



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**TENSIÓN SUPERFICIAL DE MEZCLAS DE
 κ -CARRAGENINA Y ESTEAROIL
LACTILATO DE SODIO**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA:
CRISTIAN ARÁMBULA LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS:
DR. ALBERTO TECANTE CORONEL



CD. MX.

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: ALERTO TECANTE CORONEL
VOCAL: HUGO RUBEN CARREÑO ORTIZ
SECRETARIO: BERTHA JULIETA SANDOVAL GUILLEN
1er. SUPLENTE: LORENA DE ANDA AGUILAR
2do. SUPLENTE: FEDERICO NIETO PINEDA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO 313, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA,
CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA, CIUDAD UNIVERSITARIA, UNAM.**

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Alberto Tecante Coronel

SUPERVISOR TÉCNICO:

I.A. Mariana Ramírez Gilly

SUSTENTANTE:

Cristian Arámbula López

INDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 1. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS..... | 5 |
| 1.1. HIPÓTESIS | 5 |
| 1.2. OBJETIVO GENERAL..... | 5 |
| 1.3. OBJETIVOS PARTICULARES | 5 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 6 |
| 2.1. κ -CARRAGENINA..... | 6 |
| 2.1.1. Estructura..... | 6 |
| 2.1.2. Mecanismo de gelificación..... | 7 |
| 2.1.3. Diagrama de transición sol-gel..... | 8 |
| 2.1.4. Aplicaciones | 9 |
| 2.2. ESTEAROIL LACTILATO DE SODIO..... | 10 |
| 2.2.1. Estructura..... | 10 |
| 2.2.2. Aplicaciones | 10 |
| 2.1. | 11 |
| 2.3 INTERACCIONES POLISACÁRIDO-TENSIOACTIVO EN DISOLUCIÓN ACUOSA | 12 |
| 2.3.1. Concentración micelar crítica y concentración de agregación crítica | 12 |
| 2.4 MICROCALORIMETRIA DIFERENCIAL DE BARRIDO (μ DSC)..... | 13 |
| 2.4.1. Tipos de DSC | 14 |
| 2.5 EMULSIONES | 15 |
| 2.5.1. Tipos de emulsión..... | 16 |
| 2.5.2. Formación y estabilidad de una emulsión | 16 |
| 3 ANTECEDENTES..... | 19 |
| 3.2 SISTEMA κ -CARRAGENINA-ELS | 19 |
| 4 METODOLOGÍA | 21 |
| 4.2 DIAGRAMA GENERAL..... | 21 |
| 4.3 MATERIALES | 21 |
| 4.4 MÉTODOS | 21 |

| | | |
|--------|--|----|
| 4.3.1. | Determinación de humedad | 21 |
| 4.3.2. | Preparación de las disoluciones | 22 |
| 4.3.3. | Concentración micelar crítica y concentración de agregación crítica | 23 |
| 4.3.4. | Estabilidad de las emulsiones | 23 |
| 4.3.5. | Microcalorimetría diferencial de barrido (μ DSC) | 24 |
| 4.3.6. | Análisis estadístico | 24 |
| 5. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 26 |
| 5.2 | PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES | 26 |
| 5.3 | CONCENTRACIÓN MICELAR CRÍTICA Y CONCENTRACIÓN DE ASOCIACIÓN CRÍTICA | 27 |
| 5.4 | ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES | 29 |
| 5.2 | ESTUDIOS DE MICROCALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (μ DSC) | 33 |
| 6. | CONCLUSIONES | 37 |
| | REFERENCIAS | 38 |
| | ANEXOS | 47 |
| | ANEXO A. Análisis de varianza para la forma de preparación de las mezclas | 47 |
| | ANEXO B. Análisis de varianza para la estabilidad de las emulsiones | 48 |
| | ANEXO C. Análisis de varianza para los estudios de microcalorimetría | 52 |
| | ANEXO D. Cálculo del exceso de superficie | 55 |
| | ANEXO E. Datos utilizados para el cálculo de la concentración iónica total en las emulsiones | 57 |
| | ANEXO F. Especificaciones técnicas del polvo de κ -carragenina | 59 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Unidad repetitiva de κ -carragenina | 6 |
| Figura 2. Mecanismo de gelificación de la κ -carragenina | 7 |
| Figura 3. Diagrama de transición sol-gel para la κ -carragenina | 8 |
| Figura 4. Estructura del Estearoil Lactilato de Sodio | 11 |
| Figura 5. Modelo simple de asociación polímero-tensioactivo en solución acuosa | 13 |
| Figura 6. Arreglo de un horno para calorimetría diferencial de barrido tipo flux de calor | 14 |
| Figura 7. Representación esquemática de un termograma de DSC | 15 |
| Figura 8. Clasificación de emulsiones | 16 |
| Figura 9. Mecanismos de separación de fase en una emulsión | 17 |
| Figura 10. Diagrama general de trabajo | 21 |
| Figura 11. Esquema de preparación de emulsiones para las formas A) donde la masa de κ -carragenina se mantiene constante (MC) y B) donde la concentración de κ -carragenina se mantiene constante (CC) | 23 |
| Figura 12. Distribución del tamaño de partícula de almidón al 2% a distintas concentraciones de κ -carragenina | 26 |
| Figura 13. Influencia de la concentración de estearoil lactilato de sodio sobre la tensión superficial de soluciones de 5 mg/g de κ -carragenina a 25 ± 0.5 °C. CAC = Concentración de Agregación Crítica, CMC = Concentración Micelar Crítica | 28 |
| Figura 14. Esquema de la asociación de tensioactivos con polielectrolitos de carga negativa | 29 |
| Figura 15. Estabilidad de emulsiones preparadas con 20% de aceite y obtenidas a temperatura ambiente mediante dos formas de preparación. MC = Masa Constante de κ -carragenina, CC = Concentración Constante de κ -carragenina | 31 |
| Figura 16. Estabilidad de emulsiones preparadas con 30% de aceite y obtenidas a temperatura ambiente mediante dos formas de preparación. MC = Masa Constante de κ -carragenina, CC = Concentración Constante de κ -carragenina | 31 |
| Figura 17. Estabilidad de emulsiones preparadas con 40% de aceite y obtenidas a temperatura ambiente mediante dos formas de preparación. MC = Masa Constante de κ -carragenina, CC = Concentración Constante de κ -carragenina | 32 |
| Figura 18. Cremado en una emulsión elaborada con κ -carragenina-ELS | 32 |
| Figura 19. Comparaciones múltiples de la estabilidad de emulsión mediante dos métodos de preparación. MC = Masa Constante de κ -carragenina, CC = Concentración Constante de κ -carragenina | 35 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Aplicaciones más comunes de la carragenina en la industria de alimentos | 10 |
| Tabla 2. Mecanismos de desemulsificación observados en emulsiones O/W y W/O | 18 |
| Tabla 3. Condiciones finales para el estudio de estabilidad de emulsiones. (CC = concentración constante, MC = masa constante) | 24 |
| Tabla 4. Valores de Concentración de Agregación Crítica y Concentración Micelar Crítica para el sistema estearoil lactilato de sodio- κ -carragenina obtenidos por diferentes autores | 29 |
| Tabla 5. Valor de exceso de superficie para el par ELS- κ -carragenina a presión y temperatura constante | 30 |
| Tabla 6. Valores de temperaturas teóricas de transición sol-gel para las concentraciones iónicas de trabajo | 36 |
| Tabla 7. Valores de entalpías y temperaturas de transición sol-gel para las diferentes emulsiones elaboradas. MC = Masa Constante de κ -carragenina, CC = Concentración Constante de κ -carragenina | 36 |

RESUMEN

En el presente trabajo, se estudiaron los efectos de la variación en la concentración del tensioactivo aniónico estearoil lactilato de sodio (ELS) sobre la transición sol-gel de κ -carragenina, así como su influencia sobre la estabilidad de una emulsión y sus temperaturas de transición sol-gel. La concentración de κ -carragenina fue constante en 5 mg/g y se varió la cantidad de tensioactivo en un intervalo de 0-25 mmol/dm³.

La forma de preparar cada dispersión no afecta las interacciones del sistema polielectrolito-tensioactivo. Posteriormente, mediante pruebas de tensiometría se determinó la concentración micelar crítica, CMC, y la concentración de asociación crítica, CAC, cuyos valores fueron 0.09 - 0.12 % y 0.011 - 0.016 %, respectivamente.

Se preparó una serie de emulsiones con aceite de maíz bajo dos condiciones: Concentración constante, CC, y masa constante, MC, de κ -carragenina, con concentraciones de 0.35, 2.0 y 10 mmol/dm³ de ELS, así como 20, 30 y 40 % de fase oleosa. Además, para los estudios de microcalorimetría se indujo la gelificación por adición de 13 y 19 mmol/dm³ de KCl. Las pruebas de estabilidad mostraron que las disoluciones preparadas con MC de polisacárido fueron más estables que las preparadas con CC de κ -carragenina para las mismas concentraciones de tensioactivo.

Las temperaturas de transición gel-sol se determinaron por microcalorimetría que incluyó tres ciclos de calentamiento-enfriamiento, de 5 a 80 °C y de 80 a 5 °C. Los resultados obtenidos mostraron variaciones en las temperaturas de transición sol-gel de la κ -carragenina por el efecto de la concentración iónica total, concentración de tensioactivo y de fase oleosa, así como variaciones en las entalpías de transición para cada forma de preparación.

ABSTRACT

In this work, the effects of different concentrations of the anionic surfactant sodium stearyl lactylate (SSL) on the sol-gel transition of κ -carrageenan and its influence on the stability of an O/W emulsion and its transition temperatures were studied. The concentration of κ -carrageenan was constant at 5 mg/g, and the amount of surfactant was varied in the range of 0–25 mmol/dm³.

The way each dispersion was prepared did not affect the polyelectrolyte-surfactant interactions. The critical micellar concentration, CMC, and the critical association concentration, CAC, determined from tensiometry tests were 0.09–0.12% and 0.011–0.016%, respectively.

A series of O/W emulsions with corn oil were prepared under two conditions: Constant concentration (CC), and constant mass (CM) of κ -carrageenan, with concentrations of 0.35, 2.0, 10 mmol/dm³ SSL, and 20, 30, and 40% oil phase. For the microcalorimetry studies, gelation was induced by the addition of 13 and 19 mmol/dm³ of KCl. Stability tests showed that solutions prepared under CM condition were more stable than those made under CC for the same surfactant concentrations.

The gel-sol transition temperatures were determined by microcalorimetry, including three heating-cooling cycles, from 5 to 80 °C and 80 to 5 °C. The results showed variations in the sol-gel transition temperatures of κ -carrageenan because of the total ionic concentration, surfactant concentration, and oil phase and different transition enthalpies for each preparation condition.

INTRODUCCIÓN

Hay un creciente interés en el estudio de las interacciones entre polímeros, en particular polisacáridos y tensioactivos (Días et al., 2000; Hansson, 2006; Kogej, 2010; Santos et al., 2010; Pan et al., 2012). Las investigaciones se han centrado principalmente en mezclas de proteínas y tensioactivos y, en menor medida, en mezclas de polisacáridos y tensioactivos no alimentarios (Ortíz-Tafoya et al., 2018). Este interés es impulsado por el hecho de que las interacciones producen un efecto diferente a las propiedades de los componentes individuales. Por lo tanto, las propiedades de dichos compuestos son de suma importancia para la industria alimentaria y la no alimentaria como cosméticos, medicina, entre otras, por sus efectos como agentes espesantes, emulsionantes y de textura (Gaweł et al., 2013; Ortiz-Tafoya et al., 2018).

Se han realizado diversos estudios sobre las interacciones entre polisacáridos como el quitosano, la celulosa, la metilcelulosa o las dextranas con distintos tensioactivos iónicos, como el dodecil sulfato de sodio, el éter lauril sulfato de sodio o el bromuro de cetiltrimetilamonio, entre otros (Bao et al., 2008; Chiappisi & Gradzielski, 2015). Sin embargo, existen muy pocas investigaciones enfocadas en las interacciones que presentan las mezclas de las distintas carrageninas, κ , ι , λ , y el estearoil lactilato de sodio (ELS), polisacáridos aniónicos y tensioactivo aniónico, respectivamente, de uso aprobado en la industria alimentaria.

Las carrageninas son obtenidas por extracción de ciertas especies de algas marinas rojas (*Rhodophyta*). Se componen de cadenas alternadas de (1→3) β -D-galactopiranosas, también denominada unidad-G, y (1→4) α -D-galactopiranosas (unidad-D) o (1→4) 3,6-anhidro- α -D-galactopiranosas (unidad-DA) (Van de Velde et al., 2002). Se clasifican en seis formas básicas dependiendo de su composición, siendo las formas iota (ι), kappa (κ) y lambda (λ) las más utilizadas en la industria de alimentos debido a sus propiedades como agentes gelificantes, espesantes y estabilizantes (Leiria et al., 2009).

El estearoil lactilato de sodio es sintetizado a partir de ácidos grasos y ácido láctico en presencia de sodio (Boutte & Skogerson, 2004). Su interacción con diferentes moléculas como polisacáridos produce complejos que confieren características funcionales que pueden ser aprovechadas para su aplicación en alimentos (Ortíz-Tafoya et al., 2018).

En este trabajo se examinó la interacción κ -carragenina-ELS. Para ello se prepararon diferentes mezclas de κ -carragenina con una concentración constante de 5 mg/g con estearoil lactilato de sodio en diferentes concentraciones, 0-25 mmol/dm³, en agua desionizada para conocer si para diferentes formas de preparación muestran diferente interacción entre ellos, así como caracterizar la mezcla a través de estudios de tensión superficial, DSC y estabilidad de emulsiones.

1. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.1. HIPÓTESIS

La variación en la concentración de tensioactivo, así como la forma de preparación de la mezcla modificarán las propiedades del sistema κ -carragenina-ELS, que se verán reflejadas en su estabilidad térmica, tensión superficial y estabilidad de emulsiones O/W.

1.2. OBJETIVO GENERAL

Estudiar el comportamiento de un sistema polielectrolito-tensioactivo en disolución acuosa, específicamente la mezcla κ -carragenina-ELS, realizando estudios de caracterización, variando la concentración de tensioactivo y en presencia y ausencia de ion potasio, mediante pruebas de tensión superficial, microcalorimetría de barrido diferencial (μ DSC) y estabilidad de emulsión, para comprender la funcionalidad de estos sistemas.

1.3. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar si la forma de preparación de las mezclas κ -carragenina-ELS afecta sus propiedades para eliminar una variable de proceso.
- Determinar la concentración micelar crítica y la concentración de agregación crítica para las mezclas, para conocer los niveles de saturación de la interfase mediante mediciones de tensión superficial.
- Dilucidar el efecto de la concentración de tensioactivo, presencia de contraion potasio y proporción de aceite sobre las temperaturas y las entalpías de transición gel-sol en las mezclas κ -carragenina-ELS, para analizar la estabilidad térmica y usar este conocimiento para evaluar la estabilidad de una emulsión O/W preparada de dos formas distintas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. κ -CARRAGENINA

El nombre carragenina es genérico y designa a una familia de polisacáridos formadores de geles y aumentadores de viscosidad. Estrictamente, son poligalactanos sulfatados con un contenido de 15-40 % de grupos éster-sulfato y una masa molar relativa muy superior a los 100 kDa (Necas & Bartosikova, 2013). Su nombre proviene del irlandés, significa “pequeña roca” (Leiria et al., 2009) y se obtienen por extracción de ciertas especies de algas marinas rojas de la familia *Rhodophyceae*, (Kirk & Othmer, 1992; Chen et al., 2002; Rees, 1969; Rochas et al., 1989; Snoeren, 1976; Stoloff, 1959) particularmente de *Chondrus crispus*, *Euchema*, *Gigartinastellate*, *Iridaea*, *Hypnea*, *Solieria*, *Agardhiella* y *Sarconema* (Chen et al., 1973; Cheney et al., 1987; Chiovitti, 1988; McCandles et al., 1982, 1983; Mollet et al., 1988; Mollion, 1983; Murano et al., 1977; Parekh et al., 1979; Parekh et al., 1988; Parekh et al., 1988). Este polisacárido está tradicionalmente dividido en seis formas básicas: Iota (ι -), Kappa (κ -), Lambda (λ -), Mu (μ -), Nu (ν -) y Theta (θ -) carragenina. Las tres primeras son las más importantes a nivel industrial debido a sus extensas aplicaciones principalmente en alimentos y farmacia. Las diferencias entre ellas radican en su contenido de 3,6 anhidro-galactosa y de los grupos éster-sulfato (Stanley, 1987).

2.1.1. Estructura

En general, las carrageninas están formadas por unidades alternadas de D-galactosa y 3,6-anhidro-galactosa unidas mediante enlaces α -1,3 y β -1,4-glucosídicos (Prajapati et al., 2014). La κ -carragenina, ilustrada en la Figura 1, cuenta con una estructura básica de unidades repetidas de (1 \rightarrow 3) β -D-galactosa-4-sulfato y (1 \rightarrow 4) α -3,6-anhidro-D-galactosa (3,6-AG), con un contenido promedio de 25-30% de éster sulfato, además de 28-35% de la unidad 3,6-AG (Necas et al., 2013; Barbeyron et al., 2000). Estas unidades componen la mayor parte del esqueleto de la molécula, sin embargo, también se han encontrado residuos con grupos metoxilo y piruvato como sustituyentes del grupo sulfato.

Por su estructura, todos los tipos de carrageninas son solubles en agua caliente e insolubles en disolventes orgánicos, grasas y aceite. Sin embargo, el grado de solubilidad depende

esencialmente del contenido de grupos sulfato, así como de los cationes asociados. Los principales cationes encontrados en carrageninas son el sodio, el potasio, el calcio y el magnesio (Pardonche, 1985). Por ello, las variaciones en estos componentes influyen en propiedades como la hidratación, la fuerza del gel y la textura, la temperatura de fusión, la sinéresis y la sinergia (Leiria et al., 2009; Imeson, 2009).

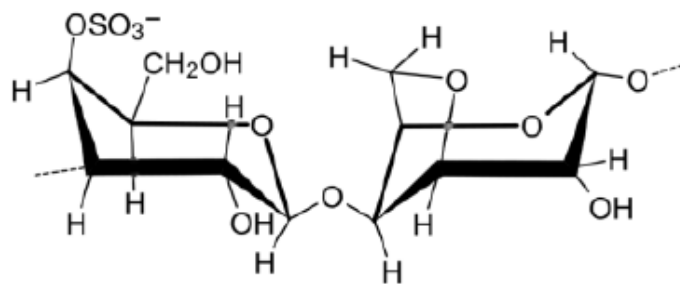


Figura 1. Unidad repetitiva de κ -carragenina (Barbeyron et al., 2000).

2.1.2. Mecanismo de gelificación

El mecanismo por el cual la κ -carragenina forma geles ha sido ampliamente estudiado y, por ende, se han propuesto distintos modelos. Uno de los modelos comúnmente aceptado, representado en la Figura 2, sugiere un mecanismo en dos etapas separadas y sucesivas. En el primer paso se induce una transición conformacional de hebra a doble hélice (Gel I) por efecto de la temperatura. Posteriormente las hélices empiezan a formar un agregado para finalmente crear una red de agregados por entrecruzamiento físico (Gel II), que conduce a una red tridimensional macroscópica (Takemasa & Chiba, 2001).

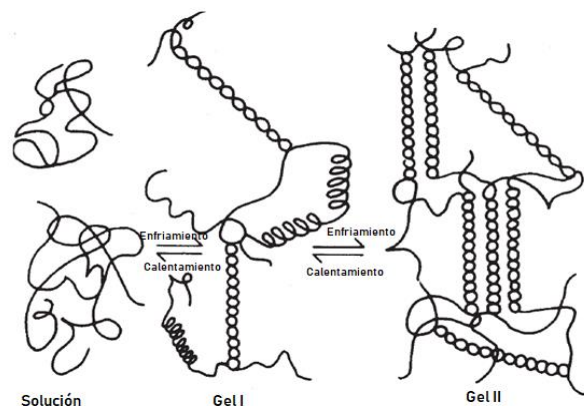


Figura 2. Mecanismo de gelificación de la κ -carragenina (Lamond, 2004).

Es importante mencionar que durante la agregación de hélices es necesaria la presencia de cationes que promuevan estas interacciones y permitan que la gelificación ocurra. Estas agregaciones tienen lugar a una temperatura específica, cuyo valor depende del tipo y concentración de iones en el sistema (Rochas & Rinaudo, 1984). Los contraiones más comunes son el calcio y el potasio, sin embargo, también se puede llevar a cabo en presencia de litio, sodio, rubidio y cesio, siendo el potasio y el rubidio los más efectivos (Funami et al., 2007; Ramakrishnan & Prud'homme, 2000). Los geles formados son termorreversibles, es decir, los geles se volverán fluidos cuando la temperatura sea mayor que su punto de fusión y se restablecerán al enfriarse con una pérdida mínima o nula de su fuerza de gel original (Budnis, 2000).

2.1.3. Diagrama de transición sol-gel

El diagrama de transición sol-gel es una herramienta muy útil que permite predecir las temperaturas de fusión y gelificación de la κ -carragenina en presencia y ausencia de sales añadidas. Es una representación gráfica del logaritmo de la concentración iónica total (C_T) en función del inverso de la temperatura absoluta (T^{-1}).

La concentración iónica total se define como:

$$C_T = \gamma C_P + C_S \quad (1)$$

donde γ representa el coeficiente de actividad promedio del contraion, $(\gamma_{\text{hebra}} + \gamma_{\text{hélice}})/2$, y tiene un valor de 0.55 para la sal de potasio de la κ -carragenina, C_P es la concentración de polielectrolito y C_S es la concentración de contraion (Rochas & Rinaudo, 1980).

En la Figura 3 se pueden apreciar tres zonas bien definidas que describen el estado de la κ -carragenina en disolución acuosa. En la zona I las moléculas de κ -carragenina se encuentran en un estado aleatorio o desordenado, en forma de hebras o filamentos como resultado del efecto de la exclusión de volumen y las repulsiones electrostáticas. En la zona II las moléculas de κ -carragenina se encuentran formando hélices de manera ordenada, aunque sin llegar a formar agregados. En la zona III las cadenas helicoidales se entrecruzan para formar una red tridimensional responsable de la formación de geles capaces de soportar su propio peso (Rochas & Rinaudo, 1980).

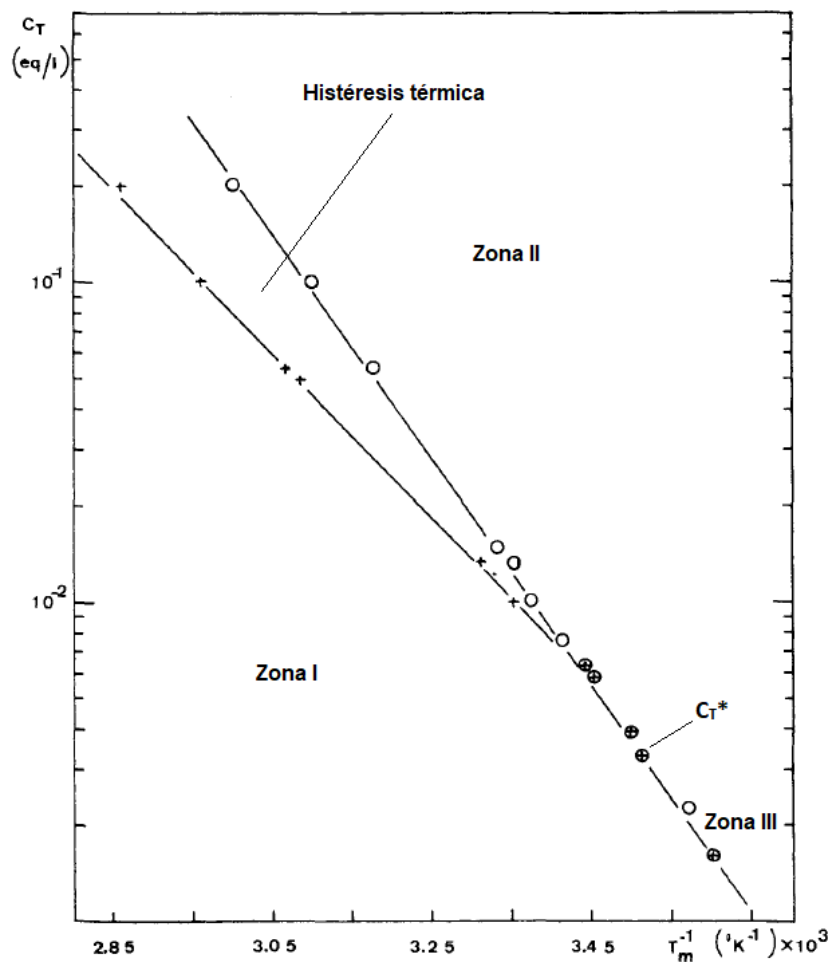


Figura 3. Diagrama de transición sol-gel para la κ -carragenina. Tomado de Rochas & Rinaudo (1980).

2.1.4. Aplicaciones

Las carrageninas son uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza que pueden ser utilizados en diversos campos debido a sus excelentes propiedades fisico-funcionales, como agentes gelificantes, estabilizantes y de impartición de textura (Prajapati et al., 2014), por lo que han sido utilizadas para mejorar la textura de queso cottage, controlar la viscosidad y la textura de pudines y postres lácteos, y como estabilizador y aglutinante en productos cárnicos, condimentos, fórmulas infantiles y salsas (Leiria et al., 2009; McHugh, 2003).

Además, las carrageninas son añadidas a alimentos procesados porque pueden ligar agua, promover la formación de geles, espesar, estabilizar y mejorar la palatabilidad y apariencia a través de las interacciones con otras sustancias en el alimento, e.g., proteínas, fosfato de sodio

o potasio, almidón, galactomananos o carboximetilcelulosa (Piculell, 2006). En el Cuadro 1 se enlistan algunas de las aplicaciones más importantes de las carrageninas en la industria, así como la función que desempeñan.

2.2 ESTEAROIL LACTILATO DE SODIO

El estearoil lactilato de sodio (ELS) es un tensioactivo aniónico, con una masa molar de aproximadamente 451.6 g/mol, y se obtiene a partir de la reacción del ácido esteárico (50-90%) con ácido láctico grado alimenticio en presencia de sodio (Krog & Lauridsen, 1976).

2.2.1. Estructura

Una estructura general del ELS se ilustra en la Figura 4 y consta de una estructura anfifílica lineal, con una cabeza hidrofílica cargada proveniente del ácido láctico y una cadena hidrofóbica de hidratos de carbono provenientes del ácido esteárico (Grigoriev et al., 2007).

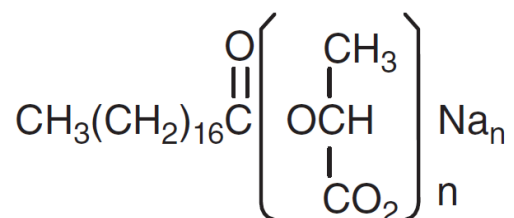


Figura 4. Estructura del ELS (Boutte & Skogerson, 2004).

En preparaciones comerciales, el número de ácidos lácticos, n, varía de 1 a 4, y se compone por una mezcla de 50% estearoil-1-lactilato (ELS1), 20% estearoil-2-lactilato (ELS2), 5% estearoil-3-lactilato (ELS3) y cantidades traza de estearoil-4-lactilato (ELS4) y otras especies sin reaccionar, como ácidos grasos y ácidos polilácticos (Boutte & Skogerson, 2004).

2.2.2. Aplicaciones

Por su estructura el ELS está clasificado como un tensioactivo, es decir, tiene la capacidad de disminuir la tensión superficial entre dos fases, por lo que es ampliamente utilizado en la industria de los alimentos como emulsionante y estabilizante. Además, se ha utilizado como agente acondicionador (Armero & Collar, 1998), agente de batido (Kelly et al., 1999) y fortalecedores de masa y suavizantes en productos de panadería.

Cuadro 1. Aplicaciones más comunes de la carragenina en la industria de alimentos (Prajapati et al., 2014).

| Producto | Propósito para la adición/acción en el producto | Referencia |
|--|--|--|
| Queso cottage | Previene la separación de suero. | McHugh (2003) |
| Helado | Previene la separación causada por la adición de gomas destinadas a controlar la textura y el crecimiento de cristales de hielo, estabilizador y emulsionante. | McHugh (2003) |
| Cremas para café, leche evaporada y condensada | Previene la separación de grasa. | McHugh (2003) |
| Crema batida | Mantiene la “ligereza”. | McHugh (2003) |
| Jaleas bajas en calorías | Reemplaza a la pectina y azúcar para mantener estable. | McHugh (2003) |
| Bebidas mezcladas (limonada en polvo, ponche de fruta, etc.) | Proporciona textura cuando se reconstituye en agua fría. | McHugh (2003) |
| Aderezos ajos en grasas | Proporciona una mayor textura. | McHugh (2003) |
| Mayonesa baja en grasa | Espesante y estabilizante. | McHugh (2003) |
| Productos avícolas pre-cocinados | Se Inyecta como salmuera para mejorar la textura, ternura y mantener la jugosidad. | McHugh (2003) |
| Comida enlatada para mascotas | Enlaza los pedazos de carne. | McHugh (2003) |
| Cerveza | Clarifica a través de la precipitación de proteínas. | McHugh (2003) |
| Flanes, natillas, rellenos cremosos | Agente estabilizante y gelificante. | Piculell (2006) |
| Queso | Estabiliza, humecta y mejora el rebanado. | Piculell (2006) |
| Pescado | Se añade antes del procesado para retener agua. | Piculell (2006) |
| Leche saborizada y batidos | Mantiene la cocoa y otros saborizantes en suspensión. | McHugh (2003); Saha & Bhattacharya (2010) |
| Sorbete | Proporciona una textura suave (agente gelificante). | McHugh (2003); Piculell (2006) |
| Carnes procesadas bajas en grasa y sodio | Mejora la jugosidad y ternura; se comporta como la grasa y retiene la humedad a través de la cocción; ayuda a unir los productos cárnicos durante la cocción. | McHugh (2003) |
| Frutas empaquetadas recién cortadas | Ralentiza la decoloración, mantiene la textura. | Plotto et al. (2006, 2010); Bico et al. (2009) |

Los panes resultantes de añadir ELS se caracterizan por una textura de miga suave y fina (Sluimer 2005). Esta función se deriva de su acción complejante con proteínas de harina y almidones, especialmente con la amilosa (Knightly, 1973; Stutz et al., 1973; Dubois, 1979; Rusch, 1981; Knightly, 1988).

2.3 INTERACCIONES POLISACÁRIDO-TENSIOACTIVO EN DISOLUCIÓN ACUOSA

Las interacciones entre polímeros y tensioactivos en disoluciones acuosas han atraído un interés significativo en los últimos años debido a sus extensas aplicaciones y comportamientos relativamente complejos (Jain et al., 2004). Las interacciones, que dependen de la estructura de los componentes, producen complejos que pueden alterar un sistema, generando estabilidad o inestabilidad. El resultado final dependerá de las propiedades de los componentes, su proporción en la mezcla y las condiciones del entorno, como la fuerza iónica, la temperatura y el pH (Bais et al., 2005).

2.3.1. Concentración micelar crítica y concentración de agregación crítica

Las interacciones entre polímeros y tensioactivos pueden ser descritas generalmente por dos concentraciones críticas. La primera concentración, llamada concentración de agregación crítica (CAC), corresponde a la concentración de tensioactivo para la cual dichas moléculas comienzan a unirse a las moléculas de polímero. Por lo tanto, la CAC representa el inicio de la formación del complejo polisacárido-tensioactivo. La segunda concentración, llamada concentración micelar crítica (CMC), se alcanza con el incremento en la concentración de tensioactivo y representa la concentración de tensioactivo para la cual las moléculas de polímero han sido saturadas por moléculas de tensioactivo (Bao et al., 2008; Ortiz-Tafoya & Tecante, 2017).

La CMC y la CAC generalmente se determinan mediante estudios de tensión superficial o mediante mediciones de electrodos específicos de tensioactivo que son sensibles a las moléculas de tensioactivo no asociadas (Jain et al., 2004). En la Figura 5 se muestran los fenómenos de asociación en una mezcla polímero-tensioactivo.

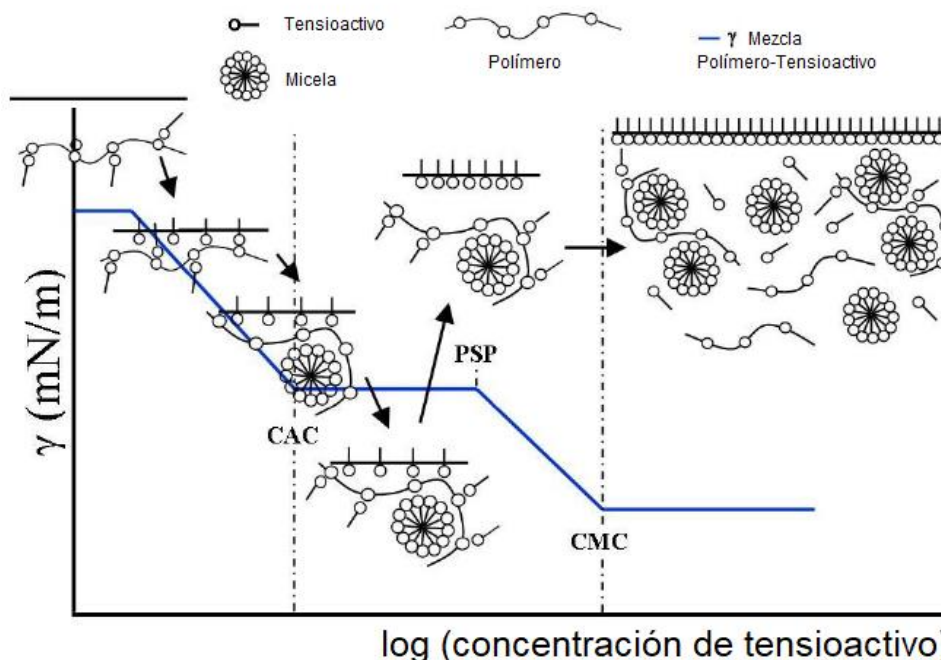


Figura 5. Modelo simple de asociación polímero-tensioactivo en disolución acuosa (Ortiz-Tafoya & Tecante, 2017).

Las interacciones entre el polímero y el tensioactivo pueden llevarse a cabo de diferentes maneras y dependerán de la naturaleza de cada molécula, es decir, si son aniónicas, catiónicas, neutras o zwitteriónicas. Entre las más importantes destacan las interacciones electrostáticas, hidrofóbicas y polares (Ortiz-Tafoya & Tecante, 2017).

2.4 MICROCALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (μ DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) es una herramienta analítica eficaz para caracterizar las propiedades térmicas de un polímero. Una muestra de masa conocida se calienta o se enfría y los cambios en su capacidad calorífica se rastrean como cambios en el flujo de calor. Esto permite determinar las temperaturas de fusión, cristalización y transición mesomórfica, los cambios correspondientes de entalpía y entropía, y caracterizar la transición vítrea y otros efectos que muestran cambios en la capacidad térmica o un calor latente (Schick, 2009). La microcalorimetría diferencial de barrido es una variante de la DSC, con diferencia en la sensibilidad del equipo, así como el uso de muestras en menor cantidad.

2.4.1. Tipos de DSC

Existen diferentes tipos de calorímetros, e.g., DSC de compensación de potencia y DSC de flux de calor, sin embargo, la mayoría suele tener dos compartimientos o posiciones de muestra: uno para contener la disolución con la molécula de interés y la otra para contener a la muestra de referencia, que a menudo se trata del material inerte o disolvente (Figura 6).

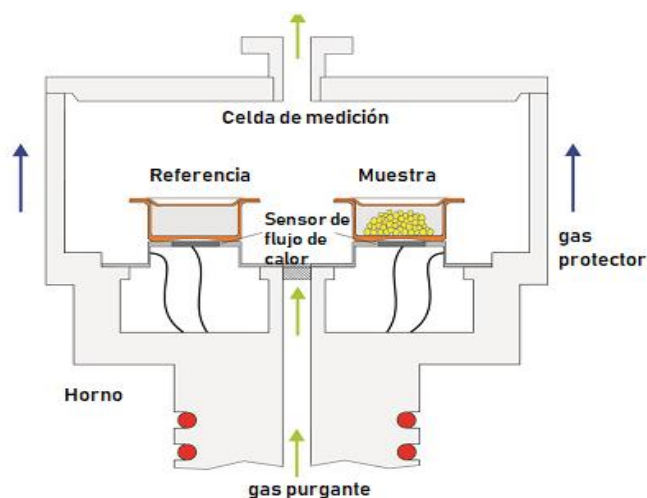


Figura 6. Arreglo de un horno para calorimetría diferencial de barrido tipo flux de calor. (Imagen tomadas de Netzsch Thermal Analysis).

En el DSC de compensación de potencia, las temperaturas de la muestra y de referencia se controlan de forma independiente utilizando hornos separados e idénticos, mientras que, en un DSC de flux de calor, la muestra y la referencia están conectadas por una ruta de flujo de calor de baja resistencia, por lo común un disco de metal (Bhadeshia, 2002). Así, las temperaturas de ambas celdas se elevan de manera idéntica con el tiempo. La diferencia en la energía de entrada requerida para hacer coincidir la temperatura de la muestra con la de la referencia sería la cantidad de exceso de calor absorbido o liberado por la molécula en la muestra durante una transición endotérmica o exotérmica, respectivamente. Por lo tanto, los datos se obtienen en forma de entradas diferenciales de calor (dH/dt) en función de la temperatura, que luego se registran como un pico (Lund, 1983; Gill, Moghadam & Ranjbar, 2010). Los esquemas en donde se representan los cambios de temperatura reciben el nombre de termogramas (Figura 7).

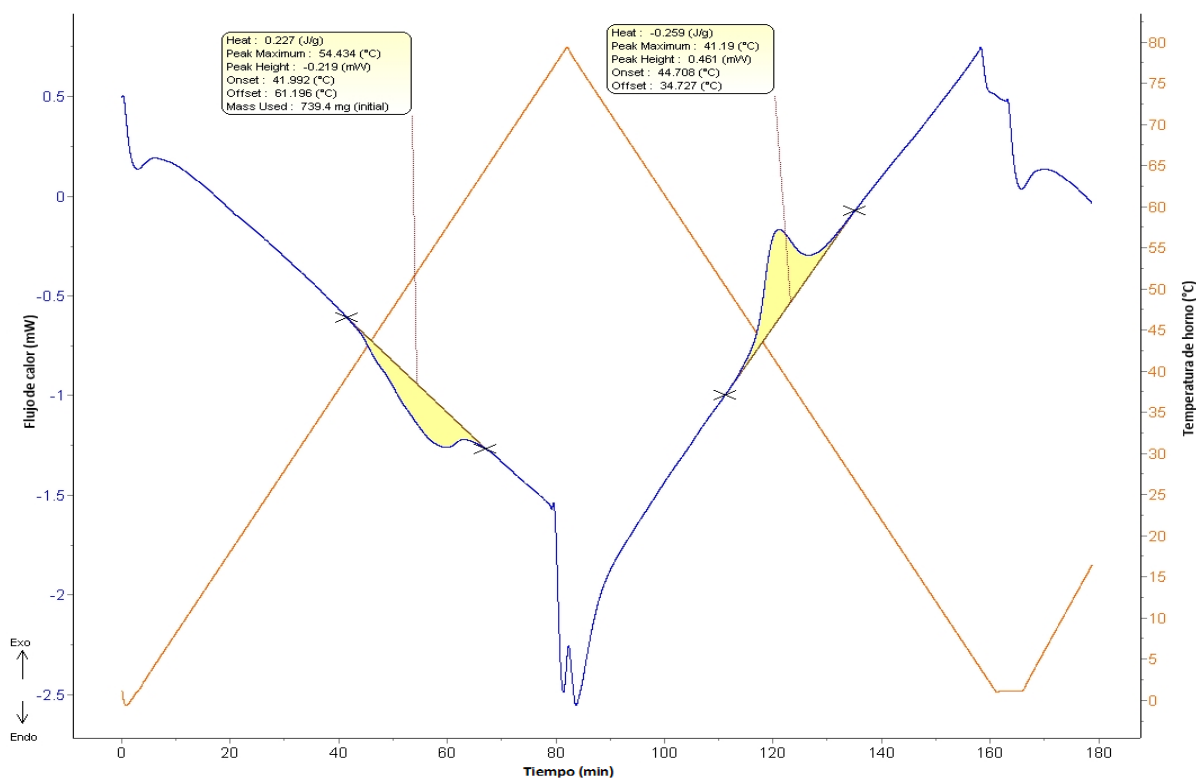


Figura 7. Representación esquemática de un termograma de DSC obtenida el calorímetro usado en este trabajo. Las zonas amarillas son transiciones endotérmicas (pico hacia abajo) y exotérmicas (pico hacia arriba).

El área bajo la curva de transición es directamente proporcional al cambio de entalpía y su dirección indica si el evento térmico es endotérmico o exotérmico (Biliaderis, 1981).

2.5 EMULSIONES

Una emulsión es una mezcla de dos fases líquidas inmiscibles donde una fase se dispersa en otra. Básicamente, una emulsión consiste en una fase continua que se conoce como fase externa, donde se dispersan las gotas, y una fase dispersa que se define como fase interna o discontinua (Chrisman et al., 2012). Son sistemas termodinámicamente inestables, que se separarán para reducir el área interfacial entre la fase continua y la fase dispersa en función del tiempo (Sjoblom, 2001). Aunque se trate de dispersiones termodinámicamente inestables, las emulsiones pueden convertirse en cinéticamente estables gracias a la presencia de tensioactivos que tienen la capacidad de adsorberse sobre la superficie de las gotas.

2.5.1. Tipos de emulsión

Esencialmente, hay tres tipos de emulsiones (Figura 8) que son agua en aceite (W/O), aceite en agua (O/W) y emulsiones complejas como agua en aceite en agua (W/O/W), que también es conocida como emulsión múltiple (Hoshyargar et al., 2012).

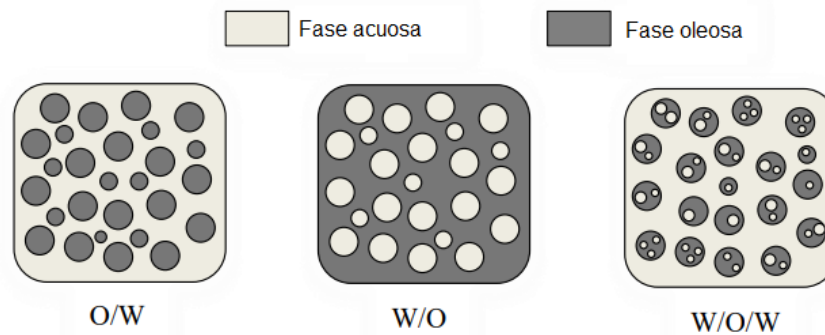


Figura 8. Clasificación de las emulsiones (Akbari & Hamid, 2018).

Asimismo, las emulsiones se pueden clasificar de acuerdo con el tamaño de las gotas de la fase dispersa. Se denomina micro-emulsión cuando el tamaño de las gotas es menor de 0.1 μm . Se conoce como macro-emulsión si las gotas dispersas son mayores de 0.1 μm (Janssen et al., 2001). Técnicamente hablando, las micro-emulsiones difieren de las macro-emulsiones de varias maneras, si bien existe un contacto directo de aceite y agua en la interfaz de una macro-emulsión, dicho contacto directo no está presente en las micro-emulsiones. Además, las macro-emulsiones son sistemas coloidales turbios, mientras que las micro-emulsiones son ópticamente transparentes (McClements, 2015).

2.5.2. Formación y estabilidad de una emulsión

Para la formación de una emulsión son necesarias tres condiciones: Inmiscibilidad entre las fases de la emulsión, agitación para dispersar un líquido en otro y la presencia de moléculas de naturaleza anfifílica; una parte hidrófoba y una parte hidrófila, llamadas también tensioactivos. El proceso de formación de la emulsión se llama emulsificación y se trata de un proceso dinámico y no espontáneo que generalmente requiere una considerable cantidad de energía mecánica, para dispersar uno de los líquidos en forma de pequeñas gotas sobre la fase continua (Akbari & Hamid, 2018; Aranberri, 2006).

La estabilidad de la emulsión está relacionada con el tipo y la cantidad de tensioactivo. La naturaleza anfótera de estas moléculas se expresa en términos de una escala empírica que comúnmente se denomina balance hidrófilo-lipófilo (HLB). En dicha escala se le asignan los valores de HLB más bajos a los tensioactivos con un carácter menos hidrofílico (Griffin, 1949). Estos agentes promueven la estabilidad de la emulsión formando películas alrededor de las gotas de agua en las interfaces agua-aceite. La formación de películas aumenta la estabilidad de la emulsión al aumentar la viscosidad interfacial y disminuir la tensión interfacial (Sullivan & Kilpatrick, 2002).

El proceso de ruptura de las emulsiones (Figura 9), puede ocurrir mediante diferentes procesos dependientes del tiempo, entre los que se encuentran la maduración de Ostwald, la coalescencia, la floculación, la sedimentación y el cremado (Urbina-Villalba, 2009; Clint, 1991).

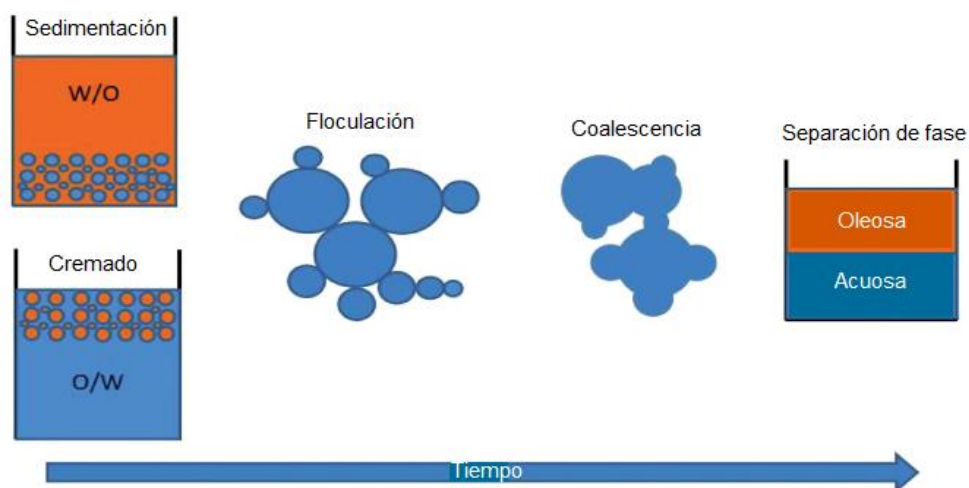


Figura 9. Mecanismos de separación de fase en una emulsión (Alvarado, Wang & Moradi, 2011).

En general, el complejo proceso de la inestabilidad de las emulsiones suele ocurrir mediante la combinación de los mecanismos antes descritos y pueden suceder simultáneamente a diferentes velocidades. Para un mejor entendimiento, se han resumido las principales características en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Mecanismos de desemulsificación observados en emulsiones O/W y W/O (Goodarzi & Zendeboudi, 2019).

| Proceso de desemulsificación | Definición | Detalles |
|--|---|--|
| Sedimentación | - Las gotas de agua se separan de la emulsión, lo cual normalmente ocurre debido a la diferencia de densidad entre el agua y aceite. | - Es una función de la estructura química y la adsorción de tensioactivo. - Se debe a la diferencia en la densidad del aceite y el agua. |
| Cremado | - No es una ruptura real, sino la separación de la emulsión en la parte más densa (crema) y las otras partes. | - Es una función de la estructura química y la adsorción de tensioactivo. - Se debe a la diferencia en la densidad del aceite y el agua. |
| Floculación | - Exhibe la agrupación de gotas individuales suspendidas juntas mientras cada gota mantiene su identidad. | - Depende de la estructura del tensioactivo. - Es el primer paso hacia un mayor envejecimiento de la emulsión y coalescencia. - Mecanismo más frecuente en emulsiones O/W, |
| Coalescencia | - Representa el mecanismo por el cual dos o más grupos separados de partículas miscibles están activos mientras se empujan entre sí para alcanzar el más mínimo contacto. | - Se ve afectada por la viscosidad de la película interfacial, la elasticidad de la película de tensioactivo y la dinámica del drenaje de la película líquida delgada. |
| Agregación | - Corresponde a la formación de gotas acumuladas en una suspensión. | - Es el proceso más común, resultando en la desestabilización de sistemas coloidales. |
| Maduración de Ostwald (engrosamiento de gotas) | - Representa la difusión de gotas en la fase continua para describir la modificación de la estructura no homogénea, como la deposición de partículas de tensioactivo en partículas más grandes a lo largo del tiempo. | - Generalmente experimentado en emulsiones W/O. - Se observa en gotas líquidas o soluciones sólidas |
| Separación de fase | - Se define como una separación completa de aceite y agua en dos fases distintas. | - Es una función del tiempo y tipo de emulsificante. |

3 ANTECEDENTES

Existen diversos estudios sobre interacciones entre polielectrolitos y tensioactivos. Por ejemplo, se han estudiado mezclas de quitosano con distintos tensioactivos de naturaleza iónica y no iónica, como el monolaureato de sorbitán, el monooleato de sorbitán, el trioleato de sorbitán, el octaetilenglicol y el mono n-dodecil éter, dodecil sulfato de sodio, lauril éter sulfato de sodio y taurocolato de sodio (Chiappisi & Gradzielski, 2015; Grant et al., 2006).

En el caso de las carrageninas, se han estudiado sus interacciones con el cloruro de N-dodecil piridinio, el cloruro de N-cetilpiridinio, el cloruro de dodecil amonio y la N-isopropilacrilamida (NIPAM) (Kogej, 2008; Gawel et al., 2013). Sin embargo, no existe diversidad de estudios entre polisacáridos y tensioactivos aprobados como aditivos en la industria de alimentos y menos aún en para el par κ -carragenina-ELS.

3.2 SISTEMA κ -CARRAGENINA-ELS

Ortíz-Tafoya & Tecante (2017), realizaron estudios de caracterización para la mezcla κ -carragenina-ELS en pro del conocimiento sobre las interacciones que se generan y los efectos al variar la concentración de tensioactivo, así como la adición de diferentes iones en condiciones controladas de pH y temperatura. Tales experimentos abarcan desde estudios espectroscópicos de infrarrojo (IR), espectroscopia de absorción atómica y resonancia magnética nuclear (RMN) para conocer la constitución de los componentes individuales, así como estudios de tensión superficial, microcalorimetría diferencial de barrido (μ DSC), potencial Z, fraccionamiento de campo de flujo con flujo asimétrico acoplado a dispersión de luz multiangular (AF4-MALS), microscopía de fuerza atómica y reometría para la mezcla en cuestión. A su vez, se ha puesto a prueba el sistema κ -carragenina-ELS en combinación con aceite para generar emulsiones en gel, empleando técnicas de microscopía de fluorescencia para determinar la distribución del tamaño de gota de aceite, microcalorimetría diferencial de barrido (μ DSC) para observar el efecto en la transición gel-sol-gel y pruebas reológicas para determinar el comportamiento físico-funcional que se genera.

Gracias a esto se ha podido sugerir la presencia de la CMC y CAC del sistema κ -carragenina-ELS, así como su comportamiento reológico en emulsiones O/W y el efecto de la adición de

iones sobre el complejo formado, sin embargo, es importante complementar los estudios realizados, así como modificar ciertos factores para ampliar el panorama de futuras aplicaciones en la industria de los alimentos, cuestión tal, que se planea ayudar a conseguir con los estudios empleados en este trabajo.

4 METODOLOGÍA

4.2 DIAGRAMA GENERAL

La Figura 10 muestra el diagrama experimental adoptado en este trabajo.

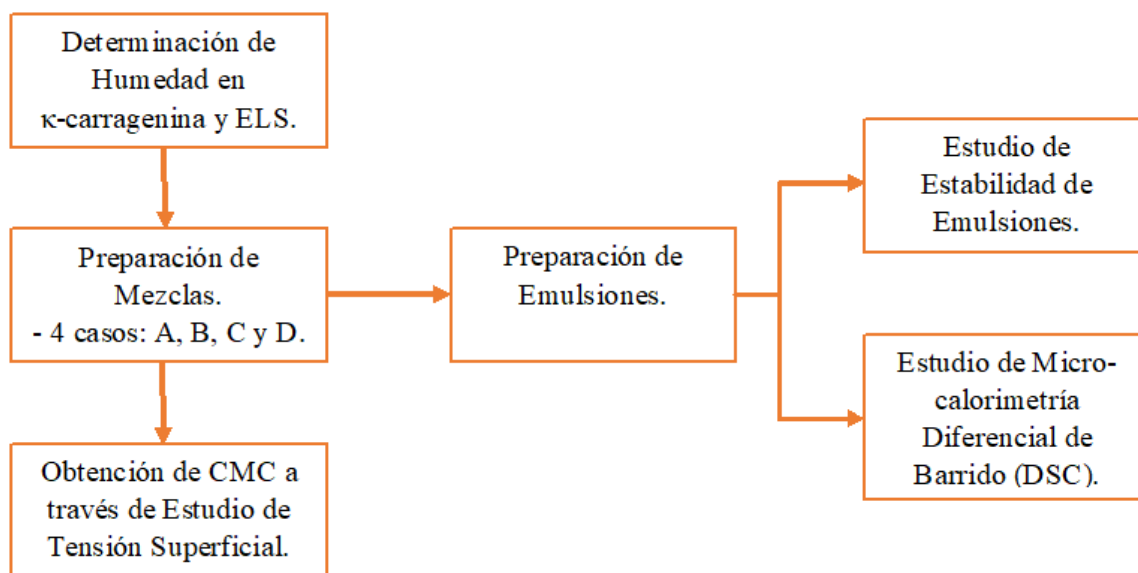


Figura 10. Diagrama general de trabajo.

4.3 MATERIALES

Para la realización de los experimentos se utilizó polvo de κ -carragenina grado alimenticio (Ingredient Solutions, USA), estearoil lactilato de sodio en polvo (Palsgaard, Juelsminde, Denmark), aceite de maíz marca Mazola® (Alimentos Capullo S. de R.L. de C.V. de México), cloruro de potasio (Merck, Alemania) y agua desionizada.

4.4 MÉTODOS

4.3.1. Determinación de humedad

- κ -carragenina: Se determinó el contenido de humedad ($n = 3$) en la muestra con una termobalanza (Ohaus®, MB45-2^a, USA) de acuerdo con la metodología descrita en la NMX-F-428-1982, pesando 10.0 ± 0.5 g de muestra. La humedad promedio del polvo de κ -

carragenina fue 14.06 ± 0.67 %. Con este valor se ajustó la cantidad de κ -carragenina a utilizar para obtener las dispersiones a una concentración de 0.5 % p/p.

- ELS: Se determinó el contenido de humedad por el método de secado en estufa (Nielsen, 2003). Se pesó 2 g de muestra en un crisol metálico con tapa, previamente puesto a masa constante, y se colocó en una estufa a una temperatura a 100.0 ± 1.0 °C durante 24 h. Se pasó a un desecador y se dejó enfriar. Se pesó en una balanza y se calculó el contenido de humedad por gravimetría. El procedimiento se realizó por triplicado y se obtuvo un valor promedio de humedad de 2.6 %. Con este valor se ajustó el contenido de ELS en las dispersiones para obtener concentraciones de 0 a 25 mmol/dm³.

4.3.2. Preparación de las disoluciones

Se examinaron cuatro formas, denominadas A, B, C y D, de preparar las mezclas cada una con una concentración final de 5 mg/g de κ -carragenina y 25 mmol/dm³ de estearoil lactilato de sodio.

Forma A: Se preparó una dispersión de κ -carragenina en agua desionizada a temperatura ambiente y se le agregó el polvo de estearoil lactilato de sodio (ELS) hasta su disolución. La mezcla se calentó a 92 °C por 10 min y enseguida se enfrió a temperatura ambiente.

Forma B: Se siguió el mismo procedimiento que para A, pero se cambió el orden de adición de los polvos. Primero se preparó la disolución de ELS y posteriormente se agregó la κ -carragenina.

Formas C y D: Se prepararon disoluciones de ELS y de κ -carragenina por separado, y se mezclaron una sobre la otra. En C la disolución de ELS se vertió sobre la de κ -carragenina. En D el procedimiento fue inverso. Posteriormente cada mezcla se calentó a 92 °C por 10 min y enseguida se enfrió a temperatura ambiente.

Las mezclas se dejaron reposar 18 h mínimo para estabilizarlas y se midió su tensión superficial (mN/m) a 25 ± 0.5 °C en un micro-tensiómetro (Kibron EZPiplus, Finland) de acuerdo con el procedimiento descrito por Ortíz-Tafoya et al. (2018).

4.3.3. Concentración micelar crítica y concentración de agregación crítica

Una vez demostrado que la forma de preparación de la dispersión no influye en sus propiedades, se decidió preparar las mezclas con la metodología A. Se preparó una serie de mezclas con una concentración variable de 0 a 25 mmol/dm³ de estearoil lactilato de sodio y sus tensiones superficiales fueron graficadas en función de la concentración de ELS.

4.3.4. Estabilidad de las emulsiones

Se plantearon dos formas de preparar las emulsiones O/W: concentración constante de κ -carragenina (CC), en la que el volumen de la fase acuosa se sustituye por un porcentaje de aceite, y masa constante de κ -carragenina (MC), donde el volumen de la fase acuosa permanece constante y se adiciona el aceite a este volumen (Figura 11).

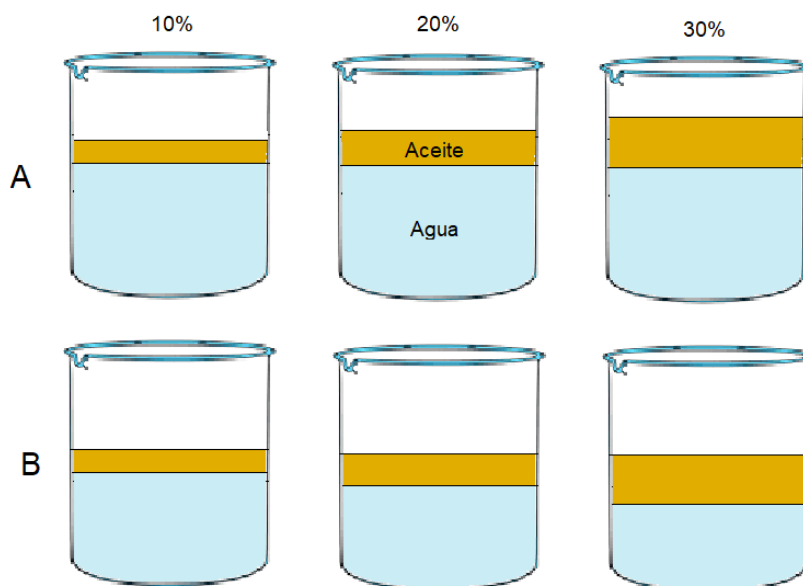


Figura 11. Esquema de preparación de las emulsiones O/W para las formas A) donde la masa de κ -carragenina se mantiene constante (MC) y B) donde la concentración de κ -carragenina se mantiene constante (CC).

Se preparó la mezcla con la metodología A incluyendo las adecuaciones mencionadas anteriormente para MC y CC de κ -carragenina, se agregó el aceite de maíz y se homogeneizó la mezcla con un instrumento de dispersión (IKA® T25 digital ULTRA-TURRAX®) a 8k,

10k y 12k rpm durante 30 s cada una. Se tapó y se dejó en observación. Finalmente se midió el tiempo que tardó en separar la emulsión.

Las condiciones finales para cada experimento se enlistan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Condiciones finales para el estudio de estabilidad de emulsiones. CC = concentración constante, MC = masa constante.

| % de Aceite | 20 % | | | | | | 30 % | | | | | | 40 % | | | | | |
|-----------------------|---------|----|--------|----|-------|----|---------|----|--------|----|-------|----|---------|----|--------|----|-------|----|
| ELS | 0.35 mM | | 2.0 mM | | 10 mM | | 0.35 mM | | 2.0 mM | | 10 mM | | 0.35 mM | | 2.0 mM | | 10 mM | |
| κ -carragenina | CC | MC | CC | MC | CC | MC | CC | MC | CC | MC | CC | MC | CC | MC | CC | MC | CC | MC |

4.3.5. Microcalorimetría diferencial de barrido (μ DSC)

Para los estudios por microcalorimetría diferencial de barrido se seleccionaron cuatro condiciones de las propuestas en la estabilidad de emulsiones. En todas ellas la concentración de κ -carragenina fue 5 mg/g: 1) 20 % de aceite - 0.35 mM ELS, CC, 2) 20 % de aceite - 0.35 mM ELS, MC, 3) 40 % de aceite - 10 mM ELS, CC y 4) 40 % de aceite - 10 mM ELS, MC. Se preparó cada emulsión conforme a lo establecido en los estudios de estabilidad, con la siguiente modificación. Una vez dispersado el polvo de κ -carragenina y ELS sobre el agua desionizada, se calentó la mezcla a 90 °C y se añadió cloruro de potasio en cantidad suficiente para apantallar las cargas de κ -carragenina; 13 y 19 mM. Se dejó reposar 18 h mínimo y se prosiguió a realizar los estudios en un microcalorímetro (μ DSC 7Evo, Setaram, France) de acuerdo con el procedimiento descrito por Ortíz-Tafoya et al. (2018). Se pesó una masa de 600 ± 50 mg de muestra en una celda Hastelloy. En la celda de referencia se pesó una cantidad equivalente de agua desionizada. Ambas celdas se equilibraron por 30 min y se calentaron de 5 a 80 °C, se mantuvieron a 80 °C por 10 min, se enfriaron a 5 °C y se mantuvieron a esta temperatura por 10 min. Se repitió el proceso en tres ciclos de calentamiento-enfriamiento con una tasa de 0.8 °C/min. Para determinar las temperaturas de transición se utilizó el software DataCalisto (μ DSC 7Evo, Setaram, France).

4.3.6. Análisis estadístico

Todas las mediciones se realizaron por triplicado, las gráficas presentadas fueron elaboradas con el software comercial Microsoft® Office Excel® 2013, así como SigmaPlot® 14.0 y en ellas se presentó el promedio de las repeticiones. Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) unifactorial con el software comercial Microsoft® Office Excel® 2013 mediante

una distribución de probabilidad F, con un nivel de confianza de 95 % ($\alpha = 0.05$) para comprobar si existen diferencias significativas en la forma de preparar las disoluciones. El mismo análisis se realizó para la preparación de emulsiones y estudios de microcalorimetría. En caso de haber diferencias significativas, se realizó la prueba de Tukey con un nivel de confianza de 95 % ($\alpha = 0.05$).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2 PREPARACIÓN DE LAS DISOLUCIONES

En la Figura 12 se muestran las tensiones superficiales de las distintas mezclas preparadas. El intervalo es de 32 a 33 mN/m, similar al reportado por Ortiz-Tafoya & Tecante (2018). De acuerdo con el análisis de varianza, ver Anexo A, no hay diferencias significativas entre las cuatro formas preparación de las mezclas con un nivel de confianza de 95%.

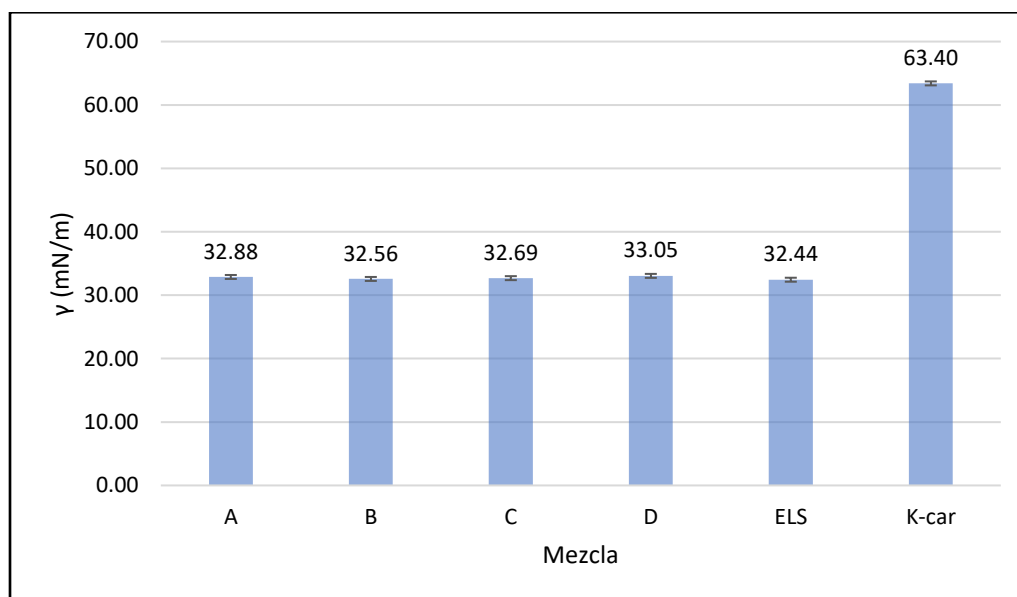


Figura 12. Tensión superficial de las mezclas de κ -carragenina (5 mg/g) y ELS (25 mmol/dm³) a 25 ± 0.5 °C. Se muestra también la tensión superficial de las disoluciones de los componentes individuales para la misma concentración que en las mezclas (n = 3).

Los resultados muestran que la forma de preparación de la mezcla no afecta el valor de la tensión superficial. Este hecho se interpreta como que las interacciones entre la κ -carragenina y el ELS son independientes de la forma en que se prepare la mezcla. La tensión superficial de los componentes individuales y el agua utilizada para las dispersiones fue similar a los reportados por Ortiz-Tafoya et al. (2018) para el ELS, la κ -carragenina y el agua desionizada (72 mN/m), por lo que se puede descartar el efecto de posibles impurezas en el polvo o material utilizado que pudieran afectar las mediciones. Cabe señalar que la κ -carragenina sin ELS también abate la tensión superficial, lo que implica que tiene capacidad de adsorberse en la interfase. No obstante, no existen estudios sistemáticos sobre el efecto de polisacáridos

sobre la tensión superficial en medio acuoso que proporcionen información sobre su capacidad para adsorberse en la interfase aire-líquido.

5.3 CONCENTRACIÓN MICELAR CRÍTICA Y CONCENTRACIÓN DE ASOCIACIÓN CRÍTICA

Una vez que se determinó que la forma de preparar las disoluciones no altera la tensión superficial de las mezclas, las mediciones se hicieron en disoluciones preparadas con la forma A. Como se aprecia en la Figura 13, al aumentar la concentración de ELS la tensión superficial disminuyó gradualmente, sin embargo, para una cierta concentración hubo un cambio de pendiente. A este punto se le conoce como la concentración de agregación crítica (CAC). Al seguir aumentando la concentración de ELS se llega a un segundo punto de inflexión para finalmente volver a la tendencia lineal. A este segundo punto se le denomina concentración micelar crítica (CMC). La CAC fue de 0.011 – 0.016 % ELS, lo que significa que para esta concentración de tensioactivo ocurren las primeras interacciones, principalmente hidrofóbicas e iónicas, con la κ -carragenina para dar lugar a la formación de complejos moleculares (Ortíz-Tafoya et al., 2018; Jain et al., 2004).

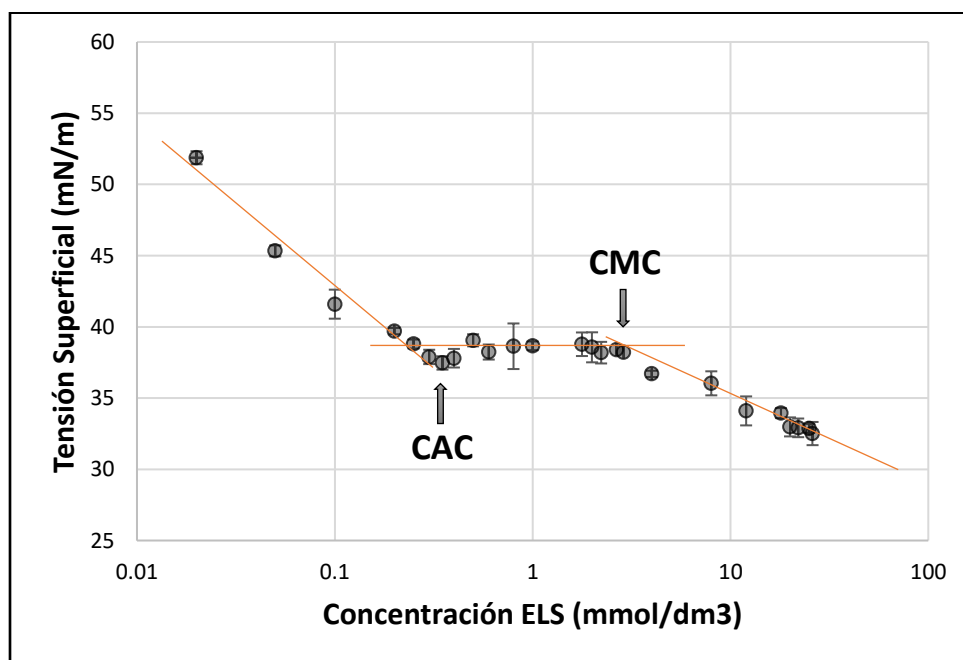


Figura 13. Influencia de la concentración de ELS sobre la tensión superficial de disoluciones con 5 mg/g de κ -carragenina a 25 ± 0.5 °C. CAC = concentración de agregación crítica, CMC = concentración micelar crítica (n = 3).

La CMC se obtuvo en el intervalo de 0.09 - 0.12 % de ELS lo que implica que a dichas concentraciones de tensioactivo los complejos formados empiezan a organizarse para presentar formas de orden superior, como las mostradas en la Figura 14.

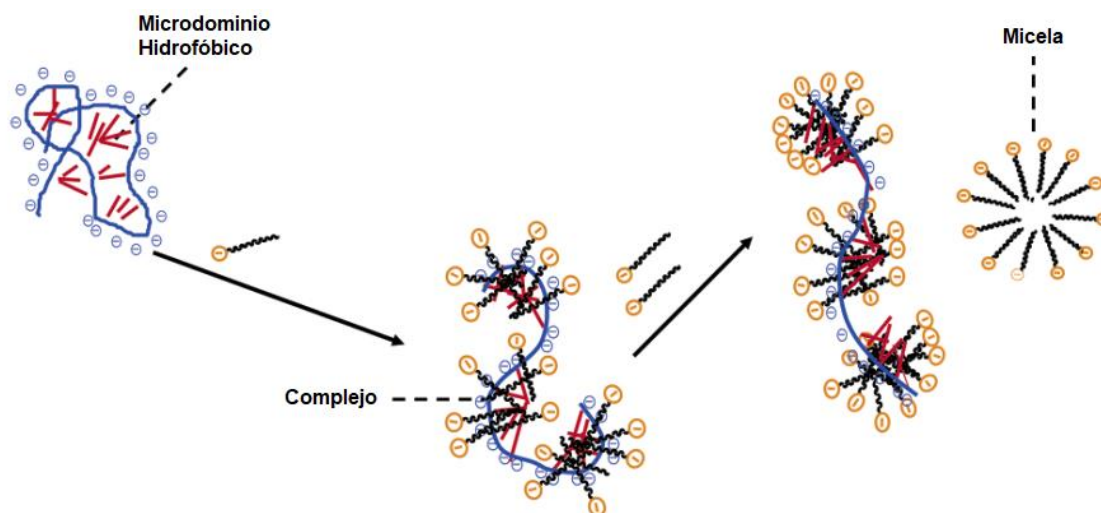


Figura 14. Esquema de la asociación de tensioactivos con polielectrolitos de carga negativa (Deo et al., 2003).

La formación de micelas está respaldada por varios autores mediante técnicas de fluorescencia, (Hansson & Almgren, 1996; Winnik & Regismond, 1996). Sin embargo, no está demostrado para el ELS y menos aún para el par con la carragenina. Además, otros autores afirman que las micelas no se forman en todos los sistemas de polielectrolitos-tensioactivos, sino que se generan estructuras en forma de bicapas o laminillas conocidas como *lamellae* (Sein & Engberts, 1995). Por ello, resultaría importante determinar en un futuro el tipo de arreglo que se genera entre los complejos para poder entender mejor sus propiedades. Los datos obtenidos se encuentran resumidos en el Cuadro 4 y permiten comparar los resultados con los presentados por otros autores.

En él se aprecian las diferencias en los valores de CMC que se pueden explicar debido a la proporción de ELS1, ELS2 y ELS3 que se encuentre en la muestra de ELS, lo que afectó en las interacciones del tensioactivo con el polisacárido (Ortiz-Tafoya et al., 2018).

Con la información obtenida es posible calcular el exceso de concentración de superficie, Γ , a presión y temperatura constantes, mediante la isoterma de adsorción de Gibbs dada por la ecuación (2).

$$\Gamma = -\frac{1}{nRT} \left(\frac{d\gamma}{d \ln x} \right)_{T,P} \quad (2)$$

En esta ecuación Γ es el exceso de superficie de tensioactivo (mol/m^2 o g/m^2), γ es la tensión superficial de la disolución (mN/m), x es la concentración de tensioactivo (M), T es la temperatura absoluta (K), n es el número de componentes independientes ($n = 2$ para tensioactivos iónicos) y R es la constante de los gases ($\text{J/mol}\cdot\text{K}$).

Cuadro 4. CAC y CMC para el sistema ELS- κ -carragenina obtenidos por diferentes autores.

| | CMC (g/100 g) | CAC (g/100 g) |
|-------------------------------|---------------|---------------|
| Ortíz-Tafoya & Tecante (2018) | 0.05 | 0.01-0.02 |
| Meshram & Jadhav | 0.08-0.10 | - |
| Este trabajo | 0.09-0.12 | 0.011-0.016 |

Los cálculos se encuentran resumidos en el Anexo B y son de suma importancia ya que indican parámetros fisicoquímicos del sistema que contribuyen a minimizar su energía y darle mayor estabilidad, además de ser necesarios para obtener otros parámetros como el área por molécula (A) o el cociente entre el tiempo de adsorción del tensioactivo en la interfase con el tiempo de encuentro de dos gotas de la fase dispersa ($t_{\text{ads}}/t_{\text{enc}}$), la cual indica la tendencia hacia el cremado. En este caso, los valores de exceso de superficie se enlistan en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Exceso de superficie para ELS- κ -carragenina a presión y temperatura constantes.

| | (g/m^2) | (mol/m^2) |
|----------|-----------------------|-----------------------|
| Γ | 2.09×10^{-3} | 4.64×10^{-7} |

5.4 ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES

La estabilidad de una emulsión es uno de los factores más importantes para determinar la vida de anaquel de muchos productos comerciales (Bai et al., 2016). Como se mencionó anteriormente, se propusieron dos formas diferentes para preparar las emulsiones: masa constante (MC) y concentración constante (CC) de κ -carragenina, variando la concentración de tensioactivo, así como la proporción de la fase oleosa. Para entender mejor los efectos

observados, se han agrupado los resultados en tres gráficas (figura 15, 16 y 17), presentadas a continuación de acuerdo con la proporción de aceite utilizada.

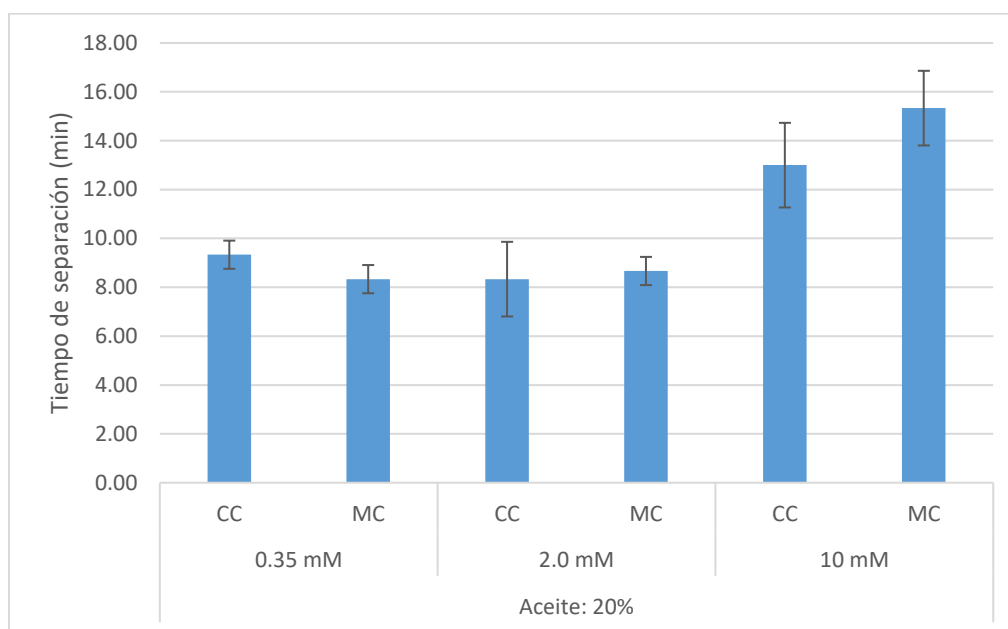


Figura 15. Estabilidad de emulsiones preparadas con 20 % de aceite a temperatura ambiente mediante preparación con masa constante (MC) y concentración constante de κ -carragenina (CC), ($n = 3$).

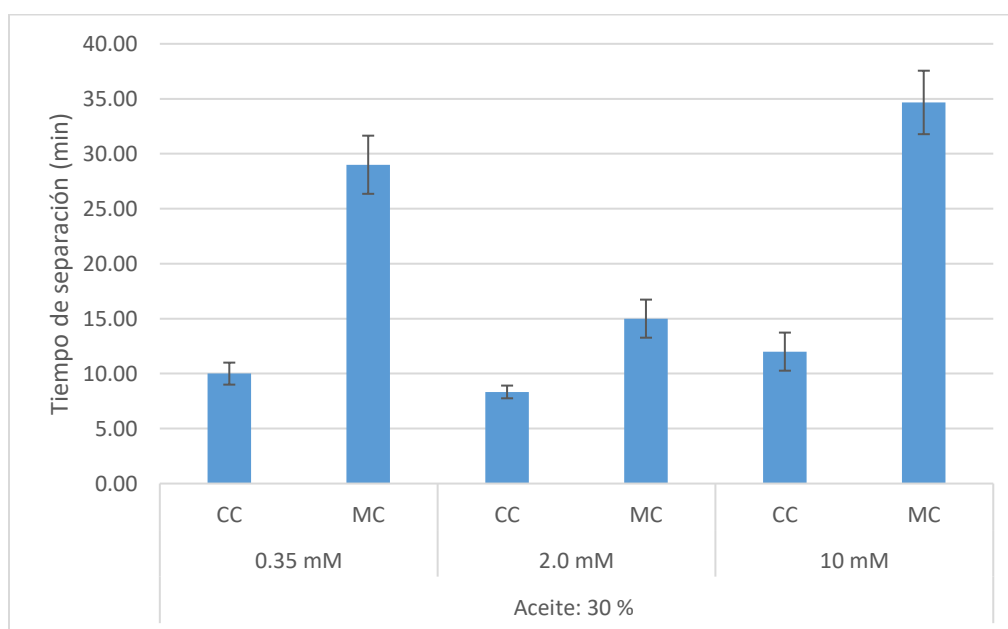


Figura 16. Estabilidad de emulsiones preparadas con 30% de aceite a temperatura ambiente mediante preparación con masa constante (MC) y concentración constante de κ -carragenina (CC), ($n = 3$).

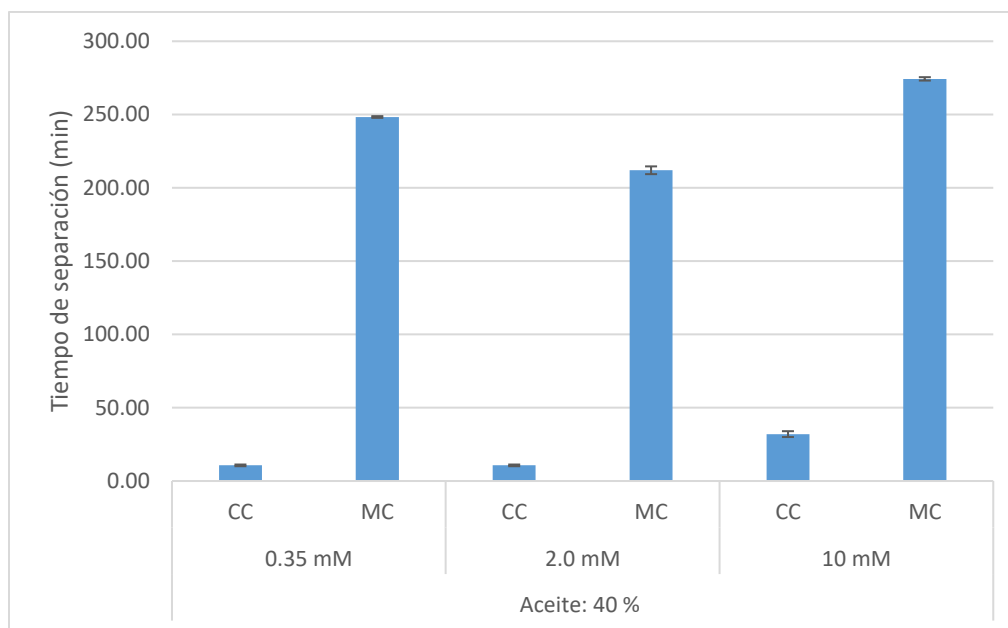


Figura 17. Estabilidad de emulsiones preparadas con 40% de aceite a temperatura ambiente mediante preparación con masa constante (MC) y concentración constante de κ -carragenina (CC), ($n = 3$).

En las Figuras 15, 16 y 17 se muestran los resultados obtenidos para una proporción de 20, 30 y 40% de fase oleosa, respectivamente. Los tiempos de estabilización de la emulsión fueron medidos hasta el momento en que se empezó a observar el fenómeno de cremado en la mezcla, con la subsecuente floculación y coalescencia de gotas de aceite observadas en la superficie (Figura 18).

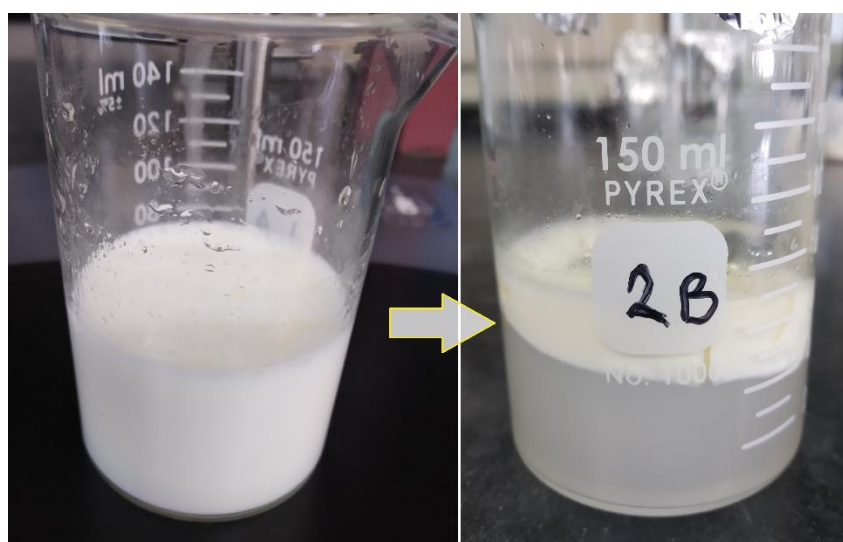


Figura 18. Cremado en una emulsión elaborada con κ -carragenina-ELS.

Se hizo el análisis de varianza (Anexo C), y se compararon las muestras con la misma concentración de aceite añadido y, al final, se agruparon las emulsiones de acuerdo con su método de preparación. En la Figura 15 se puede apreciar que para las emulsiones preparadas con 20% de fase oleosa no hay diferencia significativa entre aquellas con 0.35 y 2.0 mmol/dm³ de ELS, tanto a MC como a CC. Sin embargo, hay una mayor estabilidad de la emulsión preparada con 10 mmol/dm³ de ELS tanto a CC como a MC de polisacárido. Para las emulsiones preparadas con 30 y 40 % de aceite, mostradas en las Figuras 16 y 17, la diferencia es aún más notable entre las preparadas con 10 mmol/dm³ de ELS y aquellas con menor concentración de tensioactivo. Sin embargo, para dichas concentraciones de fase oleosa se encontró diferencia significativa entre cada concentración de tensioactivo, con la siguiente tendencia: 10 > 0.35 > 2.5 mmol/dm³.

Para bajas concentraciones, 0.35 mmol/dm³, las moléculas de tensioactivo se encuentran “libres” ya que aún no se alcanza la CAC y pueden interactuar en la interfase agua-aceite estabilizando la emulsión. Para 2.0 mmol/dm³ se encuentran formando complejos con la κ -carragenina, por lo que su actividad interfacial pudo verse afectada y, por lo tanto, disminuida lo que explicaría la pequeña diferencia observada en la estabilidad.

Por otra parte, las emulsiones preparadas a MC resultaron ser más estables que aquellas preparadas a CC, aumentando su estabilidad conforme se incrementa la fase oleosa: 40 > 30 > 20 %. Este comportamiento pudo deberse a que en las emulsiones preparadas a MC hay una mayor cantidad de κ -carragenina que en aquellas preparadas a CC. Por lo tanto, se genera una mayor viscosidad en el sistema que permite una menor velocidad de separación de fases, retrasando el proceso de cremado. A su vez puede contribuir a una mayor velocidad de formación de complejos polisacárido-tensioactivo por el mayor contenido de moléculas de κ -carragenina, que se adsorbieron de mejor forma en la interfase aceite-agua brindando una mayor estabilidad al sistema. Además, para las emulsiones preparadas con 10 mmol/dm³ de ELS se encuentran presumiblemente ya formadas las micelas de tensioactivo, que interfieren con una mejor estabilidad de la mezcla. Este fenómeno se ve complementado con la cantidad de aceite, debido a una mayor formación de gotitas de aceite con el subsecuente incremento del área total de superficie donde se pueden adsorber los complejos polisacárido-tensioactivo y micelas de ELS, que resulta en la mayor estabilidad del sistema.

Los efectos en cuanto al modo de preparación, cantidad de tensioactivo y fase oleosa en la estabilidad de una emulsión se pueden apreciar de mejor forma en la Figura 19, que complementa lo explicado en líneas arriba. Claramente la forma MC resulta en emulsiones más estables mientras mayor es la concentración de ELS y la cantidad de aceite.

5.2 ESTUDIOS DE MICROCALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (μ DSC)

Los estudios de calorimetría permiten obtener las temperaturas de transición, las entalpías de fusión, ΔH_m , y el valor absoluto de la entalpía de gelificación, ΔH_g . (Ortíz-Tafoya et al., 2018). Las temperaturas de transición corresponden a intervalos de temperatura, sin embargo, por cuestiones prácticas se tomó la señal de pico máximo como la temperatura de transición. Se preparó una serie de emulsiones a la que se les añadió 13 mmol/dm³ y 19 mmol/dm³ de KCl, cantidad suficiente para apantallar las cargas de la κ -carragenina. Posteriormente se calculó la concentración iónica total en las mezclas, siendo 21 meq/L y 27 meq/L para 13 mmol/dm³ y 19 mmol/dm³ respectivamente. Con estos valores se calculó a través del diagrama de transición sol-gel las temperaturas teóricas de fusión y gelificación. Dichos valores se encuentran resumidos en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Temperaturas estimadas de transición sol-gel para las concentraciones iónicas de trabajo.

| C_T (meq/L) | T. fusión (°C) | T. gelificación (°C) |
|---------------|----------------|----------------------|
| 21 | 36.169 | 30.800 |
| 27 | 40.330 | 33.130 |

En contraste, los valores experimentales se muestran en el Cuadro 7.

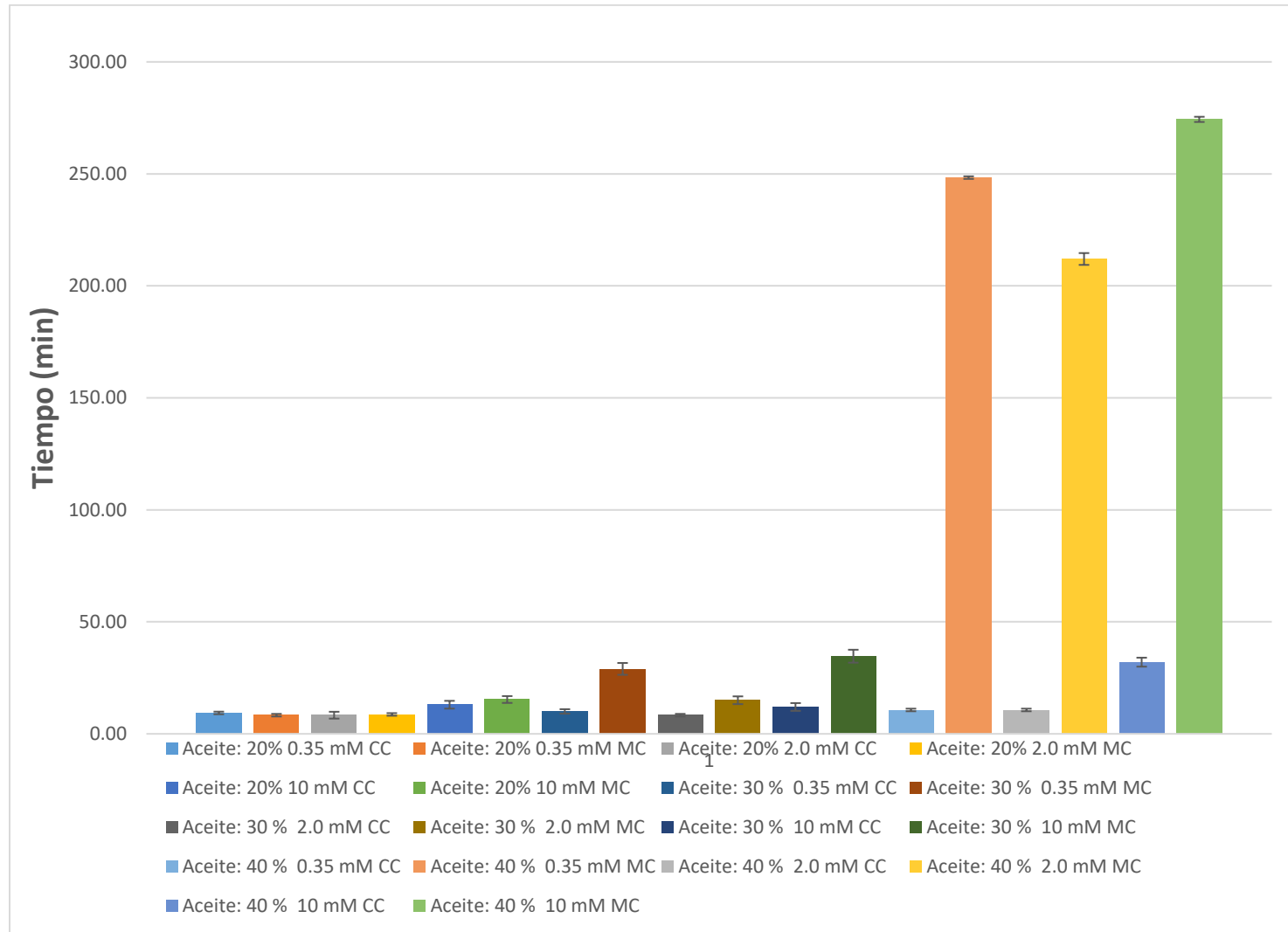


Figura 19. Comparaciones múltiples de la estabilidad de emulsiones mediante las preparaciones MC y CC, (n = 3).

Cuadro 7. Entalpías y temperaturas de transición sol-gel para las diferentes emulsiones a MC y CC, (n = 3).

| Concentración de ELS (mM) y modo de preparación | Fusión | | | |
|---|----------------|----------------|----------------|---------------|
| | T (°C) | | Entalpía (J/g) | |
| | 21 meq/L | 27 meq/L | 21 meq/L | 27 meq/L |
| 0.35 - CC ^a | 39.884 ± 0.113 | 42.687 ± 0.065 | 0.169 ± 0.001 | 0.178 ± 0.008 |
| 0.35 - MC ^a | 39.381 ± 0.145 | 43.591 ± 0.167 | 0.171 ± 0.004 | 0.194 ± 0.004 |
| 10 - CC ^b | 37.351 ± 0.672 | - | 0.167 ± 0.003 | - |
| 10 - MC ^b | 38.303 ± 0.299 | 41.392 ± 0.386 | 0.252 ± 0.026 | 0.261 ± 0.016 |
| Concentración de ELS (mM) y modo de preparación | Gelificación | | | |
| | T (°C) | | Entalpía (J/g) | |
| | 21 meq/L | 27 meq/L | 21 meq/L | 27 meq/L |
| 0.35 - CC ^c | 27.922 ± 0.027 | 30.193 ± 0.013 | 0.175 ± 0.003 | 0.186 ± 0.010 |
| 0.35 - MC ^c | 27.749 ± 0.018 | 30.758 ± 0.004 | 0.191 ± 0.006 | 0.201 ± 0.006 |
| 10 - CC ^d | 26.805 ± 0.014 | - | 0.199 ± 0.005 | - |
| 10 - MC ^d | 27.477 ± 0.034 | 29.863 ± 0.026 | 0.223 ± 0.006 | 0.231 ± 0.002 |

Los superíndices ^{a b c d} indican diferencias significativas, cuyos análisis de varianza se encuentran en el Anexo C, ($\alpha=0.05$).

Las temperaturas de transición experimentales resultaron ser mayores que las calculadas a partir del diagrama de transición sol-gel (Rochas & Rinaudo, 1980), sin embargo, el diagrama está considerado únicamente para el sistema κ -carragenina con iones potasio en disolución acuosa, por lo que las diferencias en las temperaturas experimentales se deben presumiblemente al tensioactivo añadido.

En cuanto a la forma de preparación, se realizó un análisis de varianza (Anexo C) para identificar diferencias significativas con los valores de temperaturas y entalpías de transición. Para ello se utilizaron solamente los resultados obtenidos de las emulsiones preparadas con una concentración iónica de $C_T = 21$ meq/L, cuyos cálculos se encuentran ilustrados en el Anexo E.

Para la variación en la concentración de ELS y fase oleosa el análisis estadístico mostró diferencias significativas tanto en las temperaturas de fusión, así como en las temperaturas de gelificación. El análisis de Tukey demostró para la temperatura de fusión, que la diferencia ocurre entre las emulsiones preparadas con diferentes concentraciones de ELS y que las temperaturas de transición disminuyen con el aumento en la concentración de ELS y de

aceite. Estos resultados sugieren que las repulsiones entre las cargas negativas de ambos componentes afectan la red tridimensional que forma la κ -carragenina, y facilitan el cambio en la conformación de las dobles hélices y por consiguiente disminuyen las temperaturas de transición del polisacárido (Ortíz-Tafoya & Tecante, 2017; Núñez-Santiago & Tecante, 2007). La temperatura de gelificación presentó diferencias significativas en cuanto a la forma de preparación de las emulsiones bajo las mismas concentraciones de tensioactivo, porcentaje de fase oleosa y concentración iónica total, así como también para el aumento en la concentración de tensioactivo y fase oleosa. Sin embargo, para efectos prácticos dichas diferencias no representan una cantidad sustancial, ya que se trata de variaciones de aproximadamente 1.0-1.5 °C (4%) en ambas temperaturas de transición, por lo que no representaría problema llevarlo a la práctica para alguna aplicación en alimentos. Dicho de otra forma, las temperaturas de transición no se alteran de manera drástica por el modo de preparación ni por la concentración de tensioactivo y fase oleosa.

Para las entalpías de transición también se observaron diferencias significativas. Las más notables se observaron en la formación del gel, con un marcado aumento en la emulsión preparada a MC y 10 mmol/dm³ de ELS y 40% de fase oleosa con respecto a las demás. En cuanto a las entalpías de fusión sólo se encontró diferencia entre las preparadas con la mayor concentración de tensioactivo, por lo que nuevamente se pudo comprobar que el ELS juega un papel fundamental por su interacción con la red de κ -carragenina.

Las temperaturas de fusión, T_m , y de gelificación, T_g , mostraron la siguiente tendencia: $T_m > T_g$ para la misma concentración de sal añadida, con una diferencia de temperatura de aproximadamente 10 °C, conocida como histéresis térmica y debida a la asociación de dobles hélices para formar una superestructura homogénea y rígida (Mangione et al., 2003). Para las entalpías de transición, los valores de ΔH_m y ΔH_g resultaron muy cercanos entre sí, con $\Delta H_g > \Delta H_m$, porque la agregación de dobles hélices requiere mayor energía que la fusión de los agregados (Núñez-Santiago & Tecante, 2007).

El efecto en el aumento en la concentración iónica total también fue estudiado. Los valores de las temperaturas de transición aumentan conforme se adiciona sal, llevando a una mayor histéresis térmica, lo que sugiere que el número de zonas de unión se incrementa con el aumento de la concentración de ión (Núñez-Santiago & Tecante, 2007).

6. CONCLUSIONES

- La forma de preparación de las mezclas ELS- κ -carragenina no afecta su tensión superficial. Esto garantiza que no importa cómo se preparen, las interacciones entre los componentes no se ven afectadas.
- Se confirmó la presencia de la concentración micelar crítica, CMC, y la concentración de agregación crítica, CAC, para las mezclas de ELS- κ -carragenina, siendo 0.09-0.12 % y 0.011-0.016 % respectivamente.
- La preparación de emulsiones a masa constante de κ -carragenina genera una mayor estabilidad que las preparadas a concentración constante de polisacárido.
- La concentración de tensioactivo afecta a la estabilidad de las emulsiones con la tendencia: $10 > 0.35 > 2.5 \text{ mmol/dm}^3$ de ELS.
- De la misma manera, el porcentaje de aceite afecta a la estabilidad de emulsiones de acuerdo con la tendencia: $40 > 30 > 20$ % de aceite de maíz.
- La forma de preparación de las emulsiones, a CC y MC, no afecta las temperaturas de transición sol-gel. Sin embargo, las entalpías de transición sí se ven afectadas.
- La concentración de tensioactivo modifica las temperaturas de transición sol-gel de la κ -carragenina. Al incrementar la concentración de ELS, las temperaturas de transición se ven disminuidas.

REFERENCIAS

- Akbari, Sweeta. (2018). Emulsion types, stability mechanisms and rheology: A review. *International Journal of Innovative Research and Scientific Studies*, 1 (1), 14-21.
- Alvarado, V., Wang, X., & Moradi, M. (2011). Stability Proxies for Water-in-Oil Emulsions and Implications in Aqueous-based Enhanced Oil Recovery. *Energies*. 4. 1058-1086.
- Aranberri, Ibon & Binks, Bernard & Clint, J. & Fletcher, P. (2010). Elaboracion y caracterización de emulsiones estabilizadas por polimeros y agentes tensioactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 7 (3). 211-231.
- Armero, E., & Collar, C. (1998). Crumb firming kinetics of wheat breads with anti-staling additives, *Journal of Cereal Science*, 28, 165–174.
- Bai, L., Huan, S., Li, Z., McClements, D., (2016) Comparison of emulsifying properties of food-grade polysaccharides in oil-in-water emulsions: Gum arabic, beet pectin, and corn fiber gum. *Food Hydrocolloids*. 66, 144-153.
- Bai, L., Huan, S., Gu, J., & McClements, D. J. (2016). Fabrication of oil-in-water nanoemulsions by dual-channel microfluidization using natural emulsifiers: Saponins, phospholipids, proteins, and polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 61, 703-711.
- Bais, A. Trevisan, R. Lapasin, P. Partal, C. Gallegos. (2005). Rheological characterization of polysaccharide–surfactant matrices for cosmetic O/W emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 290, pp. 546-556
- Bao, H., Li, L., Huat Gan, L., Zhang, H., (2008) Interactions between Ionic Surfactants and Polysaccharides in Aqueous Solutions. *Macromolecules*. 41 (23), 9406-9412.
- Barbeyron T, Michel G, Potin P, Henrissat B, Kloareg B (2000): ι-Carrageenases constitute a novel family of glycoside hydrolases, unrelated to that of κ-carrageenases. *Journal of Biological Chemistry* 275, 35499–35505.
- Bhadeshia, H.K.D.H. (2002). *Differential Scanning Calorimetry*, Materials Science & Metallurgy, University of Cambridge, London.

- Biliaderis, C. G., Maurice, T. J. & Vose, J. R. (1980). Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Science*, 45(6), 1669-74.
- Boutte, T., & Skogerson, L. (2004). Stearoyl-2-lactylates and oleoyl lactylates. In R. J. Whitehurst (Ed.). *Emulsifiers in Food Technology* (pp. 206–225). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Bico, S. L. S., Raposo, M. F. J., Morais, R. M. S. C., & Morais, A. M. M. B. (2009). Combined effects of chemical dip and/or carrageenan coating and/or controlled atmosphere on quality of fresh-cut banana. *Food Control*, 20(5), 508–514.
- Budnis, W. (2000) Carrageenan. FMC. *BioPolymer*, section 13, 1-34.
- Chen, Y., Liao, M. L., & Dustan, D. E. (2002). The rheology of K⁺- κ-carrageenan as a weak gel. *Carbohydrate Polymers*, 50, 109–116.
- Chen, L. C. M., McLachlan, J., Neish, A. C., & Shackloch, P. F. (1973). The ratio of kappa and lambda carrageenan in nuclear phases of the Rhodophycean algae, *Chondrus crispus* and *Gigartina stellata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 53, 11–16.
- Cheney, D. P., Luiston, A. H., & Brailey, P. M. (1987). Carrageenan analysis of tissue culture and whole plant of *Agardhiella subulata*. *Hydrobiologica*, (151/152), 161–166.
- Chiappisi, L., Gradzielski, M., (2015) Co-assembly in chitosan-surfactant mixtures: thermodynamics, structures, interfacial properties and applications. *Advanced Colloid Interface Science*. 220, 92-107
- Chiovitti, A., Bacic, A., Craik, D. J., Kraft, G. T., Liao, M. L., Falshaw, R., et al. (1988). A pyruvated carrageenan from Australian specimens of the red alga *Sarcomenafiliforme*. *Carbohydrate Research*, 310, 77–83.
- Chrisman, V. Lima, P. Menechini, (2012) Crude Oil Emulsion- Composition Stability and Characterization, in: M.E.-S. Abdel-Raouf (Ed.), *InTech*, 3rd ed., InTech, Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia, Egypt, pp. 1–240.
- Clint, J.H. (1991). “Surfactant Aggregation”, New York, Chapman and Hall.

Deo, P. Jockusch, S. M. Ottaviani, S. F. Moscatelli, A. Turro, N. J. Somasundaran, P. Interactions of hydrophobically modified polyelectrolytes with surfactants of the same charge. *Langmuir* 2003, 19, 10747–10752.

Dias, R., Melnikov, S., Lindman, B., & Miguel, M. G. (2000). DNA phase behavior in the presence of oppositely charged surfactants. *Langmuir*, 16, 9577–9583.

Funami, T., Hiroe, M., Noda, S., Asai, I., Ikeda, S., & Nishinari, K. (2007). Influence of molecular structure imaged with atomic force microscopy on the rheological behavior of carrageenan aqueous systems in the presence or absence of cations. *Food Hydrocolloids*, 21, 617-629.

Gawel, K., Karewicz, A., Bielska, D., Szczubialka, K., Rysak, K., Bonarek, P., et al. (2013). Thermosensitive carrageenan-based polymer: Synthesis, characterization and interactions with a cationic surfactant. *Carbohydrate Polymers*, 96, 211– 217.

Gill, Pooria & Moghadam, Tahereh & Ranjbar, Bijan. (2010). Differential Scanning Calorimetry Techniques: Applications in Biology and Nanoscience. *Journal of biomolecular techniques : JBT*. 21. 167-93.

Goodarzi, F. and Zendejboudi, S. (2019), A Comprehensive Review on Emulsions and Emulsion Stability in Chemical and Energy Industries. *Can. J. Chem. Eng.*, 97: 281-309.

Grant, Justin & Cho, Jaepyoung & Allen, C. (2006). Self-Assembly and Physicochemical and Rheological Properties of a Polysaccharide–Surfactant System Formed from the Cationic Biopolymer Chitosan and Nonionic Sorbitan Esters. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*. 22. 4327-35.

Griffin, W.C. (1949) Classification of Surface-Active Agents by “HLB”. *The Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 1, 311-326.

Grigoriev, D., Leser, M., Michel, M., & Miller, R. (2007). Mixed micelles as delivery systems for enhanced emulsifier adsorption at the air/water interface: Sodium stearyl lactylate (SSL)/Tween80 solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 301, 158–165.

Hansson, P.; Almgren, M. J. (1996) Interaction of C_n TAB with Sodium (Carboxymethyl) cellulose: Effect of Polyion Linear Charge Density on Binding Isotherms and Surfactant Aggregation Number. *The Journal of Physical Chemistry* 100 (21), 9038-9046.

Hansson, P. (2006). Interaction between polyelectrolyte gels and surfactants of opposite charge. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11, 351–362.

Hoshyargar, V. A. Marjani, F. Fadaei, S. Shirazian. (2012). Prediction of flow behavior of crude oil-in-water emulsion through the pipe by using rheological properties, *Orient. J. Chem.* 28, 109–113.

Imeson, A., 2009. Carrageenan, furcelleran and other seaweed-derived products. *Handbook of Hydrocolloids*. Second ed. Woodhead Publishing Series in Food Science, Sawston, Cambridge, UK, pp. 87–101.

Imeson, A.P. Carrageenan. FMC Corporation (UK) Ltd, 5, 88-102.

Jain, N.; Trabelsi, S.; Guillot, S.; McLoughlin, D.; Langevin, D.; Letellier, P.; Turmine, M.(2004) Critical aggregation concentration in mixed solutions of anionic polyelectrolytes and cationic surfactants., *Langmuir*, 20, 8496.

Janssen, P. Nořik, C. Dalmazzone, C. (2001). “Emulsion Formation in a Model Choke-Valve,” *SPE Annual Technical Conference and Exhibition*, Society of Petroleum Engineers, New Orleans.

Kogej, K. (2010). Association and structure formation in oppositely charged polyelectrolyte-surfactant mixtures. *Advances in Colloid and Interface Science*, 158, 68–83.

Kirk, R. E., & Othmer, D. F. (1992). J. I. Kroschwitz, & M. Howe-Grant (Eds.), *Encyclopedia of chemical technology* (Vol. 4) (p. 942). New York: John Wiley & Sons.

Knightly, W. H. (1988). Surfactants in baked foods: current practice and future trends. *Cereal Foods World*, 33(5), 405-12.

Krog, N. & Lauridsen, J. B. (1976). Food emulsifiers and their association with water. In *Food Emulsions*, ed. S. Friberg. Marcel Dekker, New York, pp. 67-139.

Leiria, V., Kawayano, D., Braz, D., & Carvalho, I. (2009). Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*, 77, 167-180.

Lamond, T., Characterization of Seaweed derived carrageenans. CHEE 4006, 2004., 1-55.

Lund, D. B. (1983). Applications of differential scanning calorimetry in foods. En: *Physical properties of foods*. Edit. M. Pelleg y L. Baglye. Conneticut, AVI, 125-155 p.

Mangione, M. R., Giacomazza, D., Bulone, D., Martorana, V., & Biario, P. L. (2003). Thermoreversible gelation of k-carrageenan: Relation between conformational transition and aggregation. *Biophysical Chemistry*, 104, 95–105.

McCandles, E. L., West, J. A., & Guiry, M. D. (1982). Carrageenan patterns in the Phyllophoraceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 10, 275–284.

McCandles, E. L., West, J. A., & Guiry, M. D. (1983). Carrageenan patterns in Gigartinales. *Biochemical Systematics and Ecology*, 11, 175–182.

McClements, D. J. (2015). *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. CRC press.

McHugh, D. J., (2003), *A guide to the seaweed industry*, FAO Fisheries Technical Paper, no. 441, Rome.

Meshram, P.D. & Jadhav, S.R. (2012) Preparation and properties of lactic acid-based modified carboxylic surfactant, *J. Surface Sci. Technol.* 28 (2012) 149-161.

Mollet, J. C., Rahaoui, A., & Lemoine, Y. (1988). Yield, chemical composition and gel strength of agarocolloids of *Gracilaria gracilis*, *Gracilariopsis longissima* and the newly reported *Gracilaria vermiculophylla* from Roscoff, France. *Journal of Applied Phycology*, 10, 59–66.

Murano, E., Toffanin, R., Cecere, E., Rizzo, R., & Knutsen, S. H. (1977). Investigation of the carrageenans extracted from *Solieria filiformis* and *Agardhiella subulata* from Mar. Piccolo Taran. *Marine Chemistry*, 58, 319–325.

Necas, J. & Bartosikova, L. (2013) Carrageenan: A Review. *Veterinarni Medicina*, 58, 187-205.

- Núñez-Santiago M. C., & Tecante, A. (2007). Rheological and calorimetric study of the sol-gel transition of κ -carrageenan. *Carbohydrate Polymers*, 69, 763-773.
- Ortíz-Tafoya, M.C., & Tecante, A. (2017). Interrelation Between Polysaccharides and Different Surfactant Types. *Advances in Physicochemical Properties of Biopolymers (Part 1)*. 17, 461-477.
- Ortíz-Tafoya, M. C., Rolland, A., Garnier, C., Valadéz-García, J., & Tecante, A. (2018). Thermal, conformational and rheological properties of κ -carrageenan - sodium stearyl lactylate gels and solutions. *Carbohydrate Polymers*, 193, 289-297.
- Ortíz-Tafoya, M.C., & Tecante, A. (2018). Physicochemical characterization of sodium stearyl lactylate (SSL), polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween20) and κ -carrageenan. *Data in Brief*, 19, 642–650.
- Pan, H., Chen, P.-Y., Liu, H.-X., Chen, Y., Wei, Y.-P., Zhang, M.-J., & Cheng, F. (2012). Interactions of cellulose-based comb polyelectrolyte with oppositely charged surfactant dodecyl-trimethylammonium bromide. *Carbohydrate Polymers*, 89, 899–905.
- Pardonche, P. E. (1985). Aplicação de extratos de algas marinhas na indústria de alimentos. *Boletim técnico CECA Produtos Químicos S/A* (p. 15). São Paulo.
- Parekh, R. G., Garg, S. K., Mehta, B. R., & Mehta, D. J. (1979). Studies on extraction of κ -carrageenan from hypnea and its characterization. In *International symposium on algae of the Indian Ocean region Bhavnagar*, (p. 42).
- Parekh, R. G., Doshi, Y. A., Rao, A. V., & Chauhan, V. D. (1988). Phycocolloid from marine red alga, *Hypnea musciformis* (wulf.). *Indian Journal of Marine Sciences*, 17, 242–243.
- Parekh, R. G., Rao, A. V., & Chauhan, V. D. (1988). Carrageenan from marine red alga, *Hypnea valentiae* (Turn.) Mont. *Phykos*, 26, 146–151.
- Piculell, L. (2006). Gelling carrageenans. In: A. M. Stephen, G. O. Phillips, P. A. Williams (Eds.), *Food polysaccharides and their applications* (second edition, pp. 239–288).

- Plotto, A., Narciso, J., Baldwin, E. A., & Rattanapanone, N. (2006). Edible coatings and other surface treatments to maintain color of lychee fruit in storage. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 119, 323–331.
- Plotto, A., Narciso, J., Rattanapanone, N., & Baldwin, E. A. (2010). Surface treatments and coatings to maintain fresh-cut mango quality in storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 2333–2341.
- Prajapati, Vipul., Maheriya, Pankaj., Jani, Girish & Solanki, Himanshu. (2014). Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydrate Polymers*. 105. 97–112.
- Ramakrishnan, Srividya & Prud'homme, Robert. (2000). Effect of solvent quality and ions on the rheology and gelation of κ -carrageenan. *Journal of Rheology*. 44. 885-896.
- Reginald, H. W. (1998). *Polysaccharide dispersions*. New York: Academic Press.
- Rochas, C., & Rinaudo, M. (1984). Mechanism of gel formation in κ -carrageenan. *Biopolymers*, 23, 735–745.
- Rochas, C., Rinaudo, M., & Landry, S. (1989). Relation between the molecular structure and mechanical properties of carrageenan gels. *Carbohydrate Polymer*, 10, 115–127.
- Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in foods: A critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 587–597.
- Santos, O., Johnson, E. S., Nylander, T., Panandiker, R. K., Sivik, M. R., & Piculell, L. (2010). Surface adsorption and phase separation of oppositely charged polyion surfactant ion complexes: 3. Effects of polyion hydrophobicity. *Langmuir*, 26, 9357–9367.
- Schick, Christoph. (2009). Differential scanning calorimetry (DSC) of semicrystalline polymers. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 395. 1589-611.
- Sein, A., & Engberts, J. B. F. N. (1995). Micelle To Lamellar Aggregate Transition Of An Anionic Surfactant In Dilute Aqueous-Solution Induced By Alkali-Metal Chloride And Tetraalkylammonium Chloride Salts. *Langmuir*, 11(2), 455 - 465.
- Sjoblom, J. (2001), *Encyclopedic Handbook of Emulsion Technology*, CRC Press, Boca Raton.

Sluimer, P. (2005). Principles of breadmaking: functionality of raw materials and process steps. St. Paul: The American Association of Cereal Chemists, Inc.

Snoeren, T. H. M. (1976). Kappa-carrageenan. A study of its physico-chemical properties, sol-gel transition and interactions with milk. (PhD Thesis), Wageningen, The Netherlands.

Stanley, N. (1987). Production and utilization of products from commercial seaweeds. In D. J. McHugh (Ed.), FAO fisheries technical paper (Vol. 288) (pp. 116–146). Rome: FAO.

Stoloff, L. (1959). Carrageenan. In R. I. Whistler (Ed.), Industrial Gums. New York: Academic Press

Sullivan, A.P. Kilpatrick, P.K. (2002). The effects of inorganic solid particles on water and crude oil emulsion stability, Ind. Eng. Chem. 41. 3389–3404.

Takemasa, M., & Chiba, A. (2001). Gelation mechanism of κ - and ι -carrageenan investigated by correlation between the strain-optical coefficient and the dynamic shear modulus. *Macromolecules*, 34, 7427–7434.

Urbina-Villalba G (2009) An algorithm for emulsion stability simulations: Account of flocculation, coalescence, surfactant adsorption and the process of Ostwald ripening. *Int. J. Mol. Sci.* 10: 761-804.

van de Velde, F., Knutsen, S. H., Usov, A. L., Rollema, H. S., & Cerezo, A. S. (2002). ^1H and ^{13}C high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: Application in research and industry. *Trends in Food Science & Technology*, 13, 73–92.

Winnik, M. A., Regismond, S., (1996) Fluorescence methods in the study of the interactions of surfactants with polymers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 118, 1-39

Zinoviadou, K.G., Moschakis, T., Kiosseoglou, V., Biliaderis, C.G. (2011). “Impact of emulsifier-polysaccharide interactions on the stability and rheology of stabilised oil-in-water emulsions”, *Procedia Food Science*, 1, 57- 61.

Zhang, G., Marchant, R., (1994) Novel Polysaccharide Surfactants: Synthesis of Model Compounds and Dextran-Based Surfactants. *Macromolecules*. 27 (25), 7302-7308.

<https://www.netzsch-thermal-analysis.com/es/landing-pages/principio-funcional-de-un-flujo-de-calor-dsc/>

ANEXOS

ANEXO A. Análisis de varianza para la forma de preparación de las mezclas

El Análisis de Varianza se utilizó para conocer si las interacciones en la mezcla se veían afectadas dependiendo del método de preparación. En él, se plantearon las siguientes hipótesis, con un nivel de confianza al 95 % ($\alpha=0.05$):

H_0 : La forma de preparación de las dispersiones no afecta la Tensión Superficial del sistema.

H_i : La forma de preparación de las dispersiones afecta la Tensión Superficial del sistema.

Los resultados se encuentran resumidos en la siguiente tabla:

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|---------------|
| <i>tratamientos</i> | 0.404 | 3.000 | 0.135 | 1.220 | 4.066 | 0.3637 | H_0 |
| <i>error</i> | 0.883 | 8.000 | 0.110 | | | | |
| <i>total</i> | 1.287 | 11.000 | | | | | |

Tabla A1. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la preparación de las disoluciones. (n=3)

ANEXO B. Análisis de varianza para la estabilidad de las emulsiones

Se realizó un análisis de varianza para identificar diferencias significativas en las dos condiciones propuestas para la preparación de emulsiones, MC y CC, así como en el porcentaje de aceite añadido y concentración de tensioactivo, planteando las siguientes hipótesis:

H₀: La forma de preparación de las emulsiones no afecta la estabilidad del sistema.

H_i: La forma de preparación de las emulsiones afecta la estabilidad del sistema.

En caso de haber diferencias significativas, se realizó un análisis de Tukey con un nivel de confianza al 95 % ($\alpha=0.05$).

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 1514.778 | 5.000 | 302.956 | 209.738 | 3.106 | 0.0000 | H ₁ |
| <i>error</i> | 17.333 | 12.000 | 1.444 | | | | |
| <i>total</i> | 1532.111 | 17.000 | | | | | |

Tabla B1. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la preparación de emulsiones. Se compara aquellas preparadas a MC y CC con 20% de fase oleosa. (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|----------------|
| 2 y 1 | 1.000 | 3.297 | H ₀ |
| 3 y 1 | 1.000 | 3.297 | H ₀ |
| 4 y 1 | 0.667 | 3.297 | H ₀ |
| 5 y 1 | 3.667 | 3.297 | H ₁ |
| 6 y 1 | 6.000 | 3.297 | H ₁ |
| 6 y 5 | 2.333 | 3.297 | H ₀ |
| 5 y 2 | 3.667 | 3.297 | H ₁ |
| 5 y 4 | 4.333 | 3.297 | H ₁ |

Tabla B1.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a la preparación de emulsiones con 20% de fase oleosa. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, CC 2) 0.35 mM ELS, MC 3) 2 mM ELS, CC 4) 2 mM ELS, MC 5) 10 mM ELS, CC 6) 10 mM ELS, MC (n=3)

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 5800.944 | 5.000 | 1160.189 | 307.109 | 3.106 | 0.0000 | H ₁ |
| <i>error</i> | 45.333 | 12.000 | 3.778 | | | | |
| <i>total</i> | 5846.278 | 17.000 | | | | | |

Tabla B2. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la preparación de emulsiones. Se compara aquellas preparadas a MC y CC con 30% de fase oleosa. (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|----------------|
| 2 y 1 | 19.000 | 5.331 | H ₁ |
| 3 y 1 | 1.667 | 5.331 | H ₀ |
| 4 y 1 | 5.000 | 5.331 | H ₀ |
| 5 y 1 | 2.000 | 5.331 | H ₀ |
| 6 y 1 | 24.667 | 5.331 | H ₁ |
| 6 y 5 | 22.667 | 5.331 | H ₁ |
| 6 y 4 | 19.667 | 5.331 | H ₁ |
| 6 y 2 | 5.667 | 5.331 | H ₁ |
| 3 y 5 | 3.667 | 5.331 | H ₀ |
| 2 y 4 | 14.000 | 5.331 | H ₁ |
| 4 y 5 | 3.000 | 5.331 | H ₀ |

Tabla B2.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a la preparación de emulsiones con 30% de fase oleosa. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, CC 2) 0.35 mM ELS, MC 3) 2 mM ELS, CC 4) 2 mM ELS, MC 5) 10 mM ELS, CC 6) 10 mM ELS, MC (n=3)

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|------------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 433369.944 | 5.000 | 86673.989 | 39003.295 | 3.106 | 0.0000 | H ₁ |
| <i>error</i> | 26.667 | 12.000 | 2.222 | | | | |
| <i>total</i> | 433396.611 | 17.000 | | | | | |

Tabla B3. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la preparación de emulsiones. Se compara aquellas preparadas a MC y CC con 40% de fase oleosa. (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|---------------|
| 2 y 1 | 237.667 | 4.089 | H1 |
| 3 y 1 | 0.000 | 4.089 | H0 |
| 4 y 1 | 201.333 | 4.089 | H1 |
| 5 y 1 | 21.333 | 4.089 | H1 |
| 6 y 1 | 263.667 | 4.089 | H1 |
| 6 y 5 | 242.333 | 4.089 | H1 |
| 6 y 4 | 62.333 | 4.089 | H1 |
| 6 y 2 | 26.000 | 4.089 | H1 |
| 4 y 2 | 36.333 | 4.089 | H1 |

Tabla B3.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a la preparación de emulsiones con 40% de fase oleosa. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, CC 2) 0.35 mM ELS, MC 3) 2 mM ELS, CC 4) 2 mM ELS, MC 5) 10 mM ELS, CC 6) 10 mM ELS, MC (n=3)

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 1314.296 | 8.000 | 164.287 | 100.812 | 2.510 | 0.0000 | H ₁ |
| <i>error</i> | 29.333 | 18.000 | 1.630 | | | | |
| <i>total</i> | 1343.630 | 26.000 | | | | | |

Tabla B4. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la preparación de emulsiones. Se compara únicamente aquellas preparadas a CC con 20, 30 y 40% de fase oleosa. (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|---------------|
| 2 y 1 | 0.667 | 3.653 | H0 |
| 3 y 1 | 1.333 | 3.653 | H0 |
| 6 y 4 | 1.000 | 3.653 | H0 |
| 9 y 7 | 19.000 | 3.653 | H1 |
| 9 y 8 | 20.000 | 3.653 | H1 |
| 8 y 7 | 1.000 | 3.653 | H0 |
| 8 y 5 | 3.667 | 3.653 | H1 |

Tabla B4.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a las emulsiones preparadas a CC con 20, 30 y 40% de fase oleosa. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, 20% aceite. 2) 0.35 mM ELS, 30% aceite. 3) 0.35 mM ELS, 40% aceite. 4) 2 mM ELS, 20% aceite. 5) 2 mM ELS, 30% aceite. 6) 2 mM ELS, 40% aceite, 7) 10 mM ELS, 20% aceite. 8) 10 mM ELS, 30% aceite. 9) 10 mM ELS, 40% aceite. (n=3)

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|------------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 315174.963 | 8.000 | 39396.870 | 11819.061 | 2.510 | 0.0000 | H ₁ |
| <i>error</i> | 60.000 | 18.000 | 3.333 | | | | |
| <i>total</i> | 315234.963 | 26.000 | | | | | |

Tabla B5. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la preparación de emulsiones. Se compara únicamente aquellas preparadas a MC con 20, 30 y 40% de fase oleosa. (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|---------------|
| 2 y 1 | 20.667 | 5.224 | H1 |
| 3 y 1 | 240.000 | 5.224 | H1 |
| 3 y 2 | 219.333 | 5.224 | H1 |
| 6 y 4 | 203.333 | 5.224 | H1 |
| 6 y 5 | 197.000 | 5.224 | H1 |
| 4 y 5 | 6.333 | 5.224 | H1 |
| 9 y 7 | 259.000 | 5.224 | H1 |
| 9 y 8 | 239.667 | 5.224 | H1 |
| 8 y 7 | 19.333 | 5.224 | H1 |

Tabla B5.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a las emulsiones preparadas a MC con 20, 30 y 40% de fase oleosa. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, 20% aceite. 2) 0.35 mM ELS, 30% aceite. 3) 0.35 mM ELS, 40% aceite. 4) 2 mM ELS, 20% aceite. 5) 2 mM ELS, 30% aceite. 6) 2 mM ELS, 40% aceite, 7) 10 mM ELS, 20% aceite. 8) 10 mM ELS, 30% aceite. 9) 10 mM ELS, 40% aceite. (n=3)

ANEXO C. Análisis de varianza para los estudios de microcalorimetría

Se realizó un análisis de varianza para identificar diferencias significativas en las dos condiciones propuestas para la preparación de emulsiones, MC y CC, así como en el porcentaje de aceite añadido y concentración de tensioactivo sobre las temperaturas y entalpías de transición sol-gel, planteando las siguientes hipótesis:

H₀: La forma de preparación de las emulsiones no afecta la temperatura o entalpía de transición del sistema.

H₁: La forma de preparación de las emulsiones afecta la temperatura o entalpía de transición del sistema.

En caso de haber diferencias significativas, se realizó un análisis de Tukey con un nivel de confianza al 95 % ($\alpha=0.05$).

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 13.406 | 3.000 | 4.469 | 19.053 | 4.347 | 0.0010 | H ₁ |
| <i>error</i> | 1.642 | 7.000 | 0.235 | | | | |
| <i>total</i> | 15.047 | 10.000 | | | | | |

Tabla C1. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la temperatura de transición sol-gel de microcalorimetría de emulsiones. Se compara únicamente la temperatura de fusión (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|----------------|
| <i>1 Y 2</i> | 0.799 | 1.463 | H ₀ |
| <i>1 Y 3</i> | 2.829 | 1.463 | H ₁ |
| <i>1 Y 4</i> | 1.078 | 1.463 | H ₀ |
| <i>3 Y 4</i> | 0.952 | 1.463 | H ₀ |
| <i>2 Y 4</i> | 1.078 | 1.463 | H ₀ |

Tabla C1.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a la microcalorimetría de emulsiones. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, 20% Aceite, CC 2) 0.35 mM ELS, 20% Aceite, MC 3) 10 mM ELS, 40% Aceite, CC 4) 10 mM ELS, 40% Aceite, MC (n=3)

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 2.171 | 3.000 | 0.724 | 1164.800 | 4.066 | 0.0000 | H ₁ |
| <i>error</i> | 0.005 | 8.000 | 0.001 | | | | |
| <i>total</i> | 2.176 | 11.000 | | | | | |

Tabla C2. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la temperatura de transición sol-gel de microcalorimetría de emulsiones. Se compara únicamente la temperatura de gelificación (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|----------------|
| <i>1 Y 2</i> | 0.173 | 0.067 | H ₁ |
| <i>1 Y 3</i> | 1.117 | 0.067 | H ₁ |
| <i>1 Y 4</i> | 0.272 | 0.067 | H ₁ |
| <i>3 Y 4</i> | 0.673 | 0.067 | H ₁ |
| <i>2 Y 4</i> | 0.272 | 0.067 | H ₁ |

Tabla C2.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a la microcalorimetría de emulsiones. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, 20% Aceite, CC 2) 0.35 mM ELS, 20% Aceite, MC 3) 10 mM ELS, 40% Aceite, CC 4) 10 mM ELS, 40% Aceite, MC (n=3)

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 0.014 | 3.000 | 0.005 | 13.604 | 4.347 | 0.0026 | H ₁ |
| <i>error</i> | 0.002 | 7.000 | 0.000 | | | | |
| <i>total</i> | 0.016 | 10.000 | | | | | |

Tabla C3. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la entalpía de transición sol-gel de microcalorimetría de emulsiones. Se compara únicamente la entalpía de fusión (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|---------------|
| <i>1 Y 2</i> | 0.010 | 0.055 | H0 |
| <i>1 Y 3</i> | 0.013 | 0.055 | H0 |
| <i>1 Y 4</i> | 0.081 | 0.055 | H1 |
| <i>3 Y 4</i> | 0.084 | 0.055 | H1 |
| <i>2 Y 4</i> | 0.081 | 0.055 | H1 |

Tabla C3.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a la microcalorimetría de emulsiones. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, 20% Aceite, CC 2) 0.35 mM ELS, 20% Aceite, MC 3) 10 mM ELS, 40% Aceite, CC 4) 10 mM ELS, 40% Aceite, MC (n=3)

| <i>FV</i> | <i>SC</i> | <i>GL</i> | <i>CM</i> | <i>F_C</i> | <i>F_T</i> | <i>Prob.</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------------------|----------------------|--------------|----------------|
| <i>tratamientos</i> | 0.004 | 3.000 | 0.001 | 40.857 | 4.066 | 0.0000 | H ₁ |
| <i>error</i> | 0.000 | 8.000 | 0.000 | | | | |
| <i>total</i> | 0.004 | 11.000 | | | | | |

Tabla C4. Resultados del Análisis de Varianza unifactorial aplicado a la entalpía de transición sol-gel de microcalorimetría de emulsiones. Se compara únicamente la entalpía de gelificación (n=3)

| <i>Comparativas</i> | <i>Diferencia</i> | <i>TUKEY</i> | <i>Acepta</i> |
|---------------------|-------------------|--------------|---------------|
| <i>1 Y 2</i> | 0.016 | 0.015 | H1 |
| <i>1 Y 3</i> | 0.024 | 0.015 | H1 |
| <i>1 Y 4</i> | 0.032 | 0.015 | H1 |
| <i>3 Y 4</i> | 0.024 | 0.015 | H1 |
| <i>2 Y 4</i> | 0.032 | 0.015 | H1 |

Tabla C4.1. Resultados del Análisis de Tukey aplicado a la microcalorimetría de emulsiones. Los números representan las siguientes condiciones: 1) 0.35 mM ELS, 20% Aceite, CC 2) 0.35 mM ELS, 20% Aceite, MC 3) 10 mM ELS, 40% Aceite, CC 4) 10 mM ELS, 40% Aceite, MC (n=3)

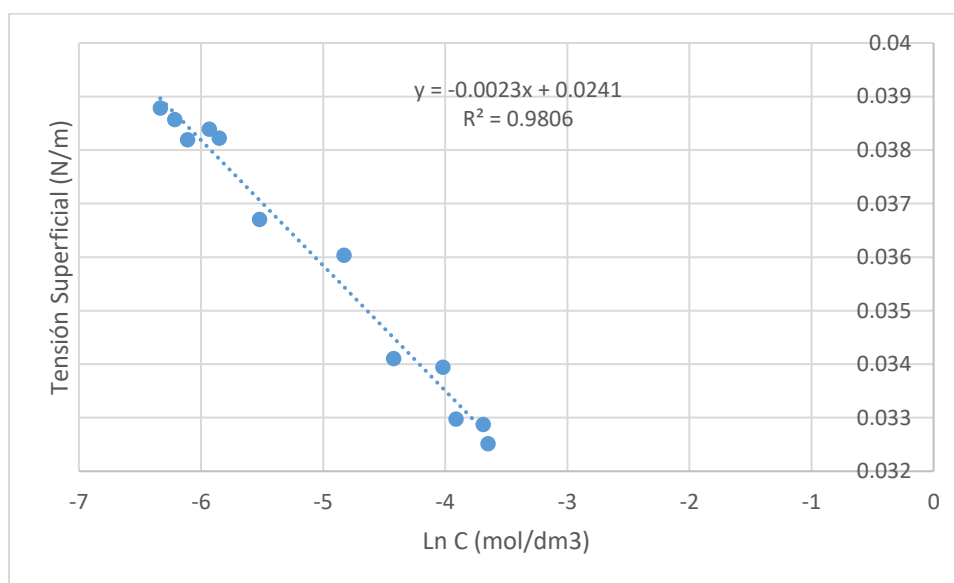
ANEXO D. Cálculo del exceso de superficie

Se calculó el exceso de superficie de acuerdo a la Isoterma de Adsorción de Gibbs.

Los datos utilizados son los siguientes:

| Tensión Superficial (mN/m) | Concentración (mol/dm ³) | LnConcentración |
|----------------------------|--------------------------------------|-----------------|
| 38.78 | 0.0017754 | -6.33372953 |
| 38.565 | 0.0019973 | -6.21595901 |
| 38.19 | 0.0022193 | -6.11056345 |
| 38.39 | 0.0026516 | -5.93259205 |
| 38.22 | 0.0028822 | -5.84920139 |
| 36.7 | 0.004 | -5.52146092 |
| 36.036 | 0.008 | -4.82831374 |
| 34.1 | 0.012 | -4.42284863 |
| 33.94 | 0.018 | -4.01738352 |
| 32.97 | 0.02 | -3.91202301 |
| 32.87 | 0.025 | -3.68887945 |
| 32.51 | 0.026 | -3.64965874 |

Se grafica el ln C vs Tensión Superficial.



De la gráfica se tiene que:

$$m = -\Gamma nRT$$

Por lo tanto:

$$\Gamma_{T,P} = -\frac{1}{nRT} (m)$$

Donde:

m es la pendiente en la gráfica.

Γ es el exceso de superficie.

n es el número de componentes independientes.

R es la constante de los gases.

T es la temperatura absoluta.

Sustituyendo:

$$\Gamma_{T,P} = - \left(\frac{1}{(2) \left(8.314 \frac{N \cdot m}{mol \cdot K} \right) (298.15 \text{ K})} \right) \left(-0.0023 \frac{N}{m} \right)$$

$$\Gamma_{T,P} = 4.64 \times 10^{-7} \text{ mol/m}^2$$

$$\Gamma_{T,P} = \left(4.64 \times 10^{-7} \frac{\text{mol}}{\text{m}^2} \right) \left(451.6 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right) = 2.09 \times 10^{-4} \text{ g/m}^2$$

ANEXO E. Datos utilizados para el cálculo de la concentración iónica total en las emulsiones

Para calcular la concentración iónica total del sistema, se utilizaron los datos de absorción atómica obtenidos por Ortiz-Tafoya & Tecante, 2018 para el polvo de κ -carragenina.

| Ion | κ -carrageenan | SSL |
|------------------|-----------------------|--------------|
| Na ⁺ | 21 514 ± 1727 | 21 700 ± 460 |
| K ⁺ | 62 100 ± 1684 | 1 200 ± 170 |
| Ca ²⁺ | 1 301 ± 61 | 100 ± 10 |
| Mg ²⁺ | < 10 | < 10 |

Concentración iónica intrínseca (mg/kg) de κ -carragenina, ELS y Tween 20.

El siguiente cálculo ejemplifica la concentración iónica total obtenida para una de las emulsiones preparadas.

Condiciones de emulsión:

- 0.35 mmol de ELS
- 5 mg/g de κ -carragenina
- 20% de fase oleosa

La fase acuosa para todas las dispersiones a Masa Constante fue de 50 g, a partir de ello se calculó la cantidad de κ -carragenina y ELS necesaria para obtener las concentraciones deseadas.

$$50 \text{ g}_{\text{agua}} \left(\frac{0.35 \times 10^{-3} \text{ mol ELS}}{1000 \text{ g}} \right) = 1.75 \times 10^{-3} \text{ mol ELS} \left(\frac{450.58 \text{ g ELS}}{1 \text{ mol}} \right)$$

$$= 0.0078 \text{ g ELS} \left(\frac{100 \text{ g ELS}}{97.4 \text{ g}_{\text{puros}}} \right) = 0.0081 \text{ g ELS}$$

$$50 \text{ g}_{\text{agua}} \left(\frac{0.5 \text{ g } \kappa\text{-carragenina}}{100 \text{ g}} \right) = 0.25 \text{ g } \kappa\text{-carr.} \left(\frac{100 \text{ g } \kappa\text{-carr.}}{85.94 \text{ g}_{\text{puros}}} \right) = 0.2909 \text{ g}$$

Con estos datos, se calculó la cantidad de ion potasio aportado por el ELS y la κ -carragenina.

$$0.25 \text{ g}_{\kappa\text{-carr.}} \left(\frac{0.0621 \text{ g K}^+}{1 \text{ g } \kappa\text{-carr.}} \right) = 0.0155 \text{ g K}^+$$

$$0.0078 \text{ g}_{\text{ELS}} \left(\frac{0.0012 \text{ g K}^+}{1 \text{ g ELS}} \right) = 0.0000093 \text{ g K}^+$$

El aporte por parte del ELS es tan bajo que se puede despreciar.

Se añadió 13 mmol de sal KCl a la dispersión para asegurar el apantallamiento de las cargas.

$$50 \text{ g}_{\text{agua}} \left(\frac{13 \times 10^{-3} \text{ mol KCl}}{1000 \text{ g}} \right) \left(\frac{1 \text{ mol K}^+}{1 \text{ mol KCl}} \right) \left(\frac{39.1 \text{ g}}{1 \text{ mol K}^+} \right) = 0.0254 \text{ g K}^+$$

Finalmente la Concentración Iónica Total, C_T , es la suma total de iones potasio en el sistema:

$$C_T = 0.0155 \text{ g K}^+ + 0.0254 \text{ g K}^+ = 0.0409 \text{ g K}^+$$

$$C_T = (0.0409 \text{ g K}^+) \left(\frac{1 \text{ mol K}^+}{39.1 \text{ g}} \right) = 0.00105 \text{ mol K}^+$$

$$C_T = \left(\frac{0.00105 \text{ mol K}^+}{0.05 \text{ Kg agua}} \right) = 0.021 \text{ M} = 21 \text{ mmol}$$

ANEXO F. Especificaciones técnicas del polvo de κ -carragenina

Las siguientes especificaciones fueron proporcionadas por el proveedor.

Descripción

WG-17 es un kappa-carragenano refinado que produce geles transparentes, firmes y muy fuertes en agua. Es adecuado para productos donde se requiere claridad y alta fuerza de gel.

WG-17 reacciona con potasio adicional para producir geles extremadamente fuertes en agua.

Especificaciones

| | | |
|-------------------------|---|---------|
| Primaria | | |
| Fuerza de gel en agua | Mínimo 450 g/cm ² (BHV testeador de gel) | WG001 |
| Estándar | | |
| Color | Crema a café claro | GEN001 |
| Tamaño de Partícula | 90% a través de malla 200 | GEN002 |
| Humedad | Máximo 12% | GEN003 |
| pH (1.5% a 50°C) | 7.0 a 11.0 | GEN004 |
| Microbiológico | | |
| Recuento total en placa | Menor a 5000 UFC/g | FDA BAM |
| Mohos y levaduras | Menor a 100 UFC/g | FDA BAM |
| E. coli | Ausente | FDA BAM |
| Salmonella | Ausente | FDA BAM |
| Staphylococcus aureus | Ausente | FDA BAM |

Nivel de uso típico: 0.5% a 1.0% por peso de producto final

Propiedades e información

WG-17 es un kappa-carragenano con suficiente potasio asociado para producir geles de alta resistencia incluso en agua blanda. El kappa-carragenano forma geles térmicamente reversibles. También son altamente sinérgicos con la goma de algarrobo, lo que aumenta la resistencia del gel y hace que los geles sean más elásticos. Cuando se agrega al agua, la carragenina debe mezclarse primero con otros ingredientes secos para una dispersión óptima

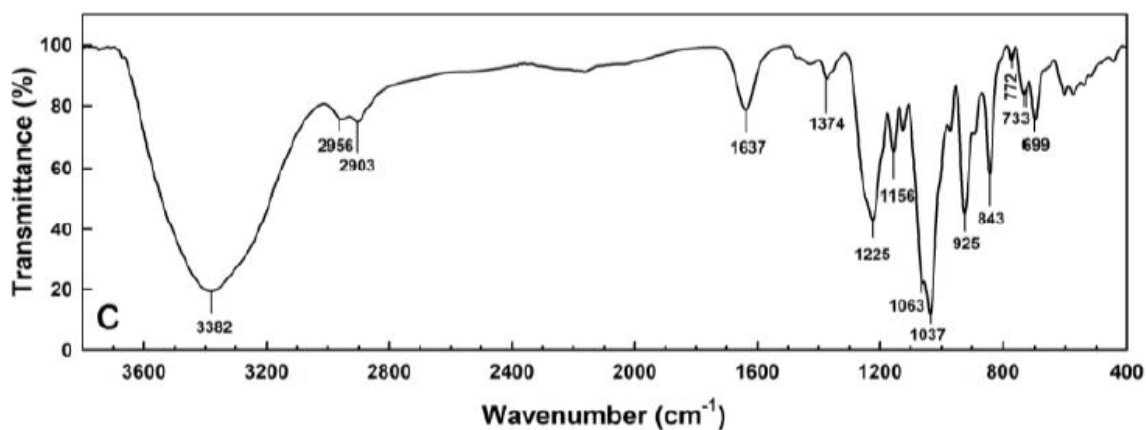
y debe agregarse al líquido lentamente con una mezcla de cizallamiento medio a alto para obtener mejores resultados.

Resumen de análisis nutricional

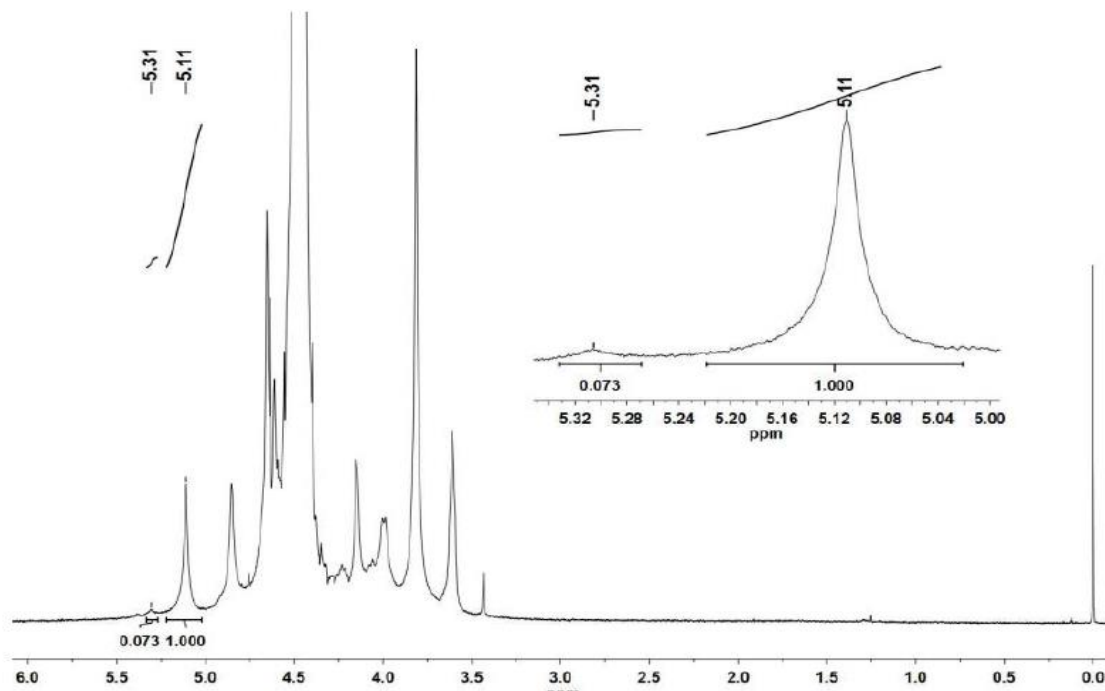
| Nutriente | Cantidad (seca por 100g) | Método |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Calorías | 290* | Regla 4.9.4 |
| Grasa total | 0 g | AOAC 945.44 |
| Carbohidratos totales | 70 g | 21 CFR 101.9 (c) (6)/FDA |
| Fibra dietética soluble | > 1.0 g | AIM/JECFA |
| Fibra dietética insoluble | 70 g | AOAC 985.29 |
| Azúcares totales | 30 g | Por formulación |
| Proteína total | 2.0 g | AOAC 990.03/992.23 |
| Sodio | 2.3 g | AA/EPA Digests |
| Hierro | 20 ppm | AA/EPA Digests |

* El carragenano es fibra dietética soluble y está sujeto a la regla 4-9-4. Sin embargo, la carragenina no se digiere y, por lo tanto, no es calórica.

Se le aplicaron estudios de espectroscopia Infrarroja y Resonancia Magnética Nuclear al polvo de carragenina, demostrando que se trata de κ -carragenina con pequeñas trazas de ι -carragenina.



Espectro IR para el polvo de carragenina, tomado de Ortíz-Tafuya & Tecante (2017)



Espectro de RMN H^1 para el polvo de carragenina, tomado de Ortíz-Tafoya & Tecante (2017). La señal a 5.11 ppm es debida al protón α -anomérico de la κ -carragenina, mientras que la señal a 5.31 es para ι -carragenina.