



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**TRANSICIÓN SOL-GEL DE KAPPA CARRAGENINA EN
PRESENCIA DE ALCOHOLES**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

Beatriz Alexandra Bravo González

TUTOR

Dr. Alberto Tecante Coronel



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX.

2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: Hugo Rubén Carreño Ortíz**

VOCAL: **Profesor: Alberto Tecante Coronel**

SECRETARIO: **Profesor: Arturo Navarro Ocaña**

1er. SUPLENTE: **Profesor: Roeb García Arrazola**

2° SUPLENTE: **Profesor: Jesús Antonio Beaz Rivera**

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 313

Departamento de alimentos y biotecnología

Facultad de Química – Conjunto “E” - UNAM

ÍNDICE GENERAL

	Página
LISTA DE FIGURAS Y CUADROS	
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
INTRODUCCIÓN	iii
CAPITULO I. CARRAGENINAS	
I.1 Carrageninas	1
I.1.1 Tipos de carrageninas y estructura	1
I.1.2 Mecanismo de gelificación	1
I.1.3 κ -carragenina	3
I.1.4 Aplicaciones en la Industria de Alimentos	4
CAPITULO II. POLIOLES	
II.1 Polioles	5
II.1.1 Ejemplos de polioles	5
II. 1. 2 Interacción de los polioles con el agua y la κ -carragenina	7
CAPITULO III. Desarrollo experimental	
III.1 Materiales	12
III.2 Preparación de disoluciones de κ -carragenina con distintos alcoholes y preparación de gel de κ -carragenina con iones potasio	12
III.3 Microcalorimetría de barrido diferencial (μ DSC)	13
III.4 Medición de a_w	13

III.5 Propiedades mecánicas	14
III.6 Tratamiento de datos	14
III.7 Análisis estadístico	15
CAPITULO IV. Resultados y Discusión	
IV.1 Microcalorimetría	16
IV.1.1 Variación de las temperaturas de inicio (onset), conclusión (offset) y pico (peak)	20
IV.1.2 Variación de las entalpías de transición	22
IV.1.3 Transiciones endotérmicas y exotérmicas de gel de κ-carragenina con iones potasio	26
IV.2 Propiedades mecánicas de los geles	27
IV. 3 Actividad de agua	30
CONCLUSIONES	39
REFERENCIAS	40
ANEXO	43

LISTA DE FIGURAS Y CUADROS

<u>Figuras</u>	Página
Figura 1. Estructuras de la carragenina	2
Figura 2. Mecanismo de gelificación de la carragenina	3
Figura 3. Estructuras de alcoholes polihídricos simples utilizados como ingredientes alimentarios	6
Figura 4. Diagrama de bloques del desarrollo experimental	11
Figura 5. Transiciones endotérmicas (superior) y exotérmicas (inferior) de disoluciones con 5mg/g de κ - carragenina en distintas proporciones de Agua/Glicerol (izquierda) y Agua/Sorbitol (derecha)	17
Figura 6. Proceso de gelificación (desorden->orden->red tridimensional) de la κ - carragenina (líneas rojas) por la adición de un poliol (puntos verdes) y moléculas de agua (puntos azules)	20
Figura 7. Variación de la temperatura onset (superior), peak (centro) y offset (inferior) en función de la concentración de alcohol durante el calentamiento para la primera (izquierda) y la segunda transiciones (derecha)	21
Figura 8. Variación de las temperaturas onset (superior), peak (centro) y offset (inferior) en función de la concentración de alcohol durante el enfriamiento	24
Figura 9. Variación de la entalpía con la concentración de alcohol durante el calentamiento (superior) y el enfriamiento (inferior)	25
Figura 10. Variación del flujo de calor con la temperatura de un gel de κ - carragenina con contraiones potasio libre de alcohol	26
Figura 11. Esfuerzo y deformación de fractura de geles de κ - carragenina con A/G	28
Figura 12. Comportamiento de la actividad del agua con la concentración de alcohol en disoluciones de kappa carragenina con agua y alcohol	31

Figura 13. Actividad de agua en un modelo de sistemas de alimentos de humedad intermedia **34**

Figura 14. Variación de las entalpías de fusión (derecha) y gelificación (izquierda) con a_w para glicerol (superior), sorbitol y xilitol (centro) y manitol y etanol (inferior) **36**

Cuadros

Cuadro 1. Principales aplicaciones de carrageninas en alimentos **4**

Cuadro 2. Proporciones y concentraciones de alcoholes **13**

Cuadro 3. Entalpías (J/g) en función de la concentración del alcohol durante el calentamiento **23**

Cuadro 4. Entalpías (J/g) en función de la concentración del alcohol durante el enfriamiento **23**

Cuadro 5. Esfuerzo verdadero (σ_v), deformación de fractura (ϵ_H) y módulo de Young (E) de geles de kappa carragenina con A/G y de k-carragenina con contraiones potasio **29**

RESUMEN

En este trabajo se examinó mediante micro-calorimetría de barrido diferencial el efecto que distintos alcoholes en diferentes concentraciones tienen sobre las transiciones de conformación de la κ -carragenina. Adicionalmente, se determinó la actividad de agua de cada mezcla alcohol-polisacárido y la resistencia de los geles a la fractura en compresión uniaxial. La concentración de polisacárido se mantuvo constante en 5 mg/g y se usaron proporciones agua (A)-alcohol (Z) de 100:0, 90:10, 80:20, 50:50, 20:80, 10:90 y 0:100, respectivamente, donde Z fue en cada caso: glicerol (G), sorbitol (S), xilitol (X) y manitol (M). También se prepararon disoluciones de κ -carragenina con etanol (E) en otras proporciones.

El aumento de la concentración de todos los alcoholes provocó diferentes efectos. Las temperaturas de transición aumentaron, altas concentraciones de los polioles indujeron la formación de geles, e.g., para proporciones A/G \geq a 50 %. Este comportamiento también se observó para A/S, A/X y A/M en proporciones \geq a 80 % y en proporciones de 30–35 % de A/E. Las entalpías de transición mostraron un máximo con la actividad de agua cuyo valor depende del alcohol. La fuerza de fractura de los geles aumentó en presencia de un alcohol. La formación de geles indica que los alcoholes indujeron la agregación de las estructuras helicoidales que se forman en el estado ordenado cuando las disoluciones están a temperatura ambiente. Esta agregación resultaría de la presencia de un disolvente diferente al agua sin co-soluto, es decir, un disolvente en el cual el polisacárido es menos afín. La hidratación del co-soluto deja menos moléculas de agua disponibles para el polisacárido y por ende este tiende a asociarse. Es posible que los grupos hidroxilo del polisacárido formen puentes de hidrógeno con los hidroxilos de los polioles. Sin embargo, esta situación parece depender de la concentración de co-soluto. Es posible postular la existencia de una sub-transición de conformación que implicaría la presencia de diferentes redes de polisacárido cuya formación depende de la disponibilidad de agua.

ABSTRACT

In this work the effect of different alcohols at different concentrations on the conformational transitions of κ -carrageenan was examined by differential scanning micro-calorimetry. Additionally, the water activity of each alcohol-polysaccharide mixture, and the resistance of the gels to fracture under uniaxial compression were determined. The κ -carrageenan concentration was constant at 5 mg/g and water (A)-alcohol (Z) ratios of 100: 0, 90:10, 80:20, 50:50, 20:80, 10:90 and 0: 100, respectively, where Z was in each case: glycerol (G), sorbitol (S), xylitol (X) and mannitol (M) were used. Solutions of κ -carrageenan were also prepared with ethanol (E) in other ratios.

Increasing the concentration of all alcohols caused different effects. Transition temperatures increased, high concentrations of polyols induced gel formation, e.g., for A/G ratios $\geq 50\%$. This behavior was also observed for A/S, A/X and A/M ratios $\geq 80\%$ and for A/E ratios of 30–35%. The transition enthalpies showed a maximum with water activity whose value depends on the alcohol. The fracture strength of the gels increased in the presence of an alcohol. Gel formation indicates that the alcohols induced the aggregation of helical structures formed in the ordered state when solutions are at room temperature. This aggregation would result from the presence of a solvent other than free-co-solute water, i.e., a solvent for which the polysaccharide shows less affinity. The hydration of the co-solute leaves fewer water molecules available for the polysaccharide and therefore it tends to associate. It is possible that the hydroxyl groups of the polysaccharide form hydrogen bonds with the hydroxyls of the polyols. However, this situation seems to depend on the co-solute concentration. It is possible to postulate the existence of a conformation sub-transition that would imply the presence of different polysaccharide networks whose formation depends on the availability of water.

INTRODUCCIÓN

Las carrageninas son polisacáridos naturales, obtenidos por extracción de una especie específica de algas rojas. No tienen valor nutricional y son utilizadas en la preparación de alimentos para gelificar, espesar o emulsionar. La κ -carragenina contiene 28–30 % de grupos éster y cerca de 25–30 % de 3,6-anhidro galactosa. Es soluble en agua caliente ($> 75\text{ }^{\circ}\text{C}$), en bajas concentraciones produce disoluciones viscosas y en presencia de ciertos cationes forma geles rígidos (Núñez-Santiago et al., 2011; Necas & Bartosikova, 2013). En la formulación de varios productos alimenticios se incluyen distintos alcoholes como el sorbitol y el xilitol, entre otros, que son utilizados para mejorar la calidad de los productos pero que tienen la capacidad de absorber agua, lo que significa que la κ -carragenina se encuentra en condiciones de limitación de disolvente. Por lo tanto, si la κ -carragenina es soluble en agua y se adiciona un alcohol, entonces, su comportamiento se verá afectado. Este comportamiento afectará de alguna manera la estabilidad térmica y mecánica de los geles.

El objetivo de esta investigación fue conocer el comportamiento de la κ -carragenina sin contraiones añadidos en presencia de distintos alcoholes mediante un estudio de micro-calorimetría de barrido diferencial para saber cómo influye el reemplazo de agua, en la transición conformacional del polisacárido. Además, se determinó la actividad de agua de cada sistema para tener presente la disponibilidad del disolvente en las disoluciones. La κ -carragenina es soluble en agua y en todas las matrices alimentarias hay distintos componentes con los que este aditivo puede interaccionar. Por tal motivo, es importante conocer la relación que existe entre la κ -carragenina y los demás componentes para saber cómo se modifica su funcionalidad y ver de qué manera la intervención de algún alcohol como disolvente afecta la resistencia mecánica de los geles expresada por su resistencia a la fractura. Entonces, la comparación con un gel de κ -carragenina formado en medio acuoso permitirá entender los cambios que sufre el polisacárido en presencia de alcoholes.

Capítulo I. Carrageninas y polioles

I.1 Carrageninas

Carrageninas es el nombre genérico para designar a una familia de polisacáridos que se obtienen por extracción de una especie específica de algas rojas. Estos polisacáridos no tienen valor nutrimental y son utilizados como gelificantes, espesantes y emulsionantes en la preparación de muchos alimentos. Las carrageninas son poligalactanos sulfatados que contienen de 15 a 40 % de éster-sulfatos y una masa molar promedio mayor de 100 000 g/mol. Su unidad repetitiva está formada por un disacárido en el que alternan la D-galactosa y la 3,6-anhidro-D-galactosa (3,6-AG) unidas por enlaces α -1,4 y β -1,3-glucósido (Necas & Bartosikova, 2013). En la industria de alimentos, las principales aplicaciones de las carrageninas son en productos lácteos, e.g., leche con chocolate, queso cottage y helado. También son utilizadas en alimentos a base de agua como jaleas de frutas, aderezos para ensaladas, salsas, entre otros, y en alimentos para mascotas (FAO, 2003).

I.1.1 Tipos de carrageninas y sus estructuras

Estos polisacáridos son clasificados en tres tipos con valor comercial: kappa (κ), iota (ι) y lambda (λ) carragenina dependiendo del número de grupos sulfato (1, 2 o 3) por unidad repetitiva del disacárido, respectivamente. La Fig. 1 muestra que la κ -carragenina está formada por la unidad repetitiva del disacárido, β -(1,3)-D-galactosa-4-sulfato y α -(1,4)-3,6-AG.

I.1.2 Mecanismo de gelificación

La capacidad gelificante de la carragenina está directamente relacionada con la formación de dobles hélices y, por lo tanto, con su contenido de 3,6-anhidro-

galactosa. A medida que dicho contenido aumenta se obtienen geles más resistentes a los esfuerzos mecánicos. La presencia de los grupos sulfato en la posición C6 provoca una ruptura de la linealidad del polímero y por consiguiente las dobles hélices no se asocian. Esta situación trae consigo que los geles sean menos resistentes mecánicamente y en casos extremos no se formen (Yuguchi et al., 2002).

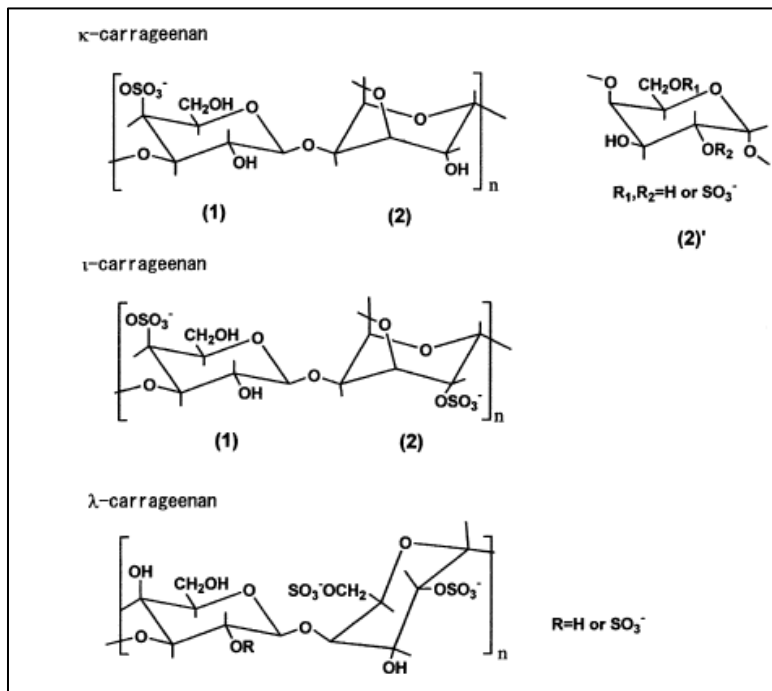


Figura 1. Estructuras de la carragenina.

La carragenina desarrolla estructuras helicoidales que pueden interaccionar entre sí, creando una red tridimensional (Badui, 2006). Las temperaturas superiores a las de fusión del gel producen una agitación térmica que impide la formación de las hélices, por lo que la conformación del polímero en disolución es de hebras al azar (random coil) como se muestra en la Figura 2. El enfriamiento induce una transición sol-gel que da origen a una estructura tridimensional en la que las dobles hélices son los puntos de unión de las cadenas de los polímeros (gel I). Finalmente, al enfriar aún más, se favorece la agregación de estas uniones provocando la gelificación de todo el sistema (gel II).

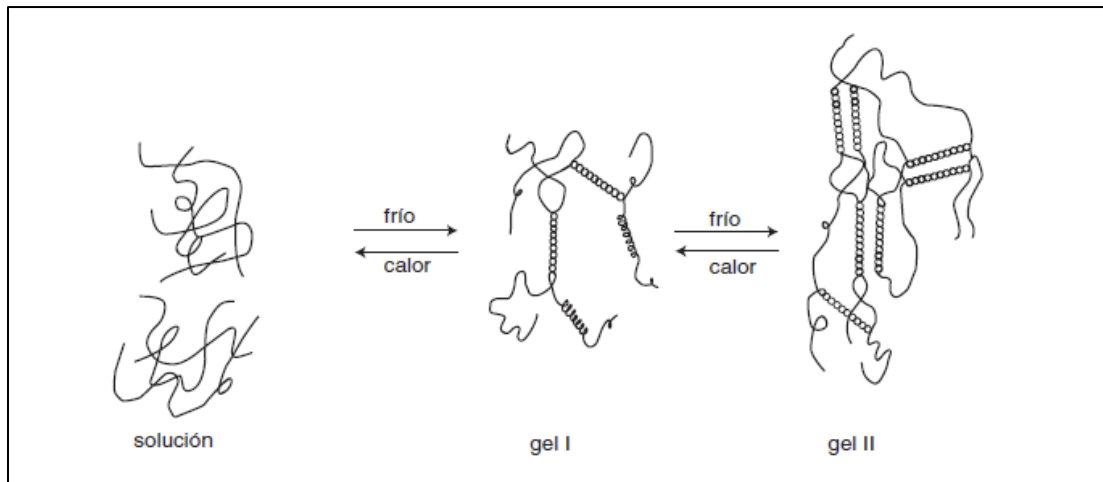


Figura 2. Mecanismo de gelificación de la carragenina (Badui, 2006).

I.1.3 κ -carragenina

Entre los distintos tipos de poligalactosas sulfatadas que pueden ser extraídas de algas rojas, la κ -carragenina es bien conocida por su capacidad de formar geles. Este polisacárido es soluble en agua y en leche caliente (80 °C), forma geles firmes con el contraion K^+ aunque con otros cationes también forma geles, pero no con la misma firmeza o resistencia mecánica. La formación de geles es termorreversible, es decir, los geles funden al calentarlos, y este hecho junto con la brusquedad del fenómeno sugieren que puede ocurrir una transición de dos estados (Snoeren & Payens, 1976). Durante la formación del gel, la κ -carragenina asume una conformación de cadenas aleatorias, conocida como "random coil", y a bajas temperaturas se induce a las secuencias de 3,6-AG a girar permitiendo la formación de doble hélices. Esta superestructura está estabilizada por la formación de puentes de hidrógeno entre las cadenas involucradas. La subsecuente agregación de las dobles hélices conduce a la formación de un dominio entrecruzado hasta lograr una red infinita suficiente para completar la gelificación (Yuguchi et al., 2002). Esta agregación está estabilizada por la presencia de contraiones ya sea que se añadan o que ya estén presentes.

I.1.4 Aplicaciones en la Industria de alimentos

En el lenguaje de la industria de alimentos, las carrageninas son llamadas emulsificantes, estabilizantes, coloides o gomas. Las carrageninas se adicionan a varios productos, especialmente la leche de soya, de chocolate y otros sabores, las fórmulas infantiles y las bebidas de suplementos alimenticios para lograr consistencias uniformes. Las carrageninas son las únicas con la habilidad de suspender bajas concentraciones de cocoa en leche de chocolate debido a su alta capacidad para interactuar con proteínas (Necas & Bartosikova, 2013). Por otra parte, la κ -carragenina se emplea para lograr ciertas texturas y propiedades reológicas en algunos productos cárnicos. Por ser un polisacárido no metabolizable, se usa para sustituir el almidón en alimentos “dietéticos” (Stanley, 1990). En el Cuadro 1 se muestran algunas aplicaciones de las carrageninas en alimentos.

Cuadro 1. Principales aplicaciones de carrageninas en alimentos (Glicksman, 1982).

USO	FUNCION	TIPO	NIVEL DE USO (%)
Rellenos para pastelería	Gelificación tipo almidón	κ	0.1 a 0.2
Sustitutos de leche	Estabilización, espesante	ι, λ	0.5
Jarabes	Agente de suspensión	$\kappa + \lambda$	0.3 a 0.5
Postres gelificados	Gelificación	$\kappa + \iota$	0.5 a 1.0
Cremas para café	Estabilización	λ	0.1 a 0.2
Geles de leche, flanes	Gelificación	$\kappa, \kappa + \iota$	0.2 a 0.3
Salsas y aderezos	Espesante	κ	0.2 a 0.5
Alimentos para mascotas	Estabilizante, espesante, gelificación	$\kappa + \text{algarrobo}$	0.5 a 1.0
Yoghurt y leches acidificadas	Suspensión de frutas, espesante	$\kappa + \text{algarrobo}$	0.2 a 0.5
Alimentos infantiles	Estabilización	κ	0.02 a 0.04
Geles de pescado	Gelificación	$\kappa + \text{algarrobo}, \kappa + \iota$	0.5 a 1.0
Pudines no lácteos	Estabilización	κ	0.1 a 0.3
Bebidas instantáneas	Espesante	κ	0.1 a 0.2

Capítulo II. Polioles

II.1 Polioles

Los alditos también conocidos como polioles o polihidroalcoholes se obtienen de la hidrogenación de carbohidratos, es decir, la adición de hidrógeno a un doble enlace situado en el átomo de oxígeno y el de carbono del grupo carbonilo de una aldosa o cetosa. Sus únicos grupos funcionales son los grupos hidroxilo. Los polioles son en general bastante hidrosolubles e higroscópicos y en disolución acuosa desarrollan una viscosidad moderada en altas concentraciones. A las estructuras polihidroxilo de estos compuestos se deben sus propiedades ligantes de agua cuando se adicionan a los alimentos. Las funciones específicas de los polialcoholes son el control de la viscosidad y la textura, como sustancias de relleno, la retención de humedad, la reducción de la actividad de agua, el control de la cristalización, la mejora o retención de la pastosidad, la mejora de las propiedades de rehidratación de los alimentos deshidratados y como disolventes de compuestos aromáticos (Fennema et al., 2008).

II.1.1 Ejemplos de polioles

Los polioles mencionados son solo algunos de los muchos disponibles (Figura 3). El **sorbitol o D-glucitol** se encuentra de forma natural en algunos frutos; su masa molar es 182.15 g/mol y es soluble en agua (173 g/100 g a 30 °C). Se comercializa como jarabe o cristalizado y se utiliza como humectante general, es decir, sustancia que mantiene o retiene la humedad de un producto. El **D-manitol** puede obtenerse mediante hidrogenación de la D-manosa. Comercialmente, se obtiene, junto con el sorbitol, por hidrogenación de la sacarosa. Es un producto de la hidrogenación de la D-fructosa que forma parte de la molécula de sacarosa y se forma también por isomerización de la D-glucosa. Su masa molar es de 182.17 g/mol y es soluble en agua (1 mol/L a 20 °C). A diferencia del sorbitol, el D-manitol

no es humectante sino, al contrario, cristaliza fácilmente y su solubilidad es sólo moderada. Se ha utilizado como recubrimiento antiapelmazante en caramelos.

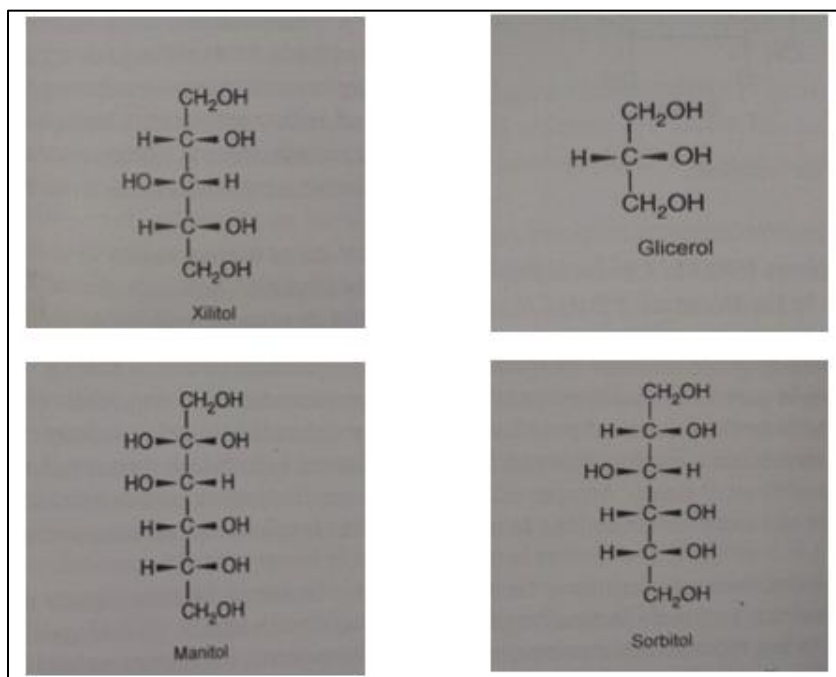


Figura 3. Estructuras de alcoholes polihídricos simples utilizados como ingredientes alimentarios (Fennema et al., 2008).

El **xilitol** es un polialcohol que se produce por hidrogenación de la D-xilosa obtenida de las hemicelulosas, especialmente de abedules. Su masa molar es 151.15 g/mol y es soluble en agua (169 g/100 g a temperatura ambiente) (Ur-Rehman et al., 2013). Los cristales, al disolverse, manifiestan un elevado efecto endotérmico, lo que origina una sensación de frescor en la boca. Por ello, el xilitol es un ingrediente muy oportuno para caramelos de menta y chicles sin azúcar. Existen algunos polioles de cadena corta, que también tienen interés alimentario, y que no se obtienen por reducción de carbohidratos.

El **glicerol** es importante fundamentalmente por formar parte de los triglicéridos y fosfolípidos, aunque también puede encontrarse en forma libre en algunos alimentos. Su masa molar es de 92.038 g/mol y es miscible con el agua en todas las proporciones.

II.1. 2 Interacción de los polioles con el agua y la κ -carragenina

La presencia de cosolutos, en particular azúcares y polioles, afecta la gelificación de la κ -carragenina y, por lo tanto, la estabilidad y la resistencia mecánica de sus geles. Se ha estudiado cómo es que los polioles/azúcares inducen el cambio en la estructura del agua y en consecuencia la hidratación del polisacárido. Un indicativo de esto es la liberación de agua y la correlación lineal entre la estructura del agua y el co-soluto que incrementa la estabilidad térmica de los geles (Gekko et al., 1986; Stenner et al., 2016). Además, el enlace directo del co-soluto con la cadena del polisacárido en el gel incrementa el número de zonas de unión. Así es como se explica la disminución de la energía libre de las zonas de unión debido a la estabilización de las reticulaciones intermoleculares, además del incremento de la temperatura de gelificación y de fusión de geles de κ -carragenina en presencia de azúcares. Hay un incremento en la rigidez de los geles relacionado con el aumento de la concentración de los polioles (Stenner et al., 2016).

Gekko et al. (1987) estudiaron el efecto de carbohidratos (sacarosa, glucosa, xilosa, manosa, galactosa, maltosa, arabinosa, fructosa, lactosa), polioles (etilenglicol, glicerol, eritriol, xilitol, sorbitol, maltitol), y alcoholes (metanol y etanol) sobre la transición sol-gel de 2 % de κ -carragenina (masa molar 300 000 g/mol, contenido de sulfato 0.923 mol/mol de unidad disacárida) en disoluciones acuosas con 25 mmol/L de KCl, por medio de calorimetría de barrido diferencial.

El aumento en la concentración añadida de estos compuestos (0 a 6 mmol/L polioles y alcoholes) y 0 a 3 mmol/L (carbohidratos) resultó invariablemente en un aumento de la temperatura de gelificación, T_g , y la disminución del valor absoluto de la entalpía de gelificación ΔH_g . La adición de mayores concentraciones de KCl y carragenina aumentó T_g y ΔH_g . El mismo fenómeno ocurrió con el etanol, aunque de forma moderada. La adición de mayores concentraciones de los carbohidratos y polioles mencionados, así como de metanol, también aumentaron T_g , pero produjeron el efecto contrario sobre ΔH_g , es decir, la hicieron cada vez más pequeña. Dado que $\Delta S_g = \Delta H_g/T_g$, la entropía de gelificación disminuye cuando T_g aumenta. Sin embargo, cuando ΔH_g aumenta, como en el caso del aumento de la

concentración de KCl y de κ -carragenina, la disminución es menor que cuando ΔH_g disminuye y T_g aumenta, como sucede con los compuestos polihídricos y el metanol. Según estos autores este comportamiento indica que no es ΔH_g sino la entropía de gelificación, ΔS_g , la que juega un papel esencial en la estabilización del gel por la adición de los componentes de manera individual, haciendo que la estabilización entrópica sea diferente de la entálpica debida a la adición de KCl, etanol o carragenina.

Los efectos estabilizadores de los compuestos polihídricos no pueden explicarse simplemente en términos de una disminución de la actividad de agua ya que si este fuese el caso el aumento de la concentración real de KCl y carragenina debería contribuir más bien a aumentar el valor absoluto de ΔH_g y no a disminuirlo como estos autores observaron en sus experimentos. Por lo tanto, en presencia de los compuestos polihídricos un factor importante es la interacción polímero-disolvente que afecta directamente las interacciones electrostáticas, las interacciones hidrofóbicas y los puentes de hidrógeno de las cadenas poliméricas. Lo que no queda claro es cuál es el grado de afectación de cada una de ellas. En consecuencia, la disminución del valor absoluto de ΔH_g por los compuestos polihídricos podría atribuirse al debilitamiento de los puentes de hidrógeno polímero-polímero en los disolventes mixtos.

Al parecer, un cambio tan grande en ΔS_g en relación con ΔH_g ocurre predominantemente durante el reemplazo de los puentes de hidrógeno polímero-disolvente por los puentes de hidrógeno polímero-polímero con una contribución menor de la entropía conformacional de las cadenas de polímero. Esta hipótesis para el mecanismo de estabilización del gel de los compuestos añadidos debería confirmarse mediante investigaciones más detalladas de la interacción preferencial con el disolvente y de la conformación molecular de la carragenina en los estados sol y gel. Cada componente, carbohidrato, poliol, alcohol, tiene diferente capacidad de estabilización del gel porque cada uno de ellos influye de manera diferente sobre la estructura del agua.

Nishinari & Watase (1992) estudiaron los efectos de diversos azúcares (ribosa, glucosa, fructosa, manosa, galactosa, sacarosa, maltosa y rafinosa), y polioles

(etilenglicol y glicerol) sobre la transición gel-sol de los geles de κ -carragenina mediante calorimetría de barrido diferencial (DSC). La masa molar de la carragenina fue 1.8×10^6 g/mol. El contenido de iones de la preparación comercial del polisacárido fue K = 7.93 %, Na = 0.31 %, Ca = 0.6 % and Mg = 0.05 %. La concentración de carragenina en los experimentos fue 2 % y la concentración de azúcares y polioles estuvo en el intervalo de 0 a 2 mol/L.

La temperatura de fusión, T_m , y la temperatura de gelificación, T_g , se desplazaron hacia valores más altos al aumentar la concentración del poliol o el azúcar añadido. El aumento en ΔT_m , o ΔT_g ocurrió en el siguiente orden: rafinosa > maltosa > sacarosa > glucosa > galactosa > manosa > fructosa > ribosa. El aumento en ΔT_m , con el aumento de la concentración de azúcares o polioles añadidos, se ha atribuido a la estabilización de las zonas de unión en los geles de kappa-carragenina por puentes de hidrógeno recién creados entre los grupos hidroxilo de las moléculas de azúcar o poliol y de las moléculas de kappa-carragenina.

El aumento en T_m y T_g se relacionó linealmente con el número de hidratación dinámica o el número de grupos hidroxilo unidos ecuatorialmente en el poliol o el azúcar añadido. Esta situación sugiere que se crean puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de la κ -carragenina y los del poliol o el azúcar y estas interacciones estabilizan la estructura de las zonas de unión de las dobles hélices de polisacárido en el gel.

No obstante, los autores no pudieron concluir cuál factor es más decisivo para el cambio conformacional de las moléculas de κ -carragenina. La estructura del agua como disolvente se modifica mediante la adición de azúcares o polioles y esto puede cambiar la conformación del polisacárido. La otra posibilidad es la interacción directa entre los grupos hidroxilo de los azúcares o polioles y los de las moléculas de κ -carragenina.

Ramakrishnan & Prud'homme (2000) examinaron el efecto del glicerol y el sorbitol sobre la transición sol-gel-sol de disoluciones acuosas de 1 % de κ -carragenina predominantemente en su forma sódica en presencia de 10 mM KCl. Las concentraciones de glicerol y sorbitol fueron 0 (solo agua), 50 y 100 % (disolución saturada con sorbitol). Ambos solutos afectaron la transición

conformacional de manera similar. Esto significa que un aumento en la concentración de glicerol y sorbitol aumentó la temperatura de inicio de la transición en el calentamiento, gel-sol, y en el enfriamiento, sol-gel. El fenómeno de histéresis térmica estuvo presente con la temperatura de fusión del gel, T_m , mayor que la de formación del gel, T_g . La correlación de T_{onset} en calentamiento y en enfriamiento con la constante dieléctrica del medio acuoso y su falta de correlación con el potencial químico del agua y el parámetro de solubilidad del polisacárido en los distintos medios acuosos, fue interpretada por los autores como una indicación de que las interacciones Coulómbicas, es decir, electrostáticas predominan sobre los puentes de hidrógeno y la solubilidad del polímero en agua y medios acuosos con glicerol o sorbitol.

Capítulo III. Desarrollo Experimental

En la Figura 4 se observa el diagrama de bloques del desarrollo de la parte experimental de este trabajo.

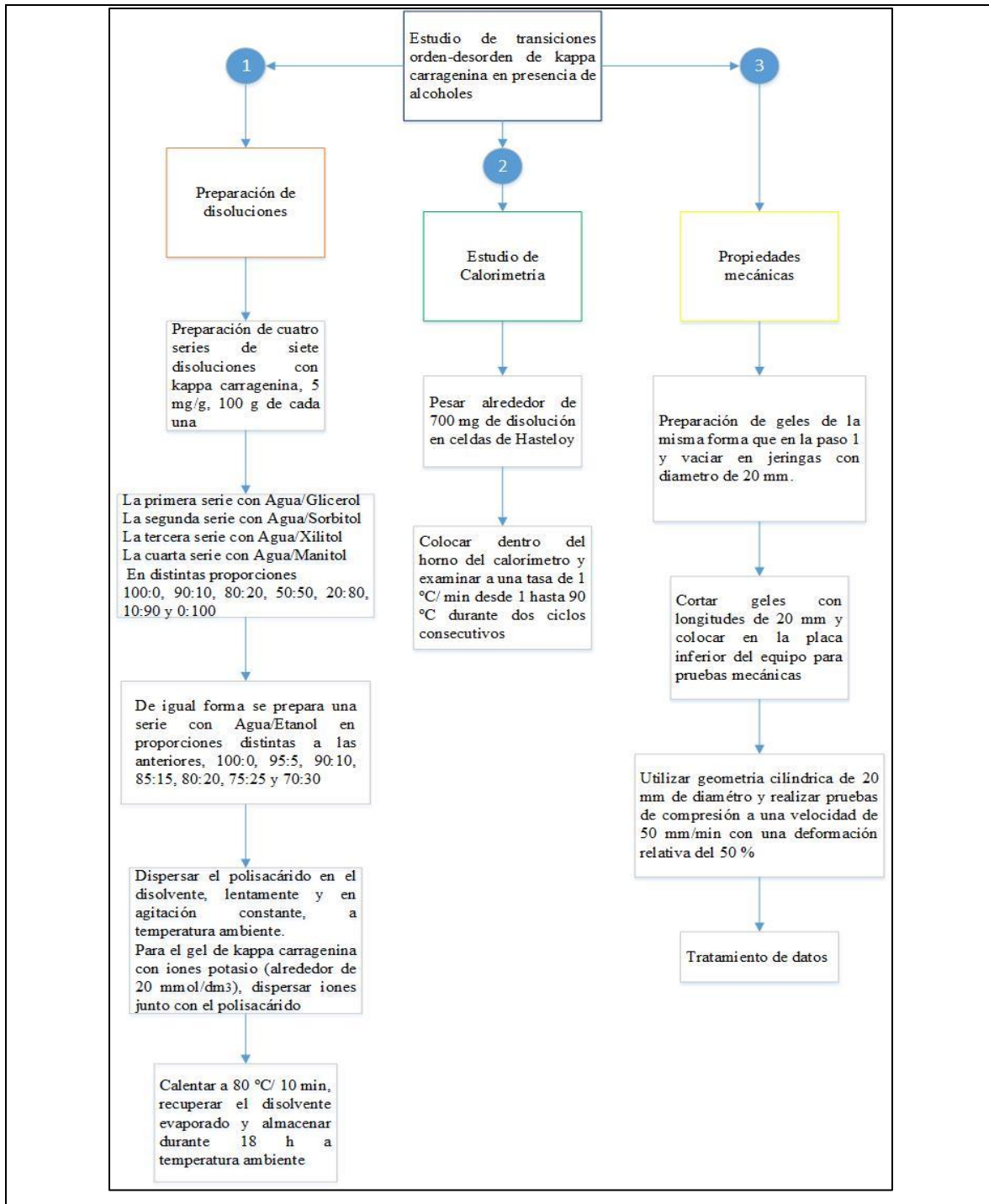


Figura 4. Diagrama de bloques del desarrollo experimental.

III.1 Materiales

Se usó una preparación comercial de κ -carragenina grado alimenticio (WG-17, Ingredient Solutions; Inc, USA). Su masa molar determinada por dispersión de luz es 308366 g/mol y su contenido de iones potasio, sodio, calcio y magnesio determinado por espectroscopía de absorción atómica es 62100, 21513, 1301 y 5.2 mg/kg, respectivamente (Ortiz-Tafoya et al., 2018). Se usó agua desionizada, glicerol anhidro, grado reactivo (Baker ACS, México), D-sorbitol (Sigma-Aldrich, México), D-xilitol (Sigma-Aldrich, México), D-manitol (Sigma-Aldrich, México) y etanol 99.5 % (J.T. Baker, México). Para la preparación del gel de κ -carragenina se adicionó KCl grado reactivo (Merck, México).

III.2 Disoluciones de κ -carragenina con distintos alcoholes y sus geles con iones potasio

Se prepararon series de 100 g cada una de siete disoluciones con 5 mg/g de κ -carragenina, considerando la humedad del polvo. Cada disolución fue preparada con agua (A) y glicerol (G) en proporciones (A/G) de, 100:0, 90:10, 80:20, 50:50, 20:80, 10:90 y 0:100. La proporción 100:0 solo tuvo κ -carragenina y la proporción 0:100 solo glicerol. En el caso de las disoluciones acuosas de κ -carragenina con sorbitol (AS), xilitol (AX) y manitol (AM) la proporción 0:100 se preparó como una disolución saturada de cada soluto. La disolución de sorbitol se preparó a 30 °C, las de xilitol, y manitol, a temperatura ambiente. A cada una de estas disoluciones se les añadió la κ -carragenina en cantidad suficiente para una concentración de polisacárido de 5 mg/g de disolución, para preparar las otras proporciones como en el caso del glicerol. Las disoluciones de κ -carragenina con agua (A) y etanol (E) se prepararon en proporciones (A/E) de 100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25 y 70:30. Primero se dispersó la κ -carragenina en el disolvente a temperatura ambiente bajo agitación constante. Posteriormente el polisacárido se disolvió a 80 °C durante 10 min, se recuperaron aproximadamente 0.5 g de disolvente evaporado y la disolución se almacenó a temperatura ambiente durante 18 h para después hacer el estudio

calorimétrico. El gel con 5 mg/g de κ -carragenina se preparó de la misma manera añadiendo 20 mmol/dm³ de KCl para inducir la gelificación al enfriar la disolución caliente. Para ello, la disolución caliente se vació en jeringas de plástico con un diámetro interno de 20 mm. Las jeringas se dejaron enfriar a temperatura ambiente hasta la formación del gel para después realizar el estudio calorimétrico y medir la fuerza de fractura. El Cuadro 2 muestra las proporciones y concentraciones de los alcoholes mezclados con la κ -carragenina.

Cuadro 2. Proporciones y concentraciones de alcoholes

A/Z	Proporción masa	Porcentaje mol				A/E	Proporción masa	Porcentaje mol
		Glicerol	Sorbitol	Xilitol	Manitol			
100:0	0	0	0	0	0	100:0	0	0
90:10	0.111	0.0241	0.0122	0.0146	0.0122	95:5	0.0526	0.0216
80:20	0.250	0.0610	0.0309	0.0370	0.0309	90:10	0.111	0.0482
50:50	1.00	0.389	0.197	0.236	0.389	85:15	0.176	0.0811
20:80	4.00	3.76	1.94	2.31	3.76	80:20	0.250	0.122
10:90	9.00	15.0	8.2	9.62	15.0	75:25	0.333	0.173
0:100	∞	100	100	100	100	70:30	0.429	0.239

III.3 Microcalorimetría de barrido diferencial (μ DSC)

Las transiciones estudiadas, orden-desorden y sol-gel, fueron examinadas en las disoluciones y los geles, respectivamente, en un microcalorímetro (Micro DSC Evo I, Setaram, France). Se pesaron aproximadamente 700 mg de muestra en celdas de Hasteloy, se colocaron dentro del horno del equipo y se examinaron a una tasa máxima de 1.0 °C/min desde 1 hasta 90 °C en dos ciclos consecutivos de calentamiento-enfriamiento (Núñez-Santiago & Tecante, 2007; Yang et al., 2018).

III.4 Actividad de agua (a_w)

La actividad de agua, a_w , fue determinada en un acuometro (LabSwift- a_w , Novasina, USA). En una cápsula de plástico se colocó alrededor de 1 mL de muestra, se cerró la cápsula, se introdujo en el equipo y se esperó la determinación de actividad de agua y la medición de temperatura. Lo anterior se realizó para cada una de las disoluciones preparadas.

III.5 Propiedades mecánicas

Los geles se sacaron del molde y se cortaron en longitudes de 20 mm. Los ensayos de compresión se realizaron en la máquina de pruebas mecánicas Sintech 1/S (MTS System Corporation, USA) con una celda de carga de 100 N y un cilindro de 2 cm de diámetro. La muestra se colocó sobre una placa metálica de soporte y el gel se comprimió con el cilindro a una velocidad de compresión de 50 mm/min y una deformación relativa de 50 %, i.e., 10 mm.

III.6 Tratamiento de datos

Con los resultados del estudio calorimétrico se hizo una comparación gráfica de todos los termogramas para así analizar el comportamiento del polisacárido en presencia y ausencia de cada alcohol y cuáles fueron las diferencias. En el caso de la medición de actividad de agua se analizó si el resultado obtenido fue congruente con la cantidad de agua de cada disolución, además de hacer un análisis de varianza para poder comparar la diferencia entre alcoholes.

Con los datos obtenidos de la prueba de compresión uniaxial se calculó el esfuerzo normal verdadero, σ_v (Pa) y la deformación de Hencky, ϵ_H , que es adimensional. El esfuerzo y la deformación normales están dados por las ecuaciones (1) y (2), respectivamente.

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (1)$$

$$\Delta L = L - L_0 \quad (2)$$

donde F es la fuerza, A el área sobre la que actúa la fuerza, L_0 es la longitud inicial del espécimen y L es la longitud del espécimen al tiempo t durante o en cualquier instante de la deformación. El esfuerzo normal nominal (σ) se calculó con la ecuación (3) y la deformación relativa nominal (ϵ) con la ecuación (4)

$$\sigma = \frac{F}{\pi R^2} \quad (3)$$

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0} \quad (4)$$

donde R es el radio del espécimen. La deformación dada por la ecuación (4) es también llamada deformación de ingeniería o deformación de Cauchy. El esfuerzo normal verdadero (σ_v) se calculó con la ecuación (6) y la deformación de Hencky (ε_H) con la ecuación (8)

$$\sigma_v = \frac{\sigma(L_0 - \Delta L)}{L_0} = \sigma \left[1 - \frac{\Delta L}{L_0} \right] \quad (5)$$

$$\sigma_v = \sigma(1 - \varepsilon) \quad (6)$$

$$\varepsilon_H = -\ln \left[1 - \frac{\Delta L}{L_0} \right] \quad (7)$$

$$\varepsilon_H = -\ln[1 - \varepsilon] \quad (8)$$

La deformación de Hencky es una medida más conveniente de la deformación porque toma en cuenta el cambio de área transversal durante la compresión. Sin embargo, está basada en la consideración de que el volumen del espécimen permanece constante durante la compresión (Escamilla-Loeza, 2006), es decir, una condición de incompresibilidad. Con los datos expresados como esfuerzo normal verdadero y deformación de Hencky, se construyeron gráficas σ_v vs. ε_H . Por último, se determinó el esfuerzo máximo tomando directamente el punto máximo correspondiente de la gráfica σ_v vs. ε_H . Para la determinación del módulo de Young se determinó la pendiente de la porción inicial de la curva σ_v vs. ε_H .

III. 7 Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos se hizo un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si hubo diferencia significativa entre cada experimento y concluir si las variaciones en las disoluciones estudiadas eran un factor para dicha diferencia.

Capítulo IV. Resultados y discusión

IV.1 Microcalorimetría diferencial de barrido (μ DSC)

La DSC es una técnica de análisis térmico que proporciona la temperatura y el flujo de calor asociados con las transiciones de conformación de la carragenina como función del tiempo y la temperatura. Es una herramienta termodinámica para la evaluación directa de la captación de energía térmica, que ocurre con un aumento o un descenso de temperatura controlado en una muestra (Gill et al., 2010).

La Figura 5 muestra las transiciones endo y exotérmicas de las mezclas acuosas de κ -carragenina con diferentes proporciones individuales de glicerol y sorbitol. En el calentamiento se observan dos transiciones endotérmicas consecutivas para cada alcohol. Cada transición tiene su temperatura de inicio, T_{onset} , de pico, T_{peak} , y de conclusión, T_{offset} . Sin embargo, proporciones iguales o superiores a 80 % de glicerol resultaron claramente en un solo pico endotérmico.

Este mismo comportamiento ocurrió con proporciones de 25-30 % de etanol (datos no mostrados) para las cuales se formaron geles. Sin embargo, en el caso del sorbitol, xilitol y manitol (datos no mostrados) la presencia de dos picos en el calentamiento fue constante y también se formaron geles para concentraciones iguales o superiores a 80 % de cada alcohol.

La κ -carragenina adopta una conformación de cadena aleatoria (del inglés "random coil") cuando la temperatura es superior a la temperatura de transición conformacional. Cuando la disolución se enfría ocurre una transición conformacional que da como resultado la formación de dobles hélices. En el estado desordenado, la conformación de cadena aleatoria es el resultado de las repulsiones electroestáticas entre segmentos de cadenas adyacentes debido a los grupos SO_3^- del polímero, mientras que, en el estado ordenado, la asociación entre cadenas o conformación helicoidal no forma agregados por debajo de una concentración iónica crítica o en ausencia de contraiones (Ramakrishnan & Prud'homme, 2000; Nuñez-Santiago et al., 2011). Con base en esta información, la

primera transición endotérmica, es decir, la que ocurre a baja temperatura, puede atribuirse a la disociación de las dobles hélices que están agregadas por debajo de la temperatura pico de esta transición. La segunda transición endotérmica, cuyo pico se observa a mayor temperatura, corresponde a la separación de las cadenas poliméricas que forman las dobles hélices. Por arriba de esa temperatura el polisacárido está en la conformación de hebra aleatoria.

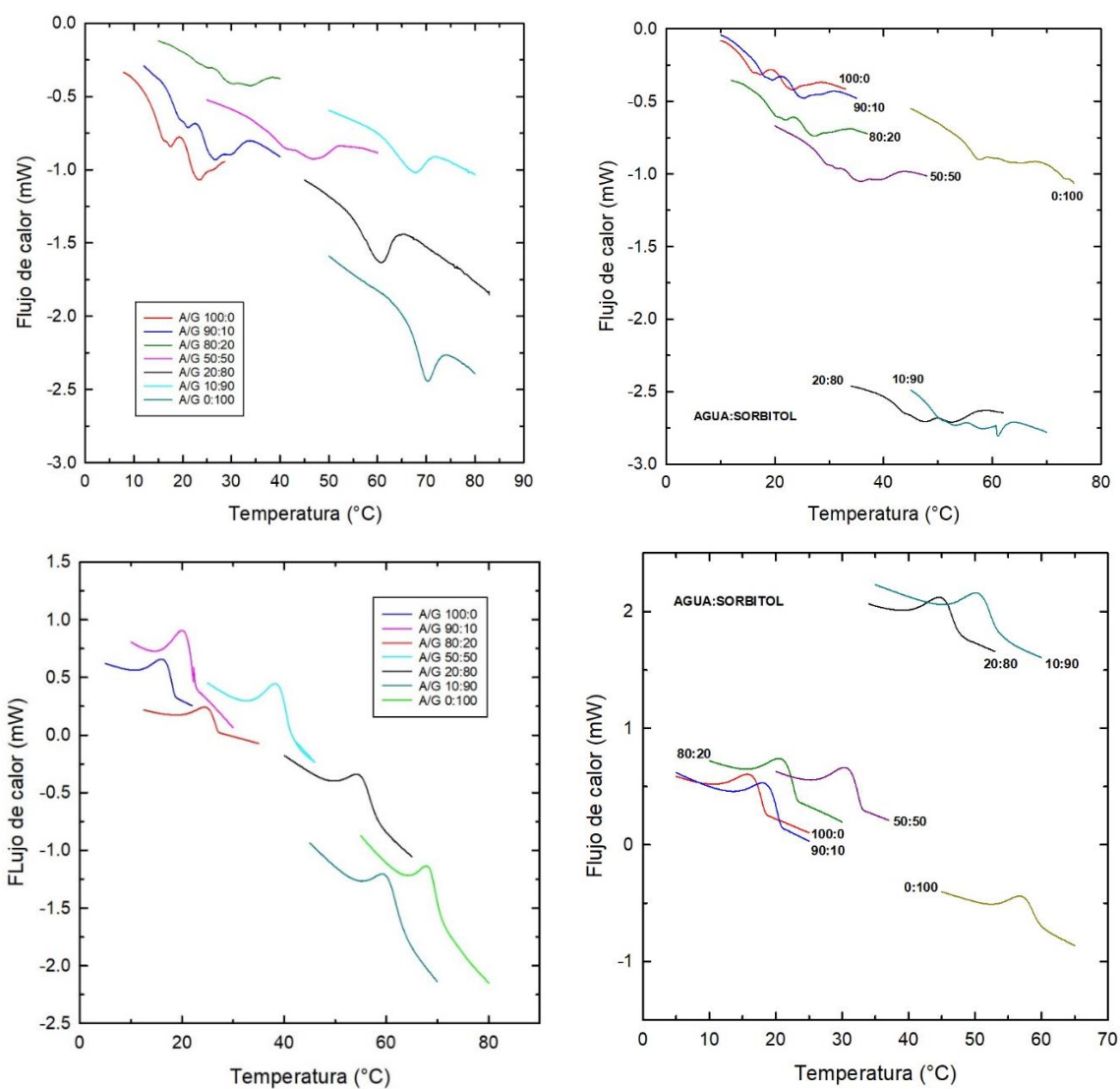


Figura 5. Transiciones endotérmicas (superior) y exotérmicas (inferior) de disoluciones con 5 mg/g de κ -carragenina en distintas proporciones de Agua/Glicerol (izquierda) y Agua/Sorbitol (derecha).

El aumento de la proporción de glicerol, i.e., $\geq 50\%$, condujo a la desaparición de la primera transición y solo se observó la segunda (Fig. 5 superior, izquierda). Este comportamiento sugiere la transformación de las estructuras helicoidales en cadenas aleatorias, sin una disociación previa. El mismo fenómeno ocurre cuando aumenta la concentración de etanol, 25 – 30 % (datos no mostrados).

La desaparición de la transición atribuida a la disociación de las dobles hélices sugiere que altas proporciones de los alcoholes impiden la agregación de las dobles hélices alterando la formación de zonas de unión, según el modelo de zíper (Nishinari & Watase, 1992). De acuerdo con este modelo cada cinta del zíper sería el equivalente a una doble hélice y el zíper totalmente abierto es equivalente a las dos dobles hélices separadas, mientras que el zíper totalmente cerrado equivale a las dos dobles hélices unidas por zonas de unión laterales estabilizadas por los contraiones potasio inherentes o agregados. Entonces, las altas concentraciones de alcoholes impedirían la estabilización de esas zonas de unión por los contraiones. El posible mecanismo puede ser la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos -OH del polisacárido y aquellos de los compuestos polihídricos que posiblemente no están ya totalmente hidratados por estar en exceso. Esta interacción sería energéticamente más estable que aquella debida a la hidratación dinámica de los polioles. Este fenómeno no ocurre en el caso del sorbitol (Fig. 5 superior, derecha). Ambas transiciones se observan incluso para altas proporciones de este alcohol.

Por otro lado, altas concentraciones de etanol, usualmente $> 50\%$, se utilizan para disminuir la solubilidad y precipitar polisacáridos presentes en extractos acuosos para recuperarlos, mientras que concentraciones menores de 20 % (20 g/100 g) aumentan la resistencia mecánica de los geles de κ -carragenina (Yang et al., 2018). Experimentalmente, esa precipitación se observó con una concentración igual y mayor al 40 % de etanol. Es decir, en esa proporción no fue posible incorporarlo en la disolución de kappa carragenina, razón por la que se decidió trabajar con las concentraciones ya mencionadas.

En el enfriamiento se observó solo una transición para las mezclas con glicerol y con sorbitol que corresponde al cambio conformacional de cadena aleatoria a

estructuras helicoidales debido a la formación de una red de estas estructuras que macroscópicamente produce un gel (Fig. 5 inferior). Es importante mencionar que todas las disoluciones preparadas con concentraciones altas de alcohol gelificaron al enfriarlas a temperatura ambiente. Este comportamiento muestra que los alcoholes juegan un papel en la gelificación de la κ -carragenina. Se ha planteado la hipótesis de que los polioles, en tanto que cosolutos, forman puentes de hidrógeno con las moléculas de agua y rodeando así a las cadenas de carragenina de tal forma que provocan la interacción entre las partes hidrofóbicas de las cadenas de polisacárido. Esta condición explicaría la asociación de estas cadenas para formar la red tridimensional que conduciría a la gelificación de las disoluciones a medida que aumenta la concentración de alcohol (Stenner et al., 2016).

De acuerdo con estos autores el reforzamiento de los geles de κ -carragenina que se manifiesta por un aumento en las temperaturas de transición sol-gel y gel-sol así como en las respectivas entalpías con el aumento en la concentración de cosolutos, entre los que se incluyen el glicerol, el sorbitol y el xilitol, ocurre debido a los siguientes fenómenos. 1) La exclusión de los cosolutos de la superficie de la κ -carragenina en el sol, y 2) La unión de los cosolutos con la κ -carragenina en el gel. Ambas condiciones contribuyen a que los cosolutos estén más excluidos en el sol que en el gel. En el estado sol la presencia de los cosolutos mejora la asociación entre las cadenas de κ -carragenina porque existe una exclusión preferencial, es decir, una hidratación preferencial de los cosolutos que los aleja de la superficie de las cadenas de polisacárido. Tal condición está gobernada por una energía libre más negativa que la interacción entre el cosoluto y la carragenina. En el estado gel los cosolutos se unen directamente a la κ -carragenina aumentando el número de zonas de unión, con una longitud media más corta, por unidad volumen. Esta unión se atribuye a la estabilización de los puentes de hidrógeno intermoleculares entre cadenas individuales de κ -carragenina en una zona de unión típica por la formación enlaces reticulantes (cross-links) entre los grupos -OH del cosoluto y el polisacárido. El resultado es la formación de estructuras helicoidales más estables como lo muestra la Figura 6 (Stenner et al., 2016).

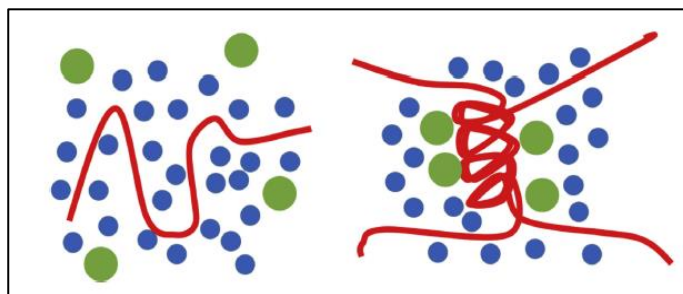


Figura 6. Gelificación (desorden \rightarrow orden \rightarrow red tridimensional) de la κ -carragenina (líneas rojas) por la adición de un poliol (puntos verdes) y moléculas de agua (puntos azules). Tomado de Stenner et. al. (2016).

IV.1.1 Variación de las temperaturas de inicio (onset), pico (peak) y conclusión (offset) con la concentración de poliol

En la Figura 7 se observa el aumento de las temperaturas de inicio, pico y conclusión con el aumento la proporción de los distintos cosolutos para la primera y segunda transiciones en el calentamiento como las mostradas en la Fig. 5 para el glicerol y el sorbitol. Las dos transiciones están presentes para el sorbitol, xilitol, manitol y etanol. Cabe mencionar que las disoluciones con proporciones 0:100 de sorbitol, manitol y xilitol, se prepararon considerando la solubilidad de cada cosoluto a temperatura ambiente. De acuerdo con la primera hipótesis señalada en la sección anterior el comportamiento mostrado en la Fig. 7 puede atribuirse a la estabilización resultante de la interacción del agua con el cosoluto que impide al polisacárido pasar fácilmente del estado ordenado al desordenado. Este impedimento resulta en temperaturas más altas para inducir la movilidad necesaria que desacomode la red tridimensional formada o de las dobles hélices, cuando se forma el gel. La κ -carragenina no se hidrata fácilmente pues el agua presente no está completamente disponible para interactuar con el polisacárido debido a la presencia de los alcoholes. De igual forma en el momento de pasar del estado desordenado al ordenado es congruente la hipótesis de que el polisacárido interactúa directamente con el cosolvente aumentando las zonas de unión.

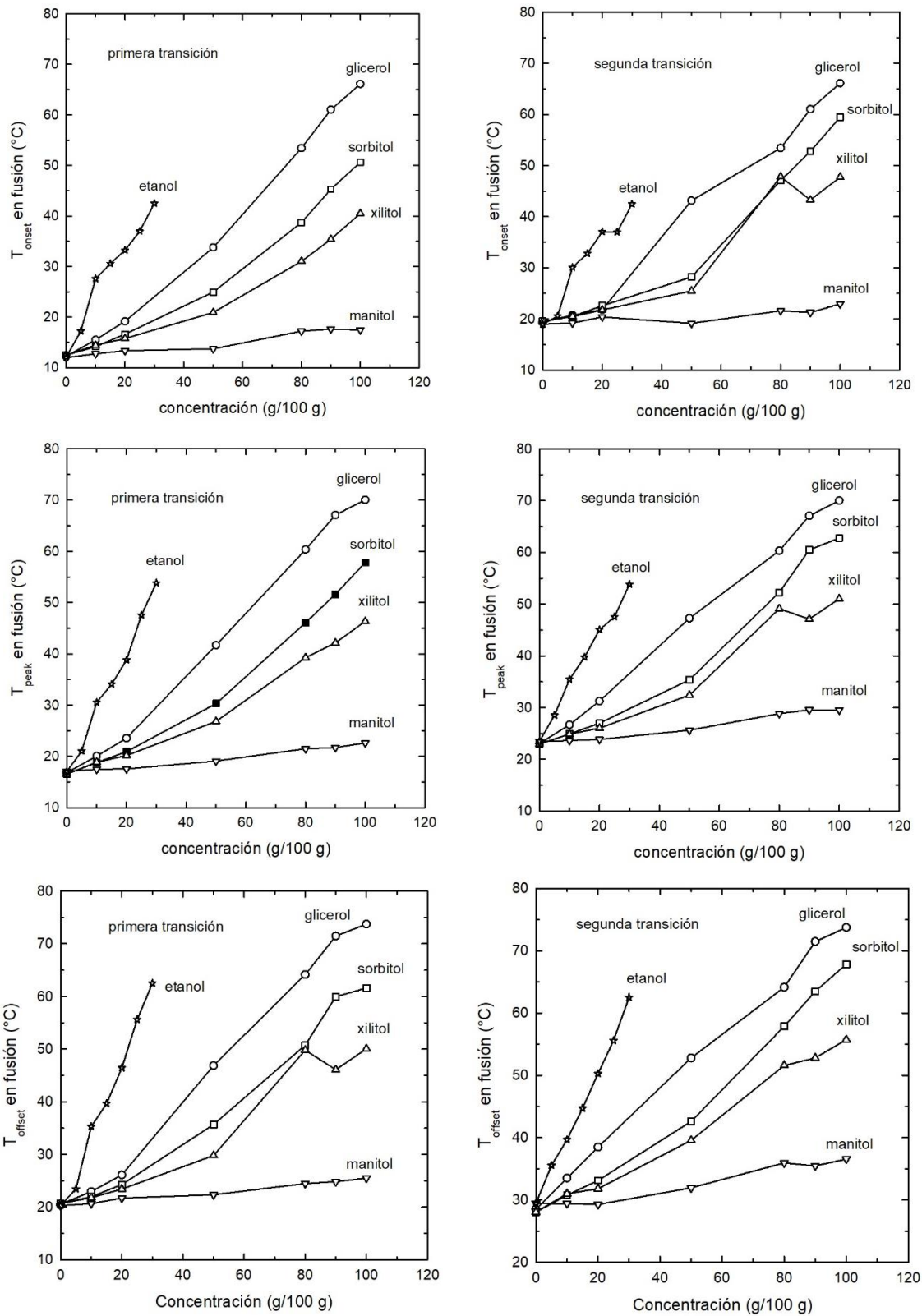


Figura 7. Variación de la temperatura onset (superior), peak (centro) y offset (inferior) en función de la concentración de alcohol durante el calentamiento para la primera (izquierda) y la segunda transiciones (derecha).

Sin embargo, el efecto estabilizador es diferente para cada cosoluto. El más efectivo para estabilizar la estructura del polisacárido es el etanol, aunque por su acción precipitante del polisacárido ya mencionada su proporción máxima es la menor de todos los alcoholes. El sorbitol y el xilitol tienen una acción similar sobre todo en la segunda transición. El manitol es el que menor efecto muestra sobre las temperaturas de transición en el calentamiento. En general, el aumento de las temperaturas de inicio, pico y conclusión con la concentración es razonablemente lineal ($r^2 > 0.94$) para sorbitol y xilitol y más cercano a la linealidad ($r^2 > 0.97$) para el glicerol, el manitol y el etanol, respectivamente.

En la Figura 8 se muestran las temperaturas de inicio, pico y conclusión para los alcoholes en el enfriamiento. Estas temperaturas siguen la misma tendencia que aquellas en el calentamiento, pero corresponden a una única transición exotérmica. Los cosolutos con la proporción más alta mostraron la temperatura de inicio más alta. Por ejemplo, la transición de la carragenina con el glicerol sin agua añadida, proporción 0:100, empezó a 71.2 °C, mostró su máximo a 68.1 °C y concluyó a 63.1 °C. Las temperaturas respectivas para la carragenina sin alcoholes fueron 18.6, 16.3, 10.9 °C. El etanol mostró el mayor efecto seguido del glicerol, el sorbitol, el xilitol y el manitol.

IV.1.2 Variación de las entalpías de transición

Los Cuadros 3 y 4 muestran las entalpías de transición de todos los alcoholes en calentamiento y enfriamiento, respectivamente. En general, los valores absolutos de las entalpías de transición exotérmica son mayores que las de la transición endotérmica para cada una de las dos transiciones. Las entalpías de las mezclas de κ -carragenina con etanol son las más altas de todos los alcoholes. Las altas proporciones de glicerol produjeron las entalpías más bajas en el calentamiento y en el enfriamiento.

La Figura 9 muestra la dependencia de las entalpías de las transiciones endo y exotérmicas con la proporción del alcohol en la matriz acuosa de κ -carragenina. El efecto de cada alcohol es notablemente diferente, aunque la tendencia es similar.

Cuadro 3. Entalpías (J/g) en función de la concentración del alcohol durante el calentamiento.

Calentamiento		Glicerol	Sorbitol	Xilitol	Manitol	Etanol	
[Alcohol] %	Transición	Entalpía	Entalpía	Entalpía	Entalpía	Entalpía	[Etanol] %
0	Primera	0.052	0.059	0.059	0.058	0.057	0
	Segunda	0.072	0.068	0.068	0.091	0.091	
10	Primera	0.045	0.061	0.051	0.061	0.025	5
	Segunda	0.118	0.091	0.096	0.088	0.160	
20	Primera	0.017	0.076	0.064	0.06	0.046	10
	Segunda	0.153	0.090	0.087	0.095	0.083	
50	Primera	0.109	0.094	0.052	0.072	0.046	15
	Segunda	0.083	0.097	0.129	0.137	0.118	
80	Primera	-	0.101	0.189	0.034	0.081	20
	Segunda	0.112	0.076	0.018	0.137	0.149	
90	Primera	-	0.112	0.124	0.038	-	25
	Segunda	0.099	0.057	0.062	0.136	0.241	
100	Primera	-	0.093	0.108	0.042	-	30
	Segunda	0.069	0.046	0.049	0.120	0.269	

Cuadro 4. Entalpías (J/g) en función de la concentración del alcohol durante el enfriamiento.

Enfriamiento		Glicerol	Sorbitol	Xilitol	Manitol	Etanol	
[Alcohol] %	Entalpía	Entalpía	Entalpía	Entalpía	Entalpía	Entalpía	[Etanol] %
0	0.128	0.140	0.138	0.133	0.136	0	
10	0.141	0.141	0.142	0.137	0.169	5	
20	0.140	0.146	0.141	0.143	0.197	10	
50	0.139	0.151	0.145	0.154	0.211	15	
80	0.112	0.141	0.143	0.147	0.233	20	
90	0.095	0.125	0.141	0.143	0.244	25	
100	0.083	0.111	0.131	0.142	0.253	30	

En las transiciones endotérmicas (Fig. 9, superior) se observa un máximo para una proporción A/G, A/S y A/M de 50:50, mientras que para el xilitol el máximo ocurre a la proporción A/X de 20:80. El etanol en el calentamiento muestra un máximo para la proporción A/E de 95:5, un mínimo para A/E de 90:10 y luego un ascenso continuo hasta llegar a la proporción A/E de 70:30. El máximo divide el efecto en dos zonas. En la primera zona, para bajas proporciones de cosoluto, la entalpía aumenta con el aumento de la concentración del alcohol, lo que puede interpretarse como un reforzamiento de la conformación ordenada cuya disociación hacia cadenas aleatorias requiere cada vez mayor energía. De esta forma, en esta primera zona se favorece la estabilidad de las interacciones polisacárido-polisacárido.

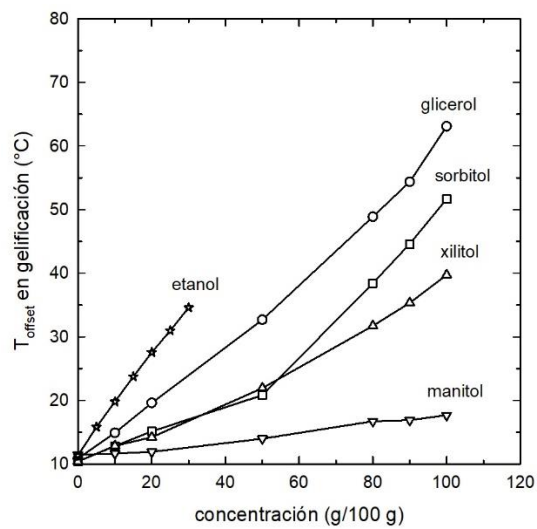
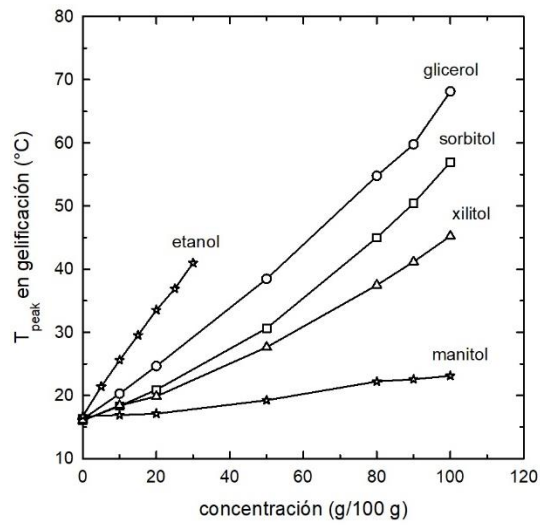
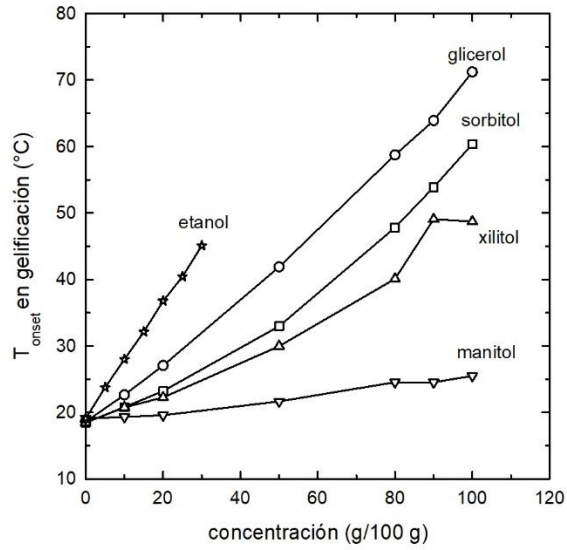


Figura 8. Variación de las temperaturas onset (superior), peak (centro) y offset (inferior) en función de la concentración de alcohol durante el enfriamiento.

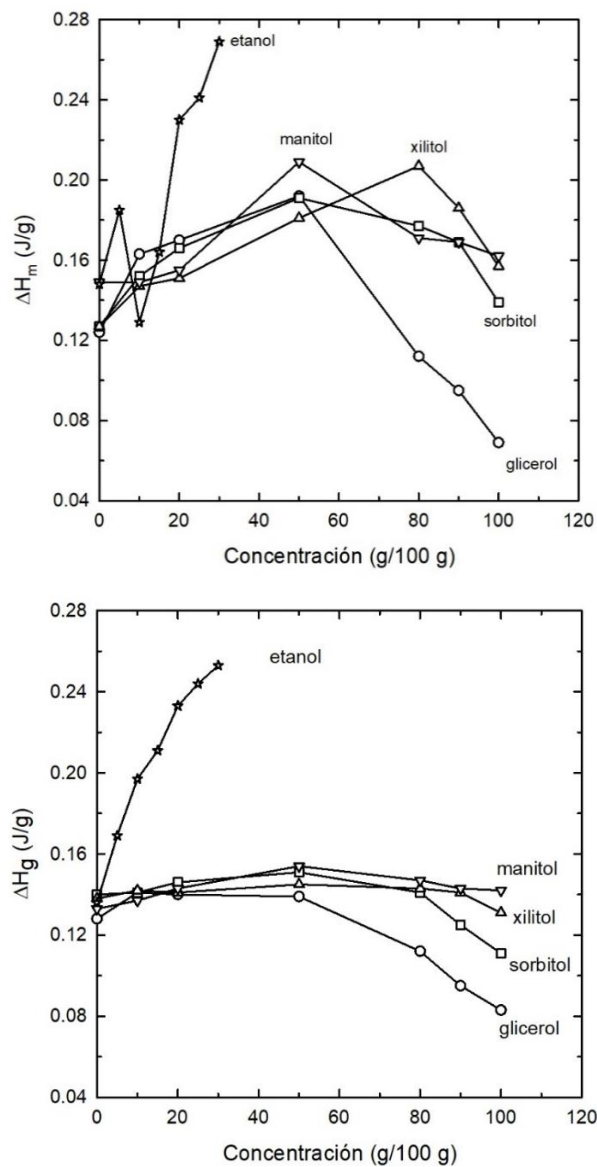


Figura 9. Variación de la entalpía con la concentración de alcohol durante el calentamiento (superior) y el enfriamiento (inferior).

Para proporciones superiores al máximo, ocurre un descenso en la entalpía que indica la disminución de las interacciones entre las cadenas de κ -carragenina que se ve favorecida por la interacción del cosoluto con el agua. Esta condición hace más fácil el paso de la conformación ordenada a la desordenada. De lo contrario, la entalpía tendría que seguir en ascenso debido a que romper interacciones entre polisacárido y polisacárido requeriría una mayor energía.

En el caso de las transiciones exotérmicas se observa el mismo comportamiento, pero el máximo es menos intenso (Fig. 9, inferior). El ligero aumento en la entalpía

sugiere una interacción entre cadenas posiblemente más débil que la requerida para disociarlas en el calentamiento. Más allá del máximo hay una disminución considerable de la entalpía con el aumento de la proporción de alcohol. Este efecto es más notable en el glicerol y después en el sorbitol y el xilitol. Sin embargo, la entalpía de transición exotérmica es prácticamente independiente de la proporción de manitol. La limitación de agua afecta la interacción de las cadenas de carragenina, pero siguen formándose las estructuras helicoidales. La disminución de las entalpías de transición para concentraciones superiores a 50 % de cosoluto (Cuadro 4) confirmaría también este planteamiento.

IV.1.3 Transiciones endotérmicas y exotérmicas del gel de κ -carragenina con contraiones potasio añadidos

La Figura 10 muestra el comportamiento del gel de κ -carragenina 5 mg/g con adición de 20 mmol/dm³ de contraiones potasio libre de alcohol.

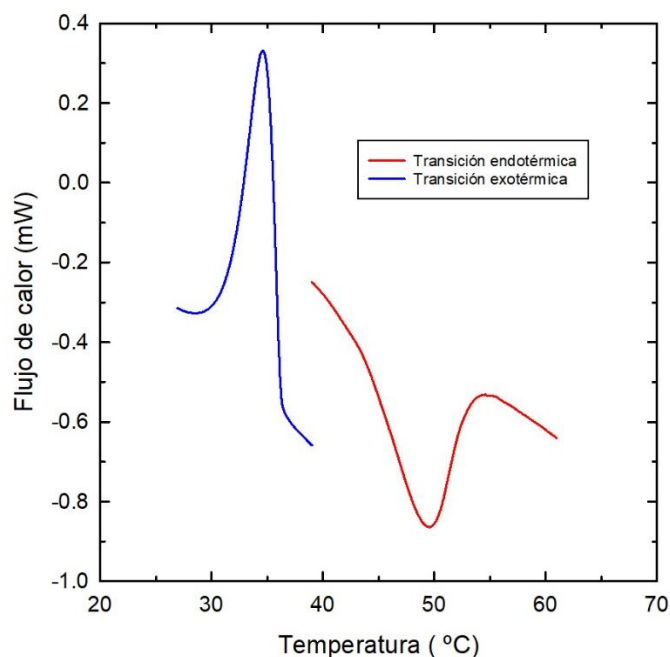


Figura 10. Variación del flujo de calor con la temperatura de un gel de κ -carragenina con contraiones potasio libre de alcohol.

En el calentamiento solo hay una transición endotérmica atribuible a la fusión del gel que implica el cambio conformacional directo de una red tridimensional hasta cadenas aleatorias sin la transición intermedia que corresponde a la disociación de las estructuras helicoidales antes de pasar a las hebras aleatorias, como se observa para las proporciones de alcohol bajas y moderadas. Las temperaturas de transición son mayores que cuando no hay contraiones potasio añadidos. Este comportamiento se debe a que los contraiones estabilizan la estructura ordenada mediante la asociación de las cadenas individuales del polisacárido con un puente iónico en el cual el participa el agua y es del tipo cadena-agua-K⁺-agua-cadena. La disrupción de esta estructura altamente estable requiere mayor energía para aumentar la movilidad de sus componentes y el consecuente cambio, a mayores temperaturas, de la conformación ordenada a la desordenada y viceversa.

IV.2 Propiedades mecánicas

Como ya se mencionó, la estabilidad de los geles formados está en función de la cantidad de cosoluto añadido. Por tal motivo, es importante considerar la resistencia de los geles formados para saber si la red tridimensional es funcional sin necesidad de adicionar iones que actúen como un puente para estabilizar la estructura ordenada del polisacárido. La resistencia a la compresión uniaxial es el esfuerzo de compresión axial máximo que puede tolerar una muestra cilíndrica recta de material antes de fracturarse. Los geles son materiales de comportamiento inusual, son mecánicamente blandos pero frágiles (Czerner et al., 2013).

A pesar de que se observó la formación de geles con todos los alcoholes en distintas proporciones, solo fue posible determinar la fuerza de fractura para los geles de κ -carragenina con las proporciones A/G 20:80 y 10:90, A/S 0:100 y A/E 70:30. Además, se determinó la resistencia del gel de κ -carragenina con iones potasio añadidos, debido a que los otros geles no mantuvieron su forma bajo su peso, es decir, se aplanaron en cierto grado, o se fracturaron después de desmoldarlos por ser demasiado frágiles para manipularlos. Al aplicar la compresión uniaxial se observó la deformación elástica inicial del gel hasta antes de llegar al

punto máximo que corresponde a la fractura del gel. Una vez ocurrida la fractura ya no es posible que el gel recupere su forma original como podría suceder cuando aún no se alcanza el esfuerzo máximo.

La Figura 11 muestra el comportamiento de distintos geles. Las proporciones mayores de glicerol produjeron geles con mayor resistencia a la fractura con una tolerancia a la deformación igual o mayor que la de un gel con contraiones añadidos libre de alcohol. A pesar de que se añadió un exceso de contraiones potasio, el gel de κ -carragenina con estos iones mostró un esfuerzo de fractura dos veces menor que aquellos con glicerol. Esta menor resistencia a la compresión muestra que el reforzamiento de la red con los contraiones K^+ no es comparable con el que ocurre con el alcohol. El Cuadro 5 muestra los valores de resistencia de los diferentes geles.

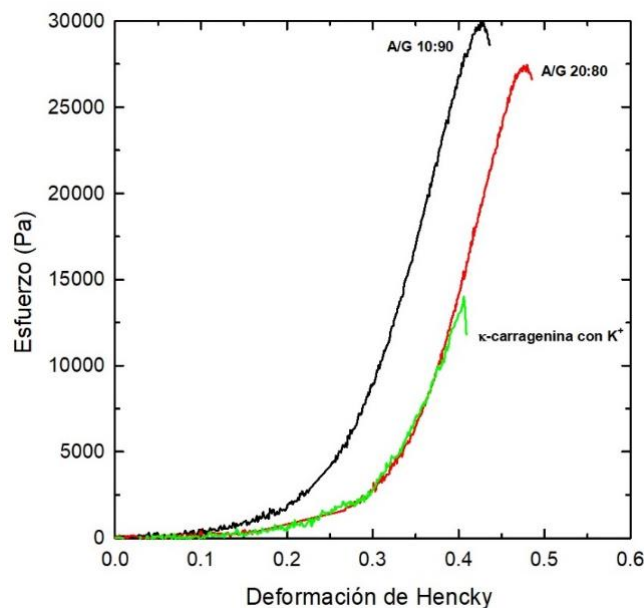


Figura 11. Esfuerzo y deformación de fractura de geles de κ -carragenina con A/G.

Este comportamiento se confirma con los valores mostrados en el Cuadro 5, que corresponden al esfuerzo máximo y a la deformación de fractura. Lo anterior tiene sentido debido a que el esfuerzo es atribuido a la capacidad de reacomodo de las cadenas de proteínas cuando están bajo presión o alguna fuerza externa. Del mismo modo, la adición de polioles causa un incremento en la capacidad de retención de agua y mejora la fuerza de fractura de los geles (Czerner et al., 2013).

Cuadro 5. Esfuerzo verdadero (σ_v), deformación de fractura (ϵ_H) y módulo de Young (E) de geles de κ -carragenina con A/G y de κ -carragenina con contraiones potasio.

Gel de κ -carragenina	σ_v (Pa)	ϵ_H	E (Pa)
con A/G 20:80	28.0 \pm 0.115 ^a	0.432 \pm 0.005 ^a	59.30 \pm 0.634 ^a
con A/G 10:90	30.5 \pm 0.378 ^b	0.472 \pm 0.015 ^b	71.84 \pm 1.444 ^b
con contraiones K ⁺	14.3 \pm 0.115 ^c	0.403 \pm 0.002 ^c	35.55 \pm 0.154 ^c

Diferente letra en la misma columna significa valores significativamente diferentes

Al comparar el gel con contraiones potasio con los que tienen alcohol es posible entender que el potasio solo actúa como un puente iónico que permite la unión de las hélices de κ -carragenina para formar la red tridimensional, mientras que los cosolutos interactúan con el polisacárido y con el agua permitiendo la unión polisacárido-polisacárido y reforzando de esa manera la formación del gel con las uniones cosolvente-polisacárido.

Una vez realizado el análisis de varianza se observó que existe diferencia significativa entre las distintas muestras. Entonces, la cantidad de $-OH$ sí es un factor primordial para la formación de geles mediante las interacciones que tienen con el polisacárido directamente. A mayor concentración de alcohol, mayor cantidad de $-OH$ que pueden relacionarse con la κ -carragenina logrando pasar a la conformación ordenada formando una red tridimensional.

El esfuerzo y la deformación de Hencky dependen de la concentración de alcohol dado que aumentan al aumentar la capacidad de retención de agua. Este comportamiento se observa en el Cuadro 5. La mayor concentración de alcohol produce una mayor resistencia a la compresión, es decir, un mayor esfuerzo de fractura. El esfuerzo es una medida de la resistencia del gel a la compresión axial, es decir, a la deformación, de tal forma que los geles menos resistentes tienen esfuerzos de fractura más pequeños (Escamilla-Loeza, 2006). La estabilidad mecánica de los geles es mayor en presencia del alcohol y es más significativa en el caso del glicerol. Como ya se explicó, este cosoluto forma diferentes estados con el agua y por lo tanto afecta la formación de la red de carragenina. El comportamiento anterior es congruente con el comportamiento elástico, expresado por el módulo de Young, de los geles puesto que un gel que se fractura rápidamente tiene una zona de comportamiento elástico más corta y una menor estabilidad de la

red tridimensional, por ejemplo, con los geles que contienen contraiones potasio agregados y una concentración menor de alcohol.

IV. 3 Actividad de agua

La actividad de agua (a_w) se define como la relación entre la presión de vapor de agua en una disolución y la presión de vapor del agua pura, a la misma temperatura, por tanto, la actividad de agua se usa para caracterizar el estado de equilibrio del agua en una matriz alimenticia que iguala la presión relativa de equilibrio del agua en la atmósfera circundante. Para alcanzar el equilibrio, habrá una transferencia de masa de agua del alimento al entorno o viceversa hasta llegar a dicho equilibrio, donde los valores de a_w deben ser iguales en ambas fases a temperatura y presión constante (Roos, 1995) Con base en este valor se puede predecir la estabilidad y la vida de anaquel de un producto. La a_w refleja la disponibilidad del agua que de alguna manera determina el grado de interacción con los otros componentes. Además, está relacionada con la formulación, el control de los procesos de deshidratación y de rehidratación, la migración de la humedad en el almacenamiento y muchos otros factores (Badui, 2006).

Hasta donde sabemos no existen en la literatura datos sobre el efecto de la actividad de agua sobre la estabilidad térmica de geles de carragenina en presencia de alcoholes. La Figura 12 muestra la variación de la a_w de las disoluciones de κ -carragenina con la proporción de cada uno de los alcoholes. El aumento en la proporción de alcohol reduce la presión de vapor del agua en la disolución y su comportamiento se aleja de la idealidad (datos no mostrados). Sin embargo, la intensidad del efecto es particular para cada cosoluto. La capacidad de depresión de la actividad de agua sigue el orden glicerol > etanol > sorbitol > xilitol > manitol. De hecho, este último tiene una muy baja capacidad de depresión de la actividad de agua.

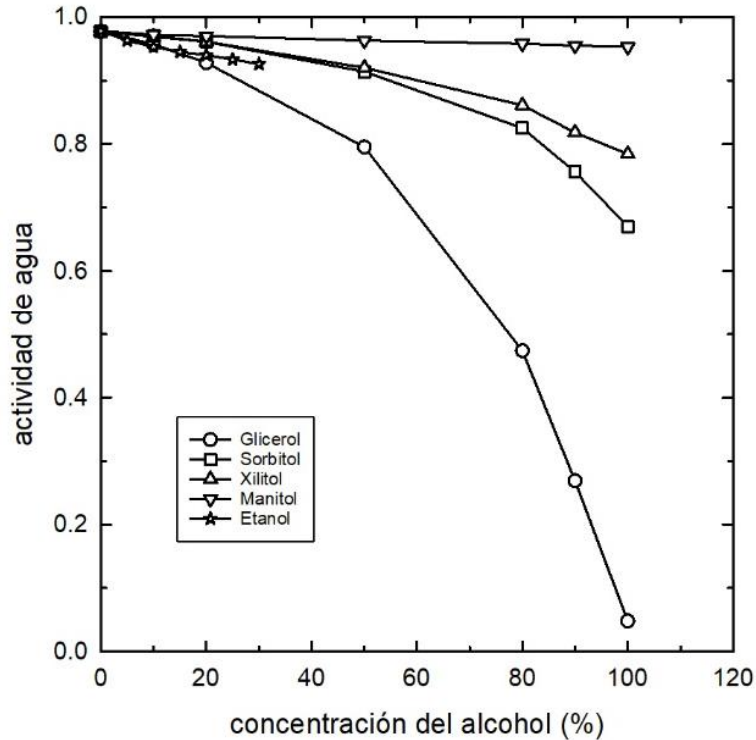


Figura 12. Comportamiento de la actividad del agua con la concentración de alcohol en disoluciones de kappa carragenina con agua y alcohol.

El glicerol tiene un efecto depresivo muy notable. En disolución acuosa las moléculas de glicerol forman puentes de hidrógeno fuertes con las moléculas de agua. Estos puentes son similares a los puentes de hidrógeno entre las moléculas de glicerol puro. En consecuencia, en una disolución acuosa el glicerol existe en un entorno que no es muy diferente de aquel en el glicerol puro hasta donde su movimiento de rotación está involucrado (Charkhest et al., 2019). A baja concentración, cada molécula de glicerol está bien cubierta por una capa de hidratación que está separada de otras capas de hidratación. Cuando aumenta la concentración de glicerol más allá de una concentración umbral, las moléculas de glicerol tienden a formar clusters o redes y las capas de hidratación comienzan a superponerse. De esta forma en las disoluciones agua-glicerol hay agua que no interacciona con el glicerol, agua que forma puentes de hidrógeno con el glicerol y agua que está confinada en los clusters o redes de glicerol. Se entiende por red, cualquier agregado de dos o más moléculas de este cosoluto. La presencia de estos estados depende de la concentración de glicerol.

La presencia de glicerol reduce la concentración de agua en la mezcla. La molécula de glicerol tiene tres grupos -OH que pueden formar idealmente seis puentes de hidrógeno con moléculas de agua circunvecinas para formar una capa de hidratación. Cuando la concentración de glicerol aumenta, la cantidad de agua en la capa de hidratación también aumenta. La cantidad promedio de moléculas de agua en la capa de hidratación depende de la concentración de glicerol. La fuerza de los puentes de hidrógeno entre el glicerol y el agua es mayor que aquella entre dos moléculas de agua.

El número promedio de moléculas de agua unidas a una molécula de glicerol es aproximadamente constante siempre que las capas de hidratación de diferentes moléculas de glicerol no se empalmen. Cuando la concentración de glicerol aumenta más allá de un cierto valor, las capas de hidratación comienzan a empalmarse y las moléculas de glicerol se agregan para formar clusters o redes que resultan en una disminución en el número de hidratación. Esta concentración umbral es igual a una fracción mol de glicerol de 0.0756 la cual corresponde a una proporción masa A/G de aproximadamente 70:30. Por debajo de esta concentración de glicerol el agua no está confinada en redes. Más allá de esta concentración el agua queda confinada en redes que se empalman. Sin embargo, en mezclas ricas en glicerol el número de hidratación disminuye considerablemente porque la concentración de agua es muy baja. Por ejemplo, el número de hidratación umbral es 5.57, muy cercano a 6 que es el ideal, mientras que para una fracción mol de glicerol de 0.5 que corresponde a una proporción masa A/G de aproximadamente 16:84, el número de hidratación es de 0.97. Bajo esta condición en la mezcla predominan las moléculas de glicerol prácticamente libres de agua (Charkhest et al., 2019).

La presencia de grupos hidroxilo en el sorbitol permite la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares y puentes de hidrógeno con otras moléculas de sorbitol o con el disolvente agua. Los grupos hidroxilo en la posición C2 y C4 de la molécula de sorbitol forman significativamente más puentes de hidrógeno intramoleculares que el resto. Este fenómeno ocurre porque el puente de hidrógeno entre los hidroxilos de esas dos posiciones es el predominante. Los puentes de

hidrógeno entre las posiciones C1 y C3, C5 y C6 también son probables, pero su frecuencia es significativamente menor; i.e., tres a cinco veces con respecto a C2 y C4, respectivamente. El número de puentes de hidrógeno intermoleculares, es decir, con otras moléculas de sorbitol es apenas 1.16 veces mayor que el intramolecular y ninguno de los dos alcanza en promedio 1.5 puentes de hidrógeno. Estos enlaces intra e intermoleculares sirven para estabilizar la conformación extendida del sorbitol en medio acuoso y para controlar los ángulos de rotación que la molécula puede adoptar. Por el contrario, el número de puentes de hidrógeno que la molécula de sorbitol puede formar con la molécula de agua es en promedio 10.7, muy cercano al ideal que es 12. La mayor proporción de puentes de hidrógeno con el agua se forma mediante los hidroxilos en las posiciones C1 y C6, seguidos de C3 y C5 y C2, C4. De esta forma los hidroxilos extremos interaccionan con los hidroxilos del agua y los hidroxilos intermedios estabilizan la molécula de sorbitol y también interaccionan con el agua, aunque en menor grado. Estos resultados corresponden a una concentración 3 molal de sorbitol en agua, que equivale a una proporción A/S de aproximadamente 65:35 (Lerbret et al., 2009).

Todos los polioles tienden a actuar de manera similar en disoluciones acuosas. El número total de enlaces que el agua puede formar en la disolución no es muy diferente al comparar agua pura y disoluciones que contienen polioles y es insensible a los rasgos moleculares de estos cosolutos. Esta propiedad especial se debe a que los polioles pueden formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua circundantes, de modo que los puentes de hidrógeno que no se forman con el agua son en gran medida reemplazados por puentes formados entre ellos (Politi et al., 2009). Por ejemplo, el número promedio estimado de moléculas de agua en la primera capa de hidratación representativo de la interacción con el átomo de oxígeno del grupo -OH es 3.02, 2.52 y 2.41, para el glicerol, xilitol y sorbitol, respectivamente. Asimismo, el número promedio estimado de puentes de hidrógeno que el agua puede formar con un grupo -OH representativo del polirol es 1.79, 1.30 y 1.22 para el glicerol, xilitol y sorbitol, respectivamente. Los puentes de hidrógeno intra-poliol son 0.43 (glicerol), 0.66 (xilitol) y 1.38 (sorbitol), mientras que los inter-poliol son 0.42 (glicerol), 0.94 (xilitol) y 1.11 (sorbitol) (Politi et al., 2009).

Por otro lado, se han reportado números de hidratación del etanol desde 2.16 hasta 8.4 dependiendo del método de determinación. Estas cifras consideran el número de moléculas de agua ubicadas a una distancia que se define arbitrariamente. De manera más precisa es el número promedio de moléculas de agua que se ven afectadas por las interacciones entre el soluto y el disolvente y que causan un efecto observable sobre una propiedad física de la disolución (Burakowski & Glinski, 2012).

Por su parte, en un gel de κ -carragenina existen tres tipos diferentes de moléculas de agua: 1) Moléculas de agua libres en el seno de la disolución, 2) Moléculas de agua fuertemente unidas a la κ -carragenina en estado sol, y 3) Moléculas de agua unidas débilmente a la red de gel de κ -carragenina (Hikichi, 1993). Harding et al. (1997) han reportado una hidratación de 50 g de agua por 1 g de κ -carragenina polvo que corresponde a una expansión molecular de más de cien veces. Este valor corresponde a un polisacárido de masa molar $300\,000 \pm 40\,000$, disuelto en un buffer fosfato de sodio/cloruro de sodio (pH 6.5, $I = 0.10$ mol/L) en una concentración de 2 mg/mL.

La Figura 13 muestra el cambio en la a_w en un sistema modelo con diferentes proporciones de distintos polioles. La capacidad de reducción de la a_w del glicerol y el sorbitol coinciden con los resultados del presente trabajo.

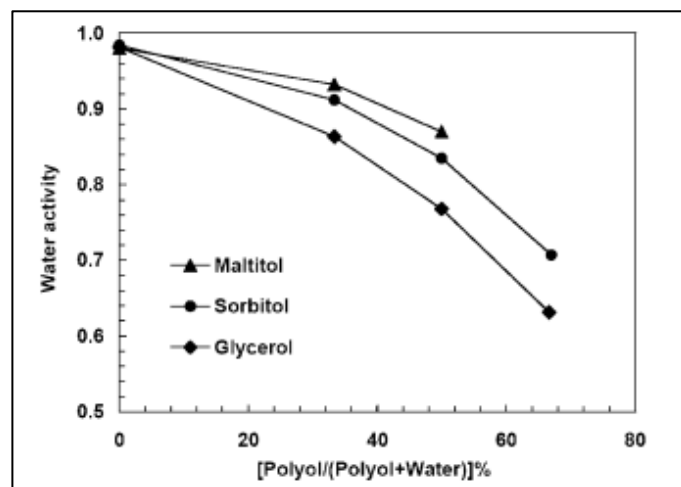


Figura 13. Actividad de agua en un modelo de sistemas de alimentos de humedad intermedia (Liu et al., 2009).

La actividad de agua disminuye más en presencia de alcoholes con baja masa molar que con alcoholes con alta masa molar. Es decir, depende del número y de la posición del grupo funcional puesto que las interacciones presentes se ven afectadas por estos factores. En disoluciones acuosas con la misma fracción de agua/alcohol, influye mucho el poliol utilizado, como es el caso de esta investigación, puesto que, todos tienen una estructura distinta y diferente cantidad de grupos funcionales (-OH). Esta tendencia es consecuencia del crecimiento de la masa molar y el incremento de la hidrofobicidad de las largas cadenas de los cosolutos, siendo este el factor dominante para que la actividad de agua se vea afectada (Marcolli & Peter, 2005).

La Figura 14 muestra el efecto de la actividad de agua sobre las entalpías de fusión de los geles de κ -carragenina y la gelificación de las disoluciones del porlisacárido. La relación entre las variables es clara. Excepto en el caso de la entalpía de gelificación de las disoluciones con etanol, todos los alcoholes mostraron un máximo para ambas entalpías. El glicerol mostró una entalpía máxima de fusión para $a_w = 0.8$ y una entalpía máxima de gelificación para $a_w = 0.95$ (Fig. 14, superior). Esta diferencia indica la presencia de un fenómeno de histéresis que sugiere una interacción diferente en el estado sol y en el gel. La baja entalpía de fusión para baja a_w indica que la estabilidad de la conformación ordenada es menor, es decir, se requiere menos energía para desestabilizarla debido a que la cantidad de agua disponible para interactuar con el polisacárido es muy baja. Entonces, la conformación ordenada está estabilizada por los puentes de hidrógeno inter e intracadenas poliméricas mientras que la poca agua disponible contribuye en menor grado a dicha estabilización. Como ya se discutió, la hidratación del glicerol es muy baja y el alcohol interactúa prácticamente con él mismo. El fenómeno es similar en el caso de la entalpía de gelificación, pero esta es menor que la de fusión lo que confirma que el fenómeno de desestabilización de la conformación ordenada al calentar no es igual que la estabilización de la conformación al enfriar. Esto sugiere la presencia de una organización diferente posiblemente a nivel de la agregación de las estructura helicoidales del polisacárido. Conforme aumenta la a_w , las entalpías aumentan lo que indica que una mayor disponibilidad de agua resulta en una mayor

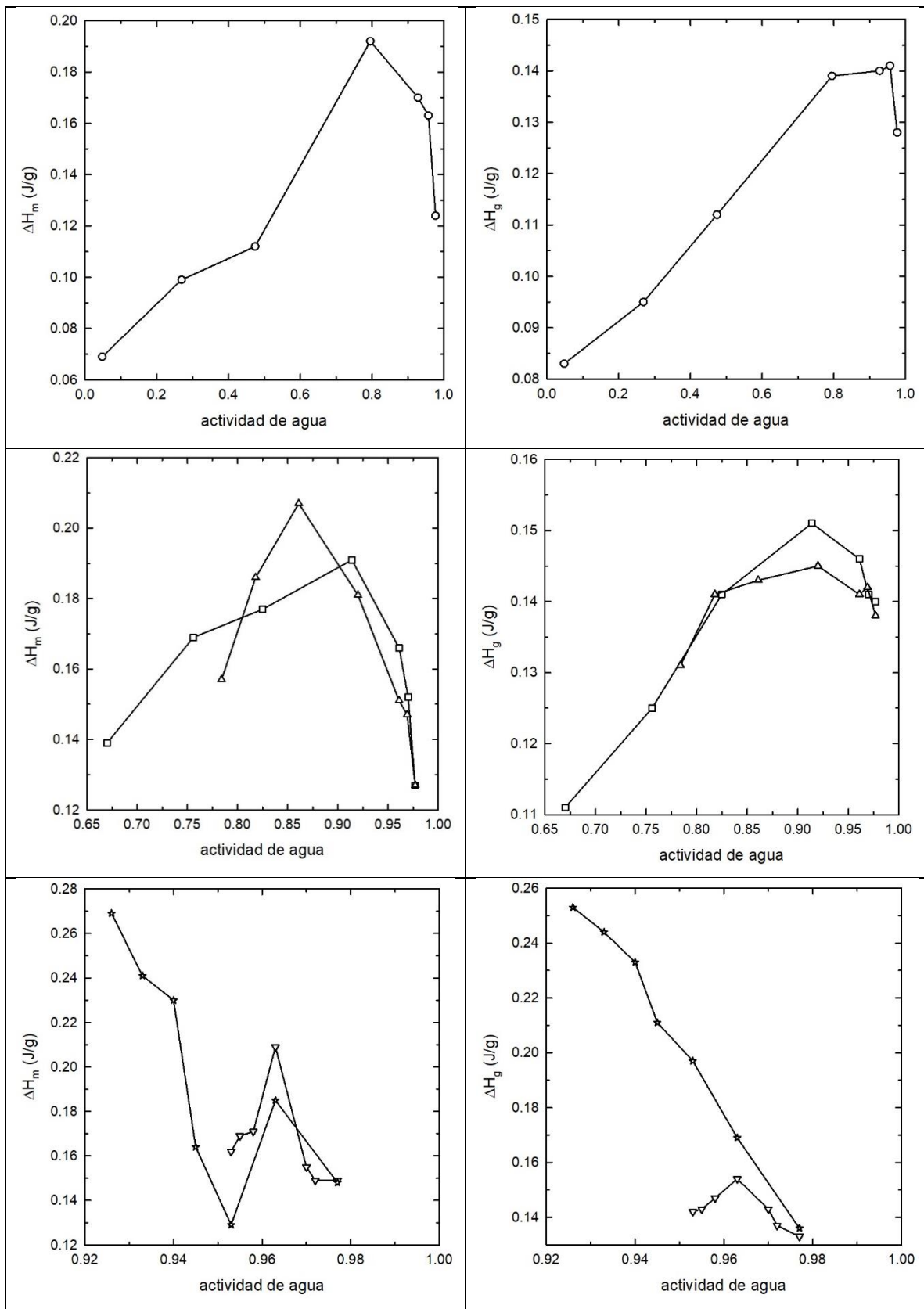


Figura 14. Variación de las entalpías de fusión (derecha) y gelificación (izquierda) con la a_w para glicerol (superior), sorbitol y xilitol (centro) y manitol y etanol (inferior).

estabilidad térmica presumiblemente por una mayor disponibilidad de agua para interactuar con los solutos. Más allá del máximo de a_w , las entalpías vuelven a disminuir por un efecto de hidratación del cosoluto que dejaría menos agua disponible para el polisacárido. Este efecto es más intenso en la fusión que en la gelificación.

El comportamiento del sorbitol y el xilitol es similar (Fig. 14, centro), pero ocurre sobre un intervalo de a_w notablemente menor que para el glicerol. Aquí también se observa el fenómeno de histéresis en a_w entre la fusión y la gelificación y entre las entalpías de fusión y gelificación. Estos dos alcoholes reducen la actividad de agua en menor proporción que el glicerol (Fig. 12), lo que implicaría una mayor tendencia a la interacción intra e intermolecular con la κ -carragenina. Más allá del máximo de entalpía de fusión que ocurre para $a_w = 0.92$ (sorbitol) y $a_w = 0.86$ (xilitol) la caída de esta entalpía es notablemente mayor que para el glicerol, lo que indica una mayor interacción de estos alcoholes con el agua que limitaría la interacción de este disolvente con el polisacárido. El resultado es la formación de conformaciones ordenadas menos estables que requieren menos energía para disociarlas. El comportamiento en gelificación es muy similar para el sorbitol y el xilitol. El máximo es el mismo para ambos, $a_w = 0.92$, y la caída en la entalpía de gelificación más allá de este valor es menos intensa que en el caso de la fusión.

El efecto del manitol sobre ambas entalpías se observa en la Fig. 14 (inferior). El intervalo de a_w es el más estrecho de los alcoholes estudiados y la depresión de a_w causada por este cosoluto es muy baja (Fig. 12). No obstante, también se observa un máximo para la entalpía de fusión y gelificación ($a_w = 0.963$). Igualmente, la variación de las entalpías con a_w es menos intensa que para los otros alcoholes. Este comportamiento sugiere que hay una mayor interacción del manitol con él mismo y en menor grado con el polisacárido que con el agua.

El etanol es un caso diferente (Fig. 14, inferior). Una actividad de agua más baja (0.925) resulta en una entalpía de fusión más alta. Esto implica una conformación ordenada más estable y por lo tanto con una mayor demanda de energía para disociarla. Esto sugiere una fuerte interacción, vía puentes de hidrógeno, del etanol con el agua que obliga al polisacárido a asociarse. Al aumentar a_w , es decir, al

reducir la proporción de alcohol, la entalpía disminuye notablemente porque se favorece la hidratación del polisacárido. El posterior aumento y disminución de esta entalpía más allá de $a_w = 0.95$ es inesperado y requiere mayor estudio para verificar o confirmar este comportamiento. El comportamiento en gelificación del etanol no muestra un máximo. La entalpía de gelificación disminuye considerablemente al aumentar la actividad de agua lo que sugiere la presencia de distintas formas de asociación de las estructuras helicoidales al enfriar las disoluciones. Estas formas de agregación estarían afectadas por la presencia del alcohol.

Conclusiones

La κ -carragenina muestra un comportamiento distinto en presencia de distintos alcoholes. Conforme aumenta la proporción de un alcohol existe cierta interferencia que afecta la asociación entre las estructuras helicoidales y, además, causa una menor solubilidad del polisacárido pues los alcoholes interaccionan con el agua presente del medio, lo que hace que el agua presente no esté completamente disponible para la interacción con la κ -carragenina y así se pueda dar paso a la agregación de las estructuras helicoidales.

Después de analizar las hipótesis planteadas se observó que, sí hay interacción entre el agua y el polisacárido, pero, a medida que se aumenta la concentración de cosolvente, estas interacciones disminuyen puesto que, el cosolvente interacciona con el polisacárido lo que también explica el cambio de estado desordenado al estado ordenado llegando, en algunos casos, a la formación de la red tridimensional.

Los ensayos por compresión permitieron estudiar el comportamiento mecánico y las propiedades de fractura de geles con A/G en distintas proporciones y con iones potasio. Experimentalmente, se observó que la adición de un alcohol modifica las propiedades mecánicas del gel.

Los geles con A/G son rígidos, aumentan su esfuerzo de fractura al aumentar la concentración del alcohol asumiendo que es por la agregación de las estructuras helicoidales de la κ -carragenina y la interferencia del glicerol, además de la red bien definida en presencia de iones.

La medición de actividad de agua confirmó que la presencia de alcoholes influye para que la interacción agua-polisacárido se vea afectada, pues a medida que aumenta la concentración de alcohol, disminuyen las interacciones polisacárido-agua y aumentan las interacciones agua-cosolvente-polisacárido por lo que es fundamental la cantidad de $-OH$ que aporta cada polioliol. La actividad de agua disminuye notoriamente frente a un polioliol más pequeño.

Referencias

- Badui, S. (2006). Propiedades y uso de la carragenina. *Tecnología de Alimentos* 22, 16, 18-27.
- Stanley, N. F. (1990). Carrageenans. *Food Gels*. Harris, P. (ed) 79-114. Elsevier Applied Science, London.
- Burakowski, A., & Glinski, J. (2012). Hydration numbers of nonelectrolytes from acoustic methods. *Chemical Reviews* 112, 2059-2081.
- Charkhest, A., Lou, D., Sindle, B., Wen, C., Cheng, S., & Vinh, N.Q. (2019). Insights into hydration dynamics and cooperative interactions in glycerol-water mixtures by terahertz dielectric spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry B*, 123, 8791-8799. DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b07021
- Czerner, M., Martucci, J., Fasce, L.A., Ruseckaite, R. & Frontini, P.M. (2013). Mechanical and fracture behavior of gelatin gels. *International Conference on Fracture*, 13, 16-21.
- Escamilla Loeza, G. (2006). *Propiedades mecánicas y estructura de geles de gelatina y almidón de maíz ceroso no modificado*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química, UNAM.
- FAO, 2003. *Carrageenan*. [En línea] (Actualizado al 2013). Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/y4765e/y4765e0a.htm#bm10.3> [Último acceso el 20 de septiembre de 2018].
- Fennema, O., Parkin, K. & Damodaran, S. (2015). *Química de Alimentos*. ACRIBIA. España. 41-42, 719.
- Gekko, K., Mugishima, H. & Koga, S. (1986). Effects of sugars and polyols on the sol-gel transition of κ -carrageenan: calorimetric study. *International Journal of Biological Macromolecules* 9, 146-152.
- Gill, P., Moghadam, T. T. & Ranjbar, B. (2010). Differential scanning calorimetry techniques: Applications in biology and nanoscience. *Journal of Biomolecular Techniques* 21, 167-193.
- Glicksman, M. (1982). *Food Hydrocolloids*. CRC Press, New York.

- Harding, S.E., Day, K., Dhami, R., & Lowe, P.M. (1997). Further observations on the size, shape and hydration of kappa-carrageenan in dilute solution. *Carbohydrate Polymers* 32, 81-87.
- Hikichi, K. (1993). Sol-gel transition of κ -carrageenan as viewed through NMR. *Polymer Gels and Networks* 1, 19-31.
- Lerbret, A., Mason, P.E., Venable, R.M., Cesaro, A. Saboungi, M.-L., Pastor, R.W., & Brady, J.W. (2009). Molecular dynamic studies of the conformation of sorbitol. *Carbohydrate Research* 344, 2229-2235. DOI: 10.1016/j.carres.2009.08.003
- Liu, X., Zhou, P., Tran, A. & Labuza, T.P. (2009) Effects of polyols on the stability of whey proteins in intermediate-moisture food model systems. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 57, 2339-2345.
- Marculli, C. & Peter, Th. (2005). Water activity in polyol/water systems new UNIFAC parameterization. *Atmospheric Chemistry and Physics* 5, 1545-1555.
- Necas, J., Bartosikova, L. (2013). Carrageenan: a review. *Veterinarni Medicina* 58, 187-205.
- Nishinari, K., & Watase, M. (1992). Effects of sugars and polyols on the gel-sol transition of kappa carrageenan gels. *Thermochemica Acta* 206, 149-162.
- Núñez-Santiago, M.C. & Tecante, A. (2007). Rheological and calorimetric study of the sol-gel transition of κ -carrageenan. *Carbohydrate Polymers* 69, 763-773.
- Núñez-Santiago, M.C., Tecante, A., Garnier, C. & Doublier, J.L. (2011). Rheology and microstructure of κ -carrageenan under different conformations induced by several concentrations of potassium ion. *Food Hydrocolloids* 25, 32-41.
- Ortiz-Tafoya, M.C., & Tecante, A. (2018). Physicochemical characterization of sodium stearoyl lactylate (SSL), polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20) and κ -carrageenan. *Data in Brief* 19, 642-650.
- Politi, R., Sapir, L., & Harries, D. (2009). The impact of polyols on water structure in solution: A computational study. *Journal of Physical Chemistry A* 113, 7548-7555.
- Ramakrishnan, S. & Prud'homme, R.K. (2000). Behavior of κ -carrageenan in glycerol and sorbitol solutions. *Carbohydrate Polymers* 43, 327-332.
- Snoeren, T. & Payens, T. (1976). On the sol-gel transition in solutions of kappa-carrageenan. *Biochimica et Biophysica Acta* 437, 264-272.

- Stenner, R., Matubayasi, N. & Shimiza, S. (2016). Gelation of carrageenan: Effects of sugars and polyols. *Food Hydrocolloids* 54, 284-292.
- Ur-Rehman, S., Mushtaq, Z., Zahoor, T., Jamil, A. & Murtaza, M. (2015). Xylitol: A review on bioproduction, application health benefits, and related safety issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 55 (11), 1514-1528.
- Yang, Z., Yang, H. & Yang, H. (2018). Characterisation of rheology and microstructures of κ -carrageenan in ethanol-water mixtures. *Food Research International* 107, 738-746.
- Yuguchi, Y., Thuy, T., Urakawa, H. & Kajiwara, K. (2002). Structural characteristics of carrageenan gels: temperature and concentration dependence. *Food Hydrocolloids* 16, 515-522.

Anexos

Análisis estadístico de las pruebas de compresión uniaxial aplicada a geles de kappa carragenina con Agua/Glicerol

- Se realizó un análisis de varianza al determinar el Esfuerzo, la Deformación de fractura y el Módulo de Young:

Esfuerzo

kappa carragenina con A/G 10:90 [σv (Pa)]	kappa carragenina con A/G 20:80 [σv (Pa)]	kappa carragenina con iones K+ [σv (Pa)]
30.7	28.1	14.4
30.1	27.9	14.4
30.8	27.9	14.2

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
kappa carragenina con A/G 10:90	3	91.6	30.53333333	0.14333333
kappa carragenina con A/G 20:80	3	83.9	27.96666667	0.01333333
kappa carragenina con iones K+	3	43	14.33333333	0.01333333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	454.8955556	2	227.4477778	4013.78431	4.16609E-10	5.14325285
Dentro de los grupos	0.34	6	0.056666667			
Total	455.2355556	8				

**Por lo tanto
H1**

Deformación de fractura

kappa carragenina con A/G 10:90 [εH]	kappa carragenina con A/G 20:80 [εH]	kappa carragenina con iones K+ [εH]
0.4246	0.4749	0.4036
0.4483	0.4749	0.4047
0.4215	0.465	0.4014

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
kappa carragenina con A/G 10:90	3	1.2944	0.431466667	0.00021492
kappa carragenina con A/G 20:80	3	1.4148	0.4716	3.267E-05
kappa carragenina con iones K+	3	1.2097	0.403233333	2.8233E-06

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.007081807	2	0.003540903	42.4201398	0.00028815	5.14325285
Dentro de los grupos	0.000500833	6	8.34722E-05			
Total	0.00758264	8				Por lo tanto H1

Módulo de Young

kappa carragenina con A/G 10:90 [E (Pa)]	kappa carragenina con A/G 20:80 [E (Pa)]	kappa carragenina con iones K+ [E (Pa)]
72.3	59.2	35.7
67.1	58.7	35.6
73.1	60	35.4

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
kappa carragenina con A/G 10:90	3	212.5	70.83333333	10.61333333
kappa carragenina con A/G 20:80	3	177.9	59.3	0.43
kappa carragenina con iones K+	3	106.7	35.56666667	0.02333333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1940.026667	2	970.0133333	262.955422	1.43528E-06	5.14325285
Dentro de los grupos	22.13333333	6	3.688888889			
Total	1962.16	8				

**Por lo tanto
H1**

Cálculo de cantidad requerida de K⁺ para los geles de kappa carragenina con iones

Para calcular la cantidad estequiométricamente requerida de K⁺ se considera el masa molar de la unidad repetitiva de kappa carragenina sola y el correspondiente con potasio.

Masa molar κ-carragenina sola= 385 g/mol

Masa molar κ-carragenina con K⁺ = 424.1 g/mol

La cantidad de iones K⁺ es

$$\left(\frac{39.102 \text{ g } K^+}{424.1 \text{ g } kcarrK^+}\right) \left(\frac{1 \text{ mol } K^+}{39.102 \text{ g } K^+}\right) \left(\frac{2.358 \text{ mmol } K^+}{1 \text{ mol } K^+}\right) = 2.358 \frac{\text{mmol } K^+}{\text{g } kcarrK^+}$$

Suponiendo que se prepararon 15 g de disolución de kappa carragenina al 0.5% la cantidad de iones potasio es la siguiente:

$$15 \text{ g disolución} \times \frac{0.5795 \text{ g } kcarr}{100 \text{ g disolución}} \times \frac{2.358 \text{ mmol } K^+}{\text{g } kcarrK^+} = 0.2050 \text{ mmol } K^+$$

Entonces

$$0.2050 \text{ mmol } K^+ \times \frac{1 \text{ mol } K^+}{10^3 \text{ mmol } K^+} \times \frac{39.102 \text{ g } K^+}{1 \text{ mol } K^+} \times \frac{74.55 \text{ g } KCl}{39.102 \text{ g } K^+} = 0.0153 \text{ g } KCl$$