



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Estudio Físicoquímico de emulsiones tipo O/W
con aceite de chía (*Salvia hispanica* L.) y mezclas
proteína-polisacárido como estabilizantes.**

TESIS

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

PRESENTA:

Cristina Morlán Contreras

ASESORES:

Dr. Martín Ramón Porras Godínez

Dra. Yolanda Marina Vargas Rodríguez

CUAUTITLÁN IZCALLI. ESTADO DE MÉXICO. 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

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

Estudio Fisicoquímico de emulsiones tipo O/W con aceite de chía (*Salvia hispanica L.*) y mezclas proteína-polisacárido como estabilizantes.

Que presenta la pasante: **Morlán Contreras Cristina**

Con número de cuenta: **403018127** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería en Alimentos**

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

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 05 de junio de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q. Guadalupe Franco Rodríguez	
VOCAL	Dra. Elsa Gutiérrez Cortez	
SECRETARIO	Dr. Martín Ramón Porras Godínez	
1er. SUPLENTE	I.A. Patricia Muñoz Aguilar	
2do. SUPLENTE	I.A. Maritza Rocandio Pineda	

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

AGRADECIMIENTOS

Investigación realizada gracias al Programa UNAM-PAPIME PE 212118 y al PIAPI 1808 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM

Los experimentos se desarrollaron en el Laboratorio Investigación de Fisicoquímica, de la de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México.

A Dra. María Eugenia Ramírez Ortiz, por permitirme realizar mediciones reológicas.

A mis tutores Dr. Martín Ramón Porras Godínez y Dra. Yolanda Marina Vargas Rodríguez, por apoyarme y por confiar en mí, por su paciencia, comprensión, y sobre todo, por su amistad.

A mis sinodales I.Q. Guadalupe Franco Rodríguez, Dra. Elsa Gutiérrez Cortez, I.A. Patricia Muñoz Aguilar, I.A. Maritza Rocandio Pineda y el Dr. Martín Ramón Porras Godínez, a todos gracias por el tiempo dedicado a la revisión de mi tesis, por sus comentarios acertados y correcciones para enriquecer el trabajo.

A mis padres Roberto y Angela, me motivaron a que las cosas se pueden lograr.

A Daniel, Idalia y Karla, por su presencia y cuidado donde quiera que voy.

A Marino, Martin y Abel, por su comprensión y respaldo que me permitió dar un paso adelante.

A la UNAM.

ÍNDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	III
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES.....	1
1.1 Chía.....	1
1.2 Ácidos grasos.....	4
1.2.1 Ácidos grasos saturados	5
1.2.2 Ácidos grasos insaturados	6
1.2.3 Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)	6
1.2.4 Mecanismos de oxidación	9
1.3 Estabilidad oxidativa.....	11
1.4 Antioxidantes	11
1.5 Hidrocoloides como estabilizantes.....	13
1.5.1 Carboximetilcelulosa (CMC)	14
1.6 Emulsiones	16
1.6.1 Estructuras anfifílica como emulsionantes	17
1.6.2 Proteína aislada de suero de leche (WPI).....	21
1.6.3 Mecanismos de formación de emulsiones.....	23
1.6.4 Mecanismos de inestabilidad de una emulsión.....	24
1.6.5 Estabilización de emulsiones	26
1.6.6 Tensión superficial.....	28
1.6.7 Concentración micelar crítica	29
1.6.8 Potencial ζ	30
1.6.9 Tamaño de partícula	31
1.6.10 Reología	32
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA	38
2.1 Objetivo general	38
2.2 Objetivos particulares.....	38
2.3 CUADRO METODOLÓGICO.....	39
2.4 Materiales y métodos	40

2.4.1 Actividades preliminares	40
2.4.1.1 Preparación de las dispersiones.	40
2.4.1.2 Medidas de tensión superficial	41
2.4.1.3 Potencial zeta (ζ).....	42
2.4.1.4 Obtención de la emulsión O/W	42
2.4.2 Comportamiento reológico	43
2.4.3 Índice de Cremado	44
2.4.4 Análisis microscópico (uniformidad del tamaño de partículas)	45
2.4.5 Tamaño de partícula	45
2.4.6 Estabilidad oxidativa (Índice de peróxidos)	45
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
3.1 Actividades preliminares	48
3.1.1 Tensión superficial.....	48
3.1.1.1 CMC.....	48
3.1.1.2 Emulsionante tensoactivo natural y sintético	49
3.1.1.2.1 WPI.....	50
3.1.1.2.2 Tween 80.....	50
3.1.2 Potencial zeta (ζ).	51
3.1.2.1 WPI.....	51
3.1.2.2 CMC.....	52
3.2 Resultados del objetivo particular 1	53
3.2.1 Comportamiento reológico	53
3.2.1.1 CMC.....	53
3.2.1.2 WPI.....	54
3.2.1.3 Emulsiones O/W con aceite de chía	55
3.3 Resultados del objetivo particular 2	59
3.3.1 Uniformidad del tamaño de partícula	59
3.3.2 Tamaño de partícula	61
3.3.3 Índice de cremado.....	63
3.4 Resultados del objetivo particular 3	66
3.4.1 Estabilidad oxidativa (Índice de peróxido).....	66
CONCLUSIONES	68
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	<i>Cultivo de chía <i>Salvia hispanica</i> L.....</i>	3
Figura 2.	<i>Estructura química de ácidos grasos saturados.....</i>	5
Figura 3.	<i>Estructura química de un ácido graso insaturado.....</i>	6
Figura 4.	<i>Estructura química de ácidos grasos omega 3.....</i>	7
Figura 5.	<i>Estructura monomérica de CMC.....</i>	14
Figura 6.	<i>Tipos de emulsión en base a composición de las fases.....</i>	16
Figura 7.	<i>Estructura anfifílica de un emulsionante.....</i>	17
Figura 8.	<i>Proteína como estructura anfifílica.....</i>	20
Figura 9.	<i>Mecanismos de inestabilidad de una emulsión.....</i>	25
Figura 10.	<i>Mecanismos de estabilización de emulsiones.....</i>	26
Figura 11.	<i>Anillo de Du Noüy.....</i>	28
Figura 12.	<i>Representación esquemática de la concentración micelar crítica.....</i>	29
Figura 13.	<i>Modificación del potencial Z en función del pH.....</i>	31
Figura 14.	<i>Representación gráfica del amaño de partícula en forma de histograma.....</i>	32
Figura 15.	<i>Curvas de viscosidad vs velocidad de corte.....</i>	33
Figura 16.	<i>Curvas de flujo.....</i>	34
Figura 17.	<i>Cuadro metodológico</i>	39
Figura 18.	<i>Gráfica del efecto de la concentración CMC sobre la tensión superficial.....</i>	48
Figura 19.	<i>Gráfica del efecto de la concentración WPI y Tween 80 sobre la tensión superficial.....</i>	49
Figura 20.	<i>Gráfica del Potencial zeta del WPI 1.0 %.....</i>	51
Figura 21.	<i>Gráfica del Potencial zeta de CMC 0.5 %.....</i>	52
Figura 22.	<i>Gráfica de viscosidad vs velocidad de cizalla de CMC al 0.5 % y 2.0 %.....</i>	53
Figura 23.	<i>Gráfica de la curva de flujo a 25 °C de WPI al 8.0 %.....</i>	54

Figura 24.	<i>Gráfica del esfuerzo de corte en función de velocidad de cizalla de emulsiones con aceite de chía con CMC 0.55 %.....</i>	55
Figura 25.	<i>Gráfica del esfuerzo de corte en función de velocidad de cizalla de emulsiones con aceite de chía con CMC 0.33 % y muestra control.....</i>	56
Figura 26.	<i>Gráfica de viscosidad aparente en función de velocidad de cizalla de emulsiones con aceite de chía.....</i>	57
Figura 27.	<i>Imágenes de microscopio óptico de gotas de emulsiones con aceite de chía.....</i>	60
Figura 28.	<i>Distribución de tamaño de partícula en emulsiones O/W con aceite de chía</i>	62
Figura 29.	<i>Gráfica de Índice de cremado de emulsiones O/W con aceite de chía.....</i>	63
Figura 30.	<i>Emulsiones iniciales y finales.....</i>	64
Figura 31.	<i>Imágenes de microscopio óptico de gotas de emulsiones estabilizadas con Tween 80.....</i>	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	<i>Proporción de AGPI de fuentes diversas.....</i>	4
Tabla 2.	<i>Tensioactivos comerciales usados como emulsionantes.....</i>	19
Tabla 3.	<i>Dispersiones para caracterización de materiales y preparación de emulsiones.....</i>	41
Tabla 4.	<i>Concentración de ingredientes en las emulsiones O/W con aceite de chía.....</i>	43
Tabla 5.	<i>Diseño de experimentos para evaluación de emulsiones o/w.....</i>	46
Tabla 6.	<i>Parámetros reológicos de emulsiones O/W con aceite de chía</i>	58
Tabla 7.	<i>Resultados de prueba de índice de peróxido.....</i>	66

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue valorar las propiedades funcionales del complejo proteína-polisacárido utilizando proteína aislada de suero de leche (WPI) y carboximetilcelulosa (CMC) como estabilizantes de emulsiones O/W con aceite de chía, en relación con su comportamiento reológico, antioxidante, tamaño y distribución de partícula, para su aplicación en alimentos, con la finalidad de surtir o minimizar el empleo de emulsionantes sintéticos.

Se prepararon emulsiones O/W con aceite de chía a 9.1 %. Las variables que se manejaron fueron las concentraciones del complejo proteína-polisacárido, WPI a 0.66, 1.05, 1.8, 2.9 %, CMC a 0.33 y 0.55 % y WPI a 0.32 %, CMC 0.33 % y Tween 80 a 0.14 % como muestra control.

Las pruebas realizadas a las emulsiones fueron estudiar el comportamiento reológico de las emulsiones utilizando un viscosímetro (Haake, UT-550) con cilindros concéntricos, realizando una prueba de doble barrido, graficando la curva de fluidez, esfuerzo de corte (σ) en función de la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$), se determinó el índice de consistencia (K) y el índice de comportamiento al flujo (n), también se graficó la curva de viscosidad, viscosidad (η) en función de la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$), para ver la estabilidad de la emulsión se evaluó la distribución, uniformidad y tamaño de partícula, tomando fotos de gotas de emulsiones con microscopio óptico y graficando los resultados de Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd), volumen (%) en función del tamaño de partícula (μm), se evaluó el índice de cremado graficando el cremado (%) en función de los días de almacenamiento, y por último su capacidad antioxidante evaluando el índice de peróxido. Todas las pruebas se realizaron por triplicado, se reportó la media y desviación estándar.



El uso de complejo proteína-polisacárido influyen en el comportamiento reológico y antioxidante de las emulsiones O/W con aceite de chía, a mayor concentración de polisacárido mayor estabilidad y menor índice de peróxido (IP). La mezcla de WPI a 1.8 % y CMC a 0.55 % tuvo un mayor índice de consistencia (K) de 0.781 Pa.sⁿ y menor IP de 1.18 meq/g, en comparación con las otras mezclas de complejos proteína-polisacárido y la muestra control.

El tamaño, uniformidad y distribución de las partículas dentro de la emulsión son relevantes para su estabilidad, teniendo una relación con el índice de cremado (IC), a mayor tamaño de partícula menor estabilidad. En las mezclas con CMC a 0.33 % y WPI a 0.66 y 1.05 % se presentó un IC de 47.5 y 55.5 %, no hubo uniformidad en el tamaño de partícula, se observaron tamaños grandes en comparación con las otras mezclas de complejos proteína-polisacárido y la muestra control, además, se apreció la formación de flóculos.

INTRODUCCIÓN

La chía (*Salvia hispanica* L.) es una de las especies vegetales con la mayor concentración de ácido graso omega 3, el primer estudio que dio relevancia a su consumo data de los años cincuenta. En 1976, reportaron que una dieta tradicional alta en omega-3, se relaciona con una menor incidencia de enfermedades del corazón (Castellanos y Rodríguez, 2015; Jiménez y col., 2013). Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son en la actualidad la principal causa de muerte en el mundo (Valenzuela y col., 2014). Los consumidores demandan alimentos más sanos, nutritivos, y seguros, debido a los nuevos hábitos alimentarios y ritmo de vida (Pei y col., 2019).

Sin embargo, estos compuestos presentan algunas limitaciones, debido a la estructura poliinsaturada tienen dobles enlaces que los hace susceptibles a reacciones de oxidación, invalidando el importante beneficio a la salud (Calsin y col., 2016). La oxidación puede controlarse mediante la emulsificación, al adicionar los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), en la fase acuosa o la fase oleosa (Rodríguez, 2012).

Una emulsión es una dispersión coloidal de un líquido dentro de otro, en el cual es normalmente inmiscible; esta emulsión es termodinámicamente inestable con respecto del tiempo (Badui, 2006; Villanueva y col., 2017) y culmina con la separación de fases, por tanto, el reto principal consiste en prolongar la estabilidad de estos sistemas dispersos una vez formados (McClements, 2005). Las emulsiones pueden convertirse en cinéticamente estables gracias a la presencia de agentes tensioactivos que tienen la capacidad de absorción en las superficies de las gotas (Serdaroğlu y col., 2015), además pueden ofrecer protección a los compuestos activos al aislarlos del medio (Benichou y col., 2007).

Las propiedades reológicas de una emulsión dependen del comportamiento reológico de la fase continua, de la fracción de aceite y de las posibles interacciones entre partículas; los aditivos, como los derivados de celulosa y las gomas, se han estudiado en el mejoramiento de las propiedades reológicas de sistemas mixtos (Ramírez y Baigts, 2016; Lorenzo y *col.*, 2017; Ravindran y *col.*, 2018). En la industria alimentaria existe un interés sustituir el uso de emulsionantes sintéticos debido al daño a la salud (Siriwardhana y *col.*, 2004; Xu y *col.*, 2017; Yang y *col.*, 2018) por los de origen natural, como las proteínas y los polisacáridos (Ozturk y McClements, 2016) o complejos proteína-polisacárido.

Se han utilizado diferentes complejos proteína-polisacárido para la estabilización de emulsiones directas y emulsiones múltiples como: estudios sobre proteína aislada de suero de leche y goma xantana (Sun y Gunasekaran, 2009; Sriprabhom y *col.*, 2019; Yildiz y *col.*, 2018); Fustier y *col.*, (2015) evaluaron la goma arábica y almidón modificado, proteína aislada de suero de leche y la gelatina; Lam y Nickerson (2013) estudiaron la goma arábica y proteína de huevo, carragenina y proteína aislada de suero de leche; Muñoz y *col.*, (2007) realizaron estudios con yema de huevo deshidratada por atomización goma xantana; Onsaard y *col.*, (2013) evaluaron la proteína aislada de suero de leche, la carragenina y la maltodextrina y Vicente y *col.* (2018) estudiaron la ovoalbúmina con pectina, la ovoalbúmina con goma xantana y la interacción de la goma xantana con Tween 80.

La presente investigación tiene como propósito evaluar la estabilidad fisicoquímica de emulsiones O/W con aceite de chía, empleando mezclas de carboximetilcelulosa (CMC) y proteína aislada de suero de leche (WPI) con la finalidad de sustituir o minimizar el empleo de emulsionantes sintéticos. En cuanto a la estrategia experimental se establecerán mezclas proteína-polisacárido, se evaluará el índice de peróxido, comportamiento reológico y tamaño de partícula, así como el efecto de la estabilidad de las emulsione con respecto al tiempo.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Chía

En la actualidad la industria alimentaria incorpora ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en la elaboración de productos de cárnicos, panadería, lácteos, suplementos alimenticios, entre otros; un grupo especial de estos son los ácidos grasos omega-3 y omega-6, que tiene propiedades asociadas con la salud y la nutrición.

La chía tiene un alto contenido de omega-3 y omega-6 en comparación con otras fuentes naturales conocidas hasta la fecha, los cuales prevén enfermedades como la hipertensión y enfermedades cardiovasculares e inflamatorias. La “Chía” o “Chan” es un vocablo náhuatl que agrupa varias especies botánicas de los géneros *Salvia*, *Hyptis*, *Amaranthus* y *Chenopodium*; su cultivo y utilización fueron como un elemento esencial de la cultura mesoamericana. Debido a que su denominación es en lengua indígena, la *Salvia hispanica* L. es una especie cultivada de ese grupo (Hernández y Miranda, 2008).

La población prehispánica la empleó como alimento y con el transcurrir del tiempo, también la cultivó y usó como materia prima para la generación de medicamentos y pinturas. Los aztecas, entre otros usos, ofrecían la chía a los dioses como parte de las ofrendas en las ceremonias religiosas. Los aztecas y mayas la tenían, junto con el amaranto, maíz y frijol, en los componentes principales de su alimentación (Gutiérrez y col., 2014). Las semillas fueron asadas, molidas como harina, e incorporadas en las tortillas, los tamales, y las bebidas, las semillas de chía y el maíz fueron procesadas a menudo juntas.

La importancia de la chía se debe a que sus granos ofrecen hoy en día una nueva oportunidad para mejorar la nutrición humana; es un producto que se puede consumir bien sin procesamiento alguno; se puede preparar un mucílago dejando reposar la semilla en agua, para utilizarla como fibra dietética o añadirla y dar cuerpo a mermelada, jalea, yogur, mostaza, salsa tártara y también tiene aplicación en barras de cereales, galletas, masa y pan. Se pueden potencializar los alimentos al enriquecer diferentes productos como fórmulas para bebés, alimentos de animales, barras nutritivas, etc (Xingú y col.,2017).

Actualmente, se cultiva comercialmente chía en Australia, Bolivia, Colombia, Guatemala, México, Perú y en Argentina, en las provincias de Salta, Jujuy, Tucumán y Catamarca (Bueno y col., 2016). En México se cultiva por su valor económico y nutraceútico, y los principales estados productores son Jalisco y Puebla. Otros estados que están comenzando a producir son: Morelos, Nayarit, Guerrero, San Luis Potosí y Zacatecas. Se calcula que para el año 2015 se produjeron aproximadamente 6,960 toneladas a nivel nacional (Muñoz y col., 2017)

La *Salvia hispanica* L., pertenece a la familia *Lamiácea*, es una planta herbácea anual, de 1 a 1.5 m de altura, con tallos ramificados de sección cuadrangular y hueco, con pubescencias cortas y blancas; hojas opuestas con bordes aserrados de 80 a 100 mm de longitud y de 40 a 60 mm de ancho, con diferentes grados de pubescencia. Las flores son hermafroditas, purpúreas a blancas y aparecen en cimas terminales Figura 1. Los frutos (clusas) habitualmente llamados “semillas” son indehiscentes. Su tamaño es de 1 mm a 1,2 mm de ancho y 2 mm a 2,2 mm de largo aproximadamente; ovals, de color negro grisáceo con manchas irregulares rojizas en su mayoría y algunos blancos (Bueno y col., 2010; González, 2010); tiene la capacidad de desarrollar un mucílago cuando se hidrata. Posee además una superficie lisa y brillante (Rovati y col., 2012).



Figura 1.- Cultivo de chía *Salvia hispanica* L.

Se convierte en un reto para estudiar a la chía no sólo como material oleaginoso sino también por las funcionalidades biológicas que podrían derivar de su aceite. La semilla de chía en las dietas tiene la finalidad de mejorar la salud humana, recomendándose por sus altos niveles de fibra dietética, que ayuda a disminuir el riesgo de enfermedades del corazón, hipertensión, diabetes, obesidad y algunas enfermedades gastrointestinales, enfermedad coronaria y el cáncer; contiene vitaminas (A, B, C y E) y minerales (calcio, potasio, magnesio, fósforo, selenio, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, sodio y zinc). Además, son una excelente fuente de proteínas de reserva, las cuales presentan péptidos bioactivos con actividad antioxidante y antihipertensiva (Martínez y *col.*, 2017; Pereyra, 2017; Michajluk y *col.*, 2018).

Su composición proximal consta de aceite (30.4%) compuesto principalmente por ácido linolénico y linoleico con un 60% aproximadamente entre los 2 ácidos grasos, se puede comparar con otras fuentes de omega-3, ver Tabla 1 (Jiménez y *col.*, 2013; Mosquera y *col.*, 2017). Además, contiene una alta concentración de fibra dietética (34.4%), proteínas de alto valor nutrimental (15-25%), así como la presencia de carbohidratos con un 8.6% (Estrada y *col.*, 2017).

Tabla 1: Proporción de AGPI de fuentes diversas.

Fuente	EPA + DHA o ALA (g/100g)
Salmón	11.1
Aceite de Chía	51.82
Aceite de Rosa Mosqueta	27.48
Aceite de Nuez	10.4
Aceite de Oliva	0.76
Aceite de Girasol	0.09
Aceite de Soya	6.8
Aceite de Trigo	6.9

Jiménez y *col.*, 2013; Castro, 2002.

Existen dos fuentes de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), vegetales y animales, la más conocida es el salmón, en las últimas fechas se ha recurrido a utilizar semillas o el aceite de la linaza, de Rosa Mosqueta, de chía, etc. Tienen un alto contenido de AGPI, esenciales para la alimentación y efectivo para disminuir las afecciones cardiovasculares; los antioxidantes naturales de su aceite evitan los procesos oxidativos en alimentos; el mucílago de la semilla de chía es un polisacárido útil como fibra soluble y dietética, los aceites esenciales pueden usarse en la industria de saborizantes y fragancias (Jiménez y *col.*, 2013).

1.2 Ácidos grasos

Son ácidos carboxílicos, que principalmente se encuentran formando parte de los lípidos complejos. Los ácidos grasos son monocarboxílicos, poseen una cadena hidrocarbonada apolar de longitud variable. Pueden ser saturados, insaturados o sustituidos (Ixtaina, 2010).

Estas estructuras hidrofóbicas, es decir, son solubles en solventes orgánicos pero insolubles en agua. Numerosos estudios han encontrado una asociación entre su consumo y la mejora de la salud humana. Dependiendo de su origen, el consumo en ácidos grasos puede alcanzar resultados benéficos o adversos. Por una parte, el sobreconsumo de triglicéridos “trans” o colesterol de baja densidad (LDL) se relaciona con problemas de salud crónicas y agudas, tales como, obesidad y diabetes (Decker y col., 2012; Chen y col., 2013)

1.2.1 Ácidos grasos saturados

Los ácidos grasos saturados (AGS) son de síntesis endógena, necesarios para algunas funciones fisiológicas y estructurales. Los ácidos grasos son compuestos anfipáticos, es decir, poseen una porción polar y una apolar en la molécula. Su porción polar (el grupo carboxilo ionizado, COO^-), interactúa con el agua y otros disolventes polares, en tanto que la cadena apolar hidrocarbonada interactúa con compuestos apolares, el carácter anfipático de los ácidos grasos es el fundamento de su acción detergente. En la Figura 2 se muestra la estructura de los principales ácidos grasos saturados presentes en el aceite de chía.

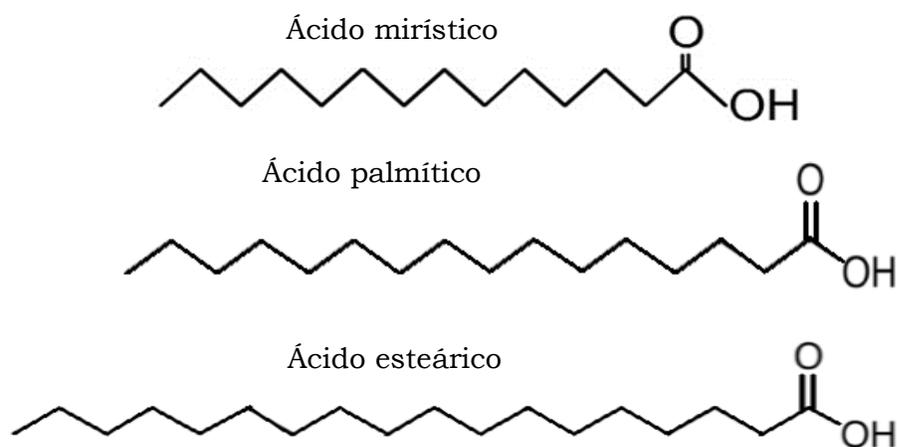


Figura 2.- Estructura química de ácidos grasos saturados.

Cabe destacar que en el aceite de chía están presentes ácidos grasos saturados como el ácido mirístico 0,08 %, ácido palmítico 7,29 % y el ácido esteárico 3,84% (Jiménez y col., 2013).

1.2.2 Ácidos grasos insaturados

Los ácidos grasos insaturados pueden presentar uno o más dobles enlaces. Al numerar los carbonos que participan en el doble enlace solo se hace referencia al que posee la numeración menor; a este número se le suele anteponer la letra griega delta mayúscula (Δ), que indica la presencia de una insaturación. Los dobles enlaces también se especifican por su localización a partir del número del carbono donde se ubica el primer doble enlace, pero contando a partir del extremo CH_3 de la cadena hidrocarbonada (carbono ω), la cual es empleada para establecer las series de los ácidos grasos poliinsaturados.

Un ejemplo de ácidos grasos insaturados es ácido oleico (C; 18:1, n-9), el consumo de este ácido se asocia con una disminución de enfermedades cardiovasculares, este ácido graso está presente en el aceite de chía (Sanders, 2000), en la Figura 3 se representa su estructura química.

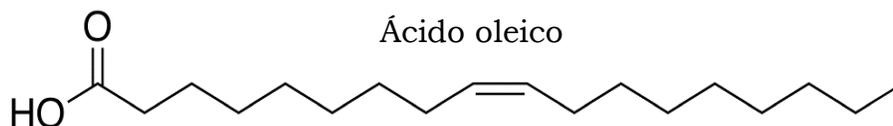


Figura 3.- Estructura química de un ácido graso insaturado.

1.2.3 Ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) se han clasificado en tres series o familias, teniendo en cuenta que los dobles enlaces adicionales se añaden solo entre el átomo de carbono donde se localiza el primer doble enlace (a partir del carbono ω y el carbono vecino hacia el lado del grupo COOH). Por ello las tres series son omega 9, omega 6 y omega 3 (Cardellá, 2007).

Los de mayor importancia son los ácidos linoleico (LA) y α -linolénico (ALA), los cuales son esenciales ya que no pueden ser sintetizados en el organismo y deben, por lo tanto, ser obtenidos a partir de la dieta, constituyen un sustrato fácilmente oxidable.

Los ácidos grasos esenciales son necesarios para un crecimiento y desarrollo normales, así como para diversas funciones fisiológicas. Poblaciones con un alto consumo de pescado, no solo presentaban una tasa muy baja de infartos al miocardio sino también de otras afecciones como la hipertensión, artritis reumatoide y depresión, etc. Asimismo, a partir de los años 80 se reconoció la importancia de los omega-3 en la función visual y cerebral de los niños y adultos (Castellanos y Rodríguez, 2015). Desde entonces los ácidos grasos de cadena larga como omega-3 y omega-6 o ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), han sido objeto de investigaciones que buscan relacionar su estructura y estabilidad química con los procesos metabólicos y efectos benéficos en la salud humana.

La familia de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 deriva del ácido α -linolénico (ALA, C18:3), el cual a partir de enzimas elongasas y desaturarasas puede generar la biosíntesis de otros ácidos grasos poliinsaturados esenciales como el ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5) y el ácido docosahexaenoico (DHA, C22:6), los cuales se representan su estructura química en la Figura 4.

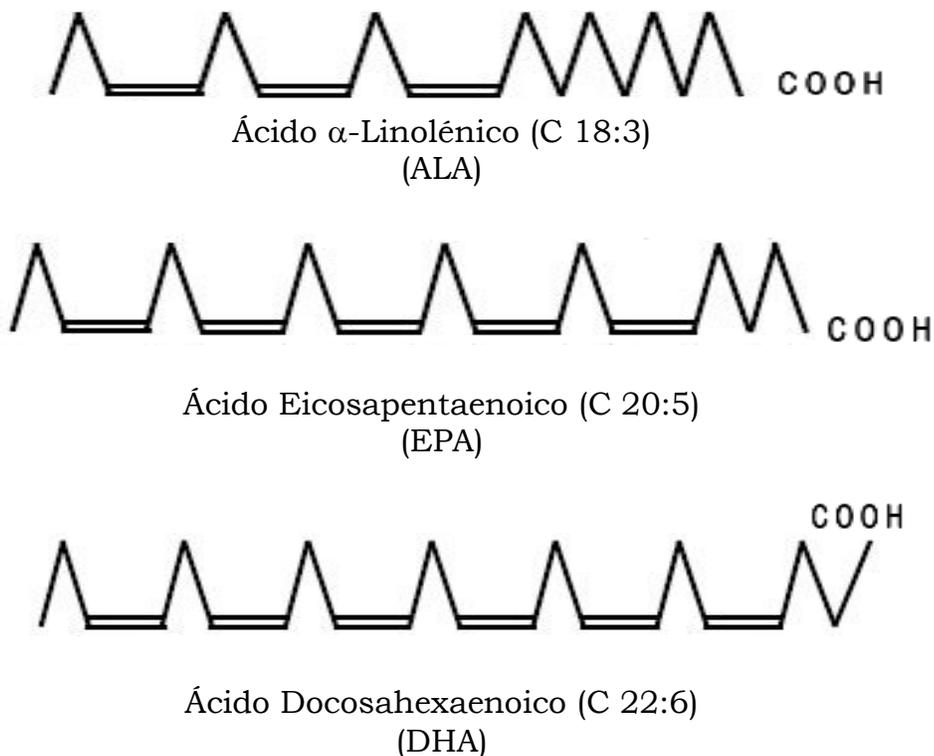


Figura 4.- Estructura química de ácidos grasos omega-3.

En las últimas tres décadas se ha estudiado los beneficios de una ingesta rica en DHA y EPA sobre sistemas celulares, ensayos clínicos y estudios epidemiológicos (Sanders, 2000; McCann y Ames, 2005; Pop, 2011; Chen y *col.*, 2013; Walker y *col.*, 2014). Algunos beneficios que se pueden resaltar son: impulso en las habilidades intelectuales en infantes o en desarrollo gestacional (McCann y Ames, 2005). Previene artritis reumatoide, enfermedades cardiovasculares, reduciendo los triglicéridos y colesterol LDL en el plasma sanguíneo e inhiben arritmias cardíacas y mejoró significativamente los signos y síntomas de ojo seco en pacientes con rosácea (Castro, 2002; Pop, 2011; Weatherhead y Mellor, 2011; Bhargava y *col.*, 2017).

Estudios epidemiológicos también asocian la ingesta de ácidos grasos omega-3 en la prevención de cáncer, incluidos dentro de estos el cáncer de mama, colon, próstata y páncreas (Chen y *col.*, 2013), así mismo se le atribuyen efectos benéficos contra el estrés, ansiedad y enfermedades como la diabetes, el Alzheimer y degeneración macular asociada con la edad (DMAE) (Goyal y *col.*, 2015; De la Paz y *col.*, 2017).

Los ácidos grasos presentes en el aceite de chía, se caracteriza por un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, destacando la presencia de los ácidos grasos esenciales (linoleico y linolénico), con un promedio entre ambos de un 70% aproximadamente, se identificó principalmente ácido linolénico 51.82%, contienen ácido linoleico con un 19.6%, también está presente el ácido oleico con 8.91% (Jiménez y *col.*, 2013).

Una alternativa viable a la ingesta directa de EPA y DHA es el consumo de ácidos grasos omega-3 procedentes de fuentes vegetales. El más abundante de ellos es el ácido α -linolénico (18:3, ALA) el cual se encuentra en aceites extraídos de nuez, lino, soya, chía y rosa mosqueta (Rincón y *col.*, 2015). Actualmente los cambios en los patrones de alimentación han provocado un mayor consumo de semillas con aceites de alto contenido de ácido linolénico y ácido linoleico o del aceite mismo, es una herramienta interesante para aumentar el aporte de ácidos grasos omega-3 y omega-6 la dieta.

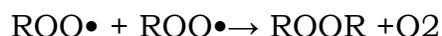
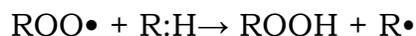
Una alternativa la constituyen los aceites de semillas como la linaza (*Linum usitatissimum*), rosa mosqueta (*Rosa rubiginosa*) y chía (*Salvia hispanica*) que ésta última es el tema central de este trabajo, los cuales se caracterizan por un alto contenido de ácido linolénico en su composición (Contreras y Jiménez, 2012). Los alimentos con ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) son susceptibles a la oxidación y hablaremos de ese tema.

1.2.4 Mecanismos de oxidación

La autooxidación o rancidez oxidativa es una de las transformaciones más habituales en los alimentos que contienen sustancias insaturadas; consiste esencialmente en la oxidación de los ácidos grasos con dobles ligaduras. El nombre de autooxidación se debe a que es un mecanismo que genera compuestos que a su vez mantienen y aceleran la reacción. Los productos sintetizados confieren el olor característico a las sustancias oxidadas (Pereyra y col., 2017) y que pueden llegar a ser dañinos para el cuerpo humano; también aparece sabores a rancio, se altera el color y la textura de los productos.

El proceso de autooxidación da inicio cuando un átomo de hidrógeno ($H\bullet$) es abstraído de un ácido graso insaturado ($R:H$) formando un radical alquilo ($R\bullet$). La generación de este radical lipídico es termodinámicamente desfavorable y se inicia por la presencia de un iniciador como los radicales libres, el oxígeno singlete (O_2) o pigmentos que actúan como fotosensibilizadores. Con el fin de estabilizar, el radical alquilo ($R\bullet$), por lo general se somete a un cambio en la posición del doble enlace (cis a trans) y la producción de un sistema dieno conjugado. El $R\bullet$ puede reaccionar con O_2 para formar el radical piróxilo ($ROO\bullet$) de gran energía, el que puede entonces abstraer un ($H\bullet$) de otro ácido graso insaturado para formar un hidro-peróxido ($ROOH$) y un nuevo radical ($R\bullet$). Este proceso se propaga entonces a otro ácido graso. El hidroperóxido forma los radicales alcoxi ($RO\bullet$) e hidroxilo ($RH\bullet$) que pueden abstraer $H\bullet$ de los ácidos grasos insaturados o reaccionar con sistemas conjugados continuando la reacción en cadena.

Finalmente, las reacciones indican la terminación de la reacción, cuando 2 especies de radicales se combinan para formar una especie no radical (ROOR) (Isaza, 2013; Villanueva y *col.*, 2017).



La autooxidación de los aceites genera pérdida del valor nutricional, siendo el principal factor de calidad en muchos alimentos. Los hidroperóxidos son los productos primarios de la oxidación, su estructura depende del ácido graso original, así que se produce una mezcla de hidroperóxidos isómeros; y especialmente los correspondientes a los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), son altamente inestables, producen nuevos radicales que alimentan la reacción, interaccionan con otras moléculas, se polimerizan e incrementan la viscosidad, se oxidan, su ruptura genera compuestos secundarios y terciarios entre los que se encuentran aldehídos, cetonas, ésteres, oxoácidos, oxoésteres, compuestos aromáticos, epóxidos, ácido fórmico, ácidos grasos de bajo peso molecular, radicales alquilo y alcoxilo. La velocidad de oxidación se incrementa por varios factores como exposición al oxígeno, temperatura, irradiación y metales pesados; (Tello y *col.*, 2010). Todas estas reacciones se pueden evaluar por medio de la estabilidad oxidativa

1.3 Estabilidad oxidativa

La estabilidad oxidativa de los aceites podría definirse como su resistencia a la oxidación. Este es un indicador importante del rendimiento y la vida útil de los lípidos, y depende de la composición del aceite, de las condiciones de procesamiento y almacenamiento. La determinación de la estabilidad oxidativa de los aceites se realiza por métodos estáticos tales como el índice de peróxidos, p-anisidina, dienos y trienos conjugados o métodos dinámicos que están estandarizados como el Índice de Estabilidad Oxidativa (OSI) por Rancimat (AOCS, Cd 12b-92) (Guillén y Cabo, 2002; Rodríguez y *col.*, 2015).

Las propiedades de los aceites vegetales están determinadas por su composición de ácidos grasos. Un alto contenido de ácidos grasos insaturados disminuye la estabilidad térmica-oxidativa. El aceite de chía tiene una estabilidad oxidativa pobre; por acción de la luz, la temperatura y el oxígeno, forman compuestos oxigenados polares que resultan en depósitos insolubles, aumentando la acidez, la corrosión, la viscosidad y la volatilidad del aceite (Delgado y Aperador, 2014).

Estas son las principales razones del deterioro de los aceites y grasas comestibles durante el almacenamiento o tratamiento térmico, disminuyendo la calidad y seguridad nutricional debido a sus productos de degradación (Calsin y *col.*, 2016). Para prevenir o retrasar la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) se cuenta con elementos inhibidores como los antioxidantes.

1.4 Antioxidantes

La oxidación de los aceites vegetales se puede controlar o retardar usando adecuadamente antioxidantes. Éstos se clasifican en primarios y secundarios según su modo de acción. Los de tipo primario o interruptores de cadena, actúan en la etapa de propagación reaccionando con los radicales para convertirlos en compuestos más estables; los antioxidantes secundarios, reducen la velocidad de la etapa de iniciación de formación de radicales libres.

En aceites vegetales, los antioxidantes sintéticos más empleados son los terminadores de radicales libres tales como butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) o terbutil dihidroquinona (TBHQ).

Sin embargo, desde el punto de vista de la seguridad alimentaria los antioxidantes sintéticos están sujetos a constantes cuestionamientos y restricciones dado a que se ha reportado que serían carcinogénicos (Isaza y *col.*, 2013; Delgado y *col.*, 2015).

Los antioxidantes naturales son aquellas que provienen principalmente de plantas en forma de compuestos fenólicos. Estos compuestos constituyen uno de los principales grupos de compuestos que actúan como antioxidantes primarios o terminadores de radicales libres. Se menciona que los antioxidantes naturales que estabilizan la oxidación de lípidos son los tocoferoles, la vitamina C y polifenoles (Calsin y *col.*, 2016). Adicionalmente, la inclusión de antioxidantes naturales en los alimentos tiene beneficios para la salud humana, ya que protegen a los componentes celulares, como el DNA, las proteínas y lípidos del ataque de las sustancias reactivas al oxígeno (Valenzuela y Pérez, 2016).

El aceite de chía es una fuente de AGPI, como el ácido linolénico y ácido linoleico, éstos se han asociado efectivamente en beneficios para la salud cuando se incluyen en la dieta; generando entonces un gran interés por su incorporación en productos alimenticios. Este beneficio tiene un desafío para poder suplementar los alimentos con ácidos grasos omega-3, los AGPI son susceptibles a la oxidación, este problema puede controlarse con adición de antioxidantes sintéticos y mediante la emulsificación (Fustier y *col.*, 2015).

La percepción de etiqueta limpia ante el consumidor y al cambio en su alimentación, lleva a reemplazar los antioxidantes de origen animal o sintéticos por el riesgo sospechado para la salud o la baja estabilidad térmica de los antioxidantes naturales como el tocoferol, fomentando el interés de antioxidantes alternativos de origen vegetal (Siriwardhana y *col.*, 2004), como las proteínas o polisacáridos; por ejemplo, los hidrolizados de proteínas, pueden actuar como antioxidantes naturales que inhiben de manera efectiva la oxidación de lípidos.

La estabilidad oxidativa de las emulsiones se puede mejorar agregando polisacárido, éstos tienen propiedades de unión a metales de transición o de eliminación de radicales libres; tomando en cuenta que la capacidad de los polisacáridos aniónicos para mejorar la estabilidad oxidativa de las emulsiones depende del tipo de emulsionante y las condiciones ambientales (Xu y *col.*, 2017). En estudios recientes se han evaluado a las proteínas desde su actividad emulsionante, que, junto a algunos polisacáridos, ayudan a mejorar la estabilidad de una emulsión.

1.5 Hidrocoloídes como estabilizantes

El nombre de hidrocoloide engloba a sustancias naturales poliméricas solubles o dispersables en agua. Por esa razón se les puede considerar como fibras solubles. Aunque en este grupo también se incluye a los almidones y algunas proteínas, como la gelatina, generalmente el término hidrocoloide se aplica a sustancias de composición polisacárida (Castillo, 2014). Las proteínas, los polisacáridos y lípidos son biopolímeros importantes, que se usan ampliamente en la industria alimentaria y están a cargo de las propiedades reológicas, mecánicas y fisicoquímicas de los productos alimenticios.

Algunos de los criterios empleados para estudiar las propiedades funcionales de los hidrocoloídes son: su capacidad para encapsular aromas, sabores, pesticidas, fármacos; su capacidad para enlazar moléculas de agua y grasa; propiedades emulsificantes: su efecto sobre la reología y su textura; capacidad para formar geles y efectos sobre la cristalización (Sibaja y *col.*, 2015). Entre ellos tenemos hidrocoloídes dentro los cuales se destacan almidón, maltodextrina, jarabe de maíz, goma arábiga, agar, fibras y carboximetilcelulosa (Arteaga y Arteaga, 2016).

El mecanismo de estabilización depende de su capacidad de adsorción, algunos de ellos se adsorben en la interfaz aceite-agua (proteína), mientras que otros solo modifican la viscosidad (polisacáridos) de la fase acuosa debido a su naturaleza no absorbente (Quinzio y *col.*, 2018).

1.5.1 Carboximetilcelulosa (CMC)

La carboximetilcelulosa (CMC) es un polisacárido ampliamente usado en los sectores industriales incluidos los procesos textiles, papel, adhesivos, productos farmacéuticos, pinturas, procesamiento de minerales y cosméticos (Daz y col., 2018). Se trata de un polímero orgánico, no tóxico y biodegradable. Debido a su carácter hidrofílico (contiene algunos grupos hidrofóbicos y muchos grupos hidrofílicos carboxilo), alta viscosidad en soluciones diluidas, inocuidad y buenas propiedades para formar películas tiene diferentes aplicaciones industriales de acuerdo con el grado de sustitución.

En la industria alimentaria se emplea como estabilizante debido a sus propiedades de viscosidad y retención de agua (Wang y Somasundaran, 2005). Es en esencia un polisacárido soluble en agua y en soluciones agua-etanol. En la Figura 5 se puede observar la estructura monomérica de la CMC.

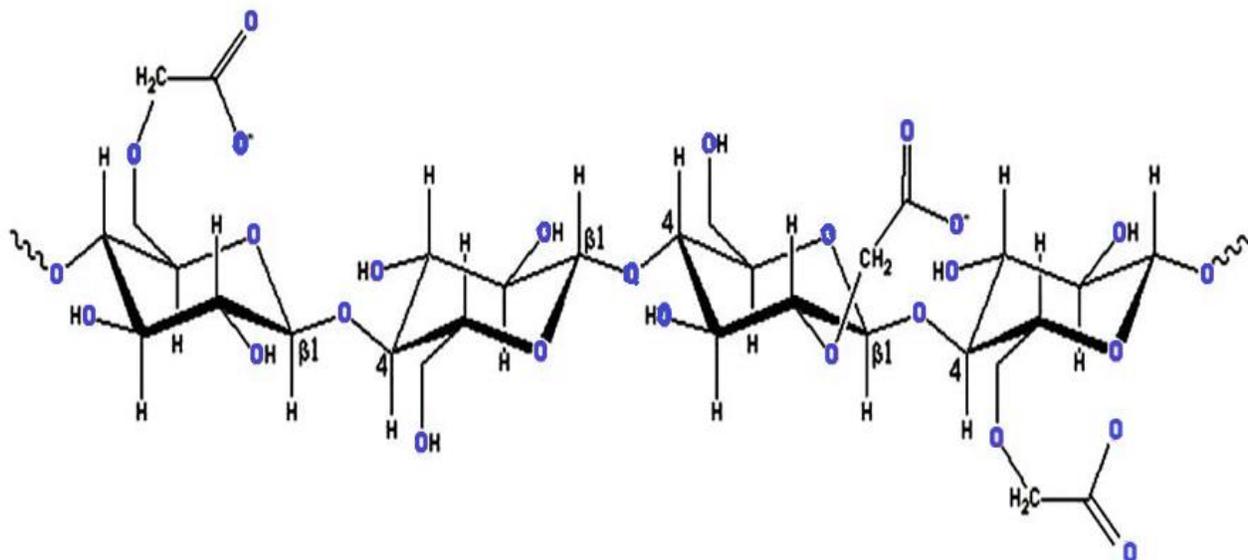


Figura 5.- Estructura monomérica de CMC (Wang y Somasundaran, 2005).

La CMC es un polisacárido lineal aniónico derivado de la celulosa regenerada con ácido hidroacético o monocloraacetato de sodio. La cadena principal consiste en residuos de D-glucosa unidos por enlaces β -1,4 y es producida como sal de sodio (Zhivkov, 2013).

Es un ligante del agua del medio que ofrece buena funcionalidad a diferentes temperaturas ya que es soluble tanto en frío como en caliente. Es compatible con otras gomas de uso alimenticio, como almidones y alginato, para minimizar la posible sinéresis (Valencia y *col.*, 2008).

Martínez (2015) realizó un estudio donde observó que el aumento en la concentración de metilcelulosa (MC), de carboximetilcelulosa (CMC) o de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) aumenta la firmeza de la miga en la elaboración de pan libre de gluten. El proceso de producción de estos hidrocoloides se realiza mediante la sustitución de hidrógeno en el grupo hidroxilo de la celulosa con metiléter, carboximetil ($(-\text{CH}_2\text{COO})^-$) o grupos hidroxipropilo, en condiciones alcalinas.

La celulosa modificada produce polímeros solubles en agua, con una afinidad por la fase no polar de la masa; por consiguiente, la afinidad neta de las fases acuosa y no acuosa de la masa ayuda a mantener la uniformidad y la estabilidad de la emulsión de la masa.

Los hidrocoloides o gomas han tenido un amplio campo de aplicación en la industria alimentaria como estabilizante, emulsionante o espesante. Aunque no contribuyen al aroma, sabor o poder nutritivo de los alimentos, pueden incidir en su aceptabilidad mejorando su textura o consistencia (Cárdenas y *col.*, 2013).

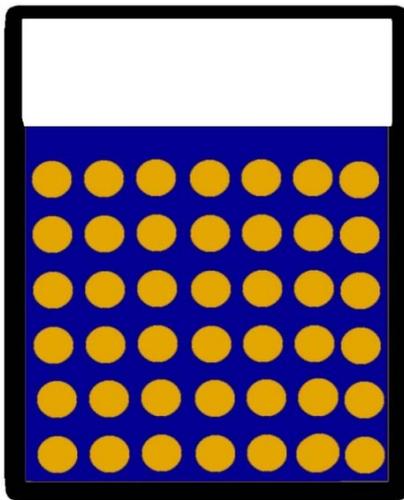
La goma xantana (GX) y carboximetilcelulosa sódica (CMC), son polímeros hidrofílicos aplicados para proveer estabilidad física en bebidas que se comportan como dispersiones coloidales o suspensiones, y prevenir la separación de fases que la componen (Contreras y *col.*, 2016).

Una alta capacidad de unión al agua de los grupos funcionales carboximetil permite a la CMC proporcionar una excelente estabilidad a la emulsión O/W sin separación de fase (Quinzio y *col.*, 2018). Otra aplicación de las gomas, puede ser al utilizar mezclas proteína-polisacárido para la estabilización de las gotas externas en emulsiones dobles, se han estudiado diferentes proteínas incluyendo la proteína aislada de suero de leche (Dickinson, 2011), a continuación, tomaremos el tema de las emulsiones.

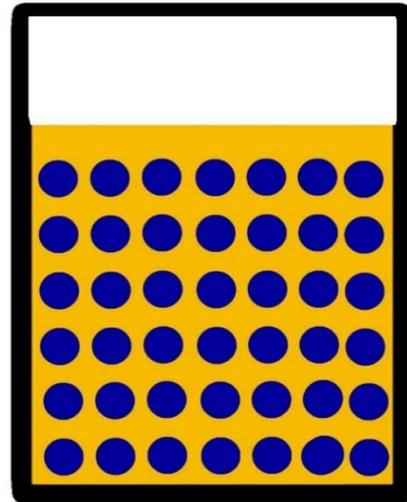
1.6 Emulsiones

Una emulsión es una dispersión coloidal de un líquido dentro de otro, en el cual es normalmente inmisible o parcialmente miscibles (Villanueva y *col.*, 2017). La fase dispersa se obtiene al romper uno de los líquidos por medios mecánicos en pequeñas gotas, entre 0.1 y 10 mm, que se distribuyen en la fase continua o dispersante (Badui, 2006).

Las emulsiones se clasifican de acuerdo a su composición de las fases en la Figura 6, se pueden distinguir los siguientes tipos: Emulsión O/W u oleoacuosa: la fase externa es acuosa y la interna es oleosa, la emulsión W/O o acuooleosa: la fase externa es oleosa y la interna es acuosa.



A) Emulsión tipo O/W



B) Emulsión tipo W/O

Figura 6.- Tipos de emulsión en base a composición de las fases.

Se pueden clasificar en emulsiones múltiples: son sistemas polifásicos W/O/W (una fase acuosa pequeña se incluye en otra oleosa más grande, que a su vez está dispersa en una acuosa) u O/W/O (una fase oleosa pequeña se incluye en otra acuosa más grande, que a su vez está dispersa en una oleosa (Olmos, 2017).

Según su tamaño: Macroemulsión $d < 100 \mu\text{m}$., Nanoemulsión $d < 100 \text{ nm}$ y Microemulsión $d < 50 \text{ nm}$ (Gómez y Jiménez, 2014).

El estudio de las emulsiones es de gran interés, tienen lugar en muchos alimentos naturales y procesados o algunos alimentos ya están emulsionados en ciertas etapas de producción. Se pueden mostrar como ejemplos de emulsión, alimentos como la leche, la crema, la mantequilla, la margarina, el jugo, la sopa, el pastel, la mayonesa, el licor de crema, la crema de café, la salsa y el helado (Serdaroğlu y col., 2015). Se pueden utilizar estructuras anfifílica como emulsionantes de alimentos, comentaremos esto a continuación.

1.6.1 Estructuras anfifílica como emulsionantes

Los agentes emulsionantes (AE) son ingredientes muy importantes que tienen un papel esencial para asegurar la emulsificación y la estabilidad en la formación de emulsiones en soluciones acuosas (McClements, 2005); además aporta al menos una cierta estabilidad física durante un tiempo, dependiendo de la composición, características de procesamiento y condiciones externas durante el almacenamiento. (Muñoz y col., 2007), en la Figura 7 se puede observar su estructura de un emulsionante.

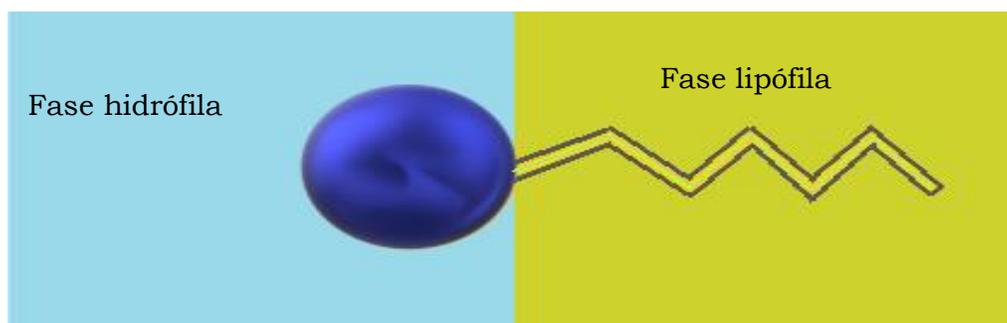


Figura 7.- Estructura anfifílica de un emulsionante.

Un emulsionante es una molécula anfifílica, que tiende a migrar y adsorberse rápidamente en la interfase aceite-agua, favoreciendo la formación de gotas con un menor consumo de energía, y por tanto la formación de la emulsión, al reducir la tensión interfacial entre la fase lipófila (oleosa o apolar) y la hidrófila (acuosa o polar). La parte apolar o hidrófoba del agente tensioactivo generalmente es una cadena simple de hidrocarburo la cual contiene principalmente grupos olefinicos.

Los emulsionantes pueden ser sintéticos; por ejemplo, ésteres de sacarosa, ésteres de poliglicerol, etc. Pueden estar compuestos por macromoléculas más grandes, como las proteínas (Lam y Nickerson, 2013), pueden ser derivados de origen animal (huevo y leche) y origen vegetal (soja, guisantes, altramuces, gluten de trigo), las cuales se están usando cada vez más.

Los agentes tensioactivos se pueden clasificar en función de la naturaleza iónica de la cabeza. Los agentes tensioactivos aniónicos presentan la cabeza hidrófila con carga negativa, todos ellos poseen un contra-ion positivo; catiónicos presentan una cabeza positiva y contra-iones negativos; anfóteros (o zwitteriónicos) contienen cargas positivas y negativas en la misma molécula, convirtiéndola en moléculas neutras sin contra-iones, no iónicos carecen de grupos polares cargados, pero poseen grupos como los etoxilatos, $-(OCH_2-CH_2)_mOH$, que muestran gran afinidad hacia las moléculas de agua debido a las fuertes interacciones dipolodipolo en los enlaces de hidrógeno (Chen, 2015).

Desde un punto de vista cuantitativo, se distinguen en la literatura tres conceptos con denominaciones similares, pero definiciones diferentes: HLB, número HLB y la temperatura HLB, o PIT (temperatura de inversión de fases).

La temperatura HLB o PIT, (temperatura de inversión de fases) es una propiedad de la emulsión en sí y no del emulsionante. Es la temperatura a la que las propiedades hidrófilas y lipófilas de un tensioactivo no iónico se equilibran. En el caso de los tensioactivos iónicos, el HLB no varía significativamente con la temperatura, pero si es sensible a la presencia de cotensioactivos.

El HLB indica la tendencia dominante, hidrófila o lipófila, de un emulsionante en una formulación y condiciones externas concretas. Es decir, es sensible al tipo de la fase oleosa de la emulsión, a los tipos y concentraciones de aditivos presentes tanto en la fase acuosa como en la oleosa y también a la temperatura.

El número HLB de un surfactante da una indicación útil de su solubilidad en cualquiera de las fases de aceite y / o agua y se puede usar para predecir el tipo de emulsión que se utilizará formado por un surfactante.

El número HLB se asocia a la estructura química de cada emulsionante, independientemente de las condiciones específicas de su aplicación. Es uno de los criterios principales para la selección de los tensioactivos a emplear en emulsiones. La Tabla 2 presenta una selección de tensioactivos y sus correspondientes HLB.

Tabla 2.- Tensioactivos comerciales usados como emulsionantes

Tensioactivos comerciales		HLB
Span 85	Trioleato de sorbitano	1,8
Monestriol GE	Monoestearato de glicerina	3,8
Span 80	Monooleato de sorbitano	4,3
Span 60	Monoestearato de sorbitano	4,7
Brij 52	Hexadecil eter dietoxilado	5,3
Span 40	Monopalmitato de sorbitano	6,7
Span 20	Monolaurato de sorbitano	8,6
Brij 30	Lauril eter polietoxilado	9,7
Brij 97	Oleil eter polietoxilado	12,4
Triton X-100	Octilfenol polietoxilado	13,5
Tween 20	Monoestearato de sorbitano polietoxilado	14,9
Tween 80	Monooleato de sorbitano polietoxilado	15
Tween 40	Monolaurato de sorbitano polietoxilado	16,7

(Muñoz y col., 2007).

Si el emulsionante tiende a ser soluble en agua será útil para formar emulsiones O/W. Por el contrario, si su parte apolar es dominante se disolverá preferentemente en un medio oleoso y, como consecuencia, será más útil para la formación de emulsiones W/O. Los emulsionantes con número HLB entre 8 y 18 se recomiendan para formar emulsiones O/W, como bebidas, aderezos, postres y cremas para café.

En el caso de las emulsiones W/O, los intervalos varían según la fuente consultada: entre 4 y 6 o entre 3 y 6. Moléculas con valores HLB inferiores a 3 (muy hidrófobos) y superiores a 18 (muy hidrófilos) a menudo no son particularmente tensioactivos porque tienden a acumularse preferentemente en el agua a granel, en lugar de en una interfaz de aceite-agua. Es posible ajustar el HLB "efectivo" valor mediante el uso de una combinación de dos o más surfactantes con diferentes números HLB.

Muchas proteínas son tensioactivas por naturaleza anfifílica; porque contienen una mezcla de aminoácidos hidrófilos e hidrófobos a lo largo de sus cadenas polipeptídicas y tienen capacidades de formación de película (Sun y Gunasekaran, 2009). La proteína se adsorbe a las superficies de las gotitas de aceite, donde facilitan una mayor ruptura de las gotitas al disminuir la tensión interfacial y retardar la coalescencia de gotas. En la Figura 8 se puede observar a la proteína como estructura anfifílica, los puntos rojos representan restos hidrófobos que se encuentran en las proteínas.

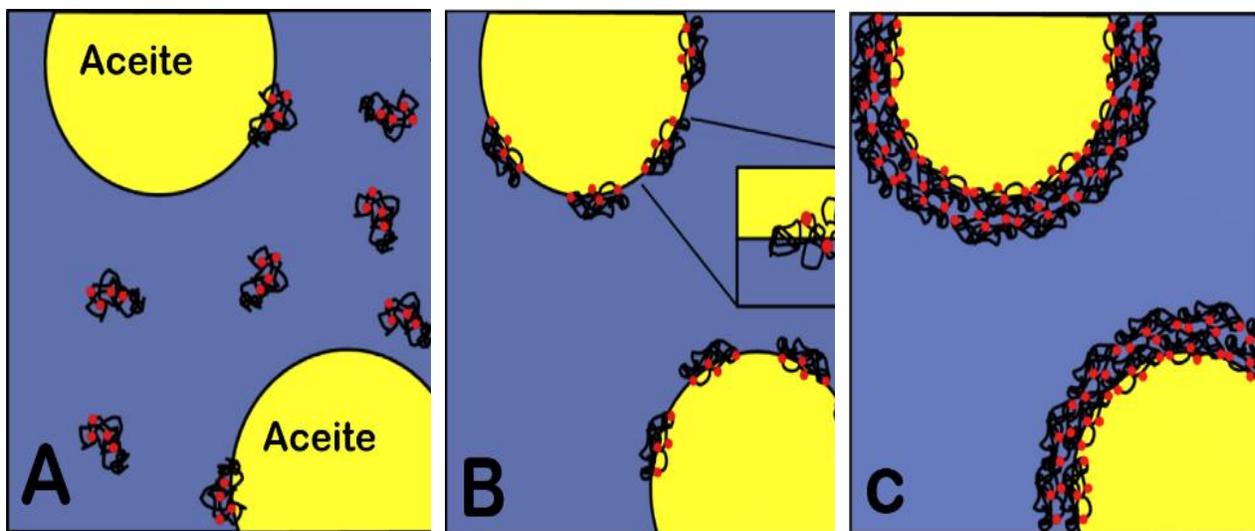


Figura 8.- Proteína como estructura anfifílica (Lam y col., 2013).

A diferencia de los emulsionantes de peso molecular pequeño que se difunden rápidamente a la interfaz para la formación de emulsiones, las proteínas tienden a ser más voluminosas y difusas a una velocidad mucho más lenta.

Para Lam y col., (2013) en la Figura 8 A se observa cómo actúan las proteínas una vez en la interfaz, a menudo se necesita cierto nivel de desenredado parcial para exponer los aminoácidos hidrófobos enterrados a la superficie. Las proteínas luego se vuelven a alinear para colocar sus aminoácidos hidrófobos de superficie dentro de la fase oleosa y los aminoácidos hidrófilos dentro de la fase acuosa (Figura 8 B). Una vez en la interfaz, se pueden desarrollar películas fuertes viscoelásticas (Figura 8 C) (Ozturk y McClements, 2016), que resisten las tensiones mecánicas. Debido a su actividad superficial, las proteínas suelen ser los agentes emulsionantes de elección sobre todo para la formación de emulsiones de tipo aceite en agua O/W.

También pueden estabilizar las gotitas de la agregación porque contienen aminoácidos que poseen cargas negativas ($-\text{COO}^-$) o positivas ($-\text{NH}_3^+$) y, por lo tanto, pueden generar una repulsión electrostática, (dependiendo de las condiciones del disolvente). Además, pueden inhibir la agregación a través de la repulsión estérica formando capas interfaciales gruesas o teniendo restos de carbohidratos unidos (dependiendo de la proteína) (Lam y Nickerson, 2013), estos temas se retomaran má

s adelante. Ya que, la capacidad de las proteínas para generar interacciones repulsivas (estéricas y electrostáticas) entre las gotitas de aceite y para formar una membrana interfacial desempeña un papel importante en la estabilización contra la floculación y la coalescencia durante el almacenamiento (McClements, 2004).

1.6.2 Proteína aislada de suero de leche (WPI)

Aproximadamente 90% del total de la leche utilizada en la industria quesera es eliminada como lactosuero el cual retiene cerca de 55% del total de ingredientes de la leche como la lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (Parra, 2009). La proteína aislada de suero de leche WPI (por sus siglas en inglés: *Whey Protein Isolated*) tienen como características importantes un 90% de proteína y entre 4-5,5% de agua.

Por su alta pureza, los WPI son usados extensivamente en suplementación nutricional, bebidas deportivas y medicinales. Han sido empleados como proteínas de alimentos funcionales en formulaciones de alimentos (carne, aves y productos de pollo) por sus propiedades aglutinantes, de extensión y modificación de textura, también de hidratación, gelificación, propiedades para formación de espuma y emulsificación de WPI.

Se han realizado emulsiones con proteína aislada de suero de leche y goma xantana (Sun y Gunasekaran, 2009; Sriprablom y *col.*, 2019), proteína aislada de suero de leche y carragenina (Lam y Nickerson, 2013), además estos productos son elaborados para la aplicación de agentes complejantes específicos los cuales se enlazan con proteínas, permitiendo su eliminación de lactosuero, utilizando absorbentes como carboximetilcelulosa u óxidos inorgánicos. Estas propiedades son el resultado de las interacciones entre sus componentes siendo los más importantes la β -lactoglobulina (β -lg), α -lactoalbúmina (α -la), seroalbúmina bovina (BSA), e inmunoglobulinas (Igs), y juntas representan alrededor del 78% de las proteínas totales (Jara y Pilosof, 2011; Motta y Mosquera, 2015).

La β -lactoglobulina (β -LG) es la abundante y tiene un peso molecular de 18.266 kDa, presenta dos isoformas (β -LG A y β -LG B), es una de las proteínas que más fácilmente forma geles, su presencia en el suero es especialmente importante; que difieren en dos aminoácidos, el ácido aspártico en la posición 64 y la valina en la posición 118. Por otro lado, la α -lactoalbúmina (α -LA) es la segunda proteína más abundante y posee una cadena polipeptídica de 123 aminoácidos y tiene un peso molecular de 14.2kDa (Chacón y *col.*, 2017).

Las proteínas y el aceite son dos ingredientes clave en las emulsiones alimenticias. La proteína aislada de suero de leche (WPI) se usa ampliamente como un emulsionante proteínico en emulsiones alimenticias. El WPI contiene regiones hidrófobas e hidrófilas y se puede adsorber rápidamente en la interfaz aceite-agua en forma de una película protectora, lo que proporciona un soporte estructural para las gotitas de aceite mediante una combinación de interacciones electrostáticas y estéricas.

Se ha informado que WPI posee la actividad antioxidante, lo que podría ser extremadamente beneficioso para los sistemas que contienen oxidantes. Componentes lábiles como la fase dispersa (Sun y Gunasekaran, 2009). Las proteínas y polisacáridos más utilizados en emulsiones alimenticias son la proteína aislada de suero de leche, la carragenina, la maltodextrina (Onsaard y col., 2013), goma arábica y goma xantana. En este trabajo se evaluará la capacidad de la CMC y del WPI para estabilizar las emulsiones O/W.

1.6.3 Mecanismos de formación de emulsiones

Para la formación de una emulsión se debe efectuar un proceso de conversión de la fase dispersa a gotas de tamaño pequeño y su distribución homogénea en la fase continua, para su formación es necesario aportar energía (en forma de calor, agitación, ultrasonido, homogenización, etc.) para formar la interfase entre las dos fases (continua y dispersa) y una cantidad de trabajo adicional para mezclar el sistema y contrarrestar la resistencia al flujo. Es por lo que a menudo se suministra calor al sistema para fundir y/o reducir la viscosidad de la fase oleosa. La estabilidad de una emulsión a través del tiempo se logra impidiendo que las gotas se mezclen después de haber sido formadas.

Por lo tanto, toda emulsión estable debe estar formada por tres sustancias, dos líquidos inmiscibles entre sí y un agente emulsionante apropiado que se adiciona a una de las fases antes de la formación de la emulsión (Badui, 2006).

Las propiedades fisicoquímicas de las emulsiones obtenidas dependen en gran medida de:

- (1) La fracción volumétrica de la fase dispersa (ϕ) que representa la concentración de la fase dispersa en el sistema, que generalmente oscila entre 0.1 y 0.4 (McClements, 2005) para una dispersión de mediano contenido o de 0.08 a 0.24 (Di Scipio y col, 2008), dispersión de bajo contenido, por ejemplo; leche, helados.
- (2) La distribución de tamaño de gotas producida durante la homogenización.
- (3) La composición y grosor de la membrana protectora alrededor de las gotas.

La homogenización permite crear una emulsión la cual esté compuesta por un tamaño de gota uniforme e ideal según las necesidades previamente establecidas (McClemets, 2010). El tamaño de gota generado durante la homogenización depende de la energía empleada, energía significativamente mayor que la fuerza interfacial. Algunos sistemas de homogenización son capaces de producir emulsiones con tamaño pequeño de gotas a partir de fases separadas de aceite y agua como la agitación mecánica, sistemas de microfluidización o ultrasonido de alta intensidad.

1.6.4 Mecanismos de inestabilidad de una emulsión

Las emulsiones son termodinámicamente inestables y al dejarla reposar por algún tiempo, el proceso de ruptura de las emulsiones puede ocurrir mediante mecanismos de inestabilidad diferentes, los procesos de desestabilización dependen de la distribución de surfactante en el sistema y esta distribución cambia continuamente a medida que dichos procesos evolucionan.

- *El cremado* describe el desplazamiento de las gotas a la parte superior debido a que presentan menor densidad que la fase continua. El cremado es directamente proporcional al tamaño de glóbulos, cuanto más grande sean los glóbulos, mayor será el cremado. A mayor viscosidad de la fase continua, menor será el cremado. Por lo tanto, para evitar el cremado en emulsiones, la viscosidad de la fase continua se incrementará añadiendo inductores de viscosidad apropiados como goma arábica, tragacanto, etc.
- *La sedimentación* describe una movilización de gotas hacia el fondo debido a que éstas presentan una mayor densidad que el medio en el cual se dispersan.

El cremado y la sedimentación se trata de un proceso causado por la acción de la gravedad y produce un gradiente vertical de concentración de las gotas sin variar la distribución del tamaño de las mismas, se origina como consecuencia de la diferencia de las densidades entre ambas fases.

➤ *La coalescencia:* Es la fusión de dos o más gotas para crear unas de mayor volumen, debido a la ruptura de la membrana o película de la interfaz que las separa. Este fenómeno sucede cuando la repulsión entre las gotas es muy débil, la tensión interfacial y la viscosidad son bajas, y la película de la interfaz es poco elástica. Finalmente, una *inversión de fases* es el proceso por el cual una emulsión del tipo O/W puede ser convertida en una emulsión W/O o viceversa (Leal y col., 2007). En la Figura 9 se observan los mecanismos de inestabilidad de una emulsión.

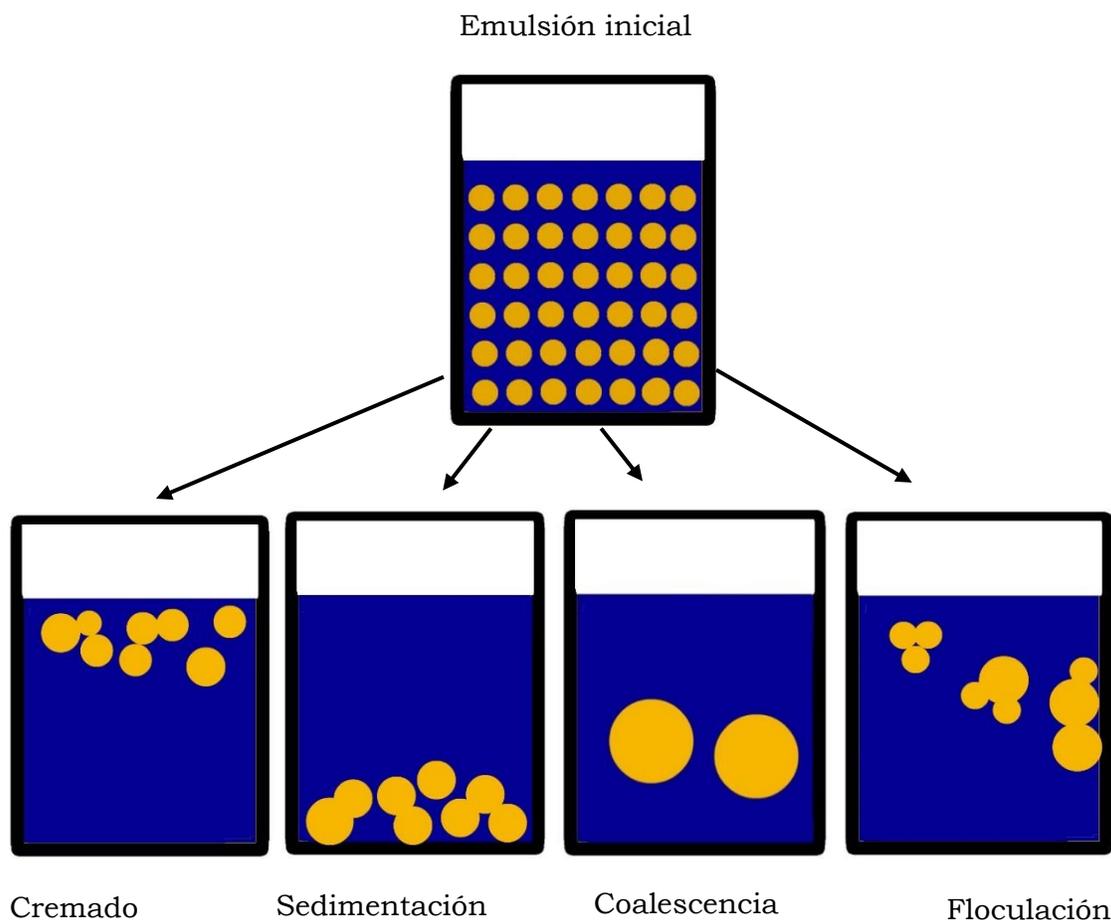


Figura 9.- Mecanismos de inestabilidad de una emulsión.

➤ *Floculación:* Es la adhesión de dos o más gotas sin fusionarse para formar un agregado y una vez más no existe una variación en la distribución de tamaño de gotas. La deformación de las gotas depende de su tamaño, gotas con radios más pequeños se comportan generalmente como partículas rígidas no deformables.

La adsorción de surfactante determina las propiedades interfaciales de las gotas tales como tensión, carga, movilidad del fluido, etc. Estas propiedades cambian la deformabilidad de las gotas, así como también sus potenciales de interacción y su mecanismo de coalescencia (Rhan y *col.*, 2012).

1.6.5 Estabilización de emulsiones

Lam y *col.*, 2013, describen a la estabilización estérica (Figura 10 A) o el impedimento estérico es un factor dominante cuando se trata con polímeros anfífilos que se usan como surfactantes macromoleculares, que se absorbe en la interfaz externa. Estos polímeros pueden mejorar la estabilidad de las emulsiones y retarda el transporte a través de las interfaces, ya que forman películas gruesas. En la Figura 10 podemos observar los mecanismos de estabilización de las emulsiones.

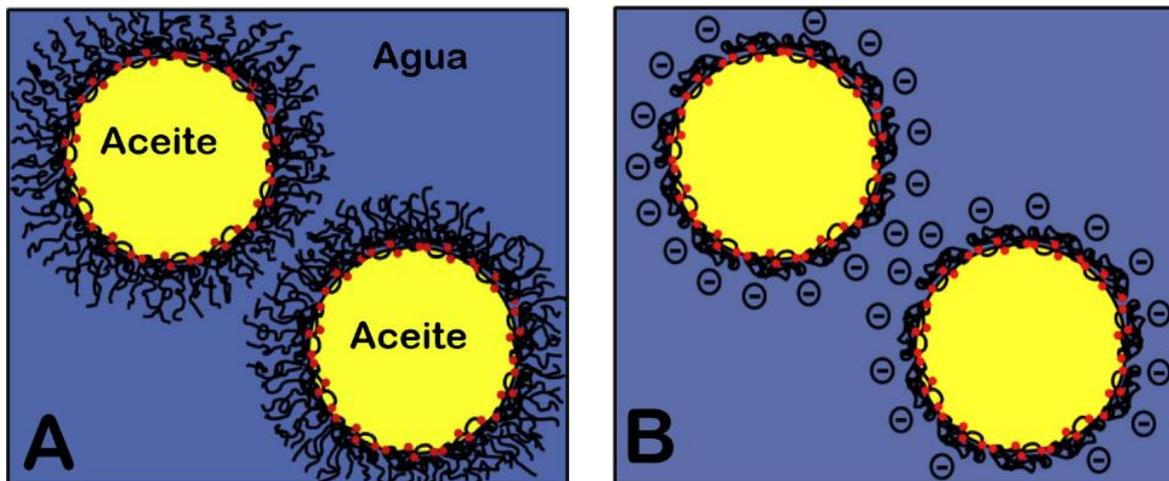


Figura 10.- Mecanismos de estabilización de emulsiones (Lam y *col.*, 2013).

La estabilización electrostática está relacionada con el efecto que las fuerzas electrostáticas repulsivas tienen en las gotas de la emulsión. Para que ocurra la coalescencia de las gotas en una emulsión, éstas deben estar en contacto unas con otras, para evitarlo, pueden mantenerse separadas por la repulsión entre sus superficies cargadas, se puede observar esto en la Figura 10 B (Paredo y Jiménez, 2012).

Se distinguen diferentes mecanismos principales: la estabilización por agotamiento por macromoléculas no adsorbentes que previenen la colisión entre gotas y proporcionan elasticidad al sistema; la repulsión electrostática entre dos gotas que llevan la misma carga; y la estabilización como resultado de las interacciones hidrofóbicas entre los polímeros adsorbidos.

Los polisacáridos son conocidos como agentes espesantes o gelificantes que modifican las propiedades de flujo. La mayoría de los polisacáridos son moléculas altamente hidrófilas que no son especialmente activas en la superficie, y por lo tanto no son buenos emulsionantes. En cambio, tienden a estabilizar las emulsiones al aumentar la viscosidad de la fase acuosa e inhibir así el movimiento de las gotitas (Serdaroğlu y *col.*, 2015; Yang y *col.*, 2018).

Estos tipos de polisacáridos a menudo pueden hacerse activos en superficie mediante la unión química o enzimática de grupos no polares o moléculas de proteínas a sus esqueletos hidrófilos. La estabilidad es proporcionada tanto por los agentes emulsionantes como por los agentes espesantes (Ozturk y McClements, 2016).

La adición de polisacáridos cargados negativamente que interactúan con proteínas puede formar una capa gruesa en la interfaz que previene la coalescencia, la parte de carbohidrato tiende a extenderse hacia la fase acuosa. Los polisacáridos naturales de alto peso molecular, como la goma arábiga, goma xantana, la carboximetilcelulosa, la pectina y el almidón modificado, se usan generalmente para estabilizar las emulsiones de aceite en agua.

En consecuencia, los complejos de proteína-polisacárido se usan normalmente para formar emulsiones con buena estabilidad en condiciones ácidas (Yildiz y *col.*, 2018). Las proteínas utilizadas comúnmente por la industria alimentaria para su capacidad emulsionante son: proteína aislada de suero de leche, soja y albúmina de suero bovino; además, las propiedades emulsionantes de los ingredientes de proteínas emergentes, como de leguminosas (habas, lentejas, guisantes y garbanzos) y semillas oleaginosas (canola y linaza) (Lam y Nickerson, 2013 y Ozturk y McClements, 2016).

1.6.6 Tensión superficial

La tensión superficial γ se puede interpretar, como la energía que se debe dar a un sistema líquido para aumentar su superficie en una unidad, venciendo la atracción entre sus moléculas (Domínguez y col., 2014). Termodinámicamente la tensión superficial es un fenómeno de superficie y es la tendencia de un líquido a disminuir su superficie hasta que su energía de superficie potencial sea mínima, condición necesaria para que el equilibrio sea estable. Como resultado de la existencia de la tensión superficial, es necesario entregar energía a un sistema para aumentar su superficie.

Existen varios métodos para la medición de la tensión superficial, los cuáles pueden ser el método de la máxima presión de burbuja, el método del estalagmómetro y volumen de gota (es una extensión del método del estalagmómetro, el método de la placa Wilhelmy, el método de ascensión capilar y el método del anillo Du Noüy. El método de Du Noüy o método del anillo, se puede observar el equipo en la Figura 11.

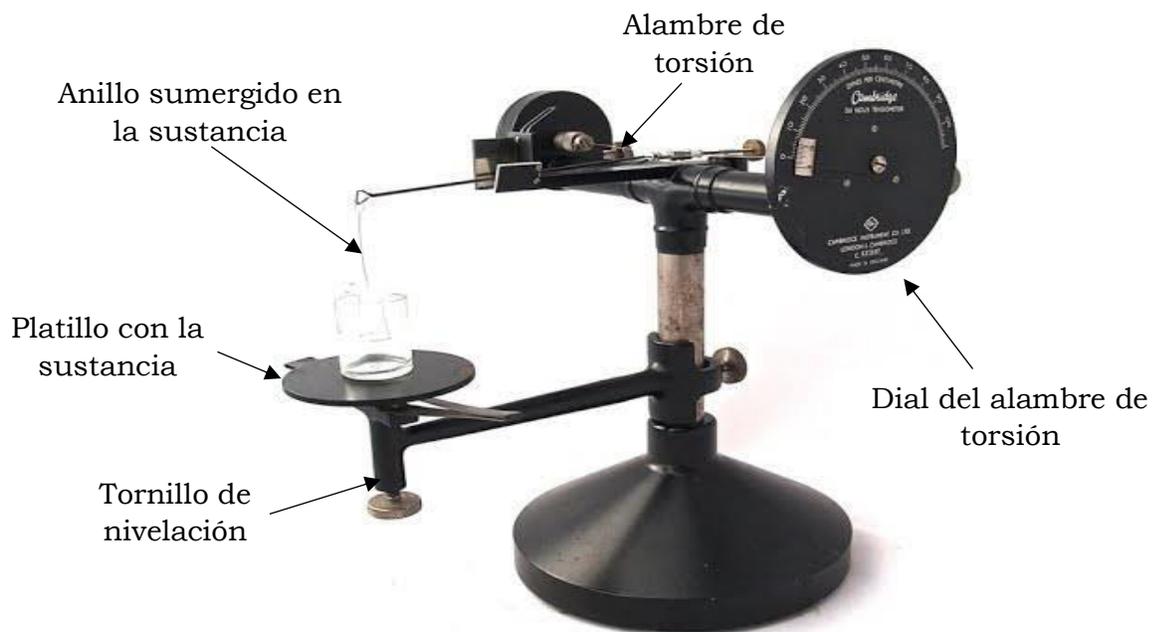


Figura 11.- Anillo de Du Noüy.

En éste, un dispositivo controlado levanta suavemente un anillo, generalmente de platino, que descansa sobre la superficie de un líquido hasta desprenderlo de ella. La fuerza necesaria para separar el anillo del líquido se relaciona con la medida de tensión superficial del líquido (Arias y col., 2018). Con los resultados obtenidos de la tensión superficial, a diferentes concentraciones de tensoactivo, podemos obtener la concentración micelar crítica del surfactante.

1.6.7 Concentración micelar crítica

La concentración de tensoactivos (surfactantes) en la que se alcanza la mínima tensión superficial es denominada concentración micelar crítica, es un parámetro característico para cada tensoactivo.; es también la concentración de tensoactivos por debajo de la cual las micelas se forman espontáneamente. En la Figura 12 se puede observar la representación esquemática de la concentración micelar crítica.

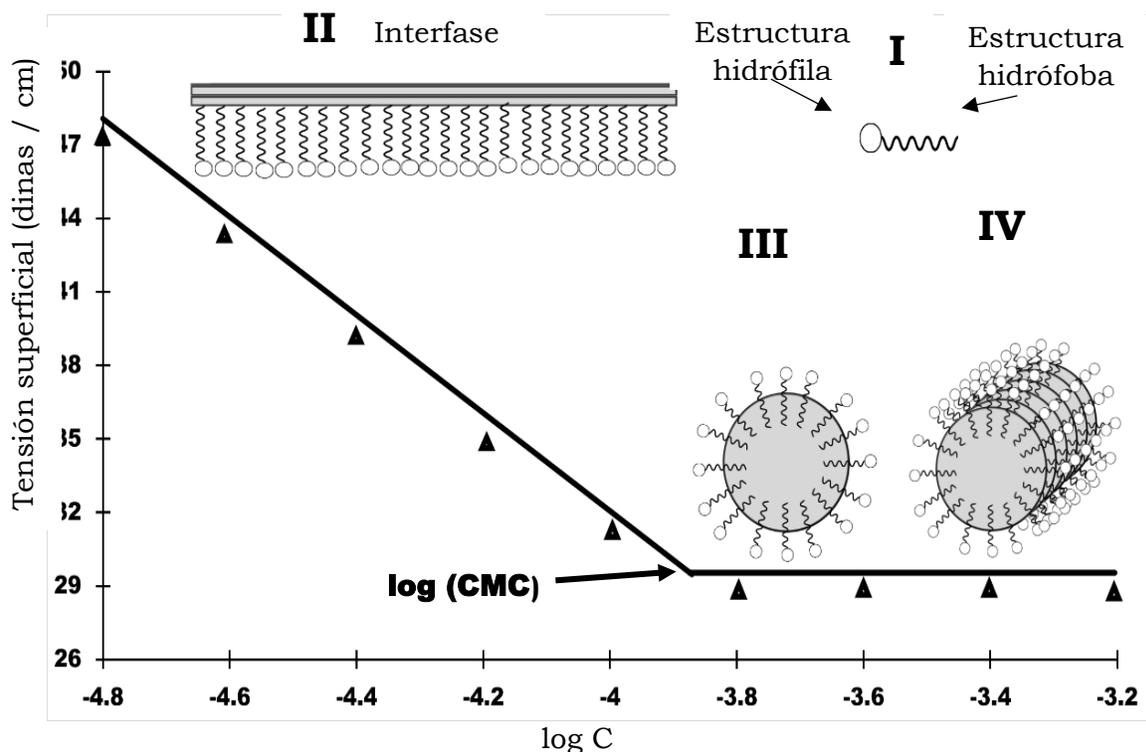


Figura 12.-Representación esquemática de la concentración micelar crítica.

Para valores inferiores a esta concentración, todo el tensoactivo presente en solución se encuentra en forma de monómeros ubicados en la interfase agua-aire formando el film superficial, o en el interior de la solución de forma aislada o en pares., mientras que, a valores más altos, algunas moléculas de tensoactivo se encuentran en forma micelar que son agregados de monómeros que adoptan diferentes geometrías. En la Figura 12 se describe lo mencionado anteriormente I) una molécula de tensoactivo, II) por debajo de la concentración micelar crítica, todo el tensoactivo se encuentra en forma de monómeros; III) por arriba de la concentración micelar crítica, el tensoactivo se encuentra formando micelas; IV) a concentraciones mucho mayores a la concentración micelar crítica se forman superestructuras como arreglos cilíndricos de micelas.

La concentración micelar crítica también puede calcularse a través de la medida de la variación de propiedades físicas como la conductancia eléctrica, presión osmótica y por espectros de absorción en la región del UV, en función de la concentración del surfactante (Rodríguez, 2012).

1.6.8 Potencial ζ .

El potencial es el potencial eléctrico que existe en el plano de corte de la partícula, con una distancia corta de la superficie. Las partículas coloidales dispersas en una solución están cargadas eléctricamente gracias a sus características iónicas y características de bipolaridad, sus unidades son milivoltios (mV) (Batalla y *col.*, 2014). Las proteínas tienen un comportamiento similar al que se presenta en la Figura 13, variación potencial ζ con respecto al pH.

Cuando se suministra un voltaje a una solución con partículas dispersas, las partículas son atraídas por el electrodo de polaridad opuesta, acompañados de la capa fija y parte de la capa doble difusa. Valores de -30 a 30 mV indican inestabilidad en el sistema, valores por debajo de -30 y arriba de 30 mV, indican aumento en la estabilidad, siendo ésta, cada vez mayor conforme aumenta (de forma absoluta) el valor de potencial Z (Kosegarten y Jiménez, 2012).

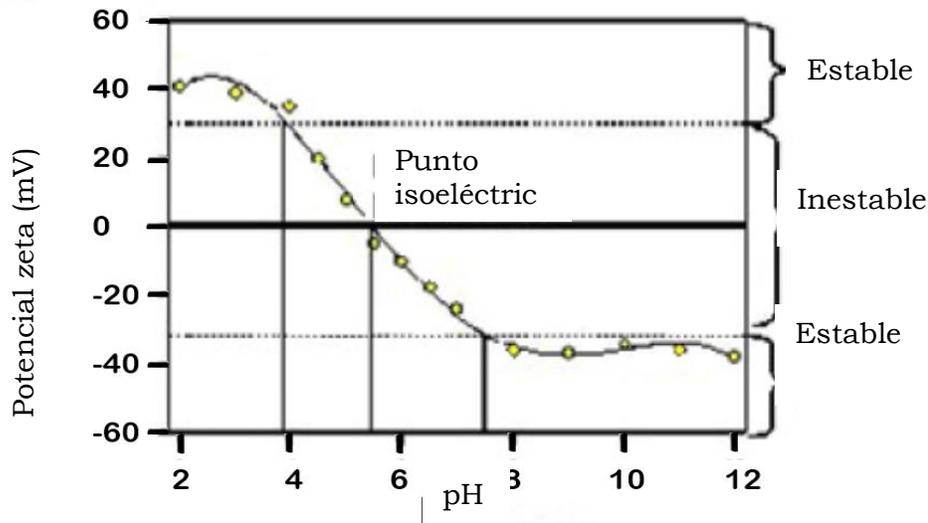


Figura 13.- Modificación del potencial Z en función del pH.

Las emulsiones se comportan como cualquier coloide y sus partículas (fase dispersa) en suspensión (en la fase continua) están cargadas en mayor o menor medida, lo cual hace repelerse unas con otras y evitar aglomeraciones que se darán más fácilmente entre menos carga exista.

La medición se realiza en una celda electroforética, con dos electrodos conectados a una fuente de poder, esto crea un campo eléctrico. Los coloides migran, y dependiendo de su movimiento y dirección se tiene el valor del potencial z dependiendo de su carga. Esta carga puede variar de fuerte a débil; entre mayor sea, mayor será la repulsión y más estable será la emulsión. Si no existe repulsión, las partículas tienden a unirse unas con otras, lo que provoca una separación de las fases, esto va de la mano con el tamaño de la partícula.

1.6.9 Tamaño de partícula

El tamaño de las partículas se puede describir con el diámetro de las mismas (Gómez y col., 2008). Sin embargo, esto es exacto solo en el caso de partículas esféricas.

Los tamaños de partícula se pueden describir en base a una esfera equivalente, combinando los parámetros de tamaño y forma e incorporando las variaciones de tamaño aparente. En la Figura 14, se puede observar un ejemplo. Posteriormente se usará este método para graficar nuestros resultados.

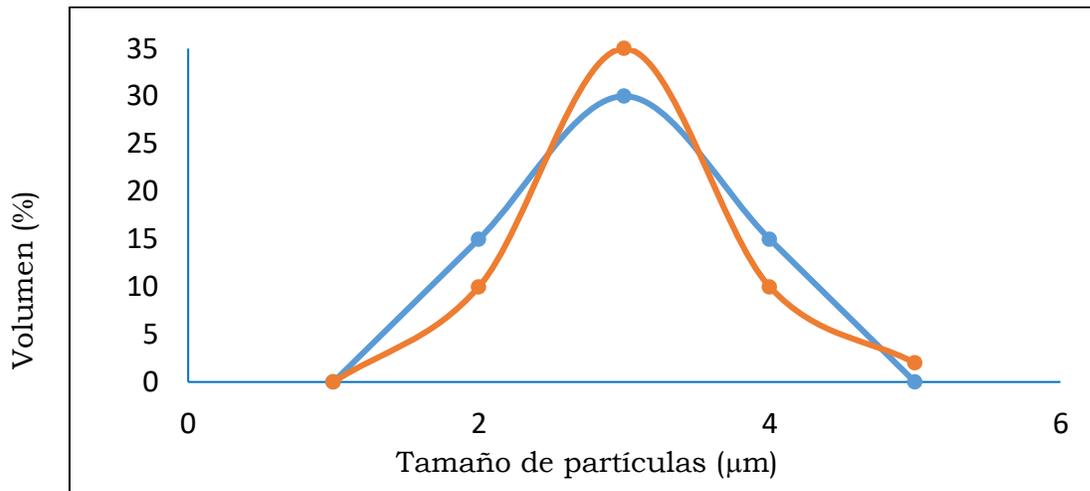


Figura 14.- Representación gráfica del tamaño de partícula en forma de histograma.

El número de las partículas divididas en clases designadas con un tamaño se grafica contra ese tamaño, formando un histograma.

También se puede usar la distribución acumulada de la frecuencia, cada punto corresponde con la cantidad o porcentaje de las partículas con tamaño menor, o mayor según que un diámetro específico

1.6.10 Reología

La reología alimentaria estudia las propiedades físicas que abordan las propiedades de textura de la materia prima alimentaria, el producto intermedio, el ingrediente y el producto final. (Wang y col., 2019). La Reología es la ciencia encargada de estudiar la deformación que sufren los materiales sometidos a esfuerzos externos. Una deformación continua del material a través del tiempo es un flujo del material y la deformación continua experimentada por el material es un fluido.

Entre los objetivos de la reología esta encontrar relaciones entre el esfuerzo aplicado y la velocidad de deformación. Diferentes fluidos se pueden comportar de diferente manera bajo la aplicación de un flujo, existen diversas ecuaciones que pueden definir una serie de modelos reológicos que intentan capturar el comportamiento real del fluido.

La ecuación más sencilla es la ley de Newton de la viscosidad $\sigma = \mu \cdot \dot{\gamma}$, establece una relación lineal entre esfuerzo de corte (σ) y velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$); esta ecuación caracteriza un comportamiento ideal del fluido o fluido Newtoniano, por tanto, el modelo reológico de fluido ideal. La viscosidad (μ) no varía con la velocidad de cizalla. Cualquier fluido que no cumpla con la condición anterior es un fluido no newtoniano.

Hablaremos de comportamiento newtoniano y no newtoniano, ya que un mismo fluido puede regirse por distintas leyes según las condiciones experimentales. Existen muchos tipos de comportamiento no newtoniano en función de cómo se comporte la viscosidad en función de velocidad de cizalla. En las curvas de flujo y de viscosidad se pueden representar los diferentes tipos de comportamiento. En las curvas de viscosidad se representa la viscosidad en función de la velocidad de corte. Para el caso del comportamiento reológico de fluidos líquidos, en la Figura 15 podemos observar el tipo de fluidos que puede tener un alimento.

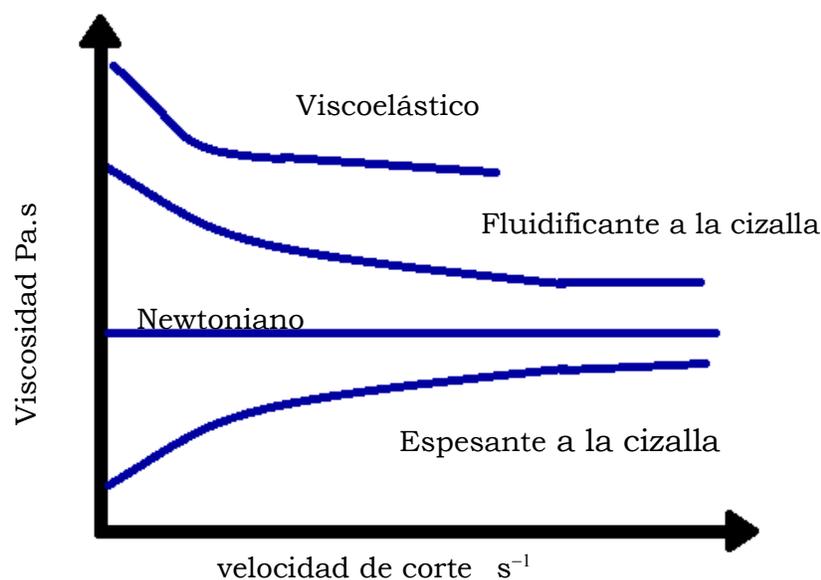


Figura 15.- Curvas de viscosidad vs velocidad de corte.

En la Figura 16 se observan las curvas de flujo para el comportamiento reológico de fluidos líquidos, se representa el esfuerzo de corte en función de la velocidad de corte (Méndez y col., 2010; Gómez y col., 2011),

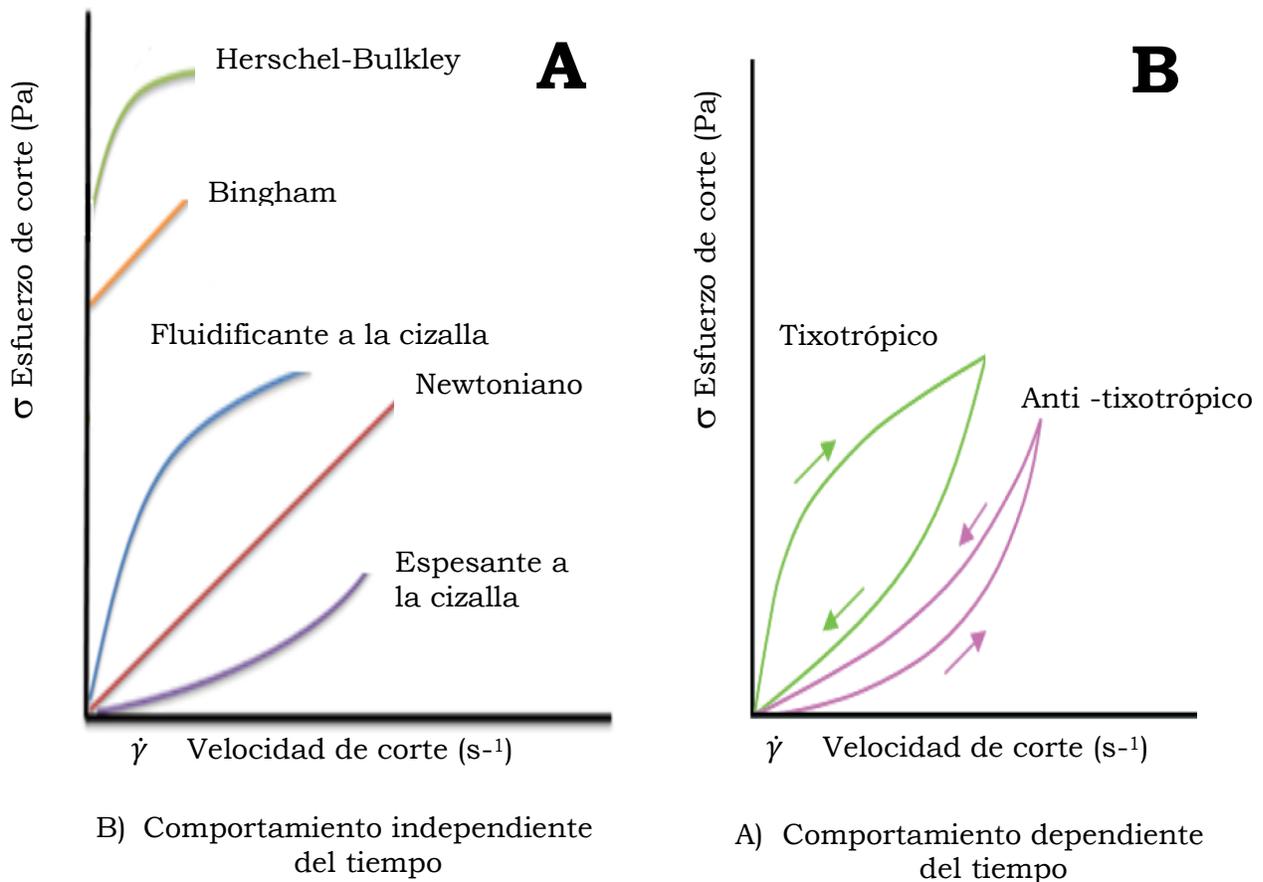


Figura 16.- Curvas de flujo.

Se pueden diferenciar dos grandes clases de comportamiento no newtoniano: dependiente del tiempo e independiente del tiempo.

⌘ *Independiente del tiempo*: para una determinada velocidad de cizalla, la viscosidad no varía durante el tiempo de aplicación del mismo. Además, si se realiza un experimento de ascenso y descenso, en el que primero se aumenta el esfuerzo de corte hasta un determinado valor y luego se disminuye hasta el reposo, las curvas de flujo correspondientes a ambos barridos se sobreponen, esto se puede ver en la Figura 16 A. Este comportamiento puede o no puede tener esfuerzo de cedencia σ_0 .

- ✖ Independiente del tiempo sin esfuerzo de cedencia: el fluido no requiere un esfuerzo de cedencia σ_0 aplicado para comenzar a fluir.
 - ❖ Fluidificante a la cizalla o pseudoplástico. su viscosidad disminuye, al aumentar la velocidad cizalla al que es sometido. Es el caso más frecuente, y aparece en la mayoría de disoluciones de macromoléculas.
 - ❖ Espesante a la cizalla o dilatante: su viscosidad aumenta, al aumentar la velocidad de cizalla al que es sometido. Es menos usual que el comportamiento fluidificante.
- ✖ Independiente del tiempo con esfuerzo de cedencia σ_0 : una vez que el fluido alcanza su límite de esfuerzo σ_0 comenzara a fluir. El fluido se comporta como un sólido si no se le aplica el esfuerzo a un valor determinado y se comporta como líquido si se supera ese valor.
 - ❖ Bingham: una vez que el fluido alcanza su límite de esfuerzo σ_0 comenzara a fluir, la viscosidad se mantiene constante al aumentar la velocidad cizalla, como un fluido newtoniano.
 - ❖ Herschel-Bulkley: una vez que el fluido alcanza su límite de esfuerzo σ_0 comenzara a fluir, su viscosidad disminuye, al aumentar la velocidad cizalla, como un fluido fluidificante a la cizalla.
- ⌘ *Dependiente del tiempo*: para una determinada velocidad de cizalla, la viscosidad varía durante el tiempo de aplicación del mismo. Además, si se realiza un experimento de "ascenso-descenso" en el que primero se aumenta el esfuerzo de corte hasta un determinado valor y luego se disminuye hasta el reposo, las curvas de flujo correspondientes de ascenso-descenso no se sobreponen, es decir, los fluidos con este tipo de comportamiento presentan histéresis.
 - ❖ Tixotrópico: la viscosidad disminuye con el tiempo de aplicación de velocidad de cizalla. Se aplica una cierta velocidad de cizalla, si en un momento disminuyera la velocidad de cizalla, la viscosidad adopta valores inferiores a los anteriores, por lo que en la curva de flujo se aprecia histéresis. Su curva de flujo se observa en la Figura 16 B.

- ❖ Anti-tixotrópico o reopéctico: la viscosidad aumenta con el tiempo de aplicación de velocidad de cizalla. Se le aplica una cierta velocidad de cizalla, si se comenzará a disminuir la velocidad de cizalla, la viscosidad disminuye adoptando valores superiores a los anteriores, por lo que en la curva de flujo se aprecia un ciclo de histéresis inverso al anterior. Su curva de flujo típica se muestra en la Figura 16 B.

En las emulsiones las propiedades reológicas resultantes varían, dependen directamente del peso molecular del polisacárido, la presencia de grupos funcionales y también el tipo y grado de interacción entre la proteína y el polisacárido (Niu y col., 2016).

La viscosidad (η) es dependiente de la naturaleza del material y además generalmente dependiente de las condiciones de flujo (velocidad de cizalla). Las variables más importantes que la afectan son: velocidad de corte, temperatura, presión y concentración. La manera más común de evaluar la viscosidad es a través de un instrumento conocido como viscosímetro.

El esfuerzo de cizalla σ (esfuerzo de corte) es uno de los parámetros más importantes y fundamentales para el cálculo de la viscosidad en un reómetro. La velocidad de flujo del líquido, que se obtiene por medio del esfuerzo de cizalla efectivo, se determina a través de la resistencia del líquido al flujo, esto es, a través de la viscosidad.

Las unidades de viscosidad más utilizadas son los *milipascales por segundo* [mPa·s]. Se debe tener en cuenta que: 1000 mPa·s = 1 Pa·s. Además, el sistema cegesimal aún se sigue usando, siendo la unidad de medida el *centiPoise* [cp]. La conversión entre los dos sistemas es: 1 cp = 1 mPa·s, 1 Poise = 1 g/cm·s.

Los alimentos reaccionan de forma muy diferente ante la aplicación de un esfuerzo; unos son sólidos y se rompen bruscamente ante un esfuerzo elevado, como los helados; otros, sólidos, se deforman para acabar rompiéndose, como la gelatina; otros fluyen en diversas formas, como la leche, la mayonesa, el puré o la masa de pan, requiriendo o no superar un nivel de esfuerzo inicial frente al que pueden o no deformarse antes de fluir.

Existen modelos reológicos que se usan para describir el comportamiento independiente del tiempo de fluidos no newtonianos, es decir ecuaciones que pretenden ajustar las curvas de flujo y las curvas de viscosidad procedentes de experimentos.

Ecuación basada en esfuerzo, la más (ecuación 1) sencilla que describe comportamientos reológicos independientes del tiempo sin esfuerzo umbral, es decir, fluidificantes a la cizalla o espesantes a la cizalla, es la ecuación de Ostwald o tipo potencia:

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde σ es el esfuerzo cortante (Pa), y $\dot{\gamma}$ es la velocidad de corte (s^{-1}), K es el índice de consistencia ($Pa \cdot s^n$) y n es el índice de comportamiento al flujo (adimensional).

Cuando $n < 1$ este modelo corresponde a fluidos fluidificantes a la cizalla, mientras que si $n > 1$ este modelo se refiere a los fluidos espesantes a la cizalla (Bourne, 2002). Cuanto más alejado esté el valor de n de la unidad, mayor será la diferencia respecto al comportamiento newtoniano.

Al sustituir el modelo de ley de potencia en la definición de viscosidad (ecuación 2).

$$\eta = k\dot{\gamma}^{n-1} \quad \text{Ec. (2)}$$

Escrita en base a la viscosidad en lugar de en base al esfuerzo de corte (σ), dicha ecuación es análoga a la viscosidad en la ley de Newton, η , solo que ahora no es una viscosidad constante, si no que depende velocidad de corte o cizalla ($\dot{\gamma}$), es decir hay un valor de η para cada valor de $\dot{\gamma}$

En este caso, la viscosidad η disminuye o aumenta en función de la velocidad de cizalla de la dependiendo si el fluido es fluidificante a la cizalla o espesante a la cizalla. Algunas emulsiones tienen un comportamiento fluidificante a la cizalla (Méndez y col., 2010). Las emulsiones O/W aceite de chía tienen el comportamiento anterior, por lo que se adecua a la ecuación anterior.

CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA

2.1 Objetivo general

Evaluar las propiedades funcionales de dispersiones de proteína aislada de suero de leche (WPI) y carboximetilcelulosa (CMC) como estabilizantes de emulsiones O/W con aceite de chía, en relación con su comportamiento reológico, distribución y tamaño de partícula y capacidad antioxidante, para su aplicación en alimentos con la finalidad de sustituir o minimizar el uso de emulsionantes sintéticos.

2.2 Objetivos particulares

Objetivo 1: Evaluar las diferentes concentraciones de complejo proteína-polisacárido (WPI a 0.66, 1.05, 1.8, 2.9 % y CMC 0.33 y 0.55 %), en el comportamiento reológico, determinando el comportamiento reológico de emulsiones O/W con aceite de chía para establecer su correlación con la estabilidad.

Objetivo 2: Evaluar la estabilidad de emulsiones O/W con aceite de chía a diferentes concentraciones de complejo proteína-polisacárido (WPI a 0.66, 1.05, 1.8, 2.9 % y CMC 0.33 y 0.55 %) determinando el índice de cremado, la distribución, uniformidad y tamaño de partícula para establecer sus efectos en los mecanismos de inestabilidad.

Objetivo 3: Evaluar las diferentes concentraciones de complejo proteína-polisacárido (WPI a 0.66, 1.05, 1.8, 2.9 % y CMC 0.33 y 0.55 %) en la oxidación de los AGPI determinado el índice de peróxido, para verificar su funcionalidad como antioxidante.

Hipótesis: El empleo de un complejo proteína- polisacárido dará estabilidad a una emulsión O/W con aceite de chía para resistir los procesos de desestabilización con respecto al tiempo, logrando sustituir o minimizar el empleo de emulsionantes sintético.

2.3 CUADRO METODOLÓGICO

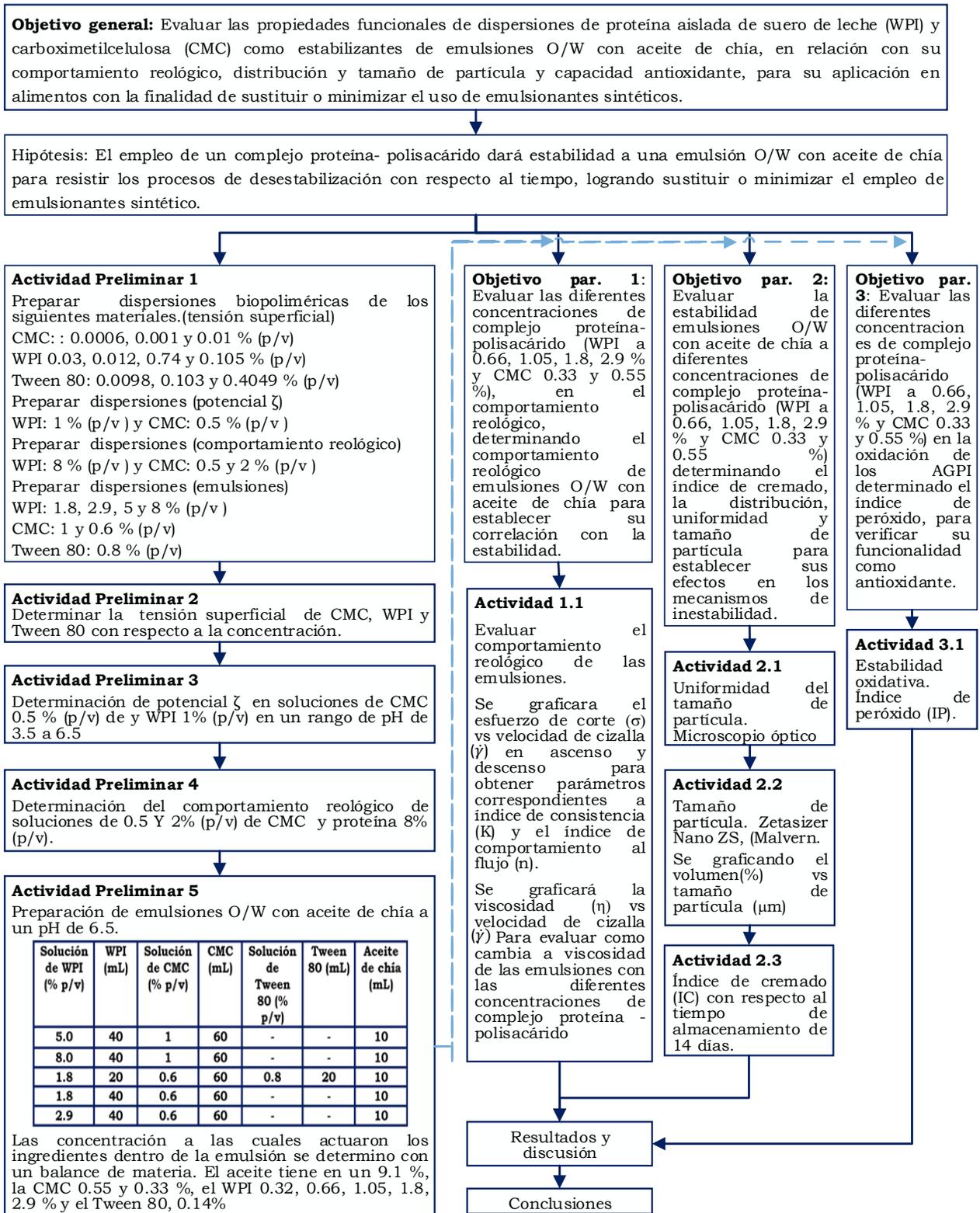


Figura 17.- Cuadro metodológico

2.4 Materiales y métodos

➤ *Materiales*

Los materiales que se utilizaron para el desarrollo de esta investigación son: Aislado proteico de suero de leche (WPI), proporcionado por Davisco Foods Intenational Inc., (U.S.A.), carboximetilcelusosa (CMC) de J.T. Baker Chemical Co., (NJ., U.S.A.) y, Monooleato de sorbitán y polioxietileno (Tween 80) proporcionado por Dupont México, S.A. de C.V. Además, se empleó como aceite rico en AGPI, aceite de chía gourmet, producido y envasado por naturales del campo S. A. En la titulación de las dispersiones biopoliméricas se empleó HCl 0.1N., o NaOH 0.1N, ambos de J.T. Baker Chemical (Co., U.S.A.).

➤ *Métodos*

2.4.1 *Actividades preliminares*

2.4.1.1 *Preparación de las dispersiones.*

Para la obtención de las dispersiones biopoliméricas se usó la metodología propuesta por Jones y col. (2010), donde cada uno de los biopolímeros se dispersa por separado en agua desionizada a diferentes concentraciones para cada biopolímero, en la Tabla 3, se observan las cantidades utilizadas para determinar la caracterización fisicoquímica de los materiales; así como las dispersiones usadas para preparar las emulsiones O/W con aceite de chía. Después de su preparación, estas dispersiones se almacenaron a 4 ± 1 ° C por 24 h para alcanzar una completa hidratación de la proteína, polisacárido y emulsionante sintético Tween 80.

Tabla 3.- Dispersiones para caracterización de materiales y preparación de emulsiones.

	Tensión superficial	Potencial ζ	Comportamiento reológico	Emulsiones
CMC	0.0006, 0.001 y 0.01 % (p/v)	0.5 % (p/v)	8 % (p/v)	1.8, 2.9, 5 y 8 % (p/v)
WPI	0.03, 0.012, 0.74 y 0.105 % (p/v)	1.0 % (p/v)	0.5 y 2 % (p/v)	1 y 0.6 % (p/v)
Tween 80	0.0098, 0.103 y 0.4049 % (p/v)	-	-	0.8 % (p/v)

- No se determinó.

Caracterización de materiales

2.4.1.2 Medidas de tensión superficial

Se midió la tensión superficial de las dispersiones de WPI, CMC y Tween 80 para cada uno, empleando el método del anillo de Du Noüy, (tensiómetro de Du Noüy, Marca CENCON, modelo 70535). Para realizar la medición se colocó el líquido en un vaso de precipitado, hasta que el anillo quede rasante a la superficie del mismo. Se accionó la manija de la escala que genera la torsión del alambre y nivelar la posición del líquido siempre rasante al anillo (Domínguez y col., 2014). Repetir esta operación hasta que se rompa el contacto del anillo con el líquido.

Todas las mediciones se realizaron por quintuplicado y en cada caso se reportó la media y desviación estándar. A partir de las curvas de tensión superficial se determina el comportamiento de los materiales sobre la actividad superficial (Bravo y col., 2018).

2.4.1.3 Potencial zeta (ζ).

El potencial ζ de las soluciones acuosas de WPI 1.0 % y CMC 0.5 se evaluaron por separado, modificando su pH en un rango de 3.5 a 6.5 Ravindran y *col.*, (2018). Usando un equipo Zetasizer Nano ZS, (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK). El objetivo de esta técnica fue evaluar el efecto en la modificación del pH, sobre el potencial de superficie originado a partir de las cargas electrostáticas de los hidrocoloides presentes, en este caso la carboximetilcelulosa (CMC) y la proteína aislada de suero de leche (WPI), para conocer el comportamiento de los materiales individualmente. Para el WPI, determinar su punto isoeléctrico, las proteínas poseen aminoácidos que se ionizan para dar lugar a grupos con carga negativa o positiva y para el polisacárido conocer que cargas tiene en el rango de pH que se estudió.

2.4.1.4 Obtención de la emulsión O/W

La formación de una emulsión tipo O/W se preparó a 10 ± 1 ° C. Para las emulsiones se utilizaron las dispersiones de WPI, CMC y Tween 80 en las concentraciones de la Tabla 3.

Para la fase acuosa, en las mezclas de complejo proteína-polisacárido se usó 40 mL de WPI/60 mL de CMC y para la muestra control se utilizó 20 mL WPI/60 mL CMC/20 mL de Tween 80 (Lam y Nickerson, 2013) a un pH de 6.5 ± 0.2 , estas proporciones se trataron durante 1.5 min a 13,500 empleando un homogenizador Ultra-turrax (modelo T25 Basic, *Equipment Germany*). Para la fase oleosa se empleó 10 mL aceite de chía, ésta fue adicionada lentamente (gota a gota) en la fase acuosa a 6,500 rpm (Evans y *col.*, 2013).

Se realizó un balance de materia para conocer la concentración a la actuaron la proteína (WPI) el polisacárido (CMC) y emulsionante sintético (Tween 80) dentro de la emulsión O/W con aceite de chía, en la Tabla 4 se pueden observar estas concentraciones.

Tabla 4.- Concentración de ingredientes en las emulsiones O/W con aceite de chía.

# de muestra	WPI (% p/v)	CMC (% p/v)	Tween 80 (% p/v)	Aceite de chía (% v/v)
1	1.8	0.55	-	9.1
3	2.9	0.55	-	9.1
5	0.32	0.33	0.14	9.1
2	0.66	0.33	-	9.1
4	1.05	0.33	-	9.1

- Solo se utilizó en la muestra control

2.4.2 Comportamiento reológico

Las mediciones reológicas que se llevaron a cabo fueron utilizando un viscosímetro (Haake, UT-550, Alemania) con un rotor MV DIN (radio 19.36 mm, longitud 58.08 mm) y geometría de cilindro concéntrico, se programó el equipo para que trabajara de 0 a 300 y de 300 a 0 s⁻¹ (ascenso-descenso), a 25 °C ± 5 °C (Sibaja y col., 2015). El software Haake Rheo Win, nos registró directamente los datos de esfuerzo de corte σ , velocidad de cizalla $\dot{\gamma}$ y de viscosidad η .

Como actividad preliminar se evaluó el comportamiento reológico de las dispersiones de CMC al 0.5 y 2.0 %, y proteína WPI al 8 %. Se eligió estas concentraciones de CMC, para conocer las características que tiene el estabilizante natural, es decir, si la viscosidad η disminuye o aumenta en función de la velocidad de cizalla a una concentración alta y una baja. En el caso de WPI, se optó por esta concentración, para saber las características que tiene un emulsificante natural a la concentración más alta de las dispersiones realizadas en este trabajo. También se evaluó el comportamiento reológico de las emulsiones O/W con aceite de chía, en las concentraciones de la Tabla 4.

Se graficó el esfuerzo de corte (σ) en función de la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$), en ascenso y descenso para obtener la curva de flujo y poder determinar los parámetros reológicos correspondientes al índice de consistencia (K) y el índice de comportamiento al flujo (n). Con la curva de flujo podemos determinar qué tipo de comportamiento tienen las emulsiones O/W con aceite de chía.

Posteriormente se graficará la viscosidad (η) en función de velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$). Para ver cómo cambia la viscosidad de las emulsiones O/W con aceite de chía a las diferentes concentraciones de complejo proteína-polisacárido. Para las dispersiones de CMC, se observará como cambia la viscosidad, en una concentración alta y una baja de CMC.

2.4.3 Índice de Cremado

Las emulsiones fueron evaluadas mediante el índice de cremado, donde se empleó la metodología propuesta por Niu y col. (2016), después de la preparación de la emulsión, se transfirieron 10 mL de cada emulsión en un tubo de ensayo de plástico y luego sellado con un tapón de plástico para evitar la evaporación. Mediante el uso de la centrifuga se acelera la velocidad de formación del cremado; esta prueba sirve para predecir la estabilidad de una emulsión. Se colocaron en una centrifuga (IEC clinical centrifuge, NY, USA) a 5950 rpm, por 30 minutos. Las muestras de emulsión fueron almacenadas a una temperatura de 5-7 °C durante 14 días, de acuerdo con la definición, este parámetro se calcula como:

$$\% \text{ IC} = (100) (\text{HS}) / (\text{HE}) \quad \text{Ec (3)}$$

HS= representa la altura de la separación de cremado(cm)

HE= representa la altura total de la emulsión (cm)

El índice de cremado (% IC) proporcionó información indirecta sobre la extensión de la agregación de gotitas en una emulsión, mientras más agregación, más grandes son los flóculos y más rápida es la formación de crema (Sriprablom y col., 2019).

2.4.4 Análisis microscópico (uniformidad del tamaño de partículas)

La microestructura de las emulsiones se visualizó utilizando un microscopio óptico (BELAV, VE M1, USA) equipado con una cámara adjunta. Para ello, se colocó una gota de emulsión sobre un Portaobjetos de vidrio grueso y cubierto con un cubreobjetos que garantiza que no haya aire. Las fotos fueron tomadas con el objetivo 40 X.

2.4.5 Tamaño de partícula

El tamaño de partícula fue determinado mediante la técnica de difusión de luz integrada a través de Zetasizer Nano ZS, (Malvern), las muestras de las emulsiones fueron diluidas al 0.01% (1mL en 100 mL). Un haz de luz es dirigido a través de la muestra diluida y dispersando por las gotas en un patrón característico y detectado por una serie de fotodiodos, las unidades del instrumento están en nanómetros (nm). Se graficará el volumen (%) v/s tamaño de partícula (μm).

2.4.6 Estabilidad oxidativa (Índice de peróxidos)

Para evaluar el índice de peróxidos, se empleó la metodología propuesta por Li y *col.*, (2019). Se pesó $5,00 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$ de muestra dentro de un matraz Erlenmeyer de 250 mL con tapón esmerilado, para después agregar 10 mL de cloroformo y 15 mL de ácido acético glacial. Se agitó para disolver la muestra, se agregó 0,5 mL de solución saturada de yoduro de potasio (KI). Después de 5 minutos de reposo en un lugar oscuro se agregó 30 mL de agua destilada y 0,5 mL de la solución indicadora de almidón. La solución se tituló con 0,01 N de tiosulfato de sodio la agitación fue constante, especialmente al aproximarse el punto final, para liberar todo el yodo de la capa de solvente (Goyal y *col.*, 2015)

Valor o índice de peróxido (miliequivalentes de peróxido/1000g muestra)

$$V.P. \text{ (o I.P.)} = \frac{(M - T) \times N \times 1000}{\text{Peso muestra en gramos}}$$

Peso muestra en gramos

Ec (4)

Donde:

T es el volumen de tiosulfato de sodio de la titulación del blanco o testigo(mL).

M es el volumen de tiosulfato de sodio de la titulación de la muestra(mL).

N es la normalidad de la solución de tiosulfato de sodio

Esta técnica determina todas las sustancias, en términos de peróxido, se realizó al aceite rico en AGPI, como es el caso del aceite de chía, también a las emulsiones con aceite de chía

Diseño de experimentos

Para la evaluación del complejo proteína-polisacárido en la estabilización de emulsiones O/W fue necesario emplear un diseño de experimentos que permitiera el análisis de respuestas. En la Tabla 5 se observan los factores por evaluar y de respuesta.

Tabla 5.- Diseño de experimentos para evaluación de emulsiones o/w.

# de muestra	WPI (% p/v)	CMC (% p/v)	Tween 80 (% p/v)	Aceite de chía (% v/v)	IP (meq./g)	IC %	K (Pa.s ⁿ)	n	Tamaño de partícula (µm)
1	1.8	0.55	-	9.1					
3	2.9	0.55	-	9.1					
5	0.32	0.33	0.14	9.1					
2	0.66	0.33	-	9.1					
4	1.05	0.33	-	9.1					

- Solo se utilizó en la muestra control

Se realizó un diseño factorial aleatorizado, (sobre la base de un total de 110 mL) con 3 factores: concentración de aceite de chía (9.1 % v/v), concentración de WPI (5 niveles: 0.32%, 0.66%, 1.05%, 1.8% y 2.9% p/v) y concentración de CMC (2 nivel 0.33 y 0.55 % p/v) y una muestra control de proteína, polisacárido y emulsionante sintético Tween 80 (0.14 % v/v). En todas las determinaciones se reportará la media y su desviación estándar. Las evaluaciones se realizaron por triplicado.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Actividades preliminares

3.1.1 Tensión superficial

Se determinó su tensión superficial a diferentes concentraciones para determinar su comportamiento frente a la proteína (WPI), el polisacárido (CMC) y emulsionante sintético (Tween 80); se tomó en cuenta la tensión superficial del agua como valor de referencia universal (72 mN m^{-1}) (Sibaja y col., 2015).

3.1.1.1 CMC

En la figura 18 se presenta la gráfica del efecto de la concentración CMC sobre la tensión superficial.

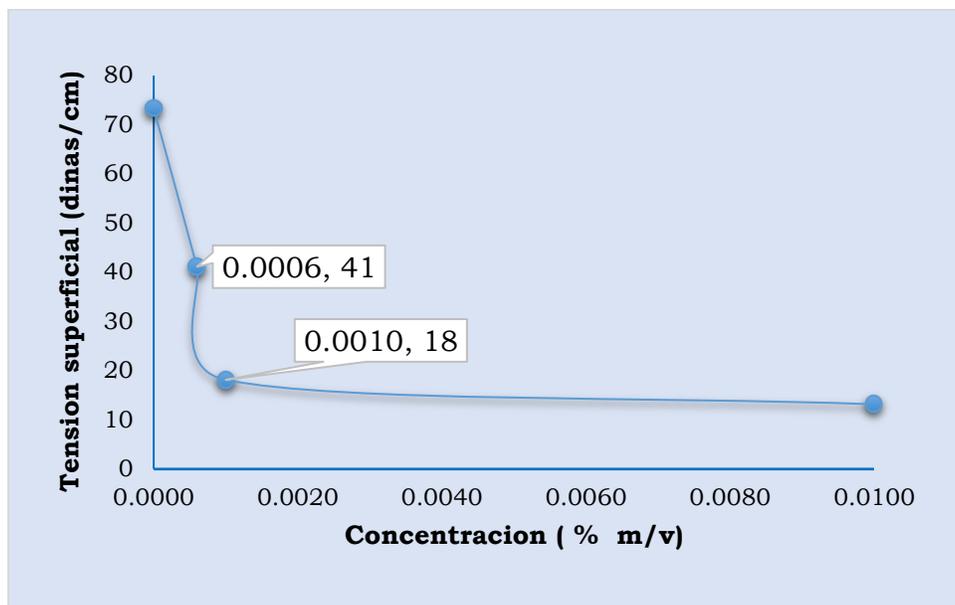


Figura 18.- Gráfica del efecto de la concentración CMC sobre la tensión superficial.

Se logró conocer que la CMC tiene actividad superficial debido a su capacidad de retención de agua. Las macromoléculas de los polisacáridos en soluciones diluidas no actúan entre sí. A medida que la concentración de polisacárido aumenta por encima de un cierto valor crítico, la viscosidad de la solución aumenta rápidamente y las macromoléculas interactúan entre sí atrapando el agua, debido a la hidratación del polímero.

Los polisacáridos debido a su característica predominante hidrofílica, generalmente, tiende a mantenerse en la solución acuosa controlando la fase continua como agente estabilizante.

3.1.1.2 Emulsionante tensoactivo natural y sintético

En la Figura 19 se presenta la gráfica del efecto de la concentración WPI y el Tween 80 sobre la tensión superficial.

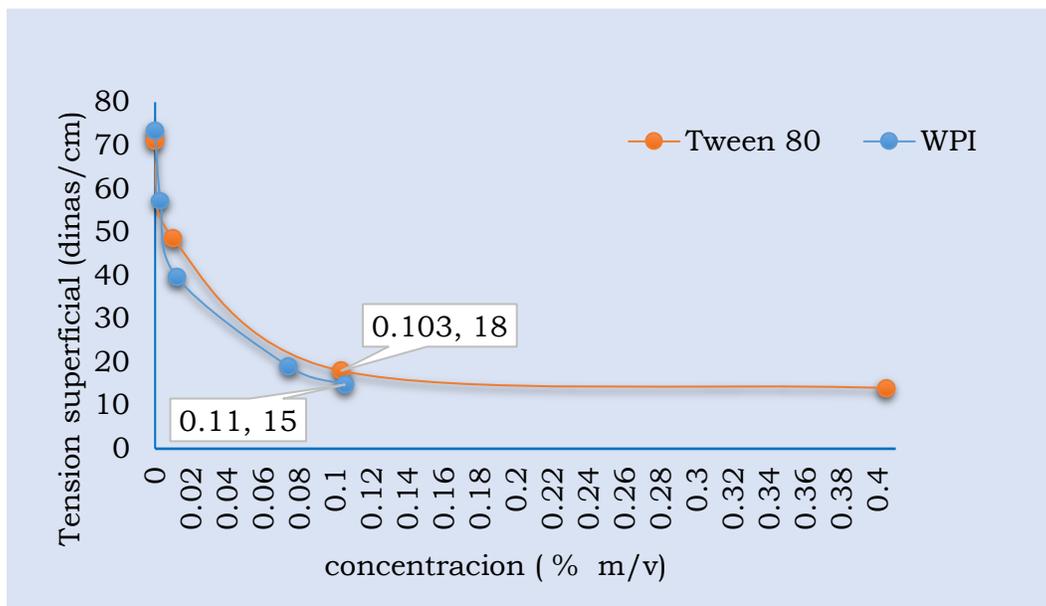


Figura 19.- Gráfica del efecto de la concentración WPI y Tween 80 sobre la tensión superficial.

Los dos emulsionantes presentan en la gráfica una pendiente negativa. Se pudo observar que el Tween 80 como emulsionante (tensoactivo) y la WPI tienen actividad superficial (abatimiento de la tensión superficial del disolvente).

3.1.1.2.1 WPI

Durante la experimentación no se logró llegar a la concentración de saturación de del WPI. Quiere decir que el WPI (macromolécula) se difunde rápidamente, se adsorbe, penetra y despliega sobre la interfase aire-agua, sin que la proteína llegue a reordenamientos estructurales con el fin de maximizar el número de contactos entre los grupos no polares y la interfase. La adsorción de las partículas en la interfase, se da por que las partes hidrofílicas tienden a ubicarse en contacto con el disolvente mientras que las partes hidrofóbicas se acomodan de manera tal que tengan poco o nulo contacto con moléculas de disolvente.

Sun y Gunasekaran (2009) mencionan que esto se debe a que las proteínas son moléculas anfífilas compuestas por una parte polar y otra no-polar de residuos de aminoácidos, consecuentemente estas se absorben en la interface, reorganizándose para exponer su residuo hidrofóbico a la fase hidrofóbica y su residuo hidrofílico a la fase acuosa. La proteína logra disminuir la energía libre, ocasionando que el área interfacial se ocupe.

Las propiedades de las proteínas (proteína aislada de suero de leche WPI) cambian la deformabilidad de las gotas, su potencial de interacción, tensores hidrodinámicos y su mecanismo de coalescencia (Rhan y col., 2012).

3.1.1.2.2 Tween 80

El Tween 80 tienen una concentración micelar crítica muy baja y generalmente son surfactantes suaves, no afectan la actividad de la proteína y son efectivos en su solubilización, es el emulsionante sintético más usado para estabilizar las emulsiones. Durante la experimentación no se logró ver específicamente la concentración micelar crítica del Tween 80, ya que se trabajaron concentraciones muy grandes, el valor pudo haber estado entre 0.1 % y 0.4 (v/v), de haberse podido ver la gráfica presentaría altibajos, debido a que los monómeros pueden superponerse unos con otros en la superficie, dando como resultado variaciones en la línea. Después de la concentración micelar crítica se forman micelas.

3.1.2 Potencial zeta (ζ).

Se realizó una medición del potencial ζ de partículas en suspensión de proteína y polisacárido y la carga adquirida (mV), para observar su comportamiento a una escala de pH de 3.5 a 6.5, la evaluación se hizo por triplicado.

3.1.2.1 WPI

Las proteínas son los emulsionantes naturales más utilizados en los alimentos, pero su uso generalizado a menudo está limitado debido a su sensibilidad a ciertas condiciones, como los valores de pH cercanos a su punto isoeléctrico, altas concentraciones iónicas y calentamiento por encima de su temperatura de desnaturalización (Pei y col., 2019). Se realizó una evaluación para obtener una tendencia que muestre el potencial electrostático en función del pH para la proteína WPI 1.0 %. La figura 20 muestra el potencial zeta del WPI por influencia del pH.

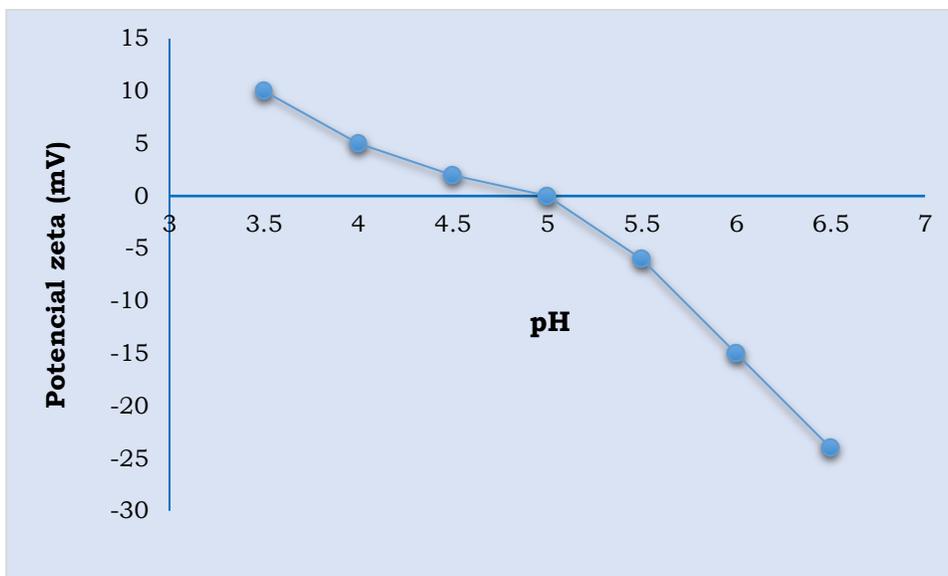


Figura 20.- Gráfica del Potencial zeta del WPI 1.0 %.

Se puede observar que el WPI, en un valor de pH menor a 5 el grupo amino pasa de $-\text{NH}_2$ a $-\text{NH}_3^+$, mientras que en valores por arriba de 5 el grupo carboxilo $-\text{COOH}$ pasa a carboxilato $-\text{COO}^-$.

Se observa el punto isoeléctrico con valor de 5, en el cual las proteínas presentan inestabilidad para emulsionar efectivamente una emulsión. Chen, 2015, recomienda trabajar en pH menores a 4.0 o arriba de 5.5, ya que emulsiones estabilizadas con proteína aislada de suero de leche tienden a flocular a estos valores de pH.

3.1.2.2 CMC

Los hidrocoloides, como la carboximetilcelulosa, se utilizan a menudo como emulsionantes y estabilizantes en emulsiones debido a sus propiedades espesantes, gelificantes y de superficie activa (Wang y Somasundaran, 2005). En la Figura 21 se presenta la gráfica del resultado de la medición de potencial Z de la CMC 0.5 %.

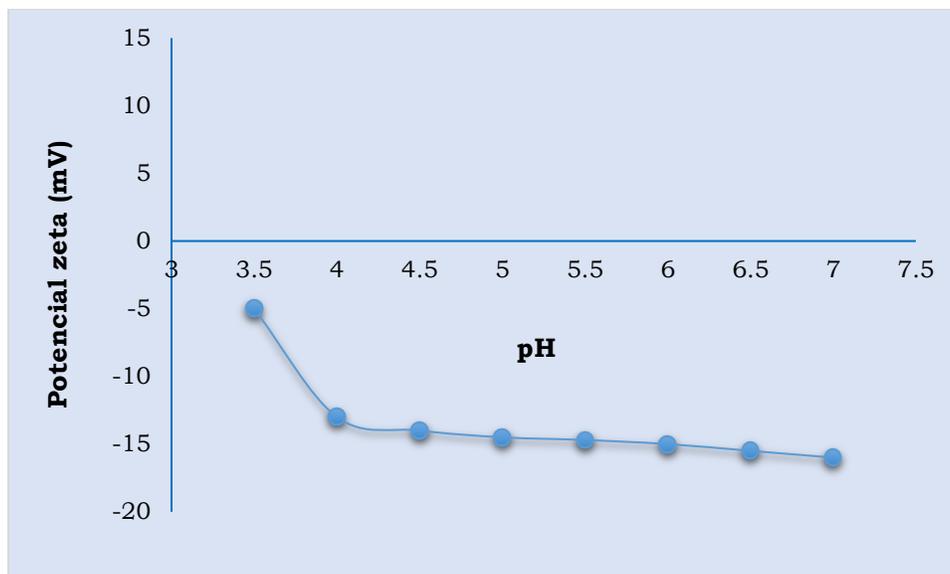


Figura 21.- Gráfica del Potencial zeta de CMC 0.5 %.

Conocer el potencial Z sirvió para conocer que la CMC se sabe que es un polisacárido lineal, es aniónico debido al grupo carboxilo (-COOH) presente en su estructura paso a carboxilato -COO⁻. Las emulsiones estabilizadas con polisacáridos tienden a ser relativamente estables a los cambios en el pH, la fuerza iónica y la temperatura (Ozturk y McClements, 2016).

3.2 Resultados del objetivo particular 1

3.2.1 Comportamiento reológico

Se realizó la caracterización reológica de los materiales la proteína WPI 8.0 % y el polisacárido CMC 0.5 % y 2.0 % para conocer su comportamiento individual, ya que al estar mezclados en el complejo proteína-polisacárido tendrán otro comportamiento.

3.2.1.1 CMC

La Figura 22 muestra el comportamiento reológico de la CMC a dos concentraciones diferentes 0.5 y 2.0 % a 25 °.

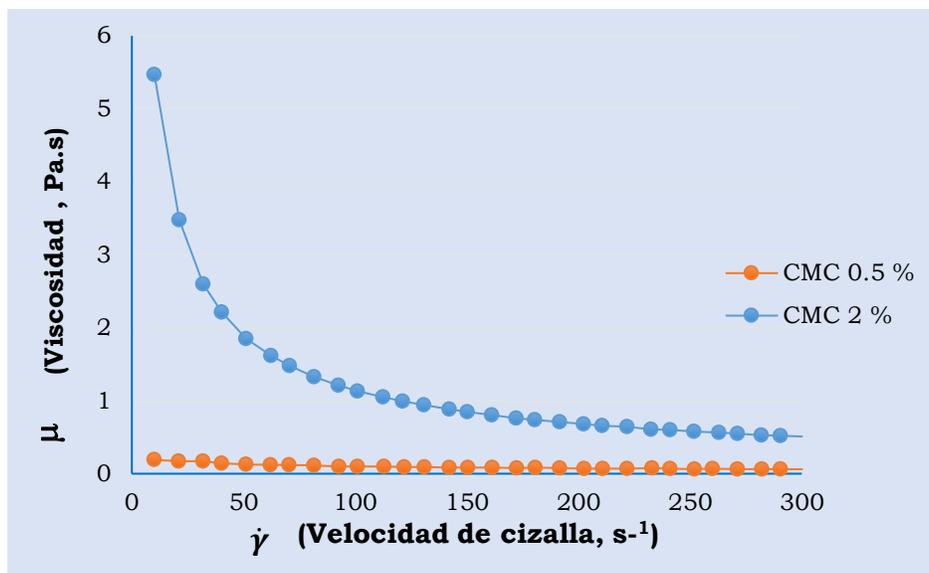


Figura 22.- Gráfica de viscosidad vs velocidad de cizalla de CMC al 0.5 % y 2.0 %.

Se puede observar que, a una concentración menor, existen menos partículas presentes en la dispersión, hay menor interacción entre partículas, y por lo tanto ponen menos resistencia a fluir (menor viscosidad). En concentraciones altas, hay más partículas y por lo tanto tiene más interacción entre ellas, provocando una mayor resistencia a fluir (mayor viscosidad)

La CMC al 0.5 % tuvo menos viscosidad que la CMC al 2.0 %, Díaz y col. (2018) realizó un estudio reológico de suspensiones CMC, a diferentes concentraciones, 0,005, 0,05, 0,1 y 0,2%, el modelo reológico que más se ajusta es el modelo de tipo potencia (Lozano y col., 2016).

La carboximetilcelulosa CMC se considera como un polisacárido soluble / dispersable en agua, denominado hidrocoloide o goma, se conocen como mejorador de la viscosidad (espesante) y agente gelificante en sistemas acuosos, Los tecnólogos también los llaman estabilizadores, ya que pueden mejorar la estabilidad a largo plazo en sistemas que consisten en agua y aceite (Bahramparvar y col., 2010).

3.2.1.2 WPI

El WPI es el emulsionante natural, se eligió para estabilizar la emulsión de aceite de chia. La Figura 23 presenta la curva de flujo a 25 °C de la WPI al 8.0 %.

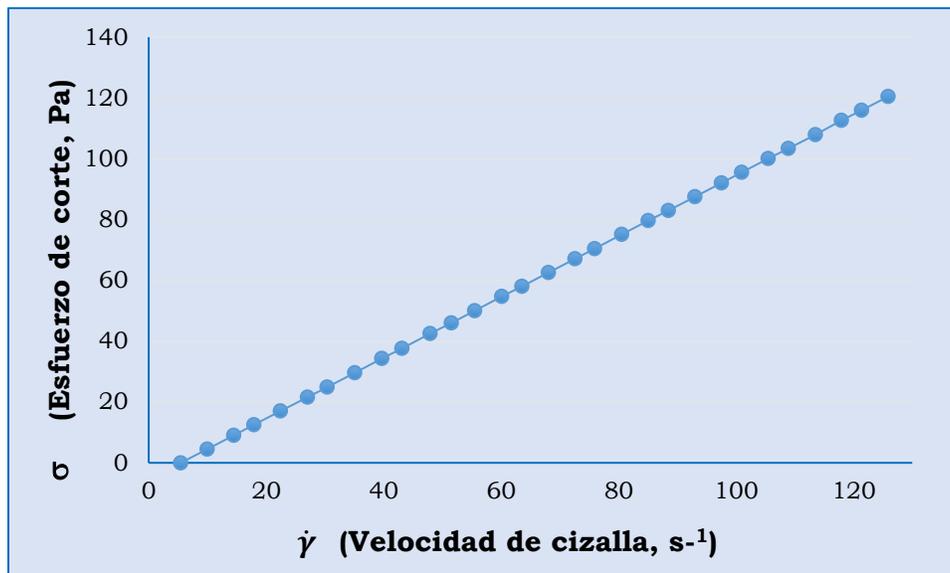


Figura 23.- Gráfica de la curva de flujo a 25 °C de WPI al 8.0 %.

Al graficar los resultados de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla para el WPI al 8.0 %, no se obtienen el comportamiento esperado, en el cual la viscosidad sería constante.

La viscosidad tiene variaciones al aumentar la velocidad de cizalla, tendría que permanecer constante como lo hace un fluido Newtoniano. Los resultados, pudieron deberse a que no se utilizó el viscosímetro adecuado para este tipo de polímero. Se pudo haber utilizado un viscosímetro capilar.

3.2.1.3 Emulsiones O/W con aceite de chía

Las emulsiones presentan diferentes propiedades reológicas dependiendo de su composición, tamaño de gota, y potencial electrostático (Goyal y col., 2015). La estabilización de las emulsiones O / W comienza en la fase continua o en la superficie de la gota, dependiendo de la naturaleza química de los componentes.

Se caracterizaron también 5 emulsiones con aceite de chía al 9.1 %, a diferentes concentraciones de estabilizante y emulsionante natural para ver su comportamiento reológico comparando con una muestra control con CMC, WPI al y Tween 80 (emulsionante sintético).

En la figura 24 se observa la curva de (flujo de ascenso y descenso de las emulsiones O/W con aceite de chía utilizando CMC a una concentración 0.55 %.

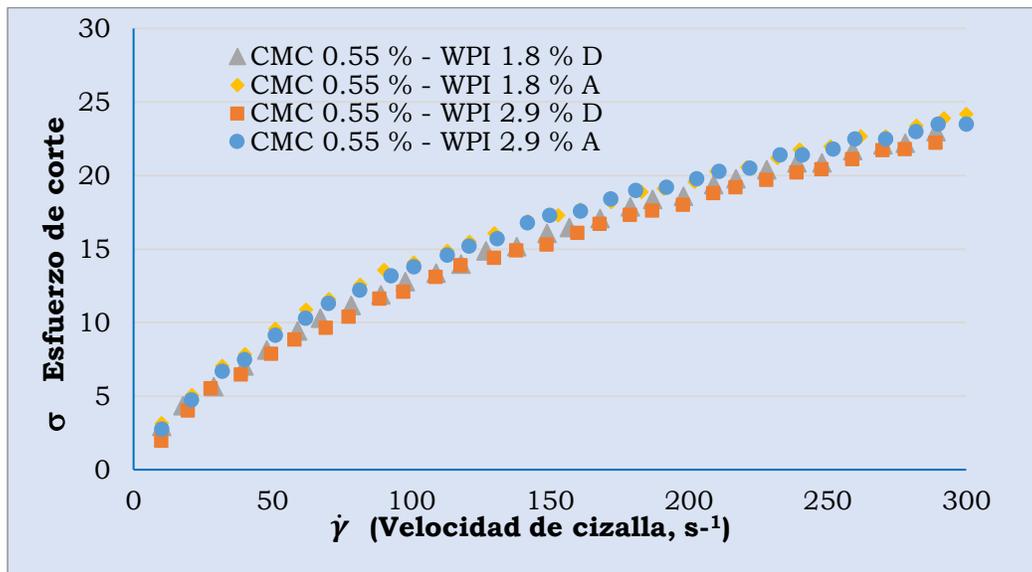


Figura 24.- Gráfica del esfuerzo de corte en función de velocidad de cizalla de emulsiones con aceite de chía con CMC 0.55 %.

Se puede observar que a una concentración de WPI 1.8 % existe un menor porcentaje de tixotropía en comparación con la concentración de WPI 2.9 %, trabajando a una misma concentración de CMC de 0.55 %.

En la figura 25 se observa la curva de flujo de ascenso y descenso de las emulsiones O/W con aceite de chía utilizando CMC a una concentración 0.33 %, y una muestra control con emulsionante sintético.

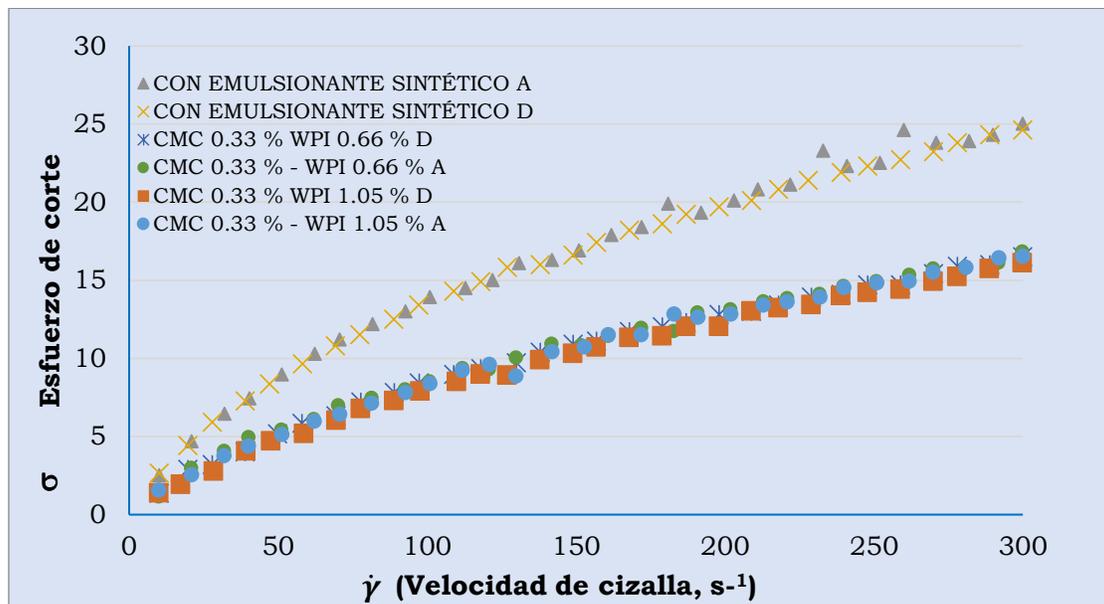


Figura 25.- Gráfica del esfuerzo de corte en función de velocidad de cizalla de emulsiones con aceite de chía con CMC 0.33 % y muestra control.

La emulsión control con Tween 80, no presento tixotropía. La emulsión a concentración de WPI 0.66 % presentó un menor porcentaje de tixotropía en comparación con la concentración de WPI 1.05 % (pero no tan marcada en comparación con la CMC al 0.55 %), teniendo una misma concentración de CMC 0.33 %.

En la gráfica de la Figura 26 se muestra la curva de viscosidad de los fluidos en función de la velocidad cizalla para emulsiones O/W con aceite de chía, a diferente concentración de estabilizante y emulsionante natural en su formulación comparadas con la muestra control emulsionante sintético Tween 80.

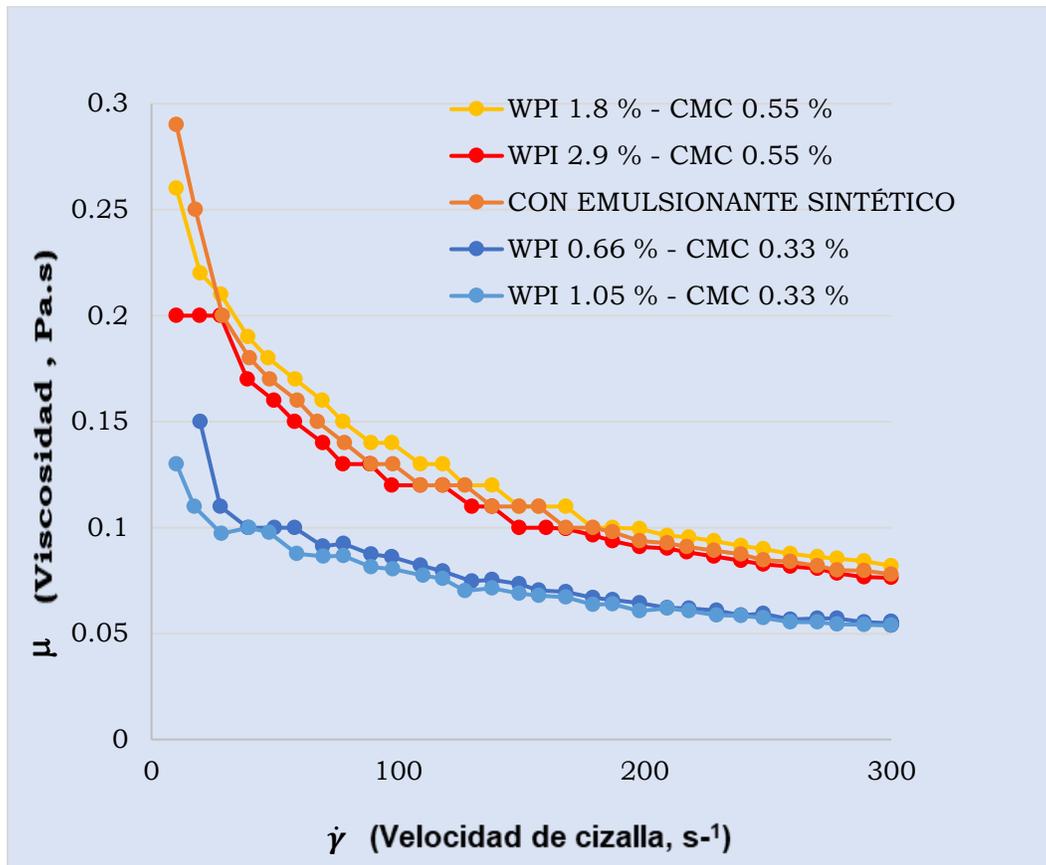


Figura 26.- Gráfica de viscosidad en función de velocidad de cizalla de emulsiones con aceite de chía.

Como es de esperar para un fluido pseudoplástico, el valor de la viscosidad disminuyó a medida que aumenta la velocidad de cizalla, este mismo comportamiento lo obtuvo Bhargava y *col.*, 2017 en el estudio donde se usó CMC al 0.5 % en emulsiones de helado.

El agregado de hidrocoloides como espesante o gelificante de la fase acuosa emulsiones O/W resulta una interesante alternativa para el incremento de su estabilidad basado en la disminución de la velocidad de cremado, a partir de un aumento en la viscosidad de la fase continua de las emulsiones de aceite O/W con aceite de chía, en la Tabla 6 se pueden observar los parámetros reológicos de las emulsiones de aceite de chía.

Tabla 6.- Parámetros reológicos de emulsiones O/W con aceite de chía.

# de muestra	WPI (% p/v)	CMC (% p/v)	Tween 80 (% p/v)	Índice de comportamiento de flujo n	Índice de consistencia K (Pa.s ⁿ)	Coefficiente de correlación r ²
1	1.8	0.55	-	0.6025±0.0015	0.781±0.005	0.997
3	2.9	0.55	-	0.6621±0.0010	0.5574±0.0016	0.986
5	0.32	0.33	0.14	0.6318±0.0022	0.7044±0.0062	0.993
2	0.66	0.33	-	0.6807±0.0117	0.3513±0.0209	0.992
4	1.05	0.33	-	0.7298±0.0031	0.2617±0.0041	0.994

*Los valores presentados son la media de tres repeticiones (n=3) ± desviación estándar

-Solo se utilizó en la muestra control

En todas las emulsiones se observa un adecuado ajuste al modelo tipo potencia, comportamiento fluidificante a la cizalla, debido a que la viscosidad disminuye conforme aumenta la velocidad de cizalla, además el valor del índice de comportamiento al flujo (n) fue menor a 1. Mahfoudhi y col. (2015) señala que los hidrocoloides caracterizados por valores bajo de n (fluidificante a la cizalla) son generalmente preferidos en formulaciones de emulsiones, porque pueden contribuir a la prevención de la sedimentación, mientras que al mismo tiempo permite que la emulsión fluya fácilmente cuando se vierte de un recipiente. Para los valores de R, pueden considerarse aproximados para describir satisfactoriamente el modelo de potencia, en el cual se efectuaron los análisis respectivos, con la ecuación 1.

De acuerdo con los valores de índice de consistencia (K), las emulsiones O/W con aceite de chía se comportaron de la siguiente manera: a concentración de WPI 1.8 % presentó mayor índice de consistencia en comparación con la concentración de WPI 2.9 %, trabajando a una misma concentración de CMC de 0.55 %. La emulsión control con Tween 80, tuvo un mayor índice de consistencia, incluso mayor que a la mezcla de CMC 0.55 % - WPC 2.9 %.

La emulsión a concentración de WPI 0.66 % presentó mayor consistencia en comparación con la concentración de WPI 1.05 %, teniendo una misma concentración de CMC 0.33 %.

La efectividad de la adición de hidrocoloides radica en aumentar la estabilidad de partículas en suspensión y reducir la floculación y coalescencia en las emulsiones. Se podría observar más a fondo la influencia del complejo proteína- polisacárido en el índice de cremado, así como en la uniformidad y tamaño de partícula.

Contreras y *col.* (2016) comentan que esto se debe a que las gomas adicionadas son polisacáridos iónicos cargados negativamente y producen un incremento de las fuerzas de repulsión electrostática entre partículas para mantener la estabilidad.

Cai y *col.*, (2018) indican que puede ser posible que el movimiento de las gotitas de aceite en las emulsiones se haya restringido debido a la mayor viscosidad y/o formación de la red de gel de biopolímero.

Quinzio y *col.*, (2018), mencionan que las emulsiones preparadas con soluciones de goma guar (GG) y CMC, un aumento en la concentración de la fase continua de 0.5 a 1.5% aumentó su estabilidad. Una de las causas es el aumento de la viscosidad en la fase continua que rodea las gotitas de aceite.

3.3 Resultados del objetivo particular 2

3.3.1 Uniformidad del tamaño de partícula

Observar las diferentes emulsiones por el microscopio óptico, nos mostró los diferentes tamaños de las gotas lipídicas en la emulsión. Los resultados de la actividad emulsionante y potencial zeta, influyeron en la adsorción de proteínas en la membrana interfacial.

En Figura 27 se muestra las fotografías del microscopio óptico tomadas a las gotas de las emulsiones de aceite de chía.

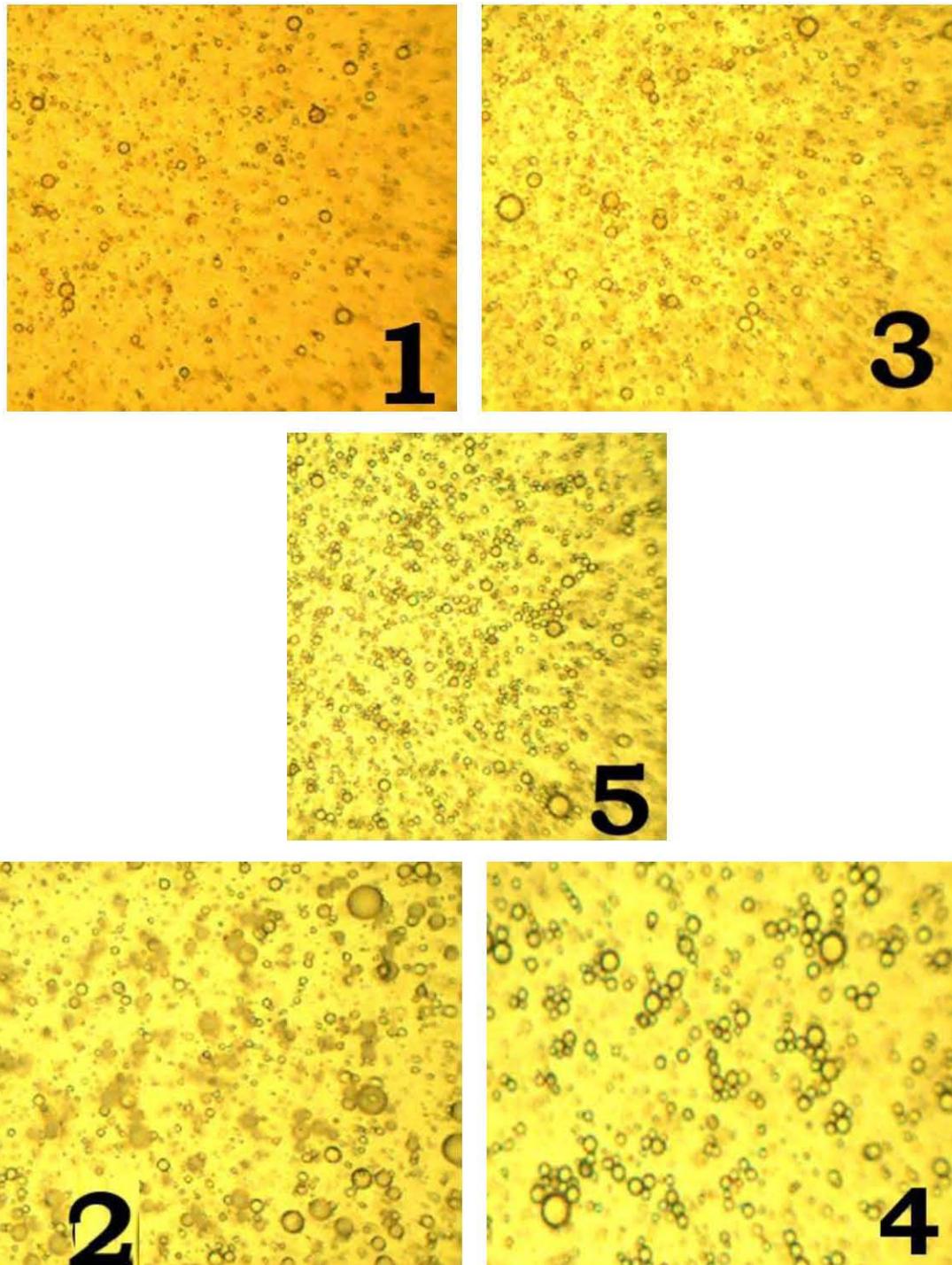


Figura 27.- Imágenes de microscopio óptico de gotas de emulsiones con aceite de chía.

Con el microscopio óptico se pudo observar la Figura 25, y mostró claramente que el tamaño y la distribución de las gotas en las emulsiones O/W con aceite de chía al 9.1 % v/v son totalmente diferentes.

La presencia de partículas más pequeñas, homogéneas y un floculo (2 gotas unidas) se observan en la muestra **1**, esta emulsión fue la que presentó menos inestabilidad, en comparación con las otras emulsiones de aceite de chía que se elaboraron, contiene CMC de 0.55 % y WPI 1.8 %. Las muestras **3** con CMC de 0.55 % y WPI 2.9 % contiene partículas pequeñas y grandes, así como algunas partículas que formaban pequeños flóculos (2 y 3 gotas unidas).

La muestra **5** la cual contiene el estabilizante sintético, CMC y WPI contiene partículas pequeñas y grandes, así como algunas partículas que formaban muchos y grandes flóculos (2 a 10 gotas unidas).

Las partículas grandes y pequeñas se encontraron en las emulsiones con concentraciones bajas de estabilizante (CMC): estas son las muestras **2** con CMC de 0.33 % y WPI 0.66 % tiene presencia de flóculos (2 a 4 gotas unidas) y la muestra **4** CMC de 0.33 % y WPI 1.05 % forma flóculos (2 a 10 gotas unidas).

3.3.2 Tamaño de partícula

Se evaluó la estabilidad de las emulsiones de chía en las diferentes mezclas de proteína (WPI) y polisacárido (CMC), mediante la distribución de tamaños utilizando para ello los resultados obtenidos de analizador del tamaño de partícula para ver si tiene relación con la distribución del tamaño de las gotas.

En la Figura 28 se muestran la distribución del tamaño de partícula obtenidos de las emulsiones de chía elaboradas con diferentes contracciones de mezclas proteína polisacárido.

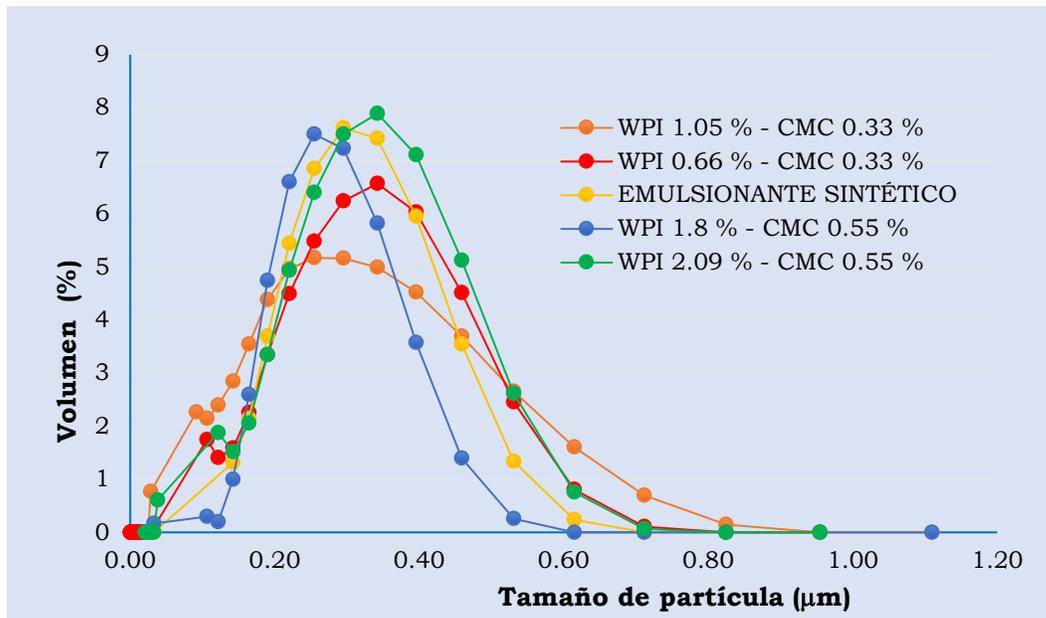


Figura 28.- Distribución de tamaño de partícula en emulsiones O/W con aceite de chía.

No se observaron variaciones en el diámetro promedio de gotas para las mezclas de CMC 0.55 % y WPI a 1.8 y 2.9 % así como en la muestra control con emulsionante sintético Tween 80.

Par las mezclas de CMC a 0.55 con WPI A 1.8 % se obtuvo un valor modal de 0.225 µm con un volumen de 7.5 (%) y con WPI a 2.9 % se obtuvo un valor modal de 0.3 µm con un volumen de 7.9 (%), para la muestra control con CMC, WPI y Tween 80 se obtuvo un valor modal de 0.295 µm con un volumen de 7.5 (%)

Para las muestras con CMC a 0.33 % y WPI 0.66 y 1.05 %, incrementó la distribución de tamaño de partícula. Posiblemente se pudo haber presentado coalescencia. Para las mezclas de CMC 0.33 % con WPI a 0.66 % se obtuvo un valor modal de 0.35 mm con un volumen de 6.5 (%) y con WPI a 1.05 % se obtuvo un valor modal de 0.34 mm con un volumen de 5.1 %. La posible coalescencia se observa en las figuras 25.2 y 25.4.

Mao y Miao, (2015) señalan que la coalescencia severa es el comienzo del cremado, ya que las gotas más grandes tienen más posibilidades de moverse más rápido a la cima del sistema, la fusión es el resultado de la ruptura de las películas interfaciales.

3.3.3 Índice de cremado

Dentro de la emulsión, el índice de cremado (IC) describe el desplazamiento de gotas a la parte superior debido básicamente a que presentan menor densidad que la fase continua, si las gotas tienen una densidad menor que la fase que las rodea, tenderán a migrar a la superficie (Leal y col., 2007). Los glóbulos tienen tendencia a moverse hacia la parte alta del sistema y colisionan con otros formando glóbulos cada vez más grandes, lo que acaba resultando en el cremado y la separación de fases de la emulsión.

En la Figura 29 se presenta la gráfica de índice de cremado de las emulsiones de aceite de chía evaluadas a los 0,7,9,14 días, las muestras se centrifugaron a 5950 rpm por 30 minutos (Zarria y col., 2010) después se tuvieron en almacenamiento por 14 días.

El índice de cremado de las emulsiones estabilizadas por mezclas de WPI/CMC aumentó, apreciándose en el día 7, esto dependiendo de las concentraciones de WPI, CMC y Tween 80.

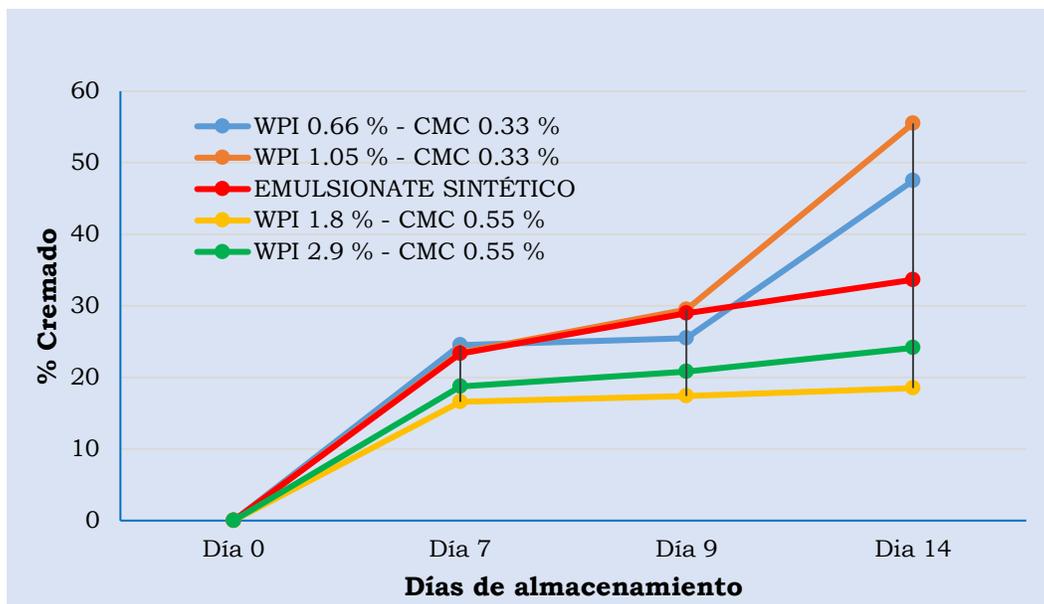


Figura 29.- Gráfica de Índice de cremado de emulsiones O/W con aceite de chía.

Al final la muestras con CMC al 0.55 % y WPI 1.8 % se mantuvo más estable que todas las emulsiones, llegado a un IC de 16.6%, mientras que la emulsión con la misma concentración de CMC y WPI a 2.9 %, el IC fue de 24.1%, la muestra control con emulsionante sintético llegó a un IC de 33.66 %. Las emulsiones menos estables fueron las muestras con CMC al 0.33 % tuvieron mayor IC de 47.5 y 55.5 % respectivamente, debido a una floculación por agotamiento a concentraciones altas de WPI, también a mayor viscosidad menor IC.

En la Figura 30 se observan las emulsiones O/W con aceite de chía iniciales y finales. En la Figura 30 A se observan las emulsiones recién salidas de la centrifugadora, quiere decir que las películas interfaciales de cada uno de los glóbulos mezclan sus contenidos formándose un glóbulo más grande. Considerándose que la emulsión es estable tras el centrifugado no se observara la separación de fases (De la Paz y col., 2017), se alcanza a ver una significativa separación, casi imperceptible. En la figura 30 B se observa las emulsiones que presentaron floculación y coalescencia.

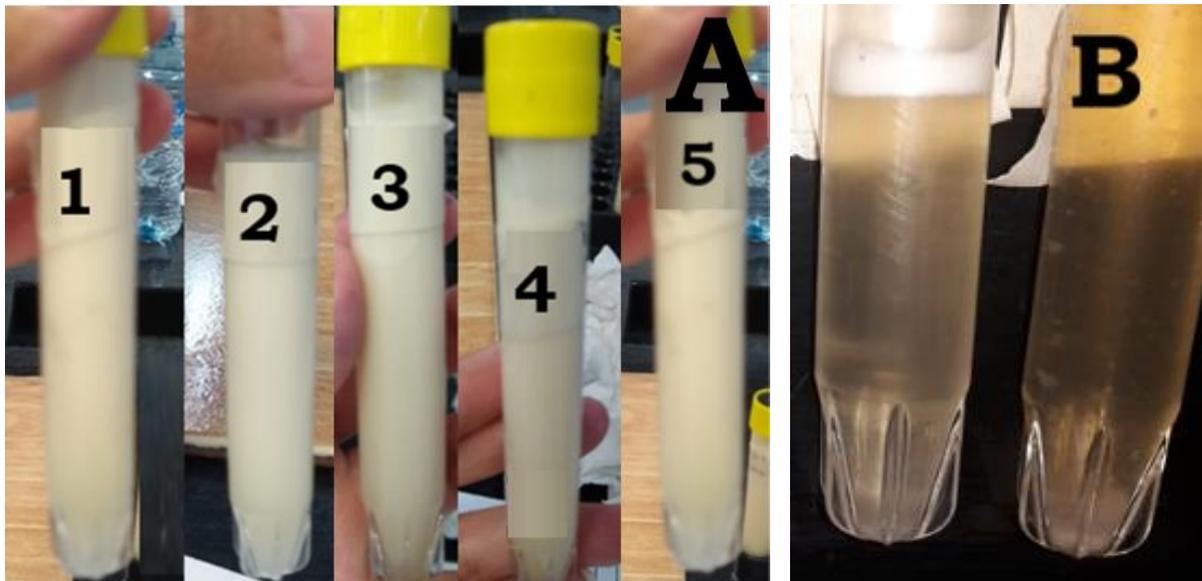


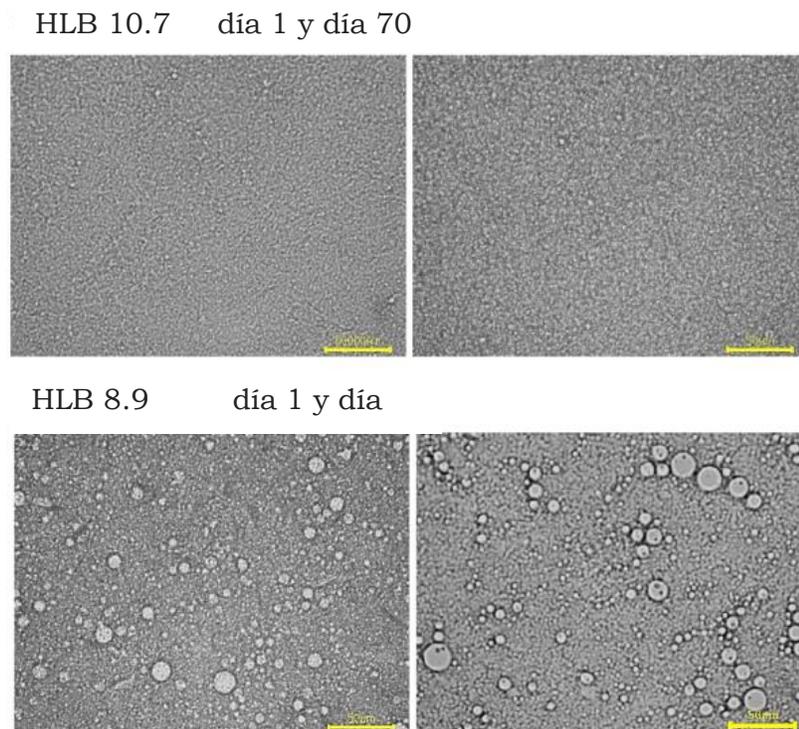
Figura 30.- Emulsiones iniciales y finales.

El cremado es directamente proporcional al tamaño de glóbulos, cuanto más grande sean los glóbulos, mayor será el cremado por eso es importante que, al momento de formar la emulsión, los glóbulos tienen que ser pequeños y uniformes.

La muestra con contenido alto de proteína (WPI) como la numero 3 (2.9 %) y 4 (1.05 %) con mezcla de (CMC) a 0.55 y 0.33 % respectivamente, presentaron sedimentación desde el día 14 la cual se puede apreciar en la Figura 30 B, así como también coalescencia y floculación. Mientras que las muestras con bajo contenido de proteína (WPI), como la numero 1 (1.8 %) y 2 (0.66 %) con mezcla de (CMC) a 0.55 y 0.33 % respectivamente y la 5 que fue la muestra control con emulsionante sintético (Tween 80) solo presentaron cremado.

Hong y *col.* (2018), investigaron los efectos del valor HLB en la estabilidad y comportamiento reológico de la emulsión O/W, con fracción volumétrica de la fase dispersa (ϕ) de bajo contenido, usando tensoactivo Tween 80 y Span 80 a una concentración de 3.5 % peso.

En la Figura 31 se puede observar Imágenes de microscopio óptico de gotas de emulsiones estabilizadas con Tween 80 y Span 80.



Hong y *col.* 2018

Figura 31.- Imágenes de microscopio óptico de gotas de emulsiones estabilizadas con Tween 80 y Span 80.

Para un Tween 80 y Span 80 con un HLB de 10.7 el tamaño de gotas fue más pequeño, con HLB 8.9 se muestran un tamaño de gota más grande y menos uniformidad, este mismo comportamiento lo tuvo nuestra muestra control con CMC, WPI y Tween 80, lo podemos observar en la Figura 27.

Al tener estos resultados se tomó la decisión de no trabajar con emulsiones con aceite de chía solo con el emulsionante Tween 80 solo se hizo un comparativo de la mezcla proteína, polisacárido y emulsionante sintético.

3.4 Resultados del objetivo particular 3

3.4.1 Estabilidad oxidativa (Índice de peróxido)

En las emulsiones, el índice de peróxido (IP) describe la estabilidad oxidativa de emulsiones O/W. Se determinó el índice de peróxido al aceite de chía antes de la emulsión, el resultado fue de 2.07 meq/g. En Tabla 7 se presentan de la siguiente manera los datos de IP de las diferentes emulsiones con aceite de chía.

Tabla 7.- Resultados de prueba de índice de peróxido.

# de muestra	WPI (% p/v)	CMC (% p/v)	Tween 80 (% p/v)	Aceite de chía (% v/v)	IP (meq/g)
1	1.8	0.55	-	9.1	2.18±0.02
3	2.9	0.55	-	9.1	2.23±0.01
5	0.32	0.33	0.14	9.1	2.31±0.04
2	0.66	0.33	-	9.1	2.41±0.06
4	1.05	0.33	-	9.1	2.5±0.03

*Los valores presentados son la media de tres repeticiones (n=3) ± desviación estándar

-Solo se utilizó en la muestra control

En las emulsiones que tuvieron estabilizante (CMC) en la mayor concentración 0.55 % fue de 2.18 y 2.23 meq/g. Con la muestra control con emulsionante sintético Tween 80, aumentó a 2.31 (meq/g), mientras que a concentraciones bajas de estabilizante (CMC) a 0.33 % el índice de peróxido incrementó a 2.41 y 2.5 meq/g.

La variación de proteína aislada de leche si tuvo influencia en el índice de peróxido y en estas muestras también se observó sedimentación. Estos resultados sugieren que la CMC en concentraciones bajas (0.33 %) actuó como un ligero pro-oxidante, también al estar en combinación con Tween 80 al tener menor estabilizante. En una mayor concentración de CMC (0.55 %) con WPI (1.8 %) actuó como un ligero antioxidante.

Xu y *col.*, (2017). Comentan que se podría esperar que los polisacáridos cargados negativamente se unan a los metales de transición cargados positivamente presentes en la fase acuosa (como el Fe^{2+}), evitando así que entren en contacto con los AGPI en las gotitas de aceite.

CONCLUSIONES

- En este trabajo se logró obtener emulsiones O/W con aceite de chía estables al 80% a partir de mezclas de proteína y polisacárido. Se encontró que la concentración adecuada para WPI fue de 1.8 % y de CMC fue de 0.55 % las cuales se compararon con una mezcla proteína, polisacárido y tensoactivo tradicional.
- La concentración de las mezclas proteína y polisacárido empleadas en esta investigación modifican el comportamiento reológico de las emulsiones de aceite de chía, en la concentración de WPI 1.8 % y de CMC 0.55 %, se observó mayor índice de consistencia K, logrando una mayor estabilidad.
- El tamaño el tamaño, la distribución y la uniformidad de las partículas obtenidas en la emulsificación es determinante para obtención de emulsiones O/W con aceite de chía estables. La mezcla de WPI 1.8 % y de CMC 0.55 %, previnieron la coalescencia y floculación, pero presentaron un 20% de índice de cremado.
- Se encontró que las mezclas proteína-polisacárido contribuyeron con la estabilidad oxidativa de los AGPI. La concentración de WPI 1.8 % y de CMC 0.55 %, tuvo mejor resultado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, R., Silveira, Y., Campos, M. y Falcón, J. (2018). Efecto de un campo magnético estático en la tensión superficial del diésel y su atomización. *Revista Iberoamericana de Ingeniería Mecánica*, 22(1), 25-34.
- Arteaga, A. y Arteaga, H. (2016). Optimización de la capacidad antioxidante, contenido de antocianinas y capacidad de rehidratación en polvo de arándano (*Vaccinium corymbosum*) microencapsulado con mezclas de hidrocoloides. *Scientia Agropecuaria*, 7(3), 191-200.
- Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson Educación.
- Batalla, J., Cuadros, A. y San Martín, E. (2014). Potencial zeta en la determinación de carga superficial de liposomas. *Latin American Journal of Physics Education*, 8(4), 4319 – 1-4319 – 6.
- Benichou, A., Aserin, A. y Garti, N. (2007). W/O/W Double Emulsions Stabilized with WPI-polysaccharide Complexes. *Colloids and Surfaces*, 297, 211-220.
- Bourne, M. (2002). *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. U.S.A. Elsevier Science & Technology Books
- Bueno, M., Di Sapio, O., Barolo, M., Busilacchi, H., Quiroga, M. y Severin, C. (2010). Análisis de la calidad de los frutos de *Salvia hispanica* L. (Lamiácea) comercializados en la ciudad de Rosario (Santa Fe, Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9(3), 221-227.
- Bueno, M., González, M., Quiroga, M., Severin, C. y Busilacchi, H. (2016). Caracterización de semillas blancas y negras de *Salvia hispanica* L. (Lamiácea). *Agromensajes*, 46, 1-7.
- Bhargava, R., Rajpoot, M., Arora, Y., Sharma, S. y Sharma, S. (2017). Dietary omega-3 fatty acids supplements for dry eye in psoriasis: are they effective? *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(11), NC01-NC05.
- Bahramparvar, M., Razavi, S. y Khodaparast, M. (2010). Rheological characterization and sensory evaluation of a typical soft ice cream made with selected food hydrocolloids. *Food Science and Technology International*, 16(1), 79-88.

- Bravo, B., Chávez, G., Márquez, N., Delgado, N., Cáceres, A., Luzardo, M., Parra, I., Collins, M., y Borja, A. (2018). Comportamiento de agregación de noveles surfactantes de par iónico. *Revista Bases de la Ciencia*, 3(2), 1-10.
- Cai, Y., Deng, X., Lui, T., Zhao, M. Zhao, Q. y Chen, S. (2018). Effect of xanthan gum on walnut protein/xanthan gum mixtures, interfacial adsorption, and emulsion properties. *Food Hydrocolloids*, 79, 391-398.
- Calsin, M., Aro, J. y Tipacti, Z. (2016). Estabilidad oxidativa del aceite de soya con adición de antioxidante de Isaño (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) durante la fritura de papas. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 18 (4), 395-402.
- Cardellá, L. (2007). *Bioquímica Humana*. La Habana Cuba: Editorial Ciencias Médicas.
- Cárdenas, A., Alvites, H., Valladares, G., Obregón, J. y Vásquez, V. (2013). Optimización mediante diseño de mezclas de sinéresis y textura sensorial de yogurt natural batido utilizando tres tipos de hidrocoloides. *Agroindustrial Science*, 3, 35-40.
- Castellanos, L. y Rodríguez, M. (2015). El efecto de omega 3 en la salud humana y consideraciones en la ingesta. *Revista chilena de nutrición*, 42(1), 90- 95.
- Castillo, M. (2014). Elaboración de pasta de aceituna negra utilizando el hidrocoloide goma tragacanto. *Ciencia y Desarrollo*, 17, 29-32.
- Castro, M. (2002). Ácidos grasos omega 3: beneficios y fuentes. *Asociación Interciencia*, 27(3), 128-136.
- Chacón, L., Chávez, A., Rentería, A. y Rodríguez, J. (2017) Proteínas del lactosuero: usos, relación con la salud y bioactividades. *Interciencia*, 42(11), 712-718.
- Chen B., McClements D. y Decker E. (2013). Design of foods with bioactive lipids for improved health. *Annual Review Food Science and Technology*, 4,35-36.
- Chen, L. (2015). Emulsifiers as food texture modifiers. En J. Chen y A. Rosenthal. (Eds.), *Modifying Food Texture* (p. 27-49). USA: Woodhead Publishing.
- Contreras, B. y Jiménez, M. (2012). Emulsiones simples y múltiples de compuestos bioactivos. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, 6(1), 66-72.
- Contreras, K., Ciro, H. y Márquez, C. (2016). Evaluation of physical stability in a sweet corn beverage (*Zea mays* var. *Saccharata*). *Agronomía Colombiana*, 34(1), S411-S414.
- De la Paz, M., Naranjo, M., Bermudez, B., López, S., Abia, R. y Muriana, F. (2017). Dietary fatty acids and lipoproteins on progression of age-related macular degeneration. *Grasas y Aceites*, 68(2), 1-7.
- Decker, E., Ahph, C. y Wilkes, R. (2012). Incorporation of (n-3) fatty acids in foods: challenges and opportunities. *The Journal of Nutrition*, 142, 610:613.

- Delgado, A. y Aperador, W. (2014). Estudio comparativo del poder lubricante y estabilidad oxidativa entre el aceite de ajonjolí y aceite mineral 360. *Información Tecnológica*, 25(4), 79-90.
- Delgado, A., Palacio, O. y Aperador, W. (2015). Efecto de butil hidroxitolueno (bht) en la estabilidad oxidativa de un lubricante a base de aceite de ajonjolí. *Información Tecnológica*, 26(4), 81-88.
- Di Scipio, S., Escalona, Y., Quijada, K. y Millan, 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 (3), 53-64.
- Díaz, A., Cerpa, A., Rodríguez, M. y Valverde, J. (2018). Estudio reológico de suspensiones de carboximetilcelulosa en presencia de nanomateriales. *Sociedad Española de Materiales*, 2(2), 22-25.
- Dickinson, E. (2011). Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*, 6, 1-11.
- Domínguez, O., Toro, M. y Serrano, E. (2014). Enseñanza del concepto de fuerzas intermoleculares en ingeniería química: su relación con propiedades medibles. *Formación Universitaria*, 7(5), 15-22.
- Estrada, R., Orona, D., Valverde, M. y Paredes, O. (2017). Caracterización bioquímica y molecular de las proteínas de reserva en semillas de chía (*Salvia hispanica* L.). *Jóvenes en la Ciencia*, 3(1), 159-163.
- Evans, M., Ratcliffe, I. y Williams, P. (2013). Emulsion stabilisation using polysaccharide-protein complexes. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 18, 272-282.
- Fustier, P., Achouri, A., Taherian, A., Britten, M., Pelletier, M., Sabik, H., Villeneuve, S. y Mondor, M. (2015). Protein-protein multilayer oil-in-water emulsions for the microencapsulation of flaxseed oil: effect of whey and fish gelatin concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 9239-9250.
- Gómez, A., Sánchez, I., Osorio, A., López, L., Sánchez, L. y Hernández, E. (2011). Caracterización reológica de soluciones azucaradas para el proceso de evaporación-cristalización, *Nexo*, 24, 61-71.
- Gómez, M., Velásquez, S. y Villafuente, L. (2008). Distribución del tamaño de micropartículas lipídicas sólidas de ácido esteárico obtenidas por fusión-emulsificación. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39 (4), 32-41.
- Gómez, N. y Jiménez, M. (2014). Métodos de secado de emulsiones alimentarias. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, 8(2), 23-33.
- González, E. (2010). Caracterización de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispanica* l.), mediante electroforesis capilar (Tesis de maestría). Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México.

- Goyal, A., Sharma, V., Upadhyay, N.Singh, A., Arora, S. Lal, D. y Sabikhi, L. (2015). Development of stable flaxseed oil emulsions as a potential delivery system of ω -3 fatty acids. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 4256-4265.
- Guillén, M. y Cabo, N. (2002). Fourier transform infrared spectra data versus peroxide and anisidine values to determine oxidative stability of edible oils. *Food Chemistry*, 77(4), 503-510.
- Gutiérrez, R., Ramírez, L., Vega S., Fontecha, J., Rodríguez, L., y Escobar, A. (2014). Contenido de ácidos grasos en semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) cultivadas en cuatro estados de México. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1), 199-207.
- Hernández, J. y Miranda, S. (2008). Caracterización morfológica de chía (*Salvia hispánica*). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(2) 105-113.
- Isaza, Y., Restrepo, D. y López, J. (2013) Oxidación lipídica y antioxidantes naturales en derivados cárnicos. *Journal of Engineering and Technology*, 2(2) 50-66.
- Ixtaina, V. (2010). Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispanica* L.) obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en tecnología de alimentos (Tesis doctoral). Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Buenos Aires.
- Jara, F. y Pilosof, A. (2011). Rheological properties of protein/polysaccharide blends as affected by time-dependent phase separation. In 11th International Congress on Engineering and Food, Athens, Greece.
- Jiménez, P., Masson, L. y Quitral, V. (2013). Composición química de semillas de chía, linaza y rosa mosqueta y su aporte en ácidos grasos omega-3, *Revista Chilena de Nutrición*, 40(2), 155-160.
- Jones, O., Lesmes, U., Dublin, P. y McClements, D. (2010). Effect of polysaccharide charge on formation and properties of biopolymer nanoparticles created by heat treatment of β -lactoglobulin-pectin complexes. *Food Hydrocolloids*, 24, 374-383.
- Kosegarten, C. y Jiménez, M. (2012). Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsión, *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, 6(2),1-18.
- Lam, R. y Nickerson, M. (2013). Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure-function approach. *Food Chemistry*, 141, 975-984.
- Leal, F., Schmit, V y Bibette J. (2007). *Emulsion science basic principles* (2da Ed.) USA: Springer.

- Li, Y., Liu, H., Liu, Q., Kong, B. y Diao, X. (2019). Effects of zein hydrolysates coupled with sage (*salvia officinalis*) extract on the emulsifying and oxidative stability of myofibrillar protein prepared oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 87, 149-157.
- Lorenzo, G., Cortés, N., Zaritzky, N. y Califano, A. (2017). Reología y microestructura de emulsiones aceite en agua (o/w) estabilizadas con mezclas de hidrocoloides, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata. 4° Jornadas ITE.
- Lozano, E., Figueroa, J., Salcedo, J., Torres, R. y Andrade, R. (2016). Efecto de la adición de hidrocoloides en el comportamiento reológico de néctar mixto. *Agronomía Colombiana Suplemento*, 1, S464-S466.
- Mahfoudhi, N. Sessa, M., Ferrari, G., Hamdi, S. y Donsi, F. (2015). Rheological and interfacial properties at the equilibrium of almond gum tree exudate (*Prunus dulcis*) in comparison with gum arabic. *Food Science and Technology International*, 22(4), 277-287.
- Martínez, F., Rodríguez, E. y Hernandez, M. (2015). Impact of carboxymethylcellulose and water addition on baking quality and physicochemical properties of gluten-free bread. *Actualidad & Divulgación Científica*, 18(2), 445-454.
- Martínez, C., Orona, D., Valverde, M. y Paredes, O. (2017). Propiedades funcionales de péptidos de semillas de chía comercial (*Salvia hispánica*) y silvestre (*Salvia tiliifolia*). *Jóvenes Investigadores*, 3(1), 139-143.
- Mao, L., y Miao, S. (2015). Structuring Food Emulsions to Improve Nutrient Delivery During Digestion. *Food Engineering Reviews*, 7, 439-451
- McCann, J. y Ames, B. (2005). Is docosahexaenoic acid, an n-3 long chain polyunsaturated fatty acid, required for development of normal brain function? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 82 (2), 281-295.
- McClements D. (2004). Protein-stabilized emulsions. *Current opinion in colloid and Interface Science*, 9 (5), 305-313.
- McClements, D. (2005). *Food Emulsions. Principles practices and techniques*. USA: CRC Press.
- McClements D. (2010). Emulsion design to improve the delivery of functional lipophilic components. *Annual Review Food Science and Technology*, 1, 241-69.
- Méndez, A., Pérez, L. y Paniagua, A. (2010). Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos y no newtonianos (una revisión del viscosímetro de ouette). *Latin American Journal of Physics Education*, 4, 238-245.
- Michajluk, B., Piris, P., Mereles, L., Wiszovaty, L. y Caballero, S. (2018). Semillas de *Salvia hispánica* L., “chía” como fuente de macronutrientes, fibra alimentaria y minerales. *Investigación Agraria*, 20(1), 74-77.

- Mosquera, M., Reinoso, M. y Vásquez, W. (2017). Composición lipídica y caracterización de los ácidos grasos de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) *Industrial Data*, 20(2), 15-20.
- Motta, Y. y Mosquera, W. (2015). Aprovechamiento del lactosuero y sus componentes como materia prima en la industria de alimentos. *Limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 13(1), 81-91.
- Muñoz, J., Alfaro, M. y Zapata, I. (2007). Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas y aceites*, 58(1), 64-73.
- Muñoz, T. Ocampo, I., Parra, F., Cervantes, J., Argumedo, A. y Cruz, S. (2017). Proceso de producción y mecanismos de comercialización de chía (*Salvia hispanica* L.) por familias campesinas de los municipios de Atzitzihuacán y Tochimilco, Puebla, México. *Revista Electrónica Nova Scientia*, 9(2), 788-818.
- Niu, F., Niu, D., Zhang, H., Chang, C., Gu, L., Su, Y. y Yang, Y. (2016). Ovalbumin/gum arabic-stabilized emulsion: Rheology, emulsion characteristics, and Raman spectroscopic study. *Food Hydrocolloids*, 52, 607-614.
- Olmos, S. S. (2017). Emulsiones (I). *Panorama actual del medicamento*, 41(402), 341-344.
- Onsaard, E., Putthanimon, J., Singthong, J. y Thammarutwasik, P. (2013). Influence of maltodextrin and environmental stresses on stability of whey protein concentrate/k-carrageenan stabilized sesame oil-in-water emulsions. *Food Science and Technology International*, 20(8), 617-628.
- Ozturk, B. y McClements, D. (2016). Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion in Food Science*, 7, 1-6.
- Paredo, H. y Jiménez, M. (2012). Mecanismos de inestabilidad y métodos de estabilización de emulsiones múltiple. *Temas Selectos De Ingeniería En Alimentos*, 6(2), 122-130.
- Parra, R. (2009). Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 62(1), 4967-4982.
- Pei, Y., Wan, J., You, M. McClements, D., Li, Y. y Li, B (2019) Impact of whey protein complexation with phytic acid on its emulsification and stabilization properties. *Food Hydrocolloids*, 87, 90-96.
- Pereyra, B., Anunciação, P., da Silva, J., Della, C., Duarte, H. y Pinheiro., H. (2017). Chemical composition of Brazilian chia seeds grown in different places, *Food Chemistry*. 221, 1709-1716.
- Pop, F., (2011) Chemical stabilization of oils rich in long-chain polyunsaturated fatty acids during Storage. *Food Science and Technology International*, 17(2), 111-117.

- Quinzio, C., Ayunta, C., López, B. y Iturriaga, L. (2018). Stability and rheology properties of oil-in-water emulsions prepared with mucilage extracted from *Opuntia ficus-indica* (L). Miller. *Food Hydrocolloids*, 84, 154-165.
- Rhan, K., Puertas, A., Romero, M., Rojas, C. y Urbina, G. (2012). Evaluación de la velocidad de floculación de nanoemulsiones aceite/agua. 1) desarrollo de expresiones teóricas para la turbidez de una nanoemulsión. *Interciencia*, 37(8), 577-581.
- Ramírez, M. y Baigts, D. (2016). Efecto del tratamiento térmico en el comportamiento reológico de salsas de chile habanero (*Capsicum chinense*) adicionadas con gomas guar y xantana. *Agrociencia*, 50(7), 837-847.
- Ravindran, S., Williams, M., Ward, R. y Gillies, G. (2018) Understanding how the properties of whey protein stabilized emulsions depend on pH, ionic strength and calcium concentration, by mapping environmental conditions to zeta potential. *Food Hydrocolloids*, 79, 572-578.
- Rincón, M., Valenzuela R. y Valenzuela, A. (2015). El ácido estearidónico: un ácido graso omega-3 de origen vegetal con gran potencialidad en salud y nutrición. *Revista Chilena de Nutrición*, 42 (3), 297-300.
- Rodríguez, G., Villanueva, E., Glorio, E. y Baquerizo, M. (2015). Estabilidad oxidativa y estimación de la vida útil del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Scientia Agropecuaria*, 6(3), 155-163.
- Rodríguez, J., Meza, E. y Azevedo, M. (2012). Propiedades interfaciales del surfactante pdms-peganhídrido maléico-ácido fumárico (pdms-peg-am-af) en solución acuosa. *Reista Colombiana de Química*, 41(1), 61-74.
- Rovati, A., Escobar, E. y Prado, C. (2012) Particularidades de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.). *EEAOC Avance agroindustrial*, 33(3), 39-43.
- Sanders, T. (2000). Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(1), 176S-180S.
- Serdaroğlu, M., Öztürk, B. y Kara, A. (2015). An overview of food emulsions: description, classification and recent potential applications. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 3(6), 430-438.
- Sibaja, R., Sotelo, E y Juárez, O. (2015). Viabilidad de la extracción de gomas de *Acacia cochliacantha* y *Acacia farnesiana* en el Estado de Guerrero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2, 155-162.
- Siriwardhana, N., Lee, K., Kim, S., Ha, J., Park, G. y Jeon, Y. (2004). Lipid peroxidation inhibitory effects of *hizikia fusiformis* methanolic extract on fish oil and linoleic acid. *Food Science and Technology International*, 10(2), 65-72.
- Sun, Ch. y Gunasekaran, S. (2009). Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 23, 165-174.

- Sriprablom, J., Luangpituksa, P. y Wongkongkatep, J. (2019). Influence of pH and ionic strength on the physical and rheological properties and stability of whey protein stabilized o/w emulsions containing xanthan gum. *Journal of Food Engineering*, 242, 141-152.
- Tello, R., Yahuaca, B. y Martínez, H. (2010). Evaluación de la calidad oxidativa de tres aceites comerciales en condiciones de almacenamiento acelerado. XII Congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos. Guanajuato, Guanajuato.
- Valencia, F., Millán, L., Estepa, C. y Botero, S. (2008). Efecto de la sustitución con polydextrosa y CMC en la calidad sensorial de tortas con bajo contenido de sacarosa. *Revista Lasallista de Investigación*, 5(2), 63-67.
- Valenzuela, R., Morales, G., González, M., Morales, J., Sanhueza, J. y Valenzuela, A. (2014). Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga ω -3 y enfermedad cardiovascular. *Revista chilena de nutrición*, 41(3), 319-327.
- Valenzuela C y Pérez P. (2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárneos. *Revista Chilena de Nutrición*, 43(2), 188-195.
- Vicente, J., Pereira, L., Bastos, L., de Carvalho, M. y Garcia, E. (2018). Effect of xanthan gum or pectin addition on Sacha Inchi oil-in-water emulsions stabilized by ovalbumin or tween 80: Droplet size distribution, rheological behavior and stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 120, 339-345.
- Villanueva, E., Rodríguez, G., Aguirre, E. y Castro, V. (2017). Influence of antioxidants on oxidative stability of the oil Chia (*Salvia hispanica L.*) by rancimat. *Scientia Agropecuaria*, 8(1), 19-27.
- Walker, R., Decker, E., y McClements D. (2014). Development of food-grade nanoemulsions and emulsions for delivery of omega-3 fatty acids: opportunities and obstacles in the food industry. *Food Function* 6, 42-55.
- Wang, J. y Somasundaran, P.(2005). Adsorption and conformation of carboxymethyl cellulose at solid-liquid interfaces using spectroscopic, AFM and allied techniques. *Journal of Colloid Interface Science*, 291(1), 75-83.
- Wang, Q., Shi, A. y Shah, F. (2019). Rheology instruments for food quality evaluation. En J. Zhng y X. Wang. (Eds.), *Evaluation Technologies for food quality* (p. 465-490). USA: Woodhead publishing.
- Weatherhead, G. y Mellor, S. (2011). Novel Omega-3 Emulsion Technologies. *Nutrafoods*, 10(4), 17-21.
- Xingú. A., González, A., de la Cruz, E., Sangerman, D., Orozco, G. y Rubí, M. (2017). Chía (*Salvia hispanica L.*) situación actual y tendencias futuras. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(7), 1619-1631.

- Xu, X., Liu, W., Luo, L., Liu Ch y McClements, D. (2017). Influence of anionic polysaccharides on the physical and oxidative stability of hydrolyzed rice glutelin emulsions: Impact of polysaccharide type and pH. *Food Hydrocolloids*, 72, 185-194.
- Yang, X., Nisar, T., Hou, Y., Gou, X., Sun, L. y Guo, Y. (2018). Pomegranate peel pectin can be used as an effective emulsifier. *Food Hydrocolloids*, 85, 30-38.
- Yildiz, G. Ding, J., Andrade, J., Engeseth, N. y Feng, H. (2018). Effect of plant protein-polysaccharide complexes produced by mano-thermosonication and pH-shifting on the structure and stability of oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47, 317-325.
- Zarria, K., Gajardo, S., Benites, J., Lopez, J. y Rojas, M. (2010). Formulación y evaluación de la estabilidad de una serie de vehículos, para el desarrollo de un biopesticida a base de aceite esencial de *Acantholippia deserticola*. *BIOFARBO*, 18(2), 20-30.
- Zhivkov, A. (2013). Electric properties of carboxymethyl cellulose. En T. Van de Ven. (Ed.) *Cellulose - Fundamental Aspects* (p. 197-226). London: Intech Open.