulsiones aceite en agua, mientras que la adición de fructanos de agave, favoreció la funcionalidad de las proteínas del suero de leche, confirmando la hipótesis propuesta.

Los sistemas acuosos, así como, las emulsiones desarrolladas mostraron un pH cercano a la neutralidad y densidades próximas a la unidad, lo que favorecería su aplicación para el desarrollo de nuevos productos.

Los sistemas acuosos terciarios presentaron comportamiento viscoelástico, similar al del glucomanano de konjac solo, donde el módulo de pérdida predominó sobre el módulo de almacenamiento, presentando un punto de cruce a determinada frecuencia angular. Los módulos fueron superiores a los del glucomanano de konjac solo, lo que indica la formación de enlaces más fuertes entre los polisacáridos funcionales con las proteínas del suero de leche.

Las fases acuosas de fructanos de agave y el concentrado de suero de leche, por separado, en mezcla y en condiciones de flujo, se comportaron como fluidos newtonianos de baja viscosidad. Mientras que los sistemas acuosos y las

emulsiones binarias y terciarias que contenían glucomanano de konjac, mostraron características de fluidos estructurados que se ajustaron al modelo de Carreau, cercano al comportamiento del glucomanano de konjac solo y en medio acuoso.

A través de la medición de las propiedades físicas y fisicoquímicas, se manifestaron las interacciones de tipo electrostático entre las moléculas del glucomanano de konjac y los fructanos de agave, sugiriendo la interacción mediante los grupos acetilo ($\text{CH}_3\text{CO}-$) y los grupos hidroxilo ($-\text{OH}$), respectivamente, con los aminoácidos de las proteínas del suero de leche.

Con la combinación de los tres biopolímeros y a la máxima concentración propuesta en este estudio, se obtuvieron emulsiones polidispersas con menores tamaños de gota promedio. Con la aplicación de ultrasonido se demostró la presencia de flóculos.

RECOMENDACIONES

Realizar el estudio con concentraciones mayores de proteínas de suero de leche para observar si tienen el mismo efecto en la formación de emulsiones e incluso verse mejorada la funcionalidad de la proteína como agente emulsionante, así como, de los polisacáridos utilizados en este estudio como agentes estabilizantes.

Siguiendo la metodología propuesta para la preparación de los sistemas acuosos, se sugiere realizar pre-emulsiones de la fase acuosa y fase oleosa para cada emulsión, previo a la homogeneización y observar si se adquieren mayores tiempos de estabilidad en las emulsiones formuladas.

Utilizar como base para emulsión en productos terminados, el sistema disperso más estable obtenido en este estudio, debido a la importancia que conlleva el desarrollo de nuevos y atractivos productos alimenticios, en los cuales se busque reducir grasas, azúcares e incluso aumentar la ingesta de fibras dietéticas, con la finalidad de mejorar la salud del consumidor.

Realizar el mismo estudio con otros polisacáridos funcionales en mezcla con proteínas de origen vegetal, para ver si la efectividad de sus propiedades promueve de igual forma, la formación de emulsiones alimenticias, ya que, en los últimos años, ha crecido el interés por el consumo de proteínas vegetales como alternativa en la mejora del estilo de vida. Además, existen pocos estudios publicados que estén relacionados con el tema, quedando el presente estudio como antecedente para futuras investigaciones.

REFERENCIAS

- Abdel-Raouf, M. (2012). Factors Affecting the Stability of Crude Oil Emulsions. *Crude Oil Emulsions – Composition Stability and Characterization*, 183–204.
- Abhyankar, A. R., Mulvihill, D. M., Chaurin, V., & Auty, M. A. E. (2011). Techniques for localisation of konjac glucomannan in model milk protein-polysaccharide mixed systems: Physicochemical and microscopic investigations. *Food Chemistry*, 129(4), 1362–1368.
- Akhtar, M., & Dickinson, E. (2007). Whey protein-maltodextrin conjugates as emulsifying agents: An alternative to gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 21(4), 607–616.
- Alvarez-Manceñido, F., Landin, M., Lacik, I., & Martínez-Pacheco, R. (2008). Konjac glucomannan and konjac glucomannan/xanthan gum mixtures as excipients for controlled drug delivery systems. Diffusion of small drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 349(1–2), 11–18.
- Anton Paar. (2007). Instruction Manual - Rheoplus Software MCR-301. Retrieved from
- Apolinário, A. C., De Lima Damasceno, B. P. G., De Macêdo Beltrão, N. E., Pessoa, A., Converti, A., & Da Silva, J. A. (2014). Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 368–378.
- Aranberri, I., Binks, B. P., Clint, J. H., & Fletcher, P. D. I. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 7, 211–231.
- Araujo-Mantovani, R., Fazani-Cavallieri, Â. L., & Lopes-Cunha, R. (2016). Gelation of oil-in-water emulsions stabilized by whey protein. *Journal of Food Engineering*, 175, 108–116.
- Barcina, Y., Zorraquino, M. A., Pedauye, J., Ros, G., & Rincón, F. (1987). Azidiol as a preservative for milk samples, 3, 65–69.
- Behera, S. S., & Ray, R. C. (2016). Konjac glucomannan, a promising polysaccharide of *Amorphophallus konjac* K. Koch in health care. *International Journal of Biological Macromolecules*, 92, 942–956.
- Benichou, A., Aserin, A., & Garti, N. (2002). Protein-Polysaccharide Interactions for Stabilization of Food Emulsions. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 23(1–3), 93–123.

- Brewer, D. R., Franco, J. M., & García-Zapateiro, L. A. (2016). Rheological properties of oil-in-water emulsions prepared with oil and protein isolates from sesame (*Sesamum Indicum*). *Food Science and Technology (Campinas)*, 36(1), 64–69.
- Burchard, W. (2001). Structure formation by polysaccharides in concentrated solution. *Biomacromolecules*, 2(2), 342–353.
- Carabin, I. G., & Flamm, W. G. (1999). Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 30, 268–282.
- Carreau, P. J. (1972). Rheological Equations from Molecular Network Theories. *Transactions of the Society of Rheology*, 16(1), 99–127.
- Chen, G., & Tao, D. (2005). An experimental study of stability of oil-water emulsion. *Fuel Processing Technology*, 86(5), 499–508.
- Chen, J., & Dickinson, E. (1995). Surface shear viscosity and protein-surfactant interactions in mixed protein films adsorbed at the oil-water interface. *Food Hydrocolloids*, 9(1), 35–42.
- Chua, M., Baldwin, T. C., Hocking, T. J., & Chan, K. (2010). Traditional uses and potential health benefits of *Amorphophallus konjac* K. Koch ex N.E.Br. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(2), 268–278.
- Chua, M., Chan, K., Hocking, T. J., Williams, P. A., Perry, C. J., & Baldwin, T. C. (2012). Methodologies for the extraction and analysis of konjac glucomannan from corms of *Amorphophallus konjac* K. Koch. *Carbohydrate Polymers*, 87(3), 2202–2210.
- Cohen-Addad, S., & Höhler, R. (2014). Rheology of foams and highly concentrated emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 19(6), 536–548.
- Crispín-Isidro, G., Lobato-Calleros, C., Espinosa-Andrews, H., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2015). Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt. *LWT Food Science and Technology*, 62(1), 438–444.
- Dai, S., Jiang, F., Shah, N. P., & Corke, H. (2017). Stability and phase behavior of konjac glucomannan-milk systems. *Food Hydrocolloids*, 73, 30–40.
- Damianou, K., & Kiosseoglou, V. (2006). Stability of emulsions containing a whey protein concentrate obtained from milk serum through carboxymethylcellulose complexation. *Food Hydrocolloids*, 20(6), 793–799.
- Davé, V., & McCarthy, S. P. (1997). Review of konjac glucomannan. *Journal of Environmental Polymer Degradation*, 5(4), 237–241.
- Di Scipio, S., Escalona, Y., Quijada, K., & Millán, F. (2008). Estudio del mezclado de

- emulsiones concentradas de aceite en agua aplicando la metodología de superficie de respuesta. *Revista de La Facultad de Ingeniería U.C.V.* , 23, 53–64.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17(1), 25–39.
- Dickinson, E. (2008). Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein–polysaccharide interactions. *Soft Matter*, 4(5), 932.
- Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23(6), 1473–1482.
- Dickinson, E. (2011). Double emulsions etabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*, 6(1), 1–11.
- Dickinson, E. (2015). Structuring of colloidal particles at interfaces and the relationship to food emulsion and foam stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 449, 38–45.
- Dickinson, E. (2017a). Biopolymer-based particles as stabilizing agents for emulsions and foams. *Food Hydrocolloids*, 68, 219–231.
- Dickinson, E. (2017b). Hydrocolloids acting as emulsifying agents. How do they do it? *Food Hydrocolloids*.
- Dickinson, E., Ma, J., & Povey, M. J. W. (1994). Creaming of concentrated oil-in-water emulsions containing xanthan. *Food Hydrocolloids*, 8(5), 481–497.
- Dickinson, E., & Stainsby, G. (1982). *Colloids in food* (1st ed., Vol. 1). London: Applied Science.
- Fang, W., & Wu, P. (2004). Variations of Konjac glucomannan (KGM) from *Amorphophallus konjac* and its refined powder in China. *Food Hydrocolloids*, 18(1), 167–170.
- Felix da Silva, D., Barbosa de Souza Ferreira, S., Bruschi, M. L., Britten, M., & Matumoto-Pintro, P. T. (2016). Effect of commercial konjac glucomannan and konjac flours on textural, rheological and microstructural properties of low fat processed cheese. *Food Hydrocolloids*, 60, 308–316.
- Felix, M., Romero, A., & Guerrero, A. (2017). Influence of pH and xanthan gum on long-term stability of crayfish-based emulsions. *Food Hydrocolloids*, 72, 372–380.
- Fernandez-Avila, C., & Trujillo, A. J. (2016). Ultra-high pressure homogenization improves oxidative stability and interfacial properties of soy protein isolate-stabilized emulsions. *Food Chemistry*, 209, 104–113.
- Gaspoz, J., & Carrara, C. (2008). Diseño de biomateriales por coacervación de proteínas de suero lácteo y alginato de sodio: Efecto del pH y fuerza iónica. In *2do Encuentro*.
- He, P., Luo, X., Lin, X., & Zhang, H. (2012). The rheological properties of konjac

- glucomannan (KGM) solution. *Materials Science Forum*, 724, 57–60.
- Hernández-Rojas, M., & Vélez-Ruiz, J. F. (2014). Suero de leche y su aplicación en la elaboración de alimentos funcionales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 8(2), 13–22.
- Hu, Y., Li, Y., Zhang, W., Kou, G., & Zhou, Z. (2018). Physical stability and antioxidant activity of citrus flavonoids in arabic gum-stabilized microcapsules: Modulation of whey protein concentrate. *Food Hydrocolloids*, 77, 588–597.
- Klinkesorn, U., Sophanodora, P., Chinachoti, P., & McClements, D. J. (2004). Stability and rheology of corn oil-in-water emulsions containing maltodextrin. *Food Research International*, 37(9), 851–859.
- Kobayashi, S., Tsujihata, S., Hibi, N., & Tsukamoto, Y. (2002). Preparation and rheological characterization of carboxymethyl konjac glucomannan. *Food Hydrocolloids*, 16(4), 289–294.
- Lam, R. S. H., & Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure-function approach. *Food Chemistry*, 141(2), 975–984.
- Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., & Izydorczyk, M. S. (2003). Molecular size effects on rheological properties of oat β -glucans in solution and gels. *Food Hydrocolloids*, 17(5), 693–712.
- Li, J.-M., & Nie, S.-P. (2016). The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids*, 53(2016), 46–61.
- Liang, S., Li, B., Ding, Y., Xu, B. L., Chen, J., Zhu, B., ... Knill, C. J. (2011). Comparative investigation of the molecular interactions in konjac gum/hydrocolloid blends: Concentration addition method (CAM) versus viscosity addition method (VAM). *Carbohydrate Polymers*, 83(3), 1062–1067.
- Liang, Y., Patel, H., Matia-Merino, L., Ye, A., & Golding, M. (2013). Structure and stability of heat-treated concentrated dairy-protein-stabilised oil-in-water emulsions: A stability mapcharacterisation approach. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 297–308.
- Liu, Z. L., Hu, H., & Zhuo, R. X. (2004). Konjac glucomannan-graft-acrylic acid hydrogels containing azo crosslinker for colon-specific delivery. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 42(17), 4370–4378.
- Liu, Z. Q., Yang, X., & Zhang, Q. (2014). TURBISCAN: history, development, application to colloids and dispersions. *Advanced Materials Research*, 936, 1592–1596.
- Lopez, M. G., Mancilla-Margalli, N. A., & Mendoza-Diaz, G. (2003). Molecular structures of fructans from Agave tequilana Weber var. azul. *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry*, 51(27), 7835–7840.
- Lu, W., Zheng, B., & Miao, S. (2018). Improved emulsion stability and modified nutrient release by structuring O/W emulsions using konjac glucomannan. *Food Hydrocolloids*, 81, 120–128.
- Mao, Y., Cates, M. E., & Lekkerkerker, H. N. W. (1995). Depletion force in colloidal systems. *Physica A: Statistical Mechanics and Its Applications*, 222(1–4), 10–24.
- Marshall, K. (2004). Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic*, 9(2), 136–156.
- Martínez-Padilla, L. P., & Casas-Alencáster, N. B. (2016). Glucomanano de Konjac, un polisacárido bifuncional de origen asiático. In *Propiedades funcionales de hoy* (1st ed., pp. 67–96). Barcelona, España: OmniaScience.
- Martínez-Padilla, L. P., García-Mena, V., Casas-Alencáster, N. B., & Sosa-Herrera, M. G. (2014). Foaming properties of skim milk powder fortified with milk proteins. *International Dairy Journal*, 36(1), 21–28.
- Martínez-Padilla, L. P., García-Rivera, J. L., Romero-Arreola, V., & Casas-Alencáster, N. B. (2015). Effects of xanthan gum rheology on the foaming properties of whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 156, 22–30.
- McClements, D. J. (1999). *Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques*. CRC Press.
- McClements, D. J. (2000). Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 14(2), 173–177.
- McClements, D. J. (2004). Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 9(5), 305–313.
- McClements, D. J. (2005). *Food Emulsions: Principles, Practices, and Techniques* (Second Edi). United States of America: CRC Press.
- McClements, D. J., & Jafari, S. M. (2018). Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 251, 55–79.
- Mengual, O., Meunier, G., Cayré, I., Puech, K., & Snabre, P. (1999). Turbiscan MA 2000: Multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis. *Talanta*, 50(2), 445–456.
- Meyer, D. (2009). Inulin. In *Handbook of Hydrocolloids* (pp. 829–848). Netherlands.
- Mun, S., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2006). Effect of molecular weight and degree of deacetylation of chitosan on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by

- surfactant-chitosan membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 296(2), 581–590.
- Muñoz, J., Alfaro, M. del C., & Zapata, I. (2007). Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas Y Aceites*, 58(1), 64–73. Retrieved from Emulsiones; Emulsionantes; Estabilizantes; Polisacáridos; Proteínas; Tensioactivos
- Muñoz, J., Hudson, N. E., Vélez, G., Alfaro, M. del C., & Ferguson, J. (2001). Rheological behaviour of spray-dried egg yolk/xanthan gum aqueous dispersions. *Rheologica Acta*, 162–175.
- Neiryneck, N., Van lent, K., Dewettinck, K., & Van der Meeren, P. (2007). Influence of pH and biopolymer ratio on sodium caseinate-guar gum interactions in aqueous solutions and in O/W emulsions. *Food Hydrocolloids*, 21(5–6), 862–869.
- Nishinari, K., Williams, P. A., & Phillips, G. O. (1992). Review of the physico-chemical characteristics and properties of konjac mannan. *Topics in Catalysis*, 6(2), 199–222.
- Ozturk, B., & McClements, D. J. (2016). Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 7, 1–6.
- Perez-Moral, N., Watt, S., & Wilde, P. (2014). Comparative study of the stability of multiple emulsions containing a gelled or aqueous internal phase. *Food Hydrocolloids*, 42, 215–222.
- Perez, A. A., Carrara, C. R., Sánchez, C. C., Rodríguez Patino, J. M., & Santiago, L. G. (2009). Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution. *Food Chemistry*, 116(1), 104–113.
- Perez, A. A., Carrara, C. R., Sánchez, C. C., Santiago, L. G., & Rodríguez Patino, J. M. (2009). Interfacial dynamic properties of whey protein concentrate/polysaccharide mixtures at neutral pH. *Food Hydrocolloids*, 23(5), 1253–1262.
- Pintor-Jardines, A., Arjona-Román, J. L., Totosaus-Sánchez, A., Severiano-Pérez, P., González-González, L. R., & Escalona-Buendia, H. B. (2018). The influence of agave fructans on thermal properties of low-fat, and low-fat and sugar ice cream. *Lwt*.
- Praznik, W., Löppert, R., Cruz-Rubio, J. M., Zangger, K., & Huber, A. (2013). Structure of fructo-oligosaccharides from leaves and stem of Agave tequilana Weber, var. azul. *Carbohydrate Research*, 381(July), 64–73.
- Reyes, P., & Di Scipio, S. (2012). Caracterización fisico-química de emulsiones de aceite de maíz en agua. *Revista de La Facultad de Ingeniería Universidad Central de Venezuela*, 27(1), 56–69.
- Roberfroid, M. B., & Delzenne, N. M. (1998). DIETARY FRUCTANS. *Annual Review of*

- Nutrition*, 18, 117–143.
- Rodriguez Patino, J. M., & Pilosof, A. M. R. (2011). Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1925–1937.
- Sánchez Carrera, C., & Rodríguez Patino, J. M. (2005). Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocolloids*, 19(3), 407–416.
- Schorsch, C., Jones, M. G., & Norton, I. T. (1999). Thermodynamic incompatibility and microstructure of milk protein/locust bean gum/sucrose systems. *Food Hydrocolloids*, 13(1999), 89–99.
- Sešķēna, R., & Jankevica, L. (2007). Influence of chemical preservatives on the quality and composition indices of raw milk samples. *Acta Universitatis Latviensis*, 723, 171–180.
- Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., ... Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147, 444–454.
- Singh, H. (2011). Aspects of milk-protein-stabilised emulsions. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1938–1944.
- Sosa-Herrera, M. G. (2008). *Reología y Estabilidad de emulsiones elaboradas con mezclas de caseinato de sodio y gelana*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sosa-Herrera, M. G., Berli, C. L. A., & Martínez-Padilla, L. P. (2008). Physicochemical and rheological properties of oil-in-water emulsions prepared with sodium caseinate/gellan gum mixtures. *Food Hydrocolloids*, 22(5), 934–942.
- Sosa-Herrera, M. G., & Delgado-Reyes, V. A. (2016). Propiedades funcionales y aplicaciones tecnológicas de fructanos. In *Alimentos Funcionales de Hoy* (1st ed., pp. 97–115). Barcelona, España: OmniaScience.
- Sosa-Herrera, M. G., Martínez-Padilla, L. P., Delgado-Reyes, V. A., & Torres-Robledo, A. (2016). Effect of agave fructans on bulk and surface properties of sodium caseinate in aqueous media. *Food Hydrocolloids*, 60, 199–205.
- Storti, F., & Balsamo, F. (2010). Particle size distributions by laser diffraction: Sensitivity of granular matter strength to analytical operating procedures. *Solid Earth*, 1(1), 25–48.
- Tadros, T. F. (2013). Emulsion Formation, Stability, and Rheology. In *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*. (pp. 1–76).
- Takigami, S., Takiguchi, T., & Phillips, G. O. (1997). Microscopical studies of the tissue structure of konjac tubers. *Food Hydrocolloids*, 11(4), 479–484.
- Tester, R., & Al-Ghazzewi, F. (2017). Glucomannans and nutrition. *Food Hydrocolloids*, 68,

246–254.

- Tobin, J. T., Fitzsimons, S. M., Chaurin, V., Kelly, A. L., & Fenelon, M. A. (2012). Thermodynamic incompatibility between denatured whey protein and konjac glucomannan. *Food Hydrocolloids*, *27*(1), 201–207.
- Urías-Silvas, J. E., Cani, P. D., Delmée, E., Neyrinck, A., López, M. G., & Delzenne, N. M. (2008). Physiological effects of dietary fructans extracted from Agave tequilana Gto. and *Dasyilirion* spp. *British Journal of Nutrition*, *99*(2), 254–261.
- Van Laere, A., & Van den Ende, W. (2002). Inulin metabolism in dicots: chicory as a model system. *Plant, Cell and Environment*, *25*(6), 803–813.
- Wang, J., Liu, C., Shuai, Y., Cui, X., & Nie, L. (2014). Controlled release of anticancer drug using graphene oxide as a drug-binding effector in konjac glucomannan/sodium alginate hydrogels. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *113*, 223–229.
- Wooster, T. J., & Augustin, M. A. (2006). β -Lactoglobulin-dextran Maillard conjugates: Their effect on interfacial thickness and emulsion stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, *303*(2), 564–572.
- Xiong, W., Ren, C., Tian, M., Yang, X., Li, J., & Li, B. (2018). Emulsion stability and dilatational viscoelasticity of ovalbumin/chitosan complexes at the oil-in-water interface. *Food Chemistry*, *252*(September 2017), 181–188.
- Xu, W., Wang, S., Ye, T., Jin, W., Liu, J., Lei, J., ... Wang, C. (2014). A simple and feasible approach to purify konjac glucomannan from konjac flour – Temperature effect. *Food Chemistry*, *158*, 171–176.
- Yin, W., & Zhang, H. (2007). Rheological properties of aqueous konjac glucomannan dispersions and its mixtures with soyben protein isolate. *Journal of Central South University of Technology*, *60*(2), 444–449.
- Yin, W., Zhang, H., Huang, L., & Nishinari, K. (2008). Effects of the lyotropic series salts on the gelation of konjac glucomannan in aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, *74*(1), 68–78.
- Zhang, C., Chen, J. Da, & Yang, F. Q. (2014). Konjac glucomannan, a promising polysaccharide for OCDDS. *Carbohydrate Polymers*, *104*(1), 175–181.
- Zhang, Y. Q., Xie, B. J., & Gan, X. (2005). Advance in the applications of konjac glucomannan and its derivatives. *Carbohydrate Polymers*, *60*(1), 27–31.