

10561



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

PROPIEDADES REOLOGICAS DE EMULSIONES
CONCENTRADAS ACEITE - AGUA ESTABILIZADAS
CON UNA MEZCLA PROTEINA - POLISACARIDO
ANIONICO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS
FISICOQUIMICA (METODOS Y METROLOGIA)

PRESENTA:

I. A. JULIETA GONZALEZ SANCHEZ

TUTORA: DRA. LAURA PATRICIA MARTINEZ PADILLA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO,

2003

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de estudios de Maestría.

A mi tutora Dra. Laura Patricia Martínez Padilla gracias por su paciencia, dedicación y comprensión a lo largo de todo este tiempo, por confiar en mí y apoyarme en todo momento, y sobre todo, por su amistad.

A mis sinodales Dr. Alberto Tecante Coronel, Dr. Juan Alfredo Salazar Montoya, Dr. Rafael Herrera Najera, Dr. Eligio Pastor Rivero Martínez y la Dra. Laura Patricia Martínez Padilla a todos gracias por el tiempo dedicado en la revisión de mi tesis, por sus acertados comentarios y correcciones para mejorar el trabajo.

A mi familia: Carlos, Julieta y Erika.

INDICE GENERAL

	Página
INDICE GENERAL	i
Indice de cuadros	iv
Indice de figuras	v
Nomenclatura	viii
RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
OBJETIVOS	10
1. MARCO TEORICO	11
1.1. Coloides	11
1.1.1. Estabilidad Coloidal	11
1.2. Emulsiones	13
1.2.1. Clasificación de emulsiones	13
1.2.2. Agentes emulsificantes y estabilizantes	14
1.2.2.1. Estabilizantes (proteínas)	16
1.2.3. Conformación de emulsificantes en una interfase	19
1.3. Interacciones biopoliméricas	19
1.3.1. Interacciones hidrofóbicas	20
1.3.2. Interacciones covalentes	20
1.3.3. Interacciones van der Waals	21
1.3.4. Interacciones estéricas	22
1.3.5. Interacciones electrostáticas	23
1.4. Interacciones proteína-polisacárido en un medio acuoso	26
1.4.1. Complejo interfacial proteína-polisacárido	29
1.5. Aplicación industrial de complejos proteína-polisacárido	30
1.6. Propiedades fisicoquímicas de emulsiones	30
1.6.1. Tensión superficial	31
1.6.2. Tensión interfacial	32
1.6.3. pH	32
1.6.4. Tamaño de partícula	33

1.6.5. Fracción volumen de la fase dispersa	34
1.6.6. Conductividad eléctrica	34
1.6.7. Carga eléctrica de las gotas	35
1.6.8. Potencial zeta	35
1.7. Estabilidad de las emulsiones	37
1.8. Factores que afectan las propiedades reológicas de emulsiones	38
1.8.1. Propiedades de la fase dispersa	39
1.8.2. Propiedades de la fase continua	40
1.8.3. Efectos electroviscosos	40
1.8.4. Agente emulsificante	41
2. MATERIALES Y METODOS	42
2.1. Materiales	42
2.1.1 Preparación de las emulsiones	42
2.1.2 Diagrama experimental	43
2.2. Tensión interfacial	44
2.3. pH	45
2.4. Tamaño de partícula	45
2.5. Fracción volumen de la fase dispersa	46
2.6. Conductividad eléctrica	46
2.7. Potencial zeta	46
2.8. Determinaciones reológicas	46
3. RESULTADOS	49
3.1. Propiedades fisicoquímicas de dispersiones y emulsiones concentradas	49
3.1.1. Tensión interfacial	49
3.1.2. pH	50
3.1.3. Tamaño de partícula	50
3.1.4. Fracción volumen de la fase dispersa	65
3.1.5. Conductividad eléctrica	66
3.1.6. Potencial zeta	68

3.2. Propiedades reológicas en cizalla estacionaria de disoluciones de polisacáridos aniónicos	68
3.3. Propiedades reológicas en cizalla estacionaria de disoluciones de mezclas de polisacárido aniónico - proteína	74
3.4. Propiedades reológicas en cizalla estacionaria de emulsiones concentradas elaboradas con la mezcla polisacárido aniónico – proteína	81
3.5. Propiedades viscoelásticas en cizalla oscilatoria de emulsiones concentradas.	86
4. DISCUSION	92
5. CONCLUSIONES	98
REFERENCIAS	101

INDICE DE CUADROS

Cuadros	Página
1.1 Ejemplos de sistemas coloidales.	11
1.2 Emulsiones alimenticias típicas.	14
1.3 Características y uso de polisacáridos aniónicos.	18
1.4 Aplicación de complejos proteína-polisacárido para uso en la industria de alimentos.	31
1.5 Apariencia de una emulsión de acuerdo con el tamaño de partícula	34
2.1 Mezclas de las proteínas – polisacárido aniónico.	44
3.1 Propiedades fisicoquímicas de disoluciones proteína-polisacárido.	51
3.2 Tensión superficial de las proteínas albúmina y caseinato de sodio a diferentes concentraciones.	51
3.3 Diámetro de partícula en emulsiones estabilizadas con una mezcla proteína-polisacárido aniónico.	65
3.4 Conductividad eléctrica de emulsiones concentradas aceite-agua	67
3.5 Potencial zeta de emulsiones aceite - agua estabilizadas con una mezcla proteína-polisacárido aniónico.	71
3.6 Parámetros reológicos de la Ley de la Potencia y viscosidad de disoluciones de polisacáridos aniónicos al 0.3 y 0.5%.	73
3.7 Parámetros reológicos de la Ley de la Potencia y viscosidad de disoluciones proteína-polisacárido aniónico.	80
3.8 Parámetros reológicos de la Ley de la Potencia de emulsiones aceite-agua con la mezcla proteína-polisacárido aniónico.	86

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1.1 Estabilización de emulsiones por partículas sólidas.	17
1.2 Orientación de emulsificantes poliméricos en una interfase.	19
1.3 Atracción de van der Waals entre átomos.	21
1.4 Fuerzas repulsivas electrostáticas y estéricas.	24
1.5 Interacciones entre iones y en una atmósfera iónica.	25
1.6 Mecanismos físicos de estabilidad en una emulsión.	38
3.1 Distribución del tamaño de partícula de las emulsiones a una concentración de 0.3% con albúmina de huevo.	54
3.2 Distribución del tamaño de partícula de las emulsiones a una concentración de 0.5% con albúmina de huevo.	55
3.3 Distribución del tamaño de partícula de las emulsiones a una concentración de 0.3% con caseinato de sodio.	56
3.4 Distribución del tamaño de partícula de las emulsiones a una concentración de 0.5% con caseinato de sodio.	57
3.5 Aspecto físico de las emulsiones aceite-agua preparadas con caseinato de sodio-polisacárido aniónico.	58
3.6 Aspecto físico de las emulsiones aceite-agua preparadas con albúmina-polisacárido aniónico.	58
3.7 Micrografía de emulsiones con la mezcla albúmina - tragacanto y caseinato–albúmina al 0.3 %.	59
3.8 Micrografía de emulsiones con la mezcla albúmina -tragacanto y caseinato–albúmina al 0.5 %.	60
3.9 Micrografía de emulsiones con la mezcla albúmina- λ -carragenina y caseinato- λ -carragenina al 0.3%.	61
3.10 Micrografía de emulsiones con la mezcla albúmina- λ -carragenina al 0.5%. y caseinato- λ -carragenina al 0.5%.	62
3.11 Micrografía de emulsionnes con la mezcla albúmina-CMC y caseinato-CMC al 0.3%.	63

3.12 Micrografía de emulsiones con la mezcla albúmina-CMC y caseinato-CMC al 0.5%.	64
3.13 Potencial zeta de emulsiones con polisacárido al 0.3% y albúmina de huevo o caseinato de sodio.	69
3.14 Potencial zeta de emulsiones con polisacárido al 0.5% y albúmina de huevo o caseinato de sodio.	70
3.15 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de las dispersiones de polisacárido aniónico al 0.3 y 0.5%.	72
3.16 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de la goma tragacanto al 0.3 y 0.5% con albúmina de huevo y con caseinato de sodio.	75
3.17 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de la λ -carragenina al 0.3 y 0.5% con albúmina de huevo y con caseinato de sodio.	77
3.18 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de la carboximetilcelulosa de sodio al 0.3 y 0.5% con albúmina de huevo y con caseinato de sodio.	78
3.19 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de polisacáridos aniónicos al 0.5% con albúmina de huevo y con caseinato de sodio.	79
3.20 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de emulsiones con la mezcla CMC al 0.3 y 0.5% con albúmina de huevo y con caseinato de sodio.	82
3.21 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de emulsiones con la mezcla de λ -carragenina al 0.3 y 0.5% con albúmina de huevo y con caseinato de sodio.	83
3.22 Esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla de emulsiones con la mezcla de tragacanto al 0.3 y 0.5% con albúmina en geometría de placa rugosa y con caseinato en geometría de cilindros.	85

3.23 Modulos elástico (G') y viscoso (G'') en función de la frecuencia (ω) de emulsiones con la mezcla λ -carragenina al 0.3 y 0.5% con albúmina de huevo y con caseinato de sodio.	89
3.24 Modulos elástico (G') y viscoso (G'') en función de la frecuencia (ω) de emulsiones con la mezcla CMC al 0.3 y 0.5% con albúmina de huevo y con caseinato de sodio.	90
3.25 Modulos elástico (G') y viscoso (G'') en función de la frecuencia (ω) de emulsiones con la mezcla tragacanto al 0.3 y 0.5% con albúmina de huevo o caseinato de sodio.	91

NOMENCLATURA

R_1	Cilindro interno (mm)
R_2	Cilindro externo (mm)
Ω	Velocidad angular (rad/s)
ρ	Densidad (kg/m^3)
η	Viscosidad (Pa.s)
σ	Área superficial (m^2)
γ_s	Tensión superficial (N/m)
δW	Energía o Trabajo mecánico (Nm)
G'	Módulo de almacenamiento (Pa)
G''	Módulo de pérdida (Pa)
ϕ	Fracción volumen de la fase dispersa
V_D	Volumen de gotas en la emulsión
V_E	Volumen total de la emulsión
ρ_e	Densidad de la emulsión
ρ_1	Densidad de la fase continua
ρ_2	Densidad de la fase dispersa

RESUMEN

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar las propiedades reológicas en cizalla estacionaria y oscilatoria de emulsiones aceite-agua altamente concentradas (75% v/v) estabilizadas con una mezcla de proteína (albúmina de huevo o caseinato de sodio) al 2% y polisacárido aniónico (tragacanto, carboximetilcelulosa de sodio (CMC) o λ -carragenina) al 0.3 y 0.5%, a una temperatura de 25 °C y a pH \approx 7 de la mezcla de proteína-polisacárido aniónico.

Se determinaron las propiedades reológicas en cizalla estacionaria de las mezclas proteína-polisacárido aniónico y fisicoquímicas (tensión interfacial de la disolución proteína-polisacárido aniónico, tamaño de partícula, fracción volumen de la fase dispersa, conductividad eléctrica y potencial zeta), estas últimas como indicadores de la estabilidad de las emulsiones preparadas y de la influencia que tuvieron las mezclas de proteína-polisacárido aniónico en las mismas.

La tensión interfacial de las disoluciones de proteína estuvo favorecida por la adición de polisacárido aniónico, siendo la goma tragacanto al 0.3% con caseinato de sodio la que redujo en mayor medida la tensión interfacial.

El diámetro mediano de la partícula ($D_{(v, 0.5)}$) medido en las emulsiones que contienen caseinato de sodio se encuentra en un intervalo de 2 a 6 μm , mientras que para las que contienen albúmina de huevo está en un intervalo de 16 a 50 μm ; mostrando poca influencia el tipo y concentración del polisacárido.

La fracción volumen se modificó ligeramente en las emulsiones de caseinato de sodio al determinarse valores para una concentración del 0.3% de polisacárido mayores a 0.75.

La conductividad eléctrica dependió de la concentración del polisacárido ya que a 0.3% fue menor que para 0.5%, con cualquiera de las proteínas estudiadas.

El potencial zeta absoluto fue mayor para las emulsiones que contienen albúmina, excepto para la de tragacanto al 0.5%, que las que contienen caseinato de sodio de las cuales sólo la de tragacanto al 0.3% mostró un valor alto.

Las disoluciones que contienen caseinato de sodio presentaron un comportamiento fluidificante a la cizalla, excepto con tragacanto y λ -carragenina al 0.3% que mostraron baja viscosidad y un comportamiento newtoniano. Las disoluciones que contienen albúmina de huevo tuvieron un comportamiento newtoniano con CMC al 0.5%, tragacanto y CMC al 0.3%, mientras que para λ -carragenina al 0.3%, tragacanto y λ -carragenina al 0.5% tuvieron un comportamiento fluidificante a la cizalla.

Las emulsiones elaboradas con las mezclas proteína – polisacárido tuvieron un comportamiento fluidificante a la cizalla, sin importar de que algunas disoluciones hayan presentado baja viscosidad y comportamiento newtoniano. El índice de consistencia fue de 3 a 4 veces mayor en las que contienen albúmina en relación a las que contienen caseinato. Todas las emulsiones con albúmina de huevo presentaron tixotropía en un porcentaje mayor a las que contienen caseinato de sodio, excepto la emulsión que contiene λ -carragenina–caseinato de sodio que presentó antitixotropía. La viscosidad aparente fue mayor a 0.5 que a 0.3% de polisacárido.

En el comportamiento viscoelástico cuantificado de las emulsiones no hubo una marcada diferencia por el tipo de polisacárido utilizado, pero sí un incremento en el módulo de almacenamiento y pérdida (G' , G'') con el aumento de la concentración. Los parámetros viscoelásticos (G' y G'') fueron mayores en las emulsiones que contienen albúmina de huevo que aquellas con caseinato de sodio. Todas las emulsiones presentan un módulo de almacenamiento (G') diez veces mayor que el módulo de pérdida (G''), excepto para las emulsiones que contienen tragacanto al 0.3 y 0.5% con cualquiera de las proteínas, lo que confirma que el comportamiento reológico de estas emulsiones es dominado por su elasticidad.

El uso de mezclas proteína-polisacárido y la interacción entre estas macromoléculas representa una alternativa para proporcionar diferentes consistencias y mayor estabilidad a emulsiones concentradas de importancia en la industria de alimentos.

INTRODUCCION

INTRODUCCION

En la industria de alimentos las emulsiones son sistemas que se presentan con frecuencia en forma natural como elaboradas. Estas emulsiones presentan una amplia variedad de características fisicoquímicas y organolépticas (apariencia, aroma y textura), que son factores determinantes para que sean aceptadas por el consumidor (McClements, 1999).

El estudio de emulsiones ha tenido gran interés en los últimos años, debido a la inestabilidad que presentan en su vida de anaquel además del interés por determinar cómo interactúan los diversos ingredientes que tratan de mejorar la estabilidad, en especial las macromoléculas (proteínas y polisacáridos). La distribución de tamaños, así como el diámetro promedio del glóbulo de aceite, el potencial zeta y la densidad de carga son algunos parámetros importantes que determinan la estabilidad física de las emulsiones aceite en agua (Masson y Jost, 1986). A continuación se resumen cronológicamente algunos estudios reportados en emulsiones.

Acton y Saffle (1971) evaluaron el efecto de proteína de soya, caseinato de sodio y gelatina como estabilizantes en una emulsión aceite / agua con una fase oleosa de 20 a 50% y concentraciones de proteínas de 0.5 a 2.5%. Concluyen que al incrementar la concentración de aceite y proteína, se aumenta la estabilidad de la emulsión, debido a que están altamente interrelacionados.

Anonimous (1977) y Stauffer (1980) mostraron que ciertas gomas como alginato de propilen glicol y tragacanto disminuyen la tensión interfacial, lo cual contribuye a una mejor emulsificación y a la estabilidad de emulsiones en una combinación de viscosidad y actividad superficial.

Vernon-Carter y Sherman (1981) estudiaron el efecto de las diferentes cantidades de la goma de mezquite y un emulsificante "Tween" sobre las propiedades reológicas y estabilidad de emulsiones de aceite de maíz / agua. Las propiedades de estas emulsiones son favorecidas por la cantidad de los dos compuestos presentes en la emulsión.

Kiosseoglou y Sherman (1983) estudiaron las propiedades viscoelásticas y el tamaño del glóbulo de aceite en emulsiones estabilizadas con yema de huevo.

Factores como pH y concentración de sal influyen en las propiedades viscoelásticas. En el mismo trabajo observaron que la adición de carboximetilcelulosa de sodio (CMC) modifica el tamaño de glóbulo de la fase dispersa y las propiedades viscoelásticas incrementándose estas últimas, y que posiblemente eso se debía al complejo formado por CMC y yema de huevo, afectando las propiedades reológicas y su estabilidad. Estos estudios revelan la importancia de los componentes de la yema de huevo en la estructura de las emulsiones concentradas como es el caso de mayonesas y aderezos.

Coia y Stauffer (1987) evaluaron la vida de anaquel de emulsiones usando varios hidrocoloides comerciales (alginato de propileno glicol, xantana y tragacanto) mostraron que estas gomas disminuyen la tensión interfacial, lo cual contribuye a una mejor emulsificación y a la estabilidad de emulsiones en una combinación de viscosidad y actividad superficial, además de concluir que dos o más gomas proporcionan buena estabilidad a las emulsiones.

Berjano y col. (1990) evaluaron el comportamiento viscoelástico de mayonesas comerciales en función de la composición y de la interacción emulsificante-estabilizante-espesante y concluyen que los efectos que producen los distintos componentes y la interacción emulsificante-estabilizante-espesante explican el comportamiento viscoelástico de estos productos. Dedujeron también que a mayor contenido de aceite se producen incrementos significativos en los parámetros viscoelásticos cuando se adicionan gomas a las mayonesas en comparación con aquellas que no se les adiciona, además de amortiguar la influencia de la temperatura. Se sugiere que las gomas aumentan la elasticidad de las mayonesas por un incremento en el número de entrecruzamiento macromolecular debido a la interacción entre proteínas y estabilizante.

Ma y Barbosa-Cánovas (1991) estudiaron las propiedades viscoelásticas y de flujo de mayonesas a altas concentraciones de fase dispersa (aceite) utilizando goma xantana a diferentes concentraciones como agente espesante. Ellos reportaron que las propiedades de flujo fueron significativas en función de la concentración de aceite así como de goma; el esfuerzo de fluencia (σ_0) e índice de consistencia se incrementó con las concentraciones de aceite y goma debido a un alto nivel estructural de entrecruzamiento macromolecular. La respuesta

viscoelástica indica que las mayonesas formadas se comportan como un gel y la fuerza de éste depende de la concentración de aceite y goma xantana, por lo que el módulo de elasticidad y la viscosidad compleja aumentan al incrementarse las concentraciones.

Ward-Smith y col. (1994) realizaron un estudio de la movilidad electroforética de la interacción proteína-polisacárido aniónico a diferente pH en emulsiones, donde, a pH abajo del pl de la proteína, la adición del polisacárido le confiere una carga neta negativa sobre las gotas de la emulsión, mientras que a un pH menor a dos unidades sobre el pl, son más negativas que para las gotas cubiertas solamente con proteína. A pH's más altos la movilidad es similar en sistemas que contienen la proteína sola y la mezcla proteína-polisacárido.

Otsubo y Prud'homme (1994) estudiaron el efecto de la tensión interfacial y tamaño de la gota en las propiedades reológicas de emulsiones aceite en agua, las cuales mostraron un comportamiento viscoelástico. A fracciones de volumen elevadas de la fase dispersa, la emulsión presenta una notable elasticidad que resulta de la energía interfacial asociada con la deformación de la película interfacial. El módulo elástico y viscoso son proporcionales a la tensión interfacial e inversamente proporcional al tamaño de la gota.

Franco y col. (1995) estudiaron el efecto de las variables de proceso (tiempo de emulsificación, temperatura y uso de una turbina de rotor-estator y un molino coloidal) sobre las propiedades reológicas (viscosas y viscoelásticas), distribución del tamaño de glóbulo y estabilidad en emulsiones que contenían una mezcla de yema de huevo y estereato de sacarosa como emulsificante; concluyeron que un incremento en el tiempo de emulsificación y temperatura de proceso generalmente produce partículas de tamaños pequeños y una distribución reducida a valores de viscosidad y módulo de almacenamiento elevados, asimismo evaluaron el tamaño de partícula, tiempo y velocidad de emulsificación en emulsiones aceite-agua y aderezos con un 55% de aceite y concluyeron que las emulsiones formadas fueron poli-dispersas con un tamaño de partícula entre 1 y 30 μm y al aumentar el tiempo de emulsificación, se produjeron tamaños de partícula menores, elevadas viscosidades y propiedades

viscoelásticas, todo esto reflejado en un incremento global de la estabilidad de la emulsión.

Rajinder (1996a) realizó estudios sobre el comportamiento reológico en emulsiones aceite-agua a diferentes concentraciones de fase dispersa con una mezcla de polisacáridos (xantana - guar) a diferentes concentraciones usando un surfactante Triton x-100. Evaluó también el tamaño de partícula y observó que la distribución del tamaño de glóbulo en todas las emulsiones obtenidas fue polidisperso. Reportó también un incremento en el tamaño de glóbulo con la mezcla de polisacáridos, cuando la concentración de aceite se incrementó presentando tamaño similar al de la emulsión, cuando se agregó la goma guar únicamente. Las propiedades reológicas de las emulsiones (viscosidad aparente, G' y G'') fueron mayores cuando se tiene la mezcla de los polisacáridos como medio estabilizante que usando por separado la goma xantana o guar como medio estabilizante para las emulsiones. Además (1996b), estudió el efecto del tamaño de glóbulo de la fase dispersa sobre los parámetros reológicos de emulsiones y concluyó que las emulsiones con una fracción volumen de la fase dispersa de 0.745 tienen una mayor viscosidad y un módulo de almacenamiento apreciable, cuando el tamaño de la gota es menor.

Hemar y Horne (1999), realizaron estudios de propiedades elásticas de emulsiones aceite (soya)-agua altamente concentradas, estabilizadas con caseinato de sodio y compararon sus resultados en función de la fracción volumen de la fase oleosa con la Teoría de Princen. Encontraron que las emulsiones poseen una notable rigidez a la cizalla, característica de un sólido de Hooke. Esta elasticidad se aumenta alrededor de tres ordenes de magnitud únicamente cuando las gotas de la emulsión son concentradas más allá del límite de empaquetamiento esférico y determinaron que esta fracción volumen corresponde aproximadamente a 0.70 para una emulsión polidispersa. La deformación de cizalla crea gotas con un área-superficie adicional como en el modelo de Princen, y esto contribuye a incrementar el modulo elástico de las emulsiones. Además, la fracción volumen de las emulsiones mostró una dependencia del esfuerzo de cizalla fluyendo cuando el esfuerzo aplicado excedía un valor crítico, esto también es función del valor límite de empaquetamiento y de la presión de Laplace. Encontraron que el diámetro

medio de la partícula fue mayor, calculado por la fórmula de Princen, que el medido por dispersión de luz, esto debido a que el modelo de Princen está basado en un sistema monodisperso y asume un ángulo de contacto cero entre la película delgada que separa las gotas adyacentes.

Huang y col. (2001) estudiaron las propiedades emulsificantes de catorce hidrocoloides (alginato de propilén glicol, gelatina, carragenina, pectina, metilcelulosa, celulosa microcristalina, goma arábiga, goma guar, goma de algarrobo, xantana, mostaza, semilla de linaza, alholva, avena), en emulsiones aceite de canola-agua al 40%. Al comparar las propiedades físicas de las diferentes gomas, la alholva produjo emulsiones más estables al someterlas a centrifugación y cierto tiempo de almacenamiento. También esta muestra presentó un 70% en volumen de partículas inferiores a $1\mu\text{m}$ de diámetro comparado con el 10 al 20% encontrados en otras emulsiones, esto fue dependiente de la concentración del hidrocoloide ya que a mayor concentración produce diámetros medios más pequeños, además de producir una menor tensión interfacial comparada con el resto de los hidrocoloides.

Quintana y col. (2002) estudiaron el comportamiento reológico y estabilidad de emulsiones aceite de girasol-agua al 40% estabilizadas por diferentes agentes estabilizantes (almidón de papa, goma xantana, goma guar, mezcla de almidón-goma xantana y goma xantana-goma guar) y Twenn 60 al 1%, encontraron que la adición de agentes estabilizantes mejoran la estabilidad de emulsiones y no hubo modificación significativa en las emulsiones que contienen almidón o cualquiera de los hidrocoloides. En todos los casos, las emulsiones presentaron un $d_{(3,2)}$ entre 2-3 μm . y una distribución de tamaño de partícula bimodal. Observaciones al microscopio de las mismas muestras que contienen los polisacáridos mostraron flóculos, mientras que aquellas que no los contienen no los presentaron. También existe un adelgazamiento a la cizalla, atribuido a la estructura molecular de los polisacáridos y al proceso de floculación-desfloculación. A bajas velocidades de cizalla se observó una viscosidad constante, mientras que en altas velocidades se presentó una disminución de la viscosidad caracterizada por el modelo de la Ley de la Potencia, el comportamiento reológico de todas las emulsiones fue ajustado al modelo de Cross. Un barrido de frecuencia mostró que las emulsiones que

contienen almidón y goma xantana presentaron una red de un gel débil ($G' > G''$), aquellas con goma guar correspondió a una solución polimérica donde G' y G'' se cruzan a la mitad del intervalo de frecuencia utilizado. La viscoelásticidad lineal fue descrita por el modelo generalizado de Maxwell.

Azzam y col., (2002) determinaron la estabilidad en emulsiones aceite-agua estabilizadas con clara de huevo (0.05-0.5 mg/mL) mediante técnicas de conductividad y utilizando diversos tipos de aceite (maíz, olivo, soya y girasol) además de utilizar diversas fracciones volumen de la fase dispersa (0.25 a 0.5 v/v). A excepción de las emulsiones que contienen aceite de olivo, a cualquier concentración de clara de huevo, la estabilidad de la emulsión se incrementó con el aumento de la fracción volumen de la fase dispersa. Mientras que a cualquier fracción volumen dada, la estabilidad de la emulsión se incrementó cuando se aumentó la concentración de albúmina. Asimismo la actividad emulsificante se incrementó cuando es mayor la fracción volumen de la fase dispersa. La conductividad eléctrica de la emulsiones a diferente concentración de clara de huevo y diferente fracción volumen de la fase dispersa estuvo en un intervalo de 1 a 1.6 mS/cm.

Roland y col., (2003) realizaron un estudio de emulsiones aceite-agua variando la concentración de surfactante (10, 5 y 2%) y el proceso de elaboración (manual, mezclador Silverson y homogenizador de alta presión), donde el tamaño de partícula fue menor para aquellas que se elaboraron en el homogenizador y al incrementar la concentración de surfactante. Mientras que el potencial zeta fue menor con el homogenizador y a una concentración de surfactante de 5 y 10%. Los valores de potencial zeta no ajustaron con una estabilidad visual ya que las emulsiones más estables (concentración de 5 y 10%) mostraron un potencial zeta menor. También las mantuvieron en refrigeración a 4 °C, donde las emulsiones presentaron mejor estabilidad almacenadas a esta temperatura.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, se puede establecer que el estudio de las emulsiones aceite-agua ha estado enfocado a la adición de polisacáridos, solos o en mezcla, o en combinación con emulsificantes comerciales, considerando la importancia de los estudios reportados y la cantidad de polisacáridos y proteínas utilizadas como estabilizantes se tiene como objetivo,

evaluar el efecto que presenta mezclar caseinato de sodio o albúmina cada una con carboximetilcelulosa de sodio, λ -carragenina o goma tragacanto en las propiedades fisicoquímicas y reológicas de una emulsión aceite-agua con 75 % de fase dispersa.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

GENERAL:

Evaluar las propiedades reológicas y fisicoquímicas de emulsiones concentradas aceite-agua, elaboradas con mezclas de proteína (albúmina o caseinato de sodio) con polisacárido aniónico (carboximetilcelulosa de sodio, λ -carragenina o tragacanto) para su uso como emulsificante.

ESPECIFICOS:

1. Evaluar el efecto de la mezcla proteína-polisacárido aniónico en la tensión interfacial entre la dispersión y el aceite.
2. Establecer el efecto de la mezcla proteína-polisacárido aniónico en las propiedades fisicoquímicas (tamaño de glóbulo, fracción volumen de la fase dispersa, conductividad eléctrica y potencial zeta) de emulsiones aceite-agua concentradas al 75% de fase dispersa.
3. Evaluar el comportamiento reológico en cizalla estacionaria de las dispersiones de λ -carragenina, tragacanto y carboximetilcelulosa de sodio a dos concentraciones (0.3 y 0.5%).
4. Estudiar el efecto del tipo de proteína (caseinato de sodio y albúmina de huevo al 2%) en el comportamiento reológico de dispersiones de polisacáridos aniónicos a concentraciones de 0.3 y 0.5% bajo cizalla estacionaria.
5. Evaluar el efecto de la mezcla proteína-polisacárido aniónico en las propiedades de flujo en cizalla estacionaria y propiedades viscoelásticas bajo cizalla oscilatoria en las emulsiones altamente concentradas.

1. MARCO TEORICO

1. MARCO TEORICO

1.1 COLOIDES

Los coloides son sistemas que tienen dimensiones comprendidas entre 1 nm y 1 mm, es decir, ocupan una posición intermedia en cuanto al tamaño de partículas; esto es entre las disoluciones de sustancias de masa molecular relativamente pequeña y las dispersiones "gruesas". El Cuadro 1.1 muestra algunos ejemplos de sistemas coloidales.

Cuadro 1.1 Ejemplos de sistemas coloidales.

Fase dispersa	Fase continua	Nombre	Ejemplo
Líquido	Gas	Niebla, aerosol	Pulverizador
Sólido	Gas	Humo, aerosol	Humo
Gas	Líquido	Espuma, burbuja	Crema batida
Líquido	Líquido	Emulsión	Mayonesa
Sólido	Líquido	Sol, solución coloidal, suspensión en gel.	Jugo de fruta, Concentrado, Batidos.
Gas	Sólido	Espuma sólida	Merengue, pan

Lewis, 1993

Tradicionalmente, una dispersión coloidal es clasificada de acuerdo con los siguientes términos: Liofílico (hidrofílico) o Liofóbico (hidrofóbico) dependiendo si la superficie de las partículas tienen una tendencia débil o fuerte a ser hidratada (solvatada) por el medio de dispersión (Dickinson, 1992).

1.1.1 ESTABILIDAD COLOIDAL

En muchos sistemas coloidales, un estado termodinámico estable es idealmente alcanzado únicamente cuando todas las partículas o gotas han sido unidas en un conglomerado homogéneo simple de fase dispersa, por lo tanto cualquier estabilidad aparente puede ser estimada como un fenómeno puramente cinético. Un coloide no puede ser formado de manera espontánea, pero cuando se forma éste es termodinámicamente inestable. La manifestación más obvia de inestabilidad coloidal es el asentamiento de partículas, gotas o agregados bajo gravedad llamado sedimentación o cremado si la fase se desplaza hacia arriba. La velocidad a la cual ocurre la inestabilidad depende del

tamaño de la unidad de asentamiento y diferencia de densidades entre las fases (Dickinson, 1992).

La estabilidad de coloides o dispersiones ha sido el argumento de debate de científicos por más de un siglo. Esto ha conducido al establecimiento de tres principales mecanismos involucrados en la estabilidad de coloides: electrostáticos, estéricos y estabilización de partículas. En un coloide estabilizado electrostáticamente, las partículas se mantienen apartadas por repulsión Coulómbica entre superficies cargadas. En estabilización polimérica, las partículas se mantienen apartadas por macromoléculas, las cuales pueden estar adheridas a la superficie (estabilización estérica) o disueltas en el medio de dispersión como una red débil. Muchos coloides alimenticios (emulsiones como por ejemplo, crema, helado, mayonesas, aderezos, mantequillas, productos cárnicos, leche, sopa tipo crema, margarina) que contienen proteínas adsorbidas son estabilizados por una combinación de mecanismos estéricos y electrostáticos. éstos presentan un problema de estabilidad. La estabilidad es un concepto cinético y no termodinámico ya que ésta no implica cambios estructurales. Una emulsión estable, por consecuencia, aquella en la cual el número y distribución de las gotas cambia lentamente casi de modo imperceptible con el tiempo (Dickinson y Stainsby, 1992).

En la estabilidad por partículas podemos distinguir dos tipos de entidades: partículas y macromoléculas. Las partículas pueden ser esféricas (burbujas de gas, gotas de aceite o agua) o aproximadamente esféricas (glóbulos de grasa, gránulos de proteína o almidón). Las macromoléculas de alimentos pueden ser compactas y altamente organizadas (proteínas globulares) pueden adsorberse en la superficie de partículas sólidas, burbujas o gotas o desorganizadas y como cadenas (muchos polisacáridos y proteínas desnaturalizadas) (Dickinson, 1992).

El estudio de coloides en alimentos, corresponde al estudio fisicoquímico de alimentos visto como una colección de macromoléculas y partículas dispersas en varios estados de organización submicroscópica y microscópica (Dickinson, 1992).

1.2 EMULSIONES

Las emulsiones son sistemas bifásicos termodinámicamente inestables que consisten de un líquido inmisible íntimamente disperso en otro en forma de gotas cuyo diámetro usualmente oscila entre 0.1 y 100 μm . Estos sistemas poseen una estabilidad mínima, la cual puede ser mejorada por la adición de un agente emulsificante el cual reduce la tensión interfacial entre las dos fases o bien por la adición de un estabilizante que tiende a incrementar la viscosidad de la fase continua, lo que modifica las propiedades reológicas y texturales de los productos (Coia y Stauffer, 1987).

1.2.1 CLASIFICACION DE EMULSIONES

Las emulsiones se pueden dividir en las siguientes clases:

- a) En relación a la fase oleosa o acuosa.
 - a.1) Emulsiones de aceite en agua (o/w) en las cuales las gotas de aceite se dispersan en un medio acuoso.
 - a.2) Emulsiones agua en aceite (w/o) en las cuales las gotas de agua se dispersan en un aceite o grasa.
 - a.3) Emulsiones múltiples (w/o/w) (o/w/o).
 - a.4) Microemulsiones (diámetro de gotas menor a $10^{-8}\mu\text{m}$).
- b) En relación con la fase dispersa.
 - b.1) Emulsiones de baja concentración de fase dispersa (menor de 30%).
 - b.2) Emulsiones de media concentración de fase dispersa (entre 30 y 70%)
 - b.3) Emulsiones de alta concentración de fase dispersa (mayor de 70%).

Nota: Se denotan o/w y w/o por las siglas en inglés de aceite (o) y agua (w).

El Cuadro 1.2 ilustra emulsiones típicas de alimentos junto con una breve descripción del mecanismo de estabilización.

La estabilidad de las emulsiones alimenticias es favorecida por la adición de agentes emulsificantes y estabilizantes por lo cual es de interés conocer acerca de éstos, debido a su uso en la elaboración de emulsiones alimenticias

altamente concentradas ya que éstas presentan grandes problemas en su procesamiento y almacenamiento.

Cuadro 1.2 Emulsiones alimenticias típicas (O = aceite, A = aire, W = agua)

ALIMENTO	TIPO DE EMULSION	METODO DE PREPARACIÓN	MECANISMO DE ESTABILIZACIÓN
Leche	O/W	Producto natural	1) Por membrana proteínica
Crema	A+O/W	Centrifugación	2) Como (1) + estabilización de la partícula de aire
Helado	A+O/W	Homogenización	3) Como en (2) + red de hielo.
Mantequilla / margarina	W/O	Batido	4) Red de cristales grasos
Aderezos	O/W	Mezclado a alta velocidad y homogenización	5) Por proteínas y polisacáridos
Productos cárnicos (embutidos)	O/W	Mezclado a baja velocidad y cortar en trozos	6) Matriz gelificada de proteína
Productos de panadería	A+O/W	Mezclado	7) Red de proteína y almidón

Darling y Birkett, 1987

Muchos de los productos alimenticios son sistemas complejos donde encontramos a las emulsiones, éstas contienen proteínas y polisacáridos, dos de los principales emulsificantes y estabilizantes usados en la industria de alimentos. De aquí la importancia de conocer acerca de su acción como emulsificante y estabilizante así como la forma de interaccionar entre ellas y como repercuten en las propiedades organolépticas, fisicoquímicas y reológicas.

1.2.2 AGENTES EMULSIFICANTES Y ESTABILIZANTES

Los emulsificantes son moléculas anfifílicas, las cuales poseen partes hidrofílicas y lipofílicas. La parte hidrofílica puede ser cualquiera de una gran variedad de grupos polares; la parte lipofílica está formada de hidrocarburos ramificados, lineales o cíclicos y se clasifican de acuerdo con su comportamiento iónico en: aniónico, catiónico, no-iónico y anfotéricos. Los emulsificantes de tipo

iónico e están compuestos de un grupo orgánico lipofílico y uno hidrofílico y pueden dividirse en aniónicos y catiónicos, dependiendo de la naturaleza del grupo iónico activo, mientras que los no-iónicos muestran una tendencia aparente a ionizarse; por lo tanto, se pueden combinar químicamente con otros agentes de superficie activa no-iónicos y con agentes aniónicos y catiónicos; los agentes anfotéricos tienen la característica de comportarse como aniónicos o catiónicos, dependiendo de la acidez del medio (Lynch y Griffin, 1974).

En la industria de alimentos hay dos clases de material emulsificante permitido: emulsificantes de baja masa molecular (monoglicéridos, lecitina, polisorbatos, entre otros) y emulsificantes macromoleculares (usualmente proteínas, especialmente aquellas de huevo y leche). Los surfactantes tienden a orientarse ellos mismos a la interfase aceite-agua y aire-agua, así que sus grupos hidrofílicos (carboxílico, hidroxílicos) son localizados en la fase acuosa y sus grupos de cola hidrofóbicos (lipofílicos) usualmente (cadenas hidrocarbonadas) son localizados en la fase no acuosa (Dickinson, 1992).

Un emulsificante efectivo facilita la producción de una nueva interfase primero disminuyendo la energía libre interfacial, y segundo, para conferir estabilidad a las gotas formando una capa adsorbida protectora alrededor de la superficie de las gotas (Dickinson, 1992).

Las proteínas son macromoléculas anfifílicas complejas solubles en agua, ellas son de menor superficie activa que las pequeñas moléculas anfifílicas, pero una vez presente en la interfase son capaces de conferir una buena estabilidad por un período largo a una emulsión o espuma (Dickinson, 1992).

Un estabilizante es un componente químico, o mezcla de componentes, los cuales presentan una estabilidad por períodos largos a un coloide alimenticio, posiblemente por un mecanismo que involucra adsorción. Un polisacárido de alta masa molecular como la carragenina o xantana son catalogadas como "estabilizantes" pero no como emulsificantes dado que éstas no puede ser usadas para elaborar una emulsión. Las proteínas, por otro lado actúan primeramente a través de las propiedades de su película interfacial, y así en muchos casos son capaces de llevar a cabo ambos papeles de emulsificante y estabilizante.

La actividad superficial de las proteínas se origina desde la distribución de residuos aminoácidos hidrofóbicos a varias posiciones a lo largo de la cadena polipeptídica, en contraste con muchos polisacáridos que son predominantemente hidrofílicos y por consecuencia no presentan buena actividad superficial. La principal acción estabilizante de polisacáridos de alto masa molecular es por modificación de la viscosidad o gelificación en el medio de dispersión acuoso (Dickinson, 1992).

La Figura 1.1 ilustra cómo en una emulsión, las gotas de la fase dispersa son mejor protegidas contra la coalescencia, si las partículas son de preferencia mojadas por la fase continua y así situarse predominantemente sobre el lado externo de la interfase aceite-agua. El ángulo de contacto θ define la capacidad de la partícula a estabilizar o desestabilizar el coloide.

Las emulsiones aceite en agua son estabilizadas predominantemente por partículas hidrofílicas ($\theta < 90^\circ$) mientras que en emulsiones agua en aceite son estabilizadas por partículas hidrofóbicas ($\theta > 90^\circ$).

El Cuadro 1.3 indica algunas características y usos de estabilizantes (polisacáridos aniónicos en estudio).

1.2.2.1 ESTABILIZANTES (PROTEINAS)

Las moléculas proteicas tienen grupos hidrófilos e hidrófobos y pueden, por tanto, comportarse como sustancias con actividad de superficie, éstas se adsorben en la interfase de las emulsiones, se desnaturalizan y se despliegan, situándose en la interfase determinadas zonas de las cadenas polipeptídicas y protuyendo a una y otra fase bucles y colas. La orientación de los bucles y las colas depende de la hidrofobia e hidrofilia de las cadenas laterales de los aminoácidos. La conformación en bucles genera repulsión electrostática y restricciones estéricas suficientes para hacer energéticamente desfavorable la adsorción de más moléculas proteínicas. En tal situación, la interfase se encuentra saturada de proteína; el incremento de la concentración proteínica, a partir de entonces, genera la adsorción en multicapas (Badui, 1996).

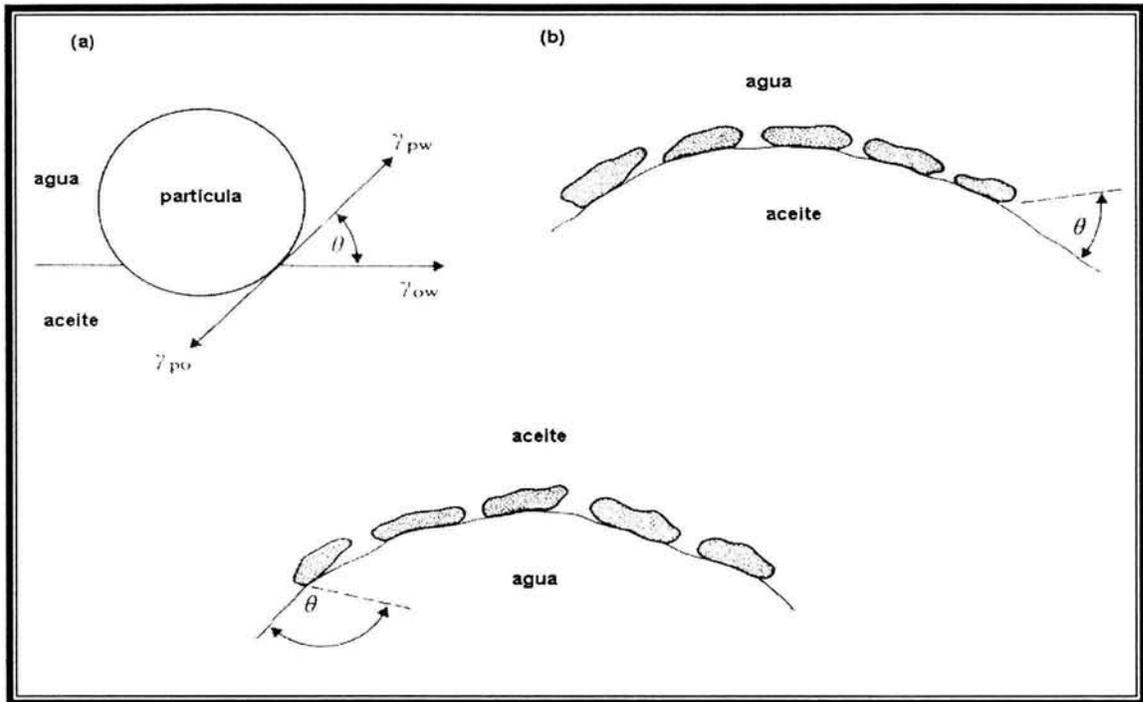


Figura 1.1 Estabilización de emulsiones por partículas sólidas. (a) Definición de ángulo de contacto θ para partículas esféricas simples reposando sobre la interfase aceite-agua en términos de tensiones γ_{po} , γ_{pw} , y γ_{ow} en la interfase partícula-aceite, partícula-agua y aceite-agua, respectivamente. (b) gotas aceite-agua estabilizadas por partículas mojadas por agua ($\theta < 90^\circ$). (c) gotas agua-aceite estabilizadas por partículas mojadas por aceite ($\theta > 90^\circ$). (Dickinson, 1992)

Es de esperar que tanto la estructura molecular propia de cada proteína y, por consiguiente, los parámetros que afectan su desplegamiento (por ejemplo, pH, fuerza iónica y temperatura) influyan considerablemente en las propiedades estabilizantes de las películas proteínicas. Las proteínas de estructura flexible, como la β -caseína, se desnaturalizan fácilmente por extensión en superficie. Las globulares, altamente estructuradas, como la lisozima, son difíciles de desnaturalizar de este modo. Cuanto más desnaturalizada se encuentra una proteína, más extendida estará y, por consiguiente, más apta resulta para el desarrollo en la interfase de una red bien estructurada (Dominic, 1989).

La propiedad funcional más importante de estos polímeros es su capacidad emulsionante, sobre todo para los sistemas aceite-agua, ya que en los de agua-aceite no actúan adecuadamente; al igual que sucede con otros compuestos de carácter lipófilo-hidrófilo, el mecanismo de emulsificación en estos casos consiste en que el máximo número de grupos no polares (molécula hidrofóbica)

Cuadro 1.3 Características y uso de polisacáridos aniónicos (carboximetilcelulosa de sodio, λ -carragenina y tragacanto).

POLISACARIDO	CARACTERISTICAS	USO	REFERENCIA
Carboximetilcelulosa de sodio (éter celulósico).	<ul style="list-style-type: none"> -Derivado de celulosa. -Polisacárido aniónico lineal. -Contiene de 0.65-0.95 grupos carboxilo por unidad de glucosa de grado alimenticio. -Representa del 13 al 27% de los grupos hidroxilo libres de la unidad de glucosa de celulosa por lo que es más viscosa que la celulosa la cual es esencialmente insoluble. -Se disuelve en agua fría y caliente. -Fisiológicamente inerte. -Máxima estabilidad en un intervalo de pH 6 a 9 y viscosidad constante. -Alta actividad superficial. -Comportamiento pseudoplástico. -Interactúa con proteínas (caseína, proteína de soya, etc.) 	<ul style="list-style-type: none"> -Espesante. -Agente de suspensión. -Estabilizador de suspensiones, emulsiones y proteínas. -Ligante de agua. -Coloide protector. -Regula las propiedades de flujo como agente de control reológico. -Interacción con otros coloides orgánicos (almidones, gelatinas, alginatos, harinas vegetales, éteres y ésteres celulósicos, gomas) en general con la mayoría de polímeros aniónicos y no iónicos solubles en agua.. 	<ul style="list-style-type: none"> -Sharma, 1981 -Dominic, 1989 -Imeson, 1997 -Nussinovitch, 1997
λ -Carragenina	<ul style="list-style-type: none"> -Extracto de algas. -Polisacárido aniónico lineal. -Alto peso molecular de unidades repetidas de galactosa sulfatada unidas por enlaces glucosídicos. -No gelifica debido a su alto contenido de grupos éster sulfatados. -Incompatible con proteínas cercanas a su pl, detergentes, aminas de bajo peso molecular. -Compatible con alcohol, glicerina y propilenglicol. -Soluble en agua y leche tanto fría como caliente. -Estable en medio ácido. 	<ul style="list-style-type: none"> -Interacción con otra variedad de carrageninas (κ, ι), hidrocoloides y proteínas. -Espesante en procesos en frío. -Separador de mezclas proteicas. -Estabilizador de sistemas diversos. -Mejorador de propiedades reológicas (panificación). 	<ul style="list-style-type: none"> -Sharma, 1981 -Belitz y Grosch, 1992 -Nussinovitch, 1997 -Imeson, 1997
Goma tragacanto	<ul style="list-style-type: none"> -Exudado de plantas. -Polisacárido aniónico. -Contiene dos fracciones, la primera el ácido tragacantin (insoluble en agua) y araginogalactan (soluble en agua). -Da soluciones viscosas a bajas concentraciones y pasta a concentraciones de 2-4%. -Comportamiento pseudoplástico. -Soluciones ácidas (pH 5-6) y buena estabilidad. -Compatible con otros polisacáridos. 	<ul style="list-style-type: none"> -Emulsificante bifuncional. -Reduce la tensión interfacial en emulsiones aceite-agua. -Estabiliza productos ácidos en periodos de almacenamiento largos. -Agente de superficie activa. 	<ul style="list-style-type: none"> -Sharma, 1981 --Nussinovitch, 1997

en contacto con la fase oleosa, mientras que el máximo número de grupos polares (moléculas hidrofílicas) está en contacto con la fase acuosa.

1.2.3 CONFORMACION DE EMULSIFICANTES EN UNA INTERFASE

La conformación de un emulsificante polimérico en una interfase depende del número, tipo y secuencia de monómeros a lo largo de su cadena un emulsificante tiende a adoptar una conformación interfacial la cual minimiza la energía libre del sistema. La energía libre conformacional es determinada por varias contribuciones entálpicas (energía de interacción intermolecular) y entrópicas (solvatación y entropía configuracional). En la práctica lo que determina la conformación interfacial de emulsificantes en alimentos son los efectos hidrofóbicos la tendencia para una molécula a adoptar un arreglo el cual minimice el número de contactos desfavorables entre grupos polares y no polares (Figura 1.2). La fuerte adsorción de estas sustancias a la interfase en forma de una capa monomolecular orientada se llama Actividad Superficial (McClements, 1999).

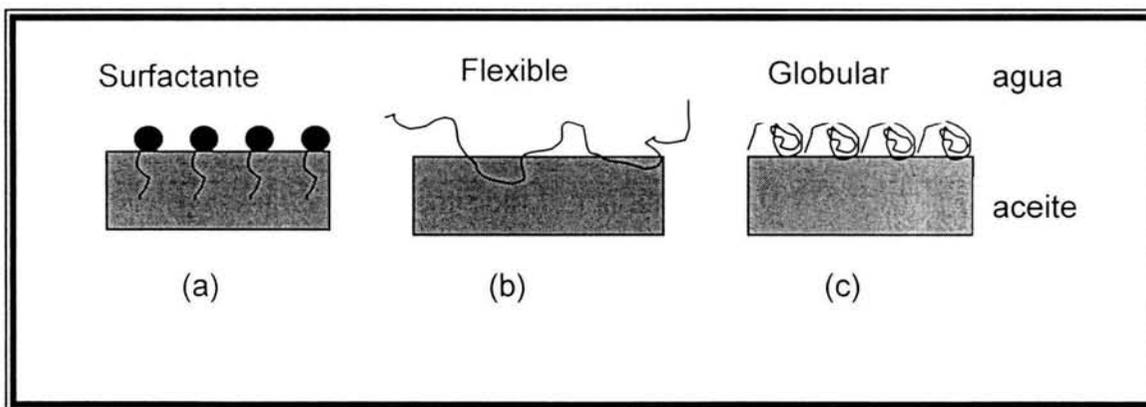


Figura 1.2 Orientación de emulsificantes poliméricos en una interfase: (a) surfactantes moléculas pequeñas, (b) biopolímeros flexibles, y (c) biopolímero globular (McClements, 1999).

1.3 INTERACCIONES BIOPOLIMERICAS

Las propiedades funcionales de esto biopolímeros son determinadas por las características moleculares como su masa molecular, conformación, flexibilidad, polaridad e interacciones (McClements, 1999). Los biopolímeros pueden ser considerados como macromoléculas anfifílicas que tienen un papel esencial en

estabilizar emulsiones bajo condiciones específicas, como la relación proteína-polisacárido, pH, fuerza iónica, temperatura y proceso de mezclado. Asimismo se ha reportado que las proteínas y polisacáridos forman complejos con propiedades funcionales superiores en comparación con las proteínas y polisacáridos solos para estabilizar emulsiones (McClements, 1999).

La atracción y repulsión son los dos principales tipos de interacción que ocurre entre proteínas y polisacáridos en solución y puede resultar la formación de complejos o la no-miscibilidad de los biopolímeros (Benichou y col., 2002).

1.3.1 INTERACCIONES HIDROFÓBICAS

Las interacciones hidrofóbicas tienen un papel importante al determinar la estructura molecular y agregación de biopolímeros los cuales contienen un número apreciable de grupos no-polares. Las proteínas tienen cantidades significativas de aminoácidos no-polares, mientras que los polisacáridos son predominantemente hidrofílicos, pero algunos tienen grupos no polares adheridos a su cadena. Los biopolímeros que contienen proporciones significativas de grupos no-polares tienden a adoptar un arreglo que minimiza el área de contacto entre los grupos no-polares y el agua a causa de los efectos hidrofóbicos. Por agregación de otra molécula no-polar o por adsorción a una superficie no-polar, un biopolímero puede reducir el área de contacto entre sus grupos hidrofóbicos y el agua (McClements, 1999).

1.3.2 INTERACCIONES COVALENTES

La interacción más permanente a partir de proteína – polisacárido ocurre cuando los dos componentes biopoliméricos se enlazan conjuntamente mediante enlaces covalentes. Un complejo biopolimérico de este tipo contrariamente al electrostático es menos susceptible a alteración por cambios de temperatura o pH. Muchas de las reacciones postuladas de proteínas con polisacáridos involucran el grupo ϵ -amino de lisina reaccionando con grupos éster de carbohidratos (McClements, 1999).

Dickinson y McClements (1996), usando un modelo de simulación computacional simple, concluyeron que la funcionalidad interfacial óptima de los complejos polisacárido-proteína con unión covalente se obtiene cuando hay

suficiente polisacárido unido a la proteína para mejorar la solubilidad y estabilización estérica, pero debe haber suficientes cadenas laterales de proteína hidrofóbica accesible, para permitir la unión macromolecular rápida y fuerte en la interfase aceite-agua. Esto parece ser una oportunidad considerable para el desarrollo comercial de complejos proteína-polisacárido útiles como estabilizantes y emulsificantes macromoleculares naturales para uso en los productos de alimentos en el futuro (Dickinson y McClements, 1996).

1.3.3 INTERACCIONES DE VAN DER WAALS

Esta fuerza atractiva se origina en las fluctuaciones de la densidad electrónica en un átomo neutro. La distribución desigual de densidad electrónica crea momentáneamente un dipolo que puede inducir la formación de una estructura similar en un átomo vecino (ver Figura 1.3).

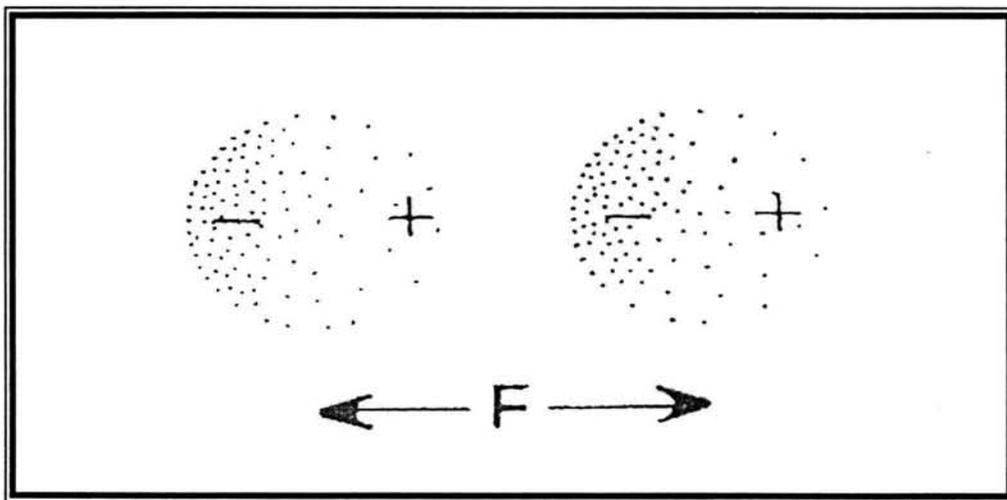


Figura 1.3 Atracción de van der Waals entre átomos (Dominic, 1989).

CARACTERISTICAS GENERALES DE INTERACCIONES VAN DER WAALS

1. La interacción entre dos gotas de aceite (o entre dos gotas de agua) es siempre atractiva.
2. La fuerza de la interacción disminuye con la separación de gotas, y la interacción es de gran alcance.
3. La interacción se hace fuerte al aumentar el tamaño de la gota.
4. La fuerza de la interacción depende de las propiedades físicas de las gotas y el líquido alrededor.

5. La fuerza de la interacción depende de el agente espesante y composición de la capa de emulsificante adsorbida.
6. La fuerza de la interacción disminuye mientras la concentración de electrolito en una emulsión aceite en agua incrementa debido a una protección electrostática.

Considerando que las interacciones de van der Waals son relativamente resistentes, de gran alcance y son siempre atractivas, sugiere que las gotas de la emulsiones tenderán a asociarse con cualquier otra. En la práctica muchas emulsiones son estables a agregación de gotas, indicando la existencia de interacciones repulsivas, que son bastante fuertes para superar la atracción de van der Waals (McClements, 1999).

1.3.4 INTERACCIONES ESTERICAS

Cuando las gotas de una emulsión son circundadas por una capa de emulsificante cargada eléctricamente, ellas pueden ser estabilizadas contra la agregación por repulsión electrostática. Sin embargo, muchas emulsiones son estables a la agregación a pesar de crearse alrededor una capa de moléculas de emulsificante, que no tienen carga eléctrica, lo cual indica que otro tipo de interacciones repulsivas tienen un papel importante en la estabilización de estos sistemas. La más importante de éstas es la estabilización estérica polimérica, ésta es debida a la presencia de emulsificantes poliméricos en la interfase aceite - agua. Las interacciones estéricas pueden ser comparables en intervalo y magnitud, a las de van der Waals y cualquier otra interacción atractiva (McClements, 1999).

CARACTERISTICAS GENERALES DE ESTABILIZACION ESTERICA

1. Las interacciones son fuertemente repulsivas a separaciones cortas, pero puede ser atractiva o repulsiva a separación intermedia dependiendo de la calidad del disolvente.
2. El intervalo de las interacciones incrementa con el espesor de la capa adsorbida.
3. La fuerza de la interacción incrementa con el tamaño de la gota.

4. La fuerza de las interacciones depende de la estructura molecular de la capa de emulsificante polimérico adsorbido y por lo tanto varía considerablemente de un sistema a otro y por lo que es difícil su predicción.

Una interacción atractiva entre polisacárido-proteína puede incrementar la estabilidad de una emulsión por medio de una capa estabilizadora estérica fuerte y por espesamiento, o este complejo puede desestabilizar una emulsión por construcción de puentes entre gotas de proteínas cubiertas. Una interacción repulsiva proteína-polisacárido, también puede estabilizar un coloide por inmovilización de las partículas dispersas en una red gel fuerte o débil, o ésta puede tener un efecto de desestabilización induciendo la separación de fases o floculación (McClements, 1999).

Las interacciones estéricas son uno de los más comunes e importantes mecanismos de estabilización en emulsiones alimenticias, aunque también existen muchas en las cuales hay una combinación de estabilización estérica polimérica y estabilización electrostática (Figura 1.4). Es difícil diferenciar el tipo de estabilización, aunque la principal diferencia es su sensibilidad a pH y fuerza iónica. La repulsión electrostática entre las gotas de la emulsión disminuye rápidamente cuando la carga sobre la superficie de las gotas es reducida (por alterar el pH) o por protección (incrementando la concentración de electrolito en la fase acuosa). Por el contrario, la repulsión estérica es completamente independiente a la concentración de electrolito y pH, solo puede ser afectada si las moléculas poliméricas tienen carga debido a que esto puede alterar el espesor de la capa interfacial y la interacción de las cadenas poliméricas. Otra diferencia mayor es el hecho que la repulsión electrostática es usualmente más débil que la atracción de van der Waals a distancias cortas, mientras la estabilización estérica es más fuerte (McClements, 1999).

1.3.5 INTERACCIONES ELECTROSTATICAS

Este tipo de interacciones también son importante en emulsiones como es el caso de las proteínas que contienen un cierto número de aminoácidos que pueden ionizarse para formar iones cargados positivamente (arginina, lisina,

prolina y grupo terminal amino) o iones cargados negativamente (glutámico, ácido aspártico y grupo terminal carboxilo). Algunos polisacáridos también tienen grupos ionizables en su cadena (sulfato, carboxílicos y grupos fosfatos). La carga neta de un biopolímero depende de los valores de pK de sus grupos ionizables y el pH del medio acuoso. Si un biopolímero contiene muchos grupos cargados similarmente es común que adopte una configuración extendida porque ésta incrementa la distancia promedio entre las cargas y por lo tanto minimiza la repulsión electrostática no favorable. Por otro lado si un biopolímero contiene muchos grupos cargados opuestamente es más común enrollarse en su estructura compacta que maximice las interacciones electrostáticas favorable. Los iones de baja masa molecular como Na^+ y Ca^{++} en moléculas biopoliméricas favorecen las interacciones electrostáticas.

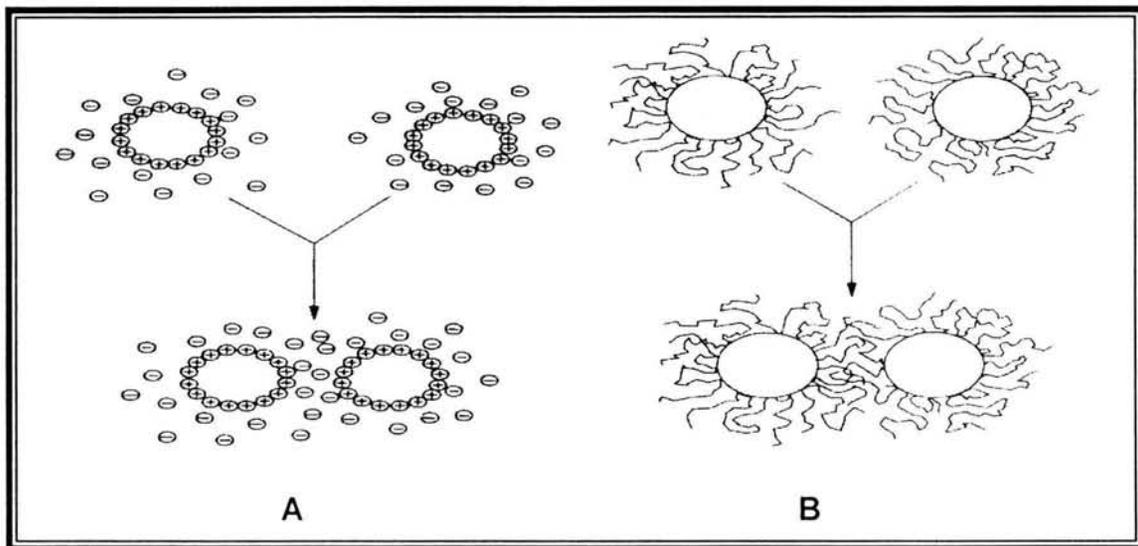


Figura 1.4 Fuerzas repulsivas electrostáticas y estéricas: (A) Fuerzas electrostáticas repulsivas surgen cuando la nube de gotas cargadas similarmente de iones circundantes comienza a traslaparse. (B) Fuerzas repulsivas estéricas surgen cuando los grupos hidrofílicos de moléculas adsorbidas en la superficie de las gotas comienzan a traslaparse (Fisher y Parker, 1989).

Una partícula con una superficie cargada uniformemente puede causar una distribución desigual de los iones de la solución, formando una doble capa eléctrica sobre su superficie. Los iones con carga opuesta a la de la partícula (contraiones) se acumulan cerca de su superficie, en una concentración que decrece con la distancia. Esta distribución de contraiones se denomina atmósfera iónica (Figura 1.5).

La magnitud y signo de la carga eléctrica en una gota de emulsión depende del tipo de emulsificante utilizado para estabilizarla, la concentración del emulsificante en la interface, y las condiciones del medio que prevalece (pH, temperatura y fuerza iónica). La interacción electrostática entre gotas cargadas similarmente es repulsiva y éstas evitan que las gotas más cercanas puedan agregarse (McClements, 1999).

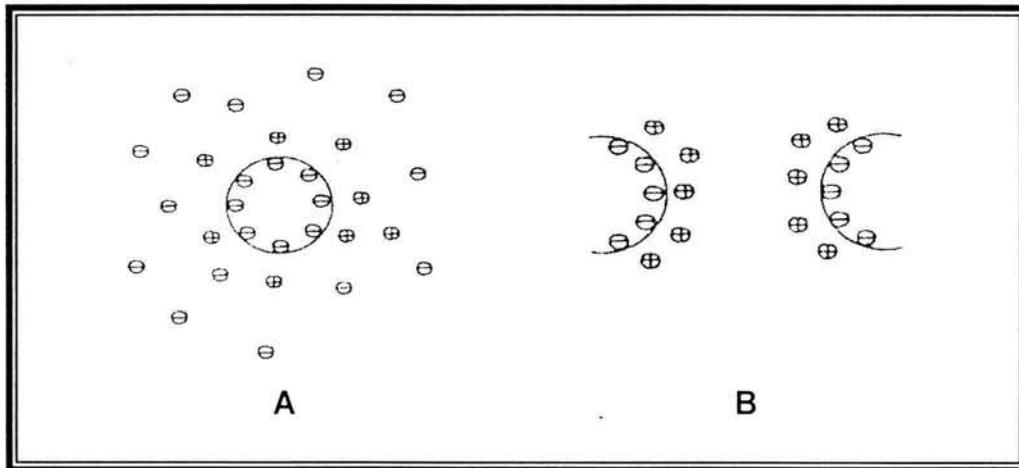


Figura 1.5 Interacciones entre (A) iones y (B) en una atmósfera iónica (Dominic, 1989)

La estabilidad de una emulsión puede por lo tanto considerarse como dependiente del balance entre las fuerzas de atracción y de repulsión. Una diferencia muy importante entre las fuerzas atractivas y repulsivas es su variación en función de la distancia. El potencial neto es siempre atractivo, tanto a distancias cortas como largas. En una cierta zona intermedia, la repulsión puede ser mayor que la atracción, existiendo una cierta estabilidad, dependiendo de la magnitud del potencial neto (Dominic, 1989).

CARACTERISTICAS GENERALES DE INTERACCIONES ELECTROSTATICAS

1. Las interacciones electrostáticas pueden ser repulsivas o atractivas dependiendo del signo de la carga de las gotas. La interacción es repulsiva cuando las gotas tienen cargas similares (lo cual es usualmente el caso), pero es atractiva cuando ellas tienen cargas opuestas.

2. La fuerza de la interacción disminuye con la separación de las gotas y puede ser en un intervalo grande o pequeño dependiendo de la fuerza iónica de la solución electrolítica circundando las gotas.
3. La fuerza de la interacción es proporcional al tamaño de las gotas en la emulsión.
4. La fuerza de la interacción depende de las características eléctricas de la superficie de las gotas (el número de moléculas de emulsificante adsorbidas por unidad de área superficial, el número de grupos ionizables por molécula de emulsificante y la concentración de iones determinando el potencial en la fase acuosa, por ejemplo, H^+ o OH^-).
5. La interacción llega a ser difícil para predecir cuando la asociación-disociación de grupos ionizables o adsorción-desorción de emulsificantes iónicos ocurre, especialmente en separación de gotas cercanas

Es de gran interés tener conocimiento de la importancia de cada uno de los diferentes tipos de iones para determinar la carga eléctrica sobre las gotas de emulsiones, ya que dependiendo de la magnitud de esta carga depende la estabilidad de las emulsiones a agregarse y por lo tanto una gran influencia en su apariencia, textura, gusto y por supuesto en su estabilidad (McClements, 1999).

1.4 INTERACCIONES PROTEINA-POLISACARIDO EN UN MEDIO ACUOSO

Las diferentes interacciones entre proteínas-polisacáridos se distinguen en tres casos:

- 1.- Asociación fuerte: la proteína y el polisacárido asumen juntos un enlace irreversible sobre el tiempo de experimentación, esto incluye proteínas enlazadas covalentemente a polisacáridos como complejos electrostáticos fuertes (polisacárido aniónico + proteína a $pH < pI$).
- 2.- Asociación débil: la atracción proteína-polisacárido es relativamente débil y por lo tanto la asociación es potencialmente reversible, este incluye complejos electrostáticos débiles y no iónicos (polisacárido aniónico + proteína a $pH > pI$).

3.- No-asociación: la interacción proteína – polisacárido es repulsiva o insignificante. Este incluye soluciones que contienen mezclas de proteínas y polisacáridos cargados o no iónicos exhibiendo incompatibilidad termodinámica.

Estas tres categorías son útiles para entender los diferentes fenómenos fisicoquímicos en coloides conteniendo proteína y polisacárido, aunque es reconocido que no hay divisiones definidas entre estas categorías y que existen casos dudosos entre asociaciones débiles y fuertes, así como asociaciones y no asociaciones (Dickinson y Euston, 1991).

Las disoluciones acuosas de mezcla de biopolímeros son susceptibles a la separación de fases por uno de dos mecanismos alternativos denominados coacervación compleja o incompatibilidad termodinámica (Darling y Birkett, 1987). La coacervación compleja se presenta entre dos polímeros con cargas opuestas, debido a una atracción electrostática. La complejación ocurre entre proteínas y polisacáridos aniónicos por abajo del punto isoeléctrico de la proteína y a fuerzas iónicas bajas.

Interacciones electrostáticas entre polisacáridos aniónicos y proteínas cargadas positivamente pueden ocurrir a pH por arriba del punto isoeléctrico de la proteína, por ejemplo; un polisacárido sulfatado (carragenina) y proteínas pueden formar un complejo a valores de pH por arriba del punto isoeléctrico.

En general, los polisacáridos que contienen grupos carboxílicos no forman complejos con proteínas globulares a $\text{pH} > \text{pI}$ de la proteína (Dickinson y Euston, 1991), pero los polisacáridos sulfatados altamente cargados (e.g., dextrana sulfatada) pueden formar complejos solubles con algunas proteínas (e.g., albúmina sérica de bovino, BSA a $\text{pH} = 8$) a valores arriba del pI. Un ejemplo de esto es la carragenina que forma un complejo estable con las proteínas lácteas a través de interacciones electrostáticas entre los aniones sulfatados y las numerosas cargas positivas localizadas en la superficie de las micelas de la caseína (Dominic, 1989).

En contraste con la termodinámica de mezcla de líquidos de pequeñas moléculas, donde los efectos entrópicos normalmente tienen un papel predominante, el comportamiento de mezclas de polímeros en equilibrio es

principalmente controlada por contribuciones entálpicas de la interacción segmento-segmento. La presencia de una interacción repulsiva (endotérmica) desfavorable entre segmentos de polímeros químicamente diferentes en solución conduce en una alta probabilidad a la exclusión mutua de cada componente polimérico de la proximidad local de la otra. A una concentración polimérica suficientemente alta, la repulsión neta entre las dos especies de soluto en el nivel molecular causa al sistema una separación espontánea en dos fases distintas. Este fenómeno conocido como incompatibilidad termodinámica es comúnmente exhibido por mezcla de soluciones semidiluidas o concentradas de proteína-polisacárido.

La incompatibilidad termodinámica para soluciones mezcladas de proteína y polisacáridos toma lugar a fuerzas iónicas altas y/o pH por arriba del punto isoeléctrico de la proteína. Cuando la concentración del polímero está por arriba de la concentración crítica una de las fases es rica en un polímero y la otra fase por el otro polímero (Benichou y col., 2002).

Las proteínas y polisacáridos forman sistemas de dos fases únicamente bajo ciertas condiciones, las cuales inhiben interacciones macromoleculares entre diferentes tipos y promueven asociación entre el mismo tipo. Con polisacáridos aniónicos, la tendencia hacia la incompatibilidad es fuertemente afectada por el pH y la fuerza iónica en general, la incompatibilidad aumenta al incrementar la concentración de sales debido a la gran protección de cargas eléctricas. En ausencia de adición de algunos polielectrólitos generalmente los efectos electrostáticos perturban el comportamiento de fase termodinámica hacia la situación de una fase homogénea

Para polisacáridos conteniendo grupos carboxilo la compatibilidad disminuye cuando el pH esta por debajo del punto isoeléctrico de la proteína, mientras que para algunos con grupos sulfatados la compatibilidad es enteramente dependiente de una fuerza iónica. En todos estos casos la compatibilidad termodinámica disminuye cuando aumenta la concentración de sal y la temperatura. La compatibilidad termodinámica de proteínas con polisacáridos neutros disminuye cuando el pH se aproxima al punto isoeléctrico de la proteína y cuando el peso molecular del polisacárido se incrementa.

En el caso de los polisacáridos aniónicos alrededor del punto isoeléctrico de las proteínas hay una región correspondiente a la completa incompatibilidad termodinámica y el sistema se separa en dos fases. La compatibilidad de proteínas con polisacáridos aniónicos disminuye en el siguiente orden:

Pectina > carboximetilcelulosa > alginato de sodio > goma arábica > sulfato de dextran (Dickinson y McClements, 1996).

La mayoría de las fuerzas responsables para interacciones entre proteínas y polisacáridos ácidos son de naturaleza electrostática. Los coacervados electrostáticos son formados cuando los polisacáridos aniónicos son mezclados con proteínas cargadas positivamente a una fuerza iónica razonablemente baja, bajo estas condiciones la entalpía de la mezcla es exotérmica y una fuerte interacción electrostática mantiene juntas las moléculas de proteína y polisacárido (McClements, 1999).

1.4.1 COMPLEJO INTERFACIAL PROTEINA-POLISACARIDO.

Los polisacáridos alimenticios por si mismos no se adsorben suficientemente fuerte en la interfase aceite-agua; cualquier polisacárido a menudo da únicamente una estabilización secundaria a través de un espesamiento o estructuración de la fase continua acuosa. En adición dependiendo de la naturaleza química del biopolímero involucrado y en las condiciones del disolvente un complejo interfacial proteína-polisacárido puede incrementar o disminuir la estabilidad con respecto a cremado, floculación o coalescencia. Donde la interacción es netamente repulsiva, la emulsión es susceptible a aumentar el cremado e inestabilidad debido a la floculación de gotas por un mecanismo de agotamiento.

Cuando la proteína y el polisacárido están presentes durante la emulsificación, la presencia de incompatibilidad termodinámica incipiente entre los dos biopolímeros, puede incrementarse la cantidad de proteína adsorbida, consecuentemente teniendo una influencia sobre la distribución del tamaño de gota y la estabilidad de la emulsión a largo plazo.

Muchas de las investigaciones sobre la interacción de proteínas con polisacáridos aniónicos es concerniente con la producción de complejos proteína-polisacárido aniónico electrostáticamente insoluble (McClements, 1999).

1.5 APLICACION INDUSTRIAL DE COMPLEJOS PROTEINA-POLISACARIDO

Los complejos de los biopolímeros han sido usados por muchos años en la industria de alimentos, biotecnología, medicina, farmacia y la industria de cosméticos. Las principales aplicaciones de estos sistemas son: (1) purificación de macromoléculas, (2) microencapsulación de moléculas activas, y (3) usados directamente en nuevos materiales, como ingredientes (formulación de alimentos) o como biomateriales (protección y empaqueo de alimentos, injertos en la medicina) (Benichou y col., 2002).

Los complejos proteína-polisacárido generalmente exhiben diferentes propiedades funcionales en alimentos (hidratación, estabilización en la interfase, agregación y gelificación).

Las interacciones proteína-polisacárido permiten controlar procesos alimenticios por dos principales razones. Primero, la estructura, la reología y otras propiedades fisicoquímicas de muchos alimentos procesados que son determinantes del comportamiento de componentes polisacáridos y proteínas. Segundo, como un resultado de investigaciones fuera de este campo, nuevos métodos de aislamiento de proteína e incorporación en nuevos productos han sido desarrollados (Tolstoguzov et al., 1986). Diversas aplicaciones en alimentos de complejos proteína-polisacárido han sido patentadas y se muestran en el Cuadro 1.4

1.6 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE EMULSIONES

En general las propiedades de una emulsión dependen en gran medida de las propiedades de la fase continua (dispersión de la mezcla proteína-polisacárido para una emulsión aceite-agua) y de la relación entre la fase continua y fase dispersa. Algunas propiedades de las emulsiones son:

Cuadro 1.4 Aplicaciones patentadas de complejos proteína-polisacárido para uso en la industria de alimentos.

PROTEINA	POLISACARIDO	APLICACION
Caseína, proteína de levadura, soya y leche en polvo.	Pectina, alginatos	Sustituto de carne.
Proteínas de suero, soya, huevo y caseína.	CMC	Sustituto de aceite.
Proteínas de suero de leche.	Goma xantana	Sustituto de carne.
Proteínas de aislado de soya.	Goma xantana	Sustituto de carne.
Proteínas de soya.	Goma xantana	Reemplazo de grasa.
Proteína de albúmina huevo.	Goma xantana	Reemplazo de grasa.
Gelatina.	Goma acacia.	Reemplazo de grasa.
Proteína de leche descremada.	Goma xantana, guar, locust bean, carrageninas	Reemplazo de grasa.
Proteínas de semillas.	Almidón.	Reemplazo de grasa.
Proteínas de leche.	Carrageninas, goma locust bean.	Reemplazo de grasa.
Proteínas de soya, suero de leche, caseína, albúmina.	Alginato, pectina, gellan.	Sustituto de crema.
Proteína de trigo y cebada.	Goma guar, acacia, pectina.	Conservador

Benichou y col., 2002

1.6.1 TENSION SUPERFICIAL

Es bien sabido que existen fuerzas atractivas de van der Waals de corto alcance entre las moléculas y que éstas son responsables de la existencia del estado líquido. Las moléculas que están situadas en el seno de un líquido, están sometidas a fuerzas iguales de atracción en todas direcciones, mientras que las que están situadas, por ejemplo, en una interfase líquido-aire experimentan fuerzas atractivas no equilibradas con un empuje resultante hacia el interior del líquido, con lo cual las burbujas de aire que se encuentran en la superficie pasarán al interior del líquido y tenderán a contraerse de forma espontánea, razón por la cual las gotas de líquido y las burbujas de gas tienden a tomar una forma esférica, puesto que la esfera tiene la mínima relación superficie-volumen. El mismo razonamiento puede aplicarse a un sistema aceite-agua. Las moléculas de aceite tienen a mantenerse en la fase lipídica. Consecuentemente,

se requiere el aporte de trabajo para dispersar las moléculas de aceite en una disolución acuosa. (Dominic, 1989).

Las moléculas tienden a moverse hacia el interior de la masa acuosa, puesto que una molécula de agua en esta posición tiene una energía potencial menor que en la interfase. Esta fuerza que impulsa a la molécula de agua situada en la superficie a moverse hacia el interior se denomina tensión superficial.

La tensión superficial (γ_s) de un líquido se define como la fuerza en dinas que actúa perpendicular a cualquier línea de 1 cm de longitud en la superficie del líquido y tiene las unidades de dinas.cm^{-1} .

1.6.2 TENSION INTERFACIAL

En la interfase entre dos líquidos inmiscibles existirá un desequilibrio de fuerzas intermoleculares; esto da origen al fenómeno de tensión interfacial. Las tensiones interfaciales se encuentran normalmente entre las tensiones superficiales individuales de los líquidos en cuestión. La formación de una emulsión exige el aporte de energía para formar la dispersión de gotas en la fase continua. Esta energía (δW) se representa por la Ecuación 1:

$$\delta W = \gamma_s \delta \sigma \quad (1)$$

en la que γ_s es la tensión superficial y σ el área superficial.

Obtener una emulsión fina implica reducir el tamaño de las gotas y por lo tanto aumentar el área superficial. En consecuencia, es necesaria más energía para mantener una emulsión finamente dividida, lo que quiere decir que la formación de una emulsión es un proceso termodinámicamente desfavorable. Sin embargo, sí puede hacerse más pequeño el valor de γ_s en la ecuación anterior, la energía necesaria para producir una emulsión dada también disminuye. Reducir la tensión superficial en la interfase mejora la emulsificación, lo que es precisamente uno de los papeles principales de los surfactantes (Dominic, 1989).

La tensión interfacial de un sistema binario (hidrocarburo + agua) usualmente se sitúa entre la tensión superficial de los dos líquidos puros a la misma temperatura. La tensión interfacial en la interfase hidrocarburo + agua es del

orden de 50 mN m^{-1} . La fase aceite en una emulsión alimenticia es una mezcla de triglicéridos y pequeñas cantidades de otros líquidos, muchos de los cuales son de superficie activa. La tensión en la interfase triglicérido puro y agua es del orden de 25 mN m^{-1} . En la interfase entre agua y aceite en un alimento típico, la tensión puede ser menor de 10 mN m^{-1} (Dominic, 1989).

La goma tragacanto tiene un gran efecto sobre la viscosidad de la fase acuosa, se ha demostrado que es un emulsificante bifuncional ya que además de incrementar la viscosidad de la fase acuosa, disminuye la tensión interfacial entre el aceite y el agua (ejemplo, para una concentración de 0.25% - 0.5% de goma tragacanto la tensión superficial es de 56.6 – 51.1 dinas/cm respectivamente, mientras, que la tensión interfacial es de 21 – 19 dinas/cm) (Stephen y Churms, 1995).

1.6.3 pH

El pH es una propiedad de gran importancia en la elaboración de emulsiones, para obtener una buena emulsión es necesario ajustar el pH dependiendo del tipo de emulsificante o estabilizante usado en la preparación de emulsiones ya que de éste depende el tipo de interacciones que se pueden llevar a cabo así como el mecanismo de estabilización de emulsiones.

1.6.4 TAMAÑO DE PARTICULA

El tamaño de partícula “expresa” el diámetro de los glóbulos de la fase dispersa. Si el tamaño de partícula no es uniforme, se utiliza el tamaño promedio, para denotar el tamaño de glóbulo de la emulsión o el intervalo de tamaños. El valor más pequeño y más grande de tamaño de glóbulo, delimitan el intervalo presente en la emulsión.

Si todas los glóbulos en una emulsión son del mismo tamaño, la emulsión es llamada monodispersa, pero si hay un intervalo de tamaños presentes, la emulsión es llamada polidispersa (McClements, 1999).

El tamaño de partícula depende del tipo y cantidad de emulsificante, de la manera de preparar la emulsión y del orden de adición de los ingredientes. Un tamaño de partícula uniforme y fino es utilizado como un indicador de una buena

estabilidad. El tamaño de glóbulo de una emulsión puede estimarse por su apariencia según el Cuadro 1.5

Cuadro 1.5 Apariencia de una emulsión de acuerdo con el tamaño de partícula.

TAMAÑO DE PARTICULA (μm)	APARIENCIA
Mayor a 1	Emulsión blanca-lechosa
de 0.1 a 1	Emulsión blanca-azul
de 0.5 a 0.1	Emulsión gris
0.05 y menores	Emulsión transparente.

(Lynch y Griffin, 1974)

1.6.5 FRACCION VOLUMEN DE LA FASE DISPERSA

La concentración de gotas en una emulsión usualmente se describe en términos de la fracción volumen de la fase dispersa (ϕ), la cual es igual al volumen de gotas en la emulsión (V_D) dividido por el volumen total de la emulsión (V_E). La fracción volumen de la fase dispersa es de nuestro interés debido a que la concentración de gotas influye sobre la apariencia, textura, estabilidad, sabor, reología y costo de las emulsiones alimenticias.

La fracción volumen de la fase dispersa de una emulsión es siempre la misma si la concentración de los ingredientes usados para su elaboración es bien controlada; sin embargo, puede haber variaciones cuando las gotas son acumuladas tanto en el fondo como en la superficie de la emulsión debido a una sedimentación o cremado de la emulsión o bien, haber variación si las condiciones de elaboración no fueron controladas en su totalidad por lo que es importante contar con técnicas analíticas para medir la fracción volumen de la fase dispersa (McClements, 1999).

1.6.6 CONDUCTIVIDAD ELECTRICA

La conductividad de una emulsión depende de la conductividad de la fase externa. Una emulsión de aceite / agua es buena conductora de la electricidad; una emulsión agua / aceite es poco conductora (Adamson, 1982). Por esta razón, la conductividad se utiliza para identificar el tipo de emulsión.

De acuerdo con Kato y col. (1985), su método de conductividad está basado en el principio de que la conductividad de una emulsión aceite / agua incrementa como una función del tiempo debido al cremado de glóbulos de grasa. Estos glóbulos son no conductores con respecto a una mezcla agua-proteína, la cual sí es buena conductora (Webb y col., 1970).

1.6.7 CARGA ELECTRICA DE LAS GOTAS

Es de gran interés el predecir, controlar y medir la carga de las gotas pero esto es difícil debido a la complejidad de su composición y la falta de teorías convenientes. Sin embargo, hay un buen conocimiento de los factores en los cuales influye la carga y el efecto de las gotas en la estabilidad y reología de emulsiones. Debido a esto se han desarrollado una variedad de técnicas experimentales para medir la magnitud y signo de la carga sobre gotas de emulsiones (Athey, 1991).

La fase dispersa de prácticamente todas las emulsiones, exhibe una carga eléctrica que puede determinarse por electroforesis. Esta carga eléctrica puede ser causada por la disociación de uno de los ingredientes o, en el caso de emulsiones no iónicas, puede causarse por fricción eléctrica. La carga eléctrica es mayor en sistemas iónicos que en los no iónicos, la cantidad de algunos o todos ellos y su equilibrio adsorción–desorción afectan el potencial zeta percibido (Athey, 1991).

1.6.8 POTENCIAL ZETA

Los coloides están presentes en muchos sistemas y la medición del potencial zeta puede ser utilizado para su conocimiento y control, entre ellos pueden incluirse sistemas biológicos como la sangre, sistemas funcionales como las pinturas o sistemas complejos como los alimentos. En cada caso las propiedades físicas y cualidades de la suspensión son afectadas por las propiedades del coloide. Por su tamaño microscópico, las fuerzas de unión en la superficie del coloide y el líquido son las que determinan su comportamiento. Uno de los mayores efectos de la superficie son los efectos electrocinéticos. Cada coloide tiene una carga eléctrica que puede ser de naturaleza negativa o

positiva, éstas cargas producen fuerzas de repulsión electrostáticas entre las partículas coloidales vecinas. Si la carga es suficientemente elevada los coloides permanecen discretos, dispersos y en suspensión. Reduciendo o eliminando éstas cargas se obtiene el efecto opuesto y los coloides se aglomeran y sedimentan fuera de la suspensión (Zeta-meter Inc.).

Es de gran utilidad usar el modelo de la doble capa eléctrica para visualizar la atmósfera iónica en la proximidad del coloide cargado y para explicar cómo actúan las fuerzas eléctricas de repulsión. La doble capa se compone primero de una capa llamada de Stern donde el coloide altamente negativo atrae a los contra-iones (positivos) formando una capa rígida alrededor la superficie del coloide, posterior a esta capa encontramos la capa difusa, donde los contra-iones siguen siendo atraídos por el coloide negativo y siendo rechazados por la capa de Stern, y formando la capa difusa. Los contra-iones tienen una alta concentración cerca de la superficie, la cual disminuye gradualmente con la distancia hasta que se logra un equilibrio con la concentración de los contra-iones en el seno de la disolución. En forma similar, aunque opuesta, en la capa difusa hay un déficit de co-iones (negativos) que tienen la misma carga que el coloide. Su concentración se incrementa gradualmente al alejarse del coloide, mientras que las fuerzas repulsivas del coloide son compensadas por los iones positivos hasta alcanzar el equilibrio. El espesor de la doble capa depende del tipo y concentración de los iones de la disolución (Zeta-meter Inc.).

El coloide negativo y su atmósfera cargada positivamente producen un potencial eléctrico relativo a la disolución. Un punto de particular interés es el potencial donde se unen la capa difusa y la de Stern. Este potencial es conocido como Potencial Zeta. El potencial zeta puede ser una manera efectiva de controlar el comportamiento del coloide puesto que indica cambios en el potencial de la superficie y en las fuerzas de repulsión entre los coloides (Zeta-meter Inc.). Cuando el potencial zeta es relativamente alto (mayor a $|25 \text{ mV}|$), las fuerzas repulsivas exceden las fuerzas atractivas de London las partículas están dispersas y el sistema no floclula. Cuando el potencial zeta es bajo (menor a $|25 \text{ mV}|$), las fuerzas atractivas exceden las fuerzas repulsivas provocando la floclulación (Roland, 2003).

1.7 ESTABILIDAD DE LAS EMULSIONES

La estabilidad de una emulsión es evidenciada por la retención de la apariencia original, de la viscosidad y olor, bajo condiciones de almacenamiento y agitación. Una estabilidad pobre, excepto por la falta de color y olor, es causada generalmente por la coalescencia de partículas dispersas (Lynch y Griffin, 1974).

Uno de los factores que influyen en la estabilidad de las emulsiones contra la floculación, es el tipo de emulsificante empleado. En el caso de emulsiones estabilizadas con compuestos de baja masa molecular, como los electrolitos, las sustancias tenso-activas tipo detergentes, la velocidad de floculación está influenciada por las fuerzas de atracción de London - van der Waals y por la repulsión electrostática entre las dobles capas de igual signo existentes en las superficies de las gotas. Sin embargo, en el caso de emulsiones estabilizadas con agentes macromoleculares como son las proteínas y las gomas, que es caso de las emulsiones alimenticias, la velocidad de floculación se ve afectada por factores estéricos. Estos polímeros no son absorbidos en su totalidad en la superficie de las gotas y sólo algunos segmentos de la molécula son adsorbidos, por lo que una gran variedad de mecanismos fisicoquímicos son responsables de alteraciones en las propiedades de una emulsión. Los mecanismos físicos más importantes responsables de la estabilidad de emulsiones son mostrados en la Figura 1.6

La inestabilidad en emulsiones puede ser clasificada en cuatro categorías:

a) Cremado y sedimentación: El cremado describe el movimiento de gotas hacia la superficie debido a que tienen una menor densidad que el líquido a su alrededor, mientras que la sedimentación describe movimientos de las gotas hacia abajo debido a que tienen mayor densidad que el líquido a su alrededor. Por ejemplo, cuando la densidad de las dos fases es diferente, éstas tienden a separarse por el proceso de cremación de manera análoga a la separación de la crema de la leche.

b) Floculación: Esta ocurre cuando dos o más gotas se unen para formar un agregado en el cual las gotas retienen su integridad individual. Es decir, la agregación de gotas a través de la interacción entre macromoléculas adsorbidas. Esto generalmente modifica las propiedades físicas de la emulsión y

especialmente las propiedades reológicas así como la distribución del tamaño de partícula.

c) Coalescencia: Es el proceso donde dos o más gotas se fusionan para formar una sola gota, es decir, un incremento en el tamaño de la gota en cual en el límite se produce la separación de la fase acuosa y oleosa.

d) Inversión de fase: Es decir, el cambio de una emulsión aceite / agua a una emulsión agua / aceite, cuando el volumen de la fase aceite es suficientemente alto como en el caso de mayonesas o margarinas.

Estos procesos no son independientes uno del otro, ya que para llegar a la coalescencia debe haber un incremento en el volumen de la fase por cremado.

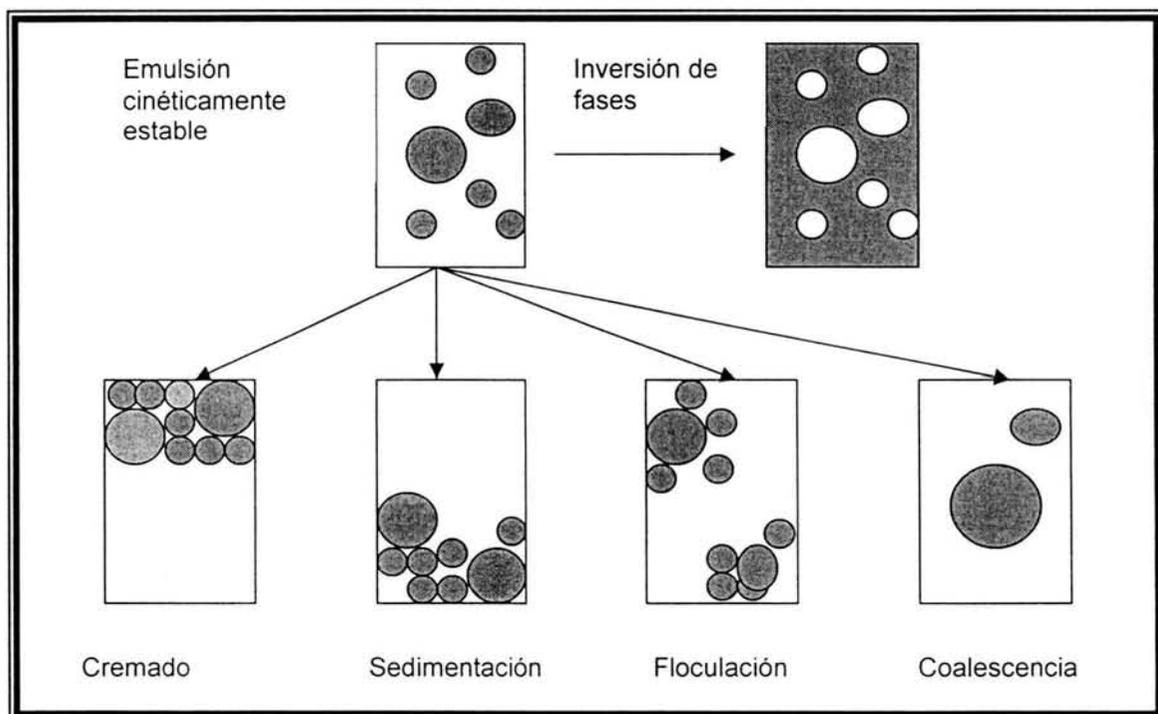


Figura 1.6 Mecanismos físicos de estabilidad en una emulsión (McClements, 1999).

1.8 FACTORES QUE AFECTAN LAS PROPIEDADES REOLOGICAS DE EMULSIONES

Es evidente que existe un gran número de variables que pueden afectar las propiedades reológicas de las emulsiones: Las emulsiones consisten por lo menos de dos fases: a) la fase continua y b) fase dispersa. Sin embargo, la

presencia de un emulsificante y/o agente estabilizador afecta la naturaleza de las interacciones en la interfase; la cual puede ser considerada como una tercer fase. Así, algún factor que influye en el comportamiento reológico de alguna de las fases, y específicamente en el grado de interacción entre algunas o todas ellas, tendrá una influencia significativa sobre las propiedades reológicas de una emulsión (McClements, 1999).

1.8.1 PROPIEDADES DE LA FASE DISPERSA

Las principales factores de la fase dispersa que determinan las propiedades reológicas de una emulsión, son las siguientes:

- 1.- La fracción volumétrica de las partículas.
- 2.- El grado de floculación o agregación.
- 3.- El tamaño y distribución del tamaño de partícula.
- 4.- La forma de la partícula.
- 5.- La viscosidad superficial.
- 6.- La composición química.

La situación es complicada en el caso de emulsiones concentradas, excepto para sistemas muy diluidos, porque muchos de estos factores interactúan entre sí, haciendo extremadamente complicado, casi imposible, aislar la influencia cuantitativa de cada factor. Además, es extremadamente complicado formular emulsiones en las cuales sólo uno de los factores varíe independientemente de los otros. Se han propuesto un gran número de teorías y estudios experimentales para dilucidar estos factores, pero generalmente se aplican a casos sencillos o especiales, y algunos contienen parámetros que no pueden evaluarse o medirse independientemente y no permiten predecir adecuadamente la influencia de los factores en la reología de las emulsiones (Darby, 1974).

1.8.2 PROPIEDADES DE LA FASE CONTINUA

El efecto de las propiedades de la fase continua sobre la reología de las suspensiones y emulsiones, no es del todo independiente de la fase dispersa. En general, la viscosidad de una emulsión es directamente proporcional a la de la fase continua. Sin embargo, la adsorción de una cantidad significativa de dispersante o emulsificador en la superficie de la fase interna, que contenga una alta concentración de emulsificador, puede ser suficiente para alterar la viscosidad efectiva de la fase continua. También, para emulsiones concentradas la fase continua pueda estar constituida por una delgada película de fluido entre las partículas suspendidas y pueden alterar las propiedades reológicas del sistema. Este es un efecto secundario, pero que debe ser considerado y evaluado de manera individual para evaluar su posible efecto en el sistema (Darby, 1974).

1.8.3 EFECTOS ELECTROVISCOSOS

Cuando las partículas en una emulsión diluida son cargadas eléctricamente, una doble capa eléctrica de iones rodea a cada partícula. Cuando son cizalladas las emulsiones, esta doble capa se distorsiona, requiriendo un incremento de energía de disipación y de aquí un incremento de viscosidad. Este efecto, es llamado el primer efecto electroviscoso, que generalmente es pequeño e insignificante, especialmente para sistemas con una constante dieléctrica baja.

En emulsiones más concentradas, la doble capa puede interactuar o superponerse, y la repulsión mutua puede causar un incremento en la viscosidad. Esto es conocido como el segundo efecto electroviscoso y se ha reportado que es proporcional a la fracción volumen de la fase dispersa e inverso a la fuerza iónica.

Este efecto se incrementa conforme disminuye el tamaño de partícula (Darby, 1974).

1.8.4 AGENTE EMULSIFICANTE

La película adsorbida de emulsificante o dispersante en la interfase de los dos fluidos tiene propiedades reológicas diferentes y distintas a las otras dos fases. Se han realizado intentos por caracterizar y medir las propiedades reológicas de la interfase. Sin embargo, las mediciones se han realizado con una interfase plana y es evidente que esta configuración es diferente a la que rodea a las pequeñas micelas de la emulsión, especialmente bajo condiciones de altas velocidades de cizalla, que da como resultado que se tengan gradientes de concentración significantes en la interfase. Además, si estas propiedades fueran conocidas, no está claro como deben ser incorporados dentro de las propiedades globales de la emulsión.

En general, la presencia de un emulsificante tiende a incrementar la rigidez de los glóbulos suspendidos, existiendo menos distorsión y menos circulación interna en los glóbulos. En algunos casos, la función principal de un emulsificante es la de incrementar la estabilidad de la emulsión, y en general, estos factores incrementan la estabilidad e incrementan las componentes viscosas y/o elásticas (Darby, 1974).

2. MATERIALES Y METODOS

2. MATERIALES Y METODOS

2.1 MATERIALES

Los polisacáridos fueron adquiridos con los siguientes proveedores:

Carboximetilcelulosa de sodio: Tipo PE32FGS de Química AMTEX, S.A. DE C.V., México con un grado de sustitución. 0.80-0.85, un pH = 7.5 en disolución al 1%.

Goma tragacanto: Tipo B-1 NF de Industrias RAGAR, S.A. DE C.V., México

λ -Carragenina: Tipo SANTIAGUM E de Proveedor Internacional de Químicos, S.A. de C.V., México con un intervalo de pH = 7 – 9.5 en disolución acuosa al 1%.

Las proteínas fueron proporcionadas por las siguientes industrias:

Caseinato de sodio: Tipo EM25 de HELM DE MEXICO, S.A., México con un pH = 6.8 en disolución al 1%.

Albúmina de huevo: INDUSTRIAS CAMPEON, S.A. de C.V.

El aceite utilizado fue aceite comestible vegetal 1-2-3 (girasol y canola).

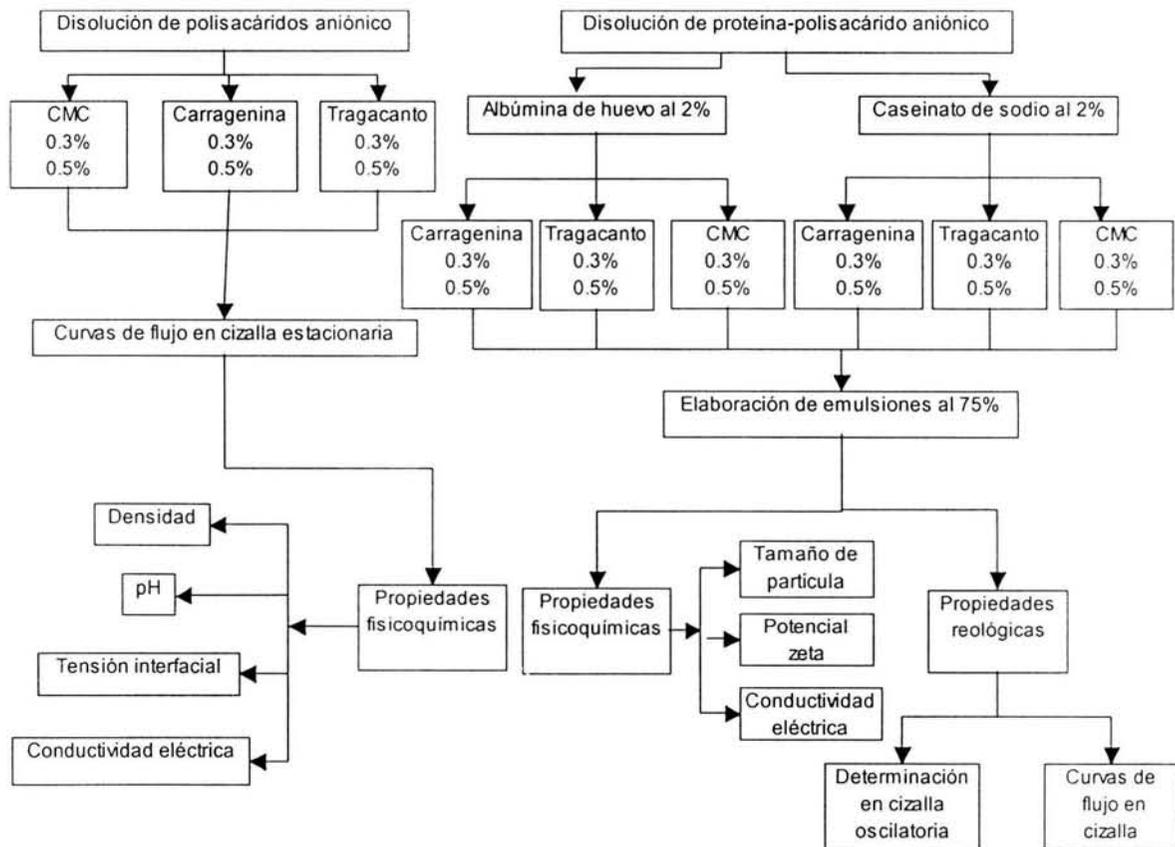
2.1.1 PREPARACION DE LAS EMULSIONES

Se prepararon emulsiones concentradas aceite/agua a partir de una mezcla de un polisacárido aniónico (Carboximetilcelulosa de sodio, Tragacanto o λ -Carragenina) a dos concentraciones (0.3 y 0.5%) y una proteína (Albúmina de huevo o Caseinato de sodio) al 2%. Sólo se varió la concentración del polisacárido para conocer el efecto que tiene el uso de polisacáridos en las propiedades fisicoquímicas y reológicas de emulsiones al mezclarse con proteínas ya que éstas últimas actúan como emulsificantes.

Se realizaron por triplicado las mezclas de proteína y polisacárido a las concentraciones mencionadas teniendo un total de 12 muestras. Todas las mezclas se hidrataron a velocidad media (\approx 1477 rpm) en una agitador de propela (Labo-Stirrer LR-41D, USA) y se dejaron aproximadamente 24 h en refrigeración a una temperatura de 10 °C para su máxima hidratación.

Se llevó a cabo una preemulsificación en un agitador de propela (Labo-Stirrer LR-41D) a velocidad media (≈ 1477 rpm) donde se incorporó el aceite por goteo lentamente. El tiempo promedio para la preemulsificación de cada muestra fue de entre 50 y 60 min. Posteriormente se completó la emulsificación en un homogenizador (Silverson L4RL, USA) a velocidad media (≈ 6040 rpm), durante 1-2 min aproximadamente controlando la temperatura a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, el tiempo de emulsificación en el homogenizador se determinó por ensayo y error, debido a que en un tiempo mayor a dos minutos las emulsiones se separaban en dos fases. Todas las emulsiones contienen un 75% vol. fase oleosa y 25% vol. fase acuosa. Las muestras preparadas se contemplan en el Cuadro 2.1 donde se indica la nomenclatura con las que se les designa.

2.1.2 DIAGRAMA EXPERIMENTAL



Cuadro 2.1 Mezclas de las proteínas y polisacáridos aniónicos con las cuales se elaboraron las emulsiones.

POLISACARIDOS ANIONICOS	PROTEINA 1 Albúmina (alb) al 2%	PROTEINA 2 Caseinato de sodio (cas) al 2%
Carboximetilcelulosa de sodio (CMC) al 0.3 y 0.5%.	CMC 0.3% - alb (1) CMC 0.5% - alb (2)	CMC 0.3% - cas (7) CMC 0.5% - cas (8)
λ - Carragenina (carr) al 0.3 y 0.5%.	carr 0.3% - alb (3) carr 0.5% - alb (4)	carr 0.3% - cas (9) carr 0.5% - cas (10)
Goma tragacanto (tra) al 0.3 y 0.5%.	tra 0.3% - alb (5) tra 0.5% - alb (6)	tra 0.3% - cas (11) tra 0.5% - cas (12)

Nota: los números en paréntesis indican la formulación para cada emulsión. Esta nomenclatura se emplea en algunos cuadros y figuras.

2.2 TENSION INTERFACIAL

La tensión interfacial de las doce disoluciones de proteína-polisacárido aniónico con el aceite, se determinó con un tensiómetro de Du Noüy, (CENCO CSC No. 70545 EUA) usado para medir tensión superficial e interfacial de líquidos, incluyendo sueros, aceites y suspensiones coloidales. Los valores de medición son reproducibles dentro de los límites de ± 0.05 dinas/cm y pueden ser obtenidos por lectura directa en la escala. El tensiómetro se calibró con disolventes puros como agua, alcohol etílico, benceno a 25 °C. La medición en las mezclas de proteína-polisacárido aniónico se realizó después de 24 h de reposo con la finalidad de alcanzar su máxima hidratación y su orientación de las macromoléculas en la interfase. El método empleado fue el del anillo y se realizaron las mediciones en la interfase entre la mezcla de proteína-polisacárido aniónico y el aceite. La mezcla de cada una de las muestra (25 mL) se colocó en un recipiente sobre la plataforma del tensiómetro, se subió la plataforma hasta que el anillo quedó sumergido de 5 a 7 mm en la mezcla. Cuidadosamente se adicionó el aceite (75 mL) sobre la superficie de la disolución. Se ajustó la posición de la plataforma hasta que el anillo estuviera en la interfase para posteriormente realizar la medición de la tensión interfacial.

2.3 pH

El pH de las disoluciones con polisacárido y de la mezcla proteína-polisacárido se midió con un potenciómetro (pH 20 Conductronic) calibrado con una solución Buffer de pH = 7 a una temperatura de 25 °C.

2.4 TAMAÑO DE PARTICULA

La distribución del tamaño de partícula en las doce emulsiones fue determinada por difracción laser usando un MALVERN "Mastersizer Microplus" (Malvern Instrument, Inglaterra). Este instrumento usa la teoría de Mie de la difracción de luz para un intervalo de 0.05 μm – 550 μm , y proporciona los resultados con base en el volumen. Las muestras se diluyeron en agua justo antes de su medición en una proporción de 1/1000 mL, donde se realizó la medición de manera directa en el total del volumen. Las mediciones se realizaron con el índice de refracción de las disoluciones de 1.336 y el del aceite de 1.4725. Los diámetros presentados son el de volumen-superficie promedio (SV) o diámetro medio Sauter ($d_{3,2}$), el diámetro medio (d_m) y el pico de la distribución de tamaño de partícula denominado como diámetro modal (d_{modal}).

Se utilizó un contador de partículas "Coulter" de BECKMAN (EUA), para medir el tamaño de partícula en las doce disoluciones de la mezcla proteína – polisacárido aniónico a temperatura de 25 °C. Las disoluciones fueron diluidas 1/100 mL justo antes de su medición. Se realizó la medición del tamaño de partícula para las disoluciones y a que algunas de las emulsiones presentaron una distribución bimodal además de que las fotografías mostraron la presencia de algunos conglomerados, queriendo con esto identificar el tamaño de partícula de los glóbulos de la emulsión.

Las fotografías fueron tomadas en un microscopio de luz compuesta "Zeiss" (West, Germany), equipado con cámara fotográfica, un ocular con lupa 10x/20. Las mediciones se realizaron con los objetivos de 16/0.40 y 40/0.75. Las fotografías fueron tomadas recién preparadas las emulsiones y diluidas en agua 1/10, esto para ver la estructura de éstas al estabilizarlas con las disolución de proteína–polisacárido aniónico.

2.5 FRACCION VOLUMEN

La fracción volumen de las emulsiones se calculó a partir de la densidad relativa mediante la Ecuación (2):

$$\phi = \frac{\rho_e - \rho_1}{\rho_2 - \rho_1} \quad (2)$$

donde ρ_e es la densidad de la emulsión, ρ_1 es la densidad de la fase continua y ρ_2 es la densidad de la fase dispersa (McClements, 1999; Buffo y Reineccius., 2002). La densidad de las soluciones, emulsiones y aceite se evaluó en el densímetro DMA 38 AP de PAAR-PHYSICA (EUA), a una temperatura de 25 °C.

2.6 CONDUCTIVIDAD ELECTRICA

Se realizó la medición de conductividad eléctrica en la disolución de cada polisacárido, en la disolución de proteínas, en las disoluciones de mezclas proteína + polisacárido aniónico y en las emulsiones con la mezcla proteína + polisacárido aniónico, todas a sus respectivas concentraciones. Las mediciones se realizaron en un conductímetro YSI Modelo 32 (EUA) con intervalo de 2 μ S a 200 mS, calibrado con un solución conductora estándar de 12880 μ S/cm a una temperatura de 25 °C. Las lecturas registradas fueron directas y se tomaron en las emulsiones recién elaboradas.

2.7 POTENCIAL ZETA

La medición del potencial zeta se realizó en un MALVERN "Zetasizer Microplus" (Malvern Instruments, Inglaterra), con un láser de 10 mW máx. salida He-Ne; 633 nm, el instrumento emplea el módulo de auto-titulación para las mediciones del potencial zeta. La medición del potencial zeta se realizó a las emulsiones recién preparadas y se realizó una dilución de 1/100 a temperatura de 25 °C, para posteriormente ser introducidas en la celda de medición.

2.8 DETERMINACIONES REOLOGICAS

Se realizaron curvas de flujo para cada polisacárido (Carboximetilcelulosa de sodio (CMC), Goma tragacanto (tra), λ -Carragenina (carr)) a concentraciones de

0.3% y 0.5%. Así como también las curvas de flujo para la disolución de las mezclas de cada polisacárido con cada una de las proteínas (albúmina y caseinato de sodio). Estas mediciones fueron realizadas en un viscosímetro RHEOMAT 115 (Suiza) con una geometría de cilindros concéntricos (diámetros del cilindro interno de 45.06 mm y cilindro externo de 48.67 mm) correspondiente a la norma DIN 145.

Se cálculo del número de Reynolds en la geometría de cilindros concéntricos para delimitar el régimen de flujo para las disoluciones de los polisacáridos aniónicos y la mezcla proteína-polisacárido aniónico con la Ecuación (Rodríguez, 1996) (3).

$$N_{Re} = \Omega R_1 R_2 \frac{\rho}{\eta} \quad (3)$$

Para cada una de las emulsiones se realizaron las curvas de flujo en dos reómetros PHYSICA MC 100, (EUA) geometría de cono y plato (radio 0.05 m, 1°, acero inoxidable) equipado con baño que permite el control de la temperatura y HAAKE RV 20, (Alemania), cilindros concéntricos DIN 40 (cilindro interno de aluminio de 0.0395 m y 0.043 m de radio externo), con un baño para regular la temperatura, para las emulsiones menos viscosas y las más viscosas respectivamente; aplicando un programa de ascenso-descenso de esfuerzo de cizalla diferente para cada muestra y se obtuvo una velocidad de cizalla correspondiente, estableciendo como máximo 1000 s^{-1} .

Para la evaluación de las propiedades viscoelásticas en las emulsiones se empleó el reómetro PHYSICA MC 100. Las pruebas reológicas se realizaron a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ por triplicado, previo a la determinación de las funciones materiales de las emulsiones, se estableció la zona de viscoelasticidad lineal para cada una a partir de un barrido de deformación a una frecuencia constante de 1 Hz (6.28 rad/s).

Para la obtención de los espectros mecánicos de las emulsiones que presentaban mayor consistencia, se utilizó el reómetro PHYSICA MC 100 a deformación constante y frecuencia variable de 0.5 – 50 Hz.

Para emulsiones que presentaban una menor consistencia se utilizó el reómetro HAAKE RV 20 controlando el esfuerzo de cizalla y una variación de frecuencia de 0.1 y 15 Hz.

En todas las determinaciones se calculó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación en su caso de la variable de respuesta de las muestras que se realizaron por triplicado.

3. RESULTADOS

3. RESULTADOS

3.1 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE DISPERSIONES Y EMULSIONES CONCENTRADAS.

3.1.1 TENSION INTERFACIAL

Los resultados de tensión interfacial medida en la interfase de la mezcla proteína-polisacárido aniónico con el aceite en la proporción 25% fase continua y 75% fase dispersa se muestran en el Cuadro 3.1. Se observó que la goma tragacanto en ambas concentraciones y con ambas proteínas reduce la tensión interfacial hasta en 50% con respecto solamente a la proteína, aunque la mezcla de goma tragacanto al 0.3% con caseína tiene menor tensión interfacial (0.0184 N/m). Aquéllas en las que no disminuyó en gran medida la tensión interfacial fueron las disoluciones de λ -carragenina en ambas concentraciones con caseína y las de CMC en ambas concentraciones con albúmina.

En el Cuadro 3.2 se presentan datos obtenidos en el laboratorio de fisicoquímica (Gutiérrez, 2004) de la tensión interfacial de las proteínas solas (caseína y albúmina) y éstas presentan una tensión interfacial mayor a diferentes concentraciones con respecto a las mezclas proteína-polisacárido aniónico y con un pH por arriba del punto isoeléctrico de las proteínas. Los datos del Cuadro 3.2 se tomaron como referencia de la tensión interfacial que tienen las proteínas utilizadas en este trabajo, para comparar la tensión interfacial una vez que éstas son mezcladas con polisacáridos aniónicos.

Las proteínas son consideradas buenos emulsificantes y reducen la tensión interfacial facilitando la emulsificación. La interacción proteína-polisacárido aniónico de las disoluciones disminuyó hasta en un 50% la tensión interfacial, en comparación con la proteína a la misma concentración, excepto en las disoluciones que contienen λ -carragenina (0.3 y 0.5%) con caseinato de sodio (ver Cuadro 3.2). Esto indica una mejor emulsificación y de manera indirecta una mayor estabilidad del sistema.

3.1.2 pH

En el Cuadro 3.1 se muestra el pH de las disoluciones de proteína-polisacárido aniónico, los valores obtenidos se encuentran en un intervalo de 6.8 – 8, este pH muy similar al que se obtiene en las disoluciones de gomas o proteínas solas. El pH de las disoluciones que contienen caseinato de sodio se mantuvo prácticamente constante independientemente a la concentración del polisacárido, mientras que las disoluciones con albúmina presentaron un mayor pH al aumentar la concentración del polisacárido. El pH del agua destilada con la que se elaboraron las disoluciones oscilaba entre 6.5 y 6.8. El valor de pH es importante ya que es uno de los factores que controlan el tipo de interacción que se lleve a cabo entre las macromoléculas, cabe mencionar que siempre se trabajó por arriba del punto isoeléctrico de las proteínas ($pI \approx 4$) en el cual éstas tienden a precipitar.

3.1.3 TAMAÑO DE PARTICULA

La distribución de tamaño de partícula, es de gran interés en emulsiones altamente concentradas debido a que esta propiedad tiene una gran relación con las propiedades reológicas de las emulsiones, ya que un elevado contenido de aceite hace que el número de glóbulos emulsionados sea elevado y éstos estén relativamente cerca uno del otro, lo que provoca un empaquetamiento de los glóbulos (Gallegos y col., 1988).

En las Figuras 3.1 y 3.2 se muestra la distribución del tamaño de partícula de las emulsiones expresados en % en volumen de la mezcla proteína (albúmina de huevo) al 2% a una concentración de polisacárido (tragacanto, CMC, λ -carragenina) del 0.3 y 0.5% respectivamente. Se muestra una distribución unimodal para todas las emulsiones excepto para la que contiene λ -carragenina a 0.3 y 0.5% en la que se tiene una distribución bimodal. La emulsión que contiene tragacanto a 0.5% presentó el diámetro modal (pico alto de la gráfica) de la partícula mayor (53.50 μm) con un 9.2 % en volumen (Figura 3.2a) y la que tiene un diámetro modal de la partícula más pequeño (17.66 μm) con un 7.7% en volumen es la que contiene λ -carragenina al 0.3% (Figura 3.1b).

Cuadro 3.1 Propiedades fisicoquímicas de disoluciones proteína-polisacárido aniónico y emulsiones concentradas aceite-agua.

Disolución (%) (25°C)	pH	Densidad relativa (20°C)	Tensión Interfacial (N/m)	Emulsión $\rho_{rel.}(20^\circ C)$	Emulsión $\rho (g/cm^3)$	Fracc. vol.de la fase dispersa(ϕ)
0.3%Tragacanto + 2% Albúmina	6.8	1.007	0.0264	0.941	0.939	0.767
0.5%Tragacanto + 2% Albúmina	7.5	1.008	0.0261	0.937	0.936	0.816
0.3%Tragacanto + 2% Caseinato	6.8	1.007	0.0184	0.939	0.939	0.791
0.5%Tragacanto + 2% Caseinato	6.9	1.007	0.0227	0.94	0.94	0.779
0.3%CMC + 2% Albúmina	7.5	1.007	0.0268	0.941	0.94	0.767
0.5%CMC + 2% Albúmina	8	1.007	0.0346	0.941	0.939	0.767
0.3%CMC + 2% Caseinato	6.9	1.006	0.0278	0.935	0.934	0.835
0.5%CMC + 2% Caseinato	6.9	1.007	0.0245	0.938	0.936	0.802
0.3%Carragenina+ 2% Albúmina	6.9	1.007	0.0249	0.941	0.939	0.767
0.5%Carragenina+ 2% Albúmina	7.2	1.007	0.0218	0.941	0.94	0.767
0.3%Carragenina +2% Caseinato	7	1.007	0.0426	0.936	0.934	0.826
0.5%Carragenina +2% Caseinato	7	1.007	**	0.932	0.931	0.872
Agua destilada	6.7	0.999	*0.0728			
Aceite		0.921	*0.0355	---	----	----
Aceite (75% vol.)+ Agua (25% vol)			0.049			

*Tensión superficial ** No determinada

Cuadro 3.2 Tensión interfacial (aire-disolución) de albúmina y caseinato de sodio a diferentes concentraciones y un pH = 8.

Concentración (%)	Albúmina (N/m)	Caseína (N/m)
0.2	0.0544	0.0486
0.3	0.0537	0.0475
0.5	0.0512	0.0475
0.8	0.0503	0.0473
1	0.0473	0.0472
1.2	0.0475	0.0470
1.5	0.0470	0.0467
2.5	0.0469	0.0456
5	0.0459	0.0456

(Gutiérrez, 2004)

En las Figuras 3.3 y 3.4 se muestra la distribución del tamaño de partícula de las emulsiones con la mezcla de proteína (caseinato de sodio) al 2% y

polisacárido aniónico (tragacanto, CMC, λ -carragenina) al 0.3 y 0.5% respectivamente, en estas emulsiones se presenta una distribución bimodal para todas. La emulsión que contiene λ -carragenina al 0.3% es la que presentó un diámetro modal de la partícula mayor (7.24 μm) con 14% en volumen (Figura 3.3c), mientras que la emulsión con tragacanto al 0.3% es la que tiene el menor diámetro modal de la partícula (3.93 μm) con un 13% en volumen (Figura 3.3a). Además se tiene que el diámetro modal de la partícula en las que contienen tragacanto al 0.3 y 0.5% se ve disminuido hasta en un 50% con respecto a los otros polisacáridos y con caseinato de sodio.

Las emulsiones que contienen albúmina de huevo presentaron un diámetro de partícula modal mayor que las que contienen caseinato de sodio, por lo que es marcada la influencia de la proteína en el tamaño de partícula obtenido de estas emulsiones, así como el tipo de polisacárido. Sin embargo, en cuanto a la concentración del polisacárido, en general presenta poca diferencia excepto para las emulsiones que contienen la mezcla albúmina - λ -carragenina. En el Cuadro 3.3 se presentan los diámetros característicos del tamaño de partícula en los sistemas (diámetro promedio superficie/volumen o diámetro Sauter medio, d_{sv} , el diámetro mediano, $d_{(v, 0.5)}$ y el diámetro modal en volumen, d_{modal}).

El diámetro d_{sv} es un valor promedio geométrico representativo de cada emulsión. En el Cuadro 3.3 el d_{sv} para la emulsión que contienen albúmina - λ -carragenina al 0.3% tiene un diámetro semejante (2.78 μm) al de las emulsiones preparadas con caseinato de sodio en especial con la que contiene también λ -carragenina sólo que esta última es al 0.5%. Mientras que las demás emulsiones que contiene la albúmina el d_{sv} está en un intervalo de 16 a 35 μm . Para las emulsiones que contienen caseinato de sodio el d_{sv} presenta un intervalo más pequeño de 1.5 a 2 μm ; esto confirma que en las emulsiones preparadas con caseinato de sodio se obtienen tamaños de partícula más pequeños, indicando una mayor estabilidad para estas emulsiones que las que contienen albúmina de huevo. Aunque las emulsiones que contienen caseinato de sodio presentaron una distribución bimodal y el % en volumen fue mayor que en las de albúmina donde el tamaño de partícula promedio fue menor en todos los casos.

Se determinó el tamaño de partícula en las disoluciones de las mezclas proteína-polisacárido para comparar los valores que se presentan en el diámetro modal 2 para describir el comportamiento bimodal de las emulsiones con caseinato de sodio. En el Cuadro 3.3 se muestran tres diámetros modales de la partícula, donde el diámetro modal 1 y 2 corresponden al pico de las emulsiones en las Figuras 3.3 y 3.4. El diámetro modal 3 corresponde al tamaño de partícula para las doce disoluciones con las que se elaboraron las emulsiones. El diámetro modal 2 y 3 presentan el mismo orden de magnitud, esto indicaría la presencia de algún conglomerado (ver Figura 3.5) formado por la interacción proteína-polisacárido aniónico perceptible al realizar la dilución de las emulsiones y que fueron registrados durante la medición.

El diámetro grande que presentaron las emulsiones que contienen albúmina pudo estar influenciado por las burbujas de aire que tienen un diámetro mayor como se observa en la Figura 3.9a y 3.12a.

En la Figura 3.5 y 3.6 las emulsiones con caseinato de sodio con cualquiera de los polisacáridos aniónicos (tragacanto, CMC, λ -carragenina) presentaron una apariencia más cremosa y más fluida, mientras que las preparadas con albúmina y cualquiera de los polisacáridos aniónicos, una apariencia espumosa.

En la Figura 3.7a se observa la presencia de conglomerados muy grandes en las muestras con albúmina y tragacanto, mientras que los glóbulos de aceite son relativamente pequeños y semejantes a los de la Figura 3.7b donde se indican los glóbulos de aceite con lo que se confirma que la presencia de conglomerados e incorporación de aire que se vió reflejado en el diámetro Sauter medio.

En la Figura 3.9a la emulsión que contiene albúmina con λ -carragenina al 0.3% en la que también se tiene incorporación de aire pero presenta un d_{sv} pequeño similar al de la emulsión preparada con caseinato de sodio y λ -carragenina al 0.5% (ver Figura 3.10a). Se puede confirmar que en general, las emulsiones preparadas con caseinato de sodio fueron más homogéneas y presentan mejor estabilidad principalmente la que contiene tragacanto al 0.3% que las que se obtuvieron con albúmina.

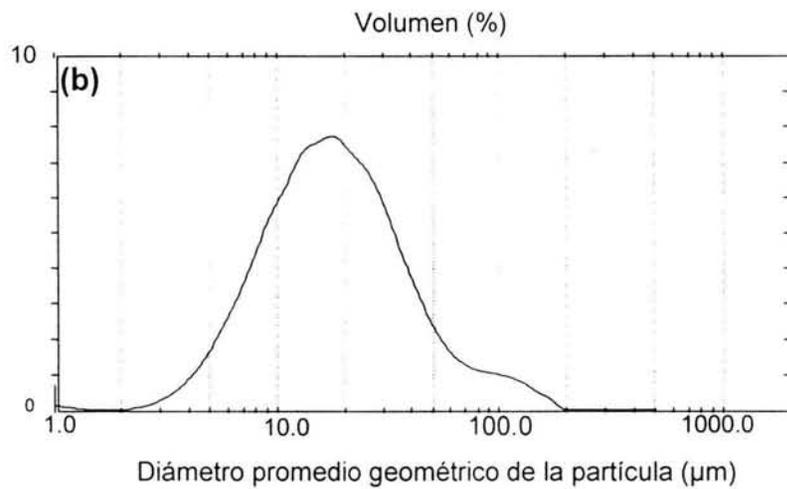
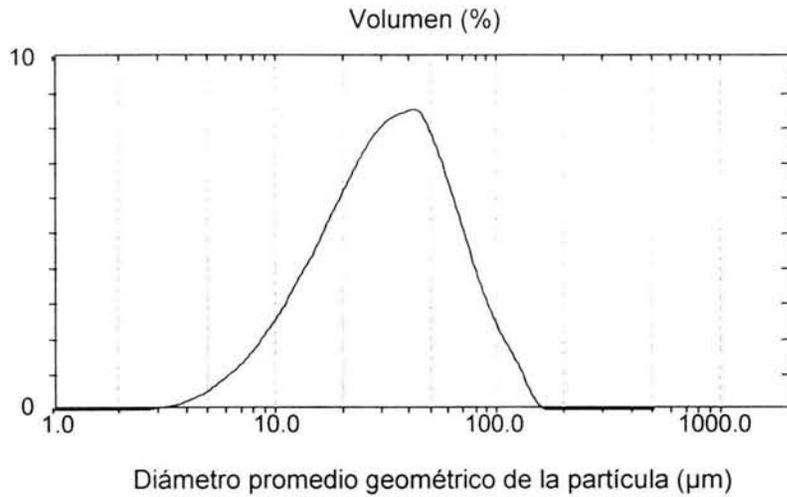


Figura 3.1 Distribución de tamaño de partícula de emulsiones a una concentración de 75% v/v estabilizadas con (a) CMC, (b) λ -carragenina, al 0.3% mezcladas con albúmina de huevo al 2%.

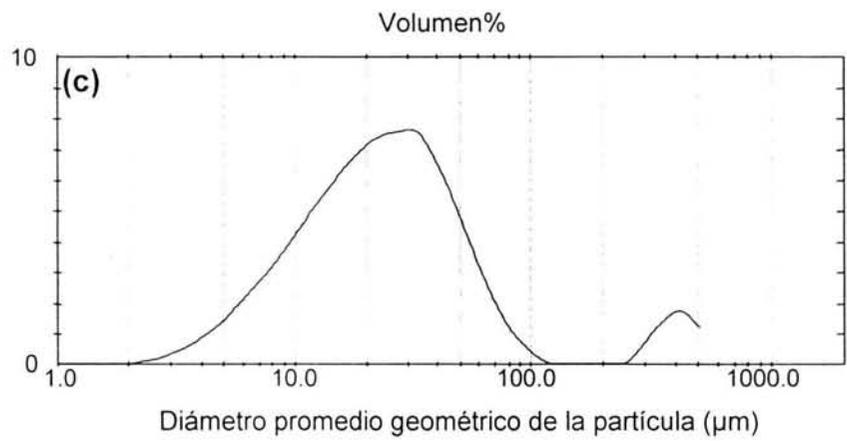
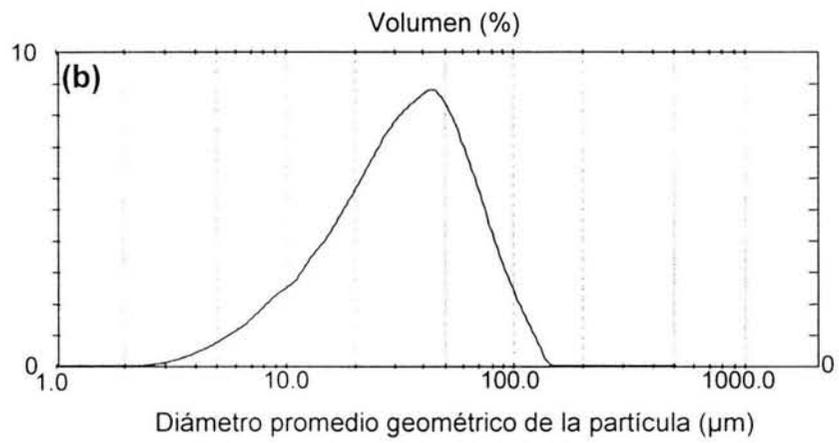
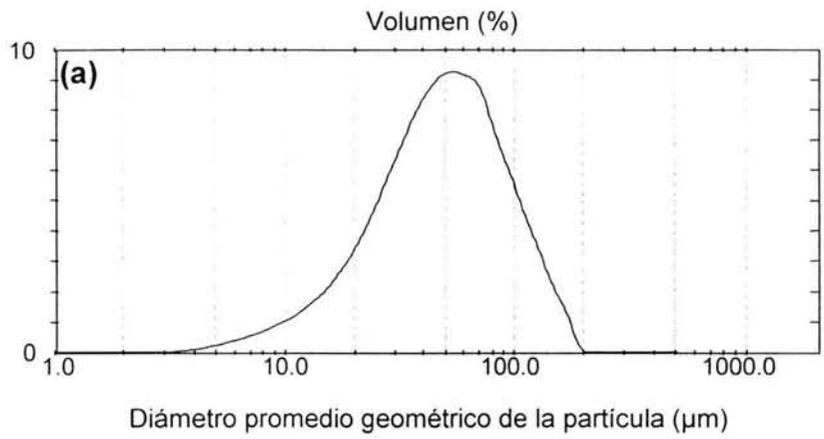


Figura 3.2 Distribución de tamaño de partícula de emulsiones a una concentración de 75% v/v estabilizadas con (a) tragacanto (b) CMC, (c) λ -carragenina, al 0.5% mezcladas con albúmina de huevo al 2%.

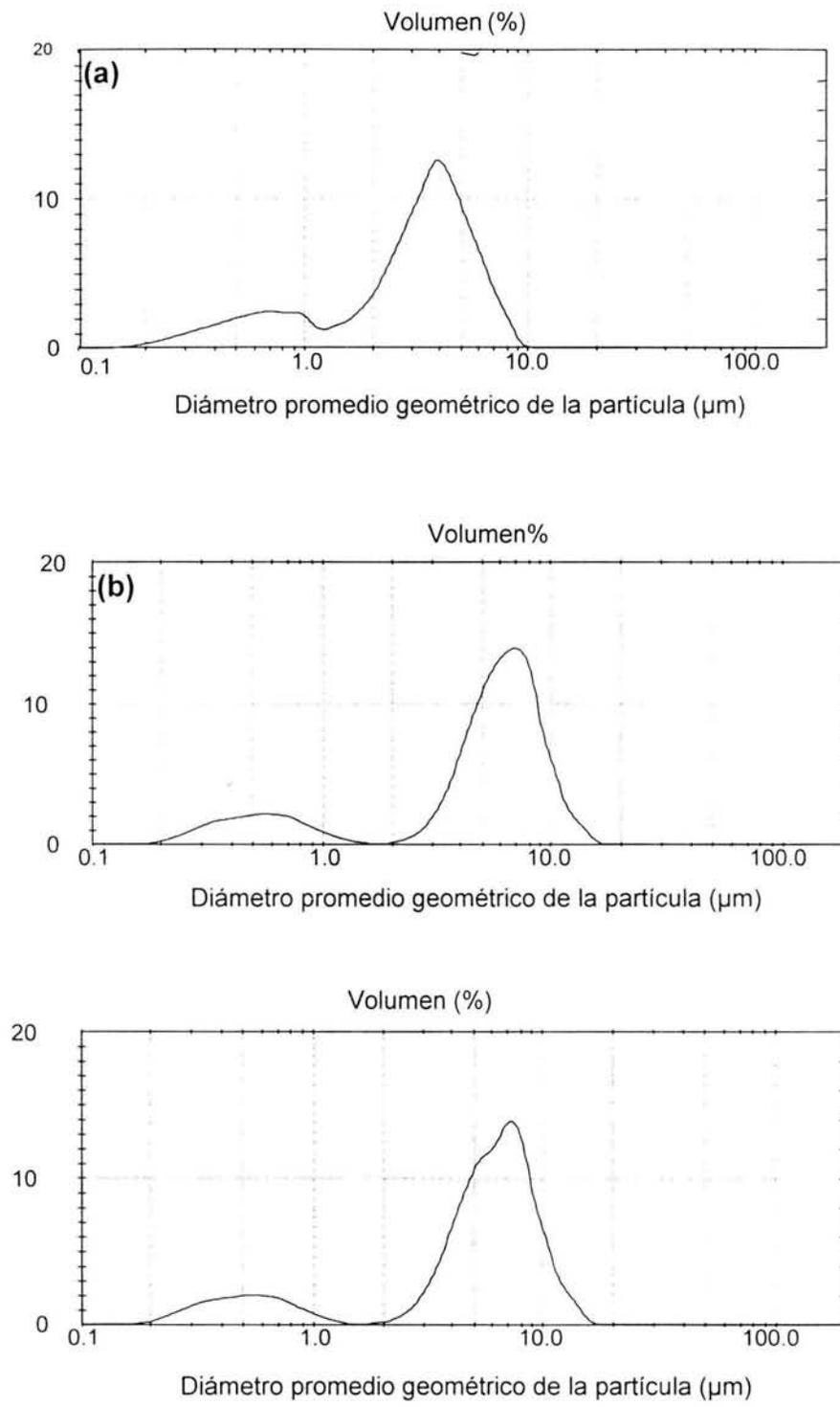


Figura 3.3 Distribución de tamaño de partícula de emulsiones a una concentración de 75% v/v estabilizadas con (a) tragacanto (b) CMC, (c) λ -carragenina, al 0.3% mezcladas con caseinato de sodio al 2%.

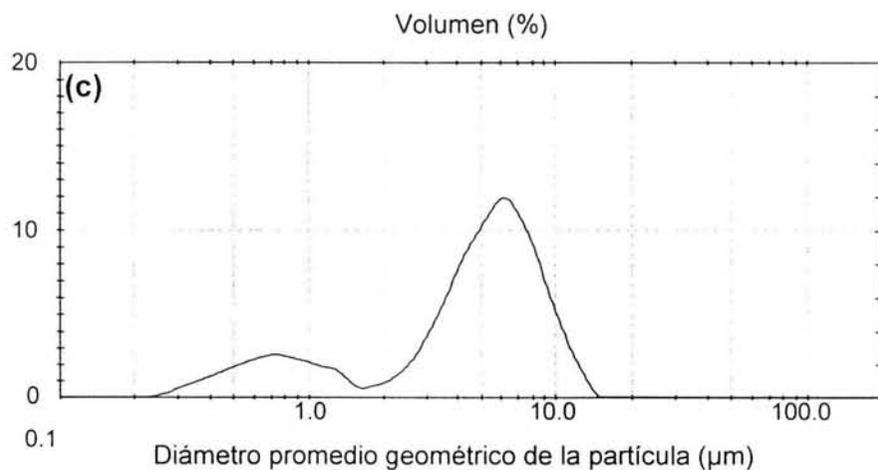
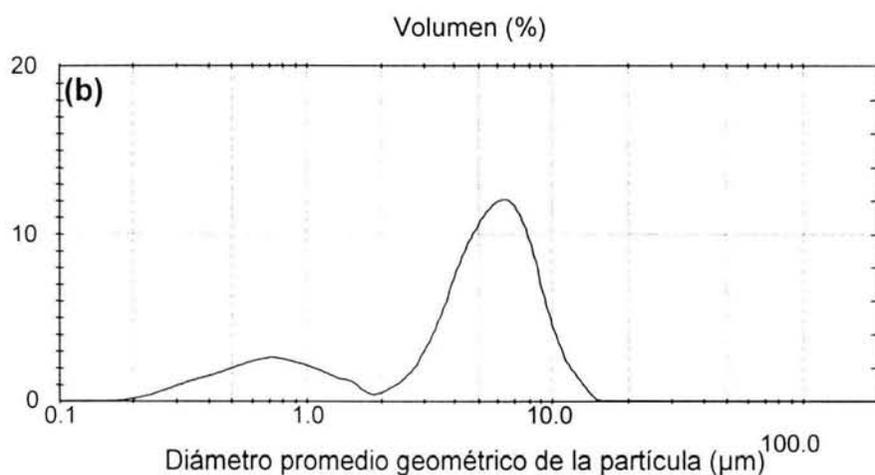
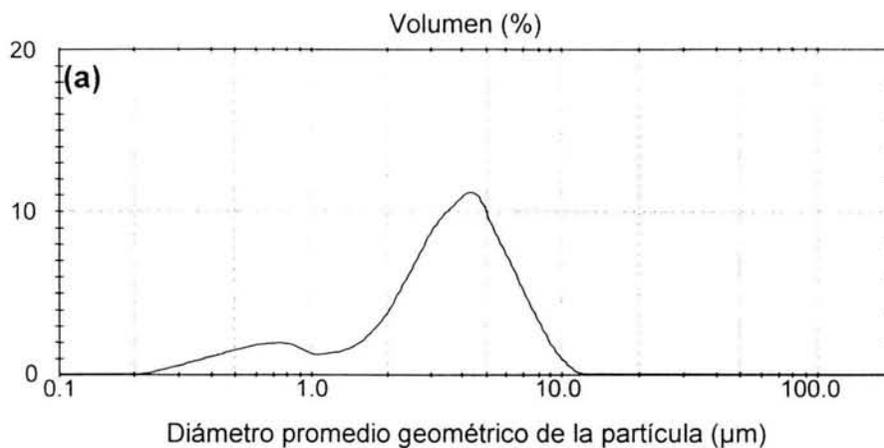


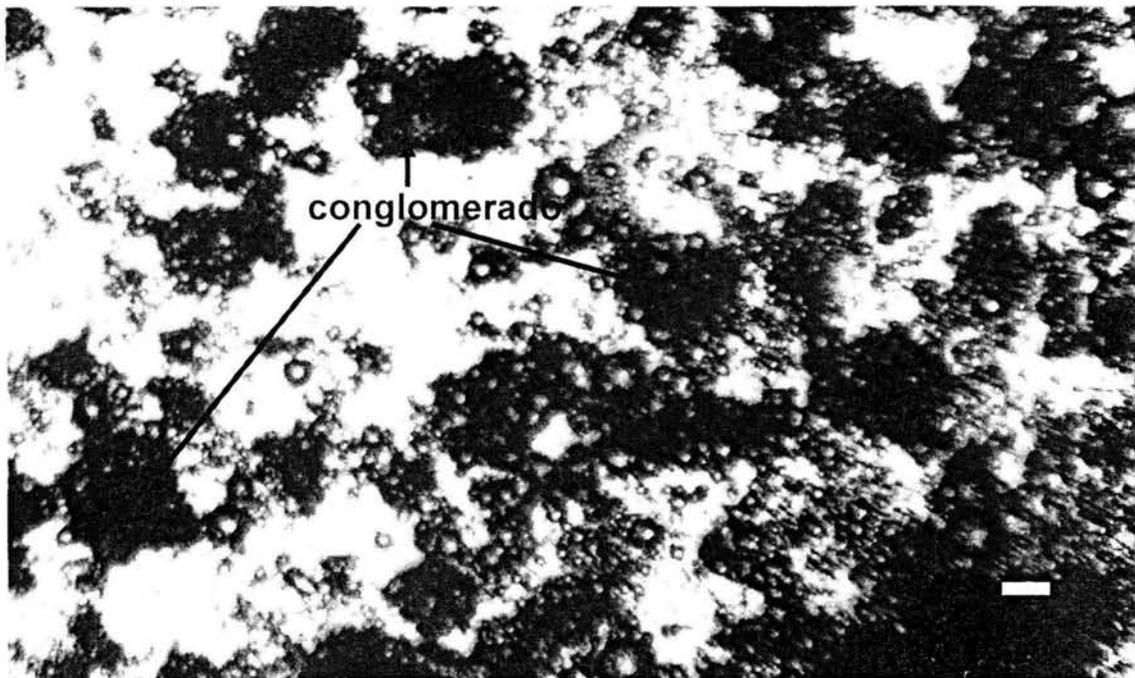
Figura 3.4 Distribución de tamaño de partícula de emulsiones a una concentración de 75% v/v estabilizadas con (a) tragacanto (b) CMC, (c) λ -carragenina, al 0.5% mezcladas con caseinato de sodio al 2%.



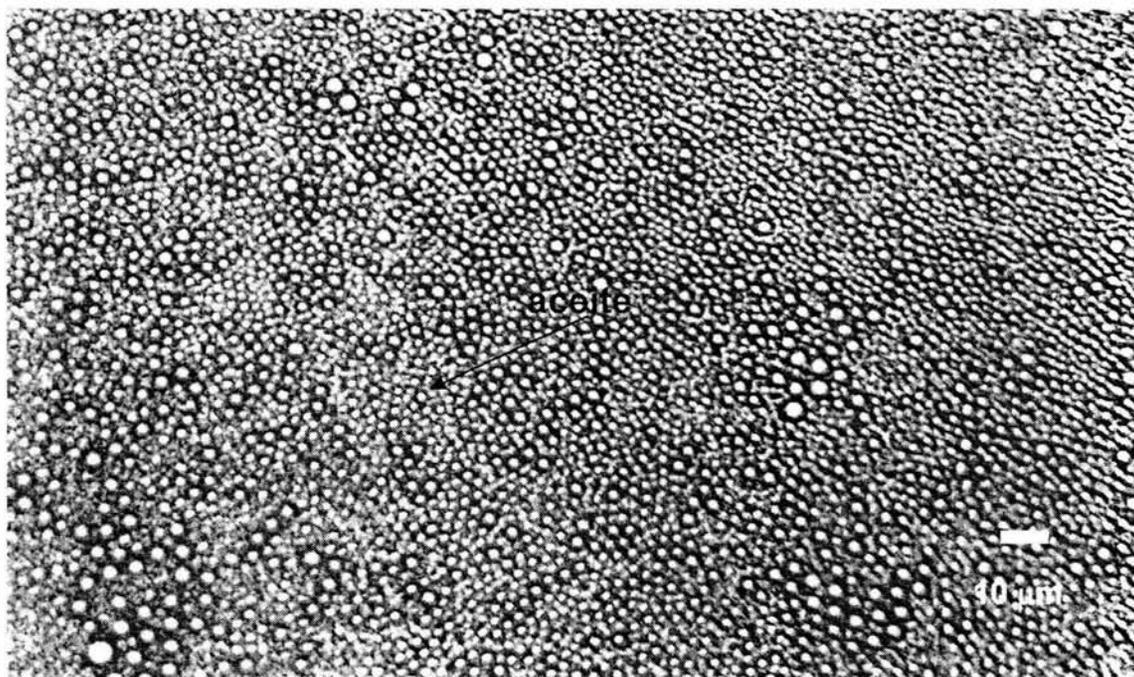
Figura 3.5 Aspecto físico de emulsiones aceite-agua concentradas preparadas con la proteína caseinato de sodio-polisacárido aniónico (CMC, λ -carragenina o tragacanto).



Figura 3.6 Aspecto físico de emulsiones aceite-agua concentradas preparadas con la proteína albúmina-polisacárido aniónico (CMC, λ -carragenina o tragacanto).

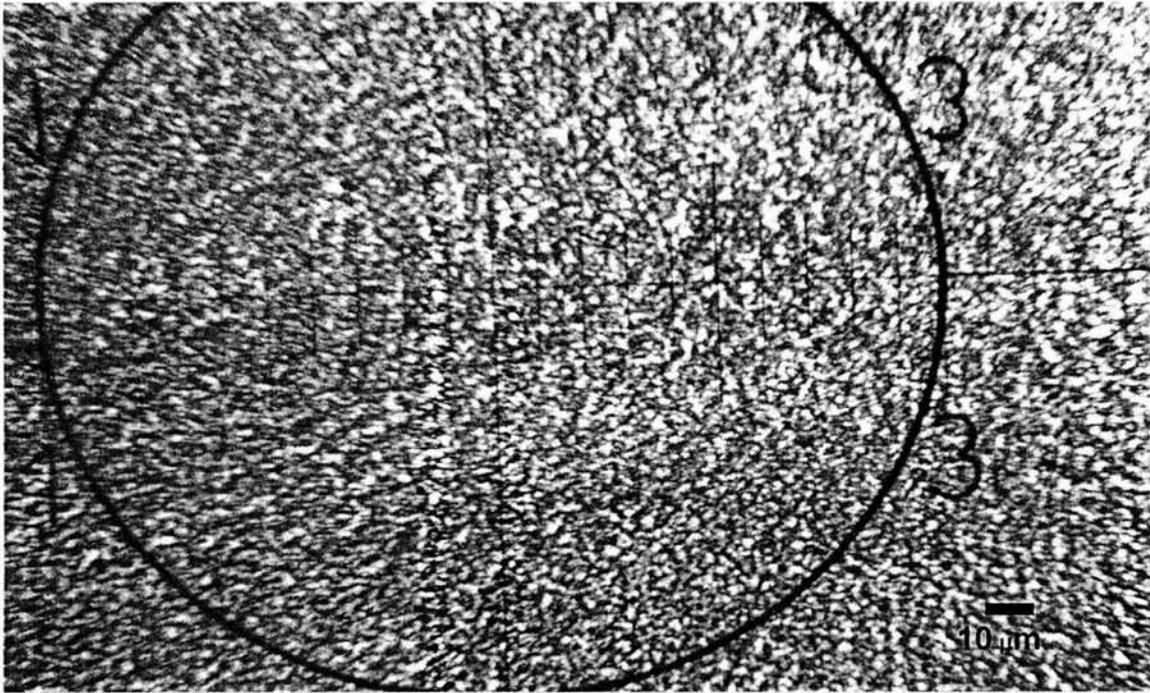


(a)

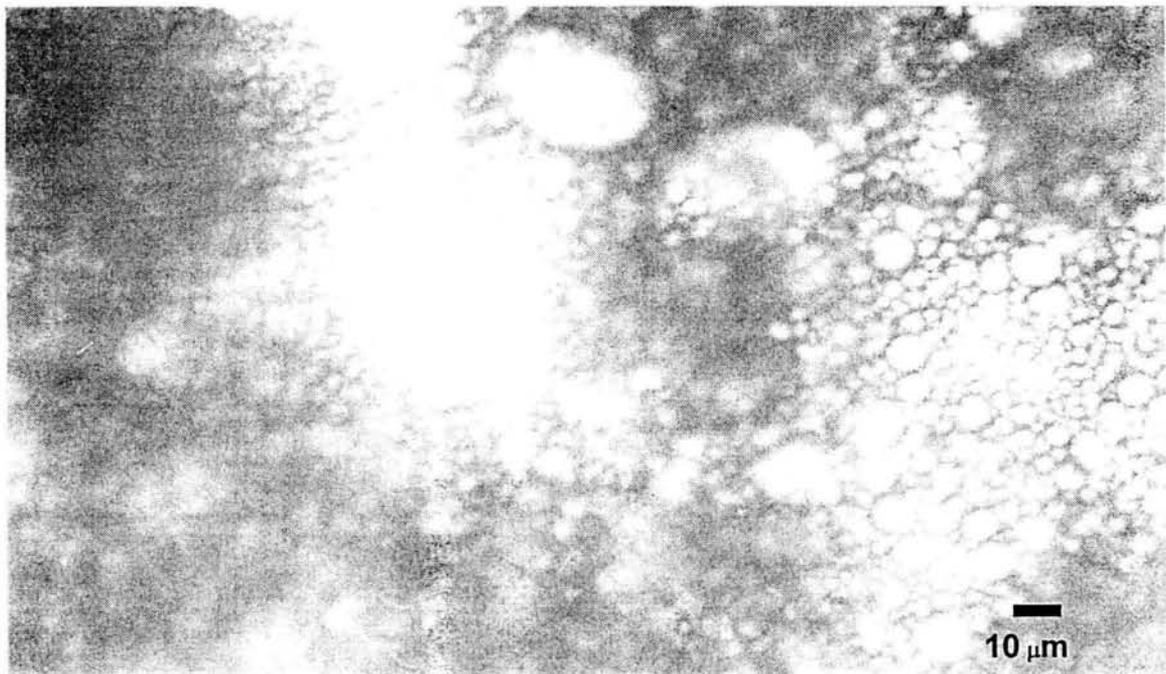


(b)

Figura 3.7 Micrografía de las emulsiones (a) con la mezcla albúmina al 2% - tragacanto al 0.3%. Lente 16/0.40 y (b) con la mezcla caseinato de sodio al 2% - tragacanto al 0.3%. Lente 16/0.40.

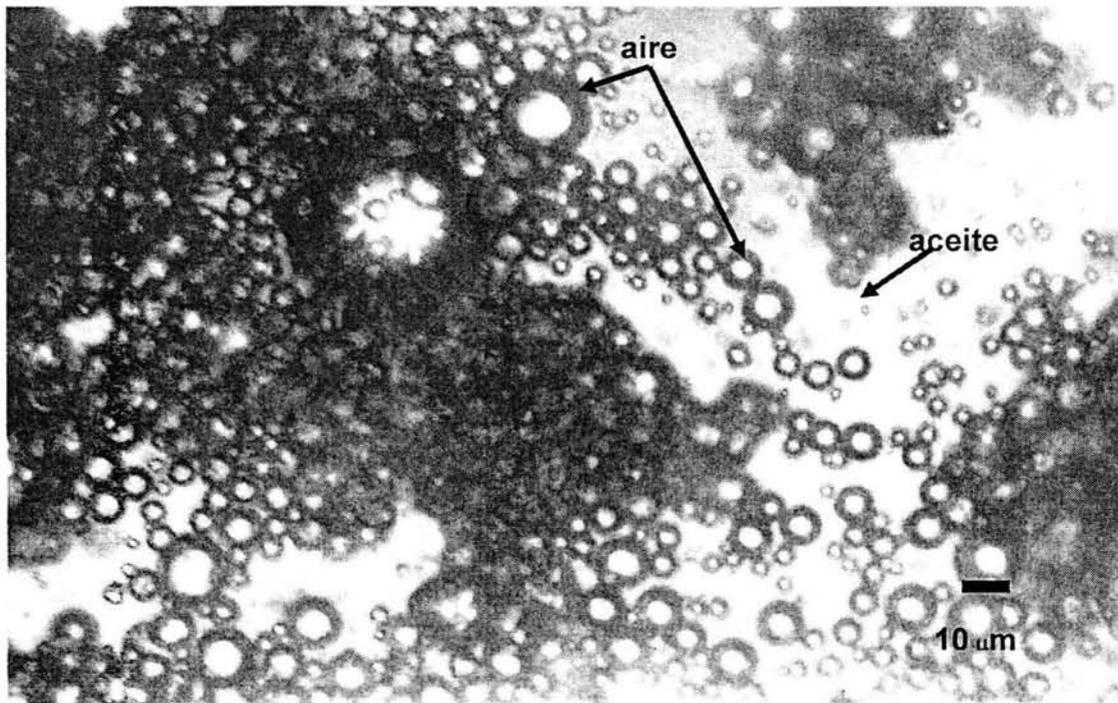


(a)

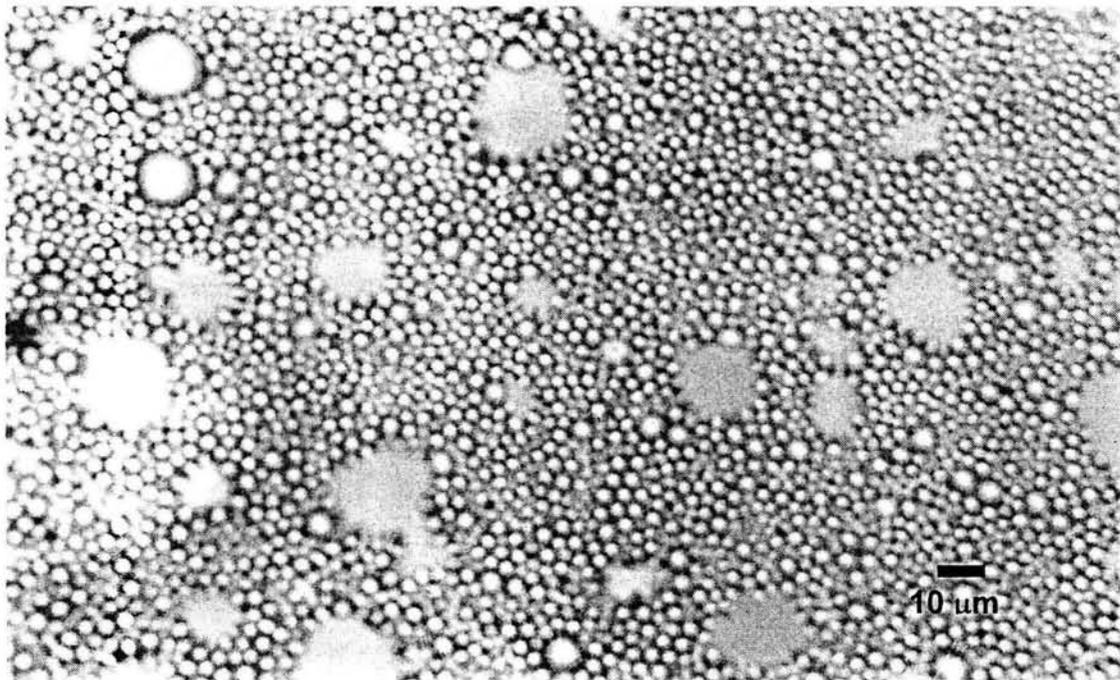


(b)

Figura 3.8 Micrografía de las emulsiones (a) con la mezcla albúmina al 2% - tragacanto al 0.5%. Lente 16/0.40 y (b) con la mezcla caseinato de sodio al 2% - tragacanto al 0.5%. Lente 40/0.75.

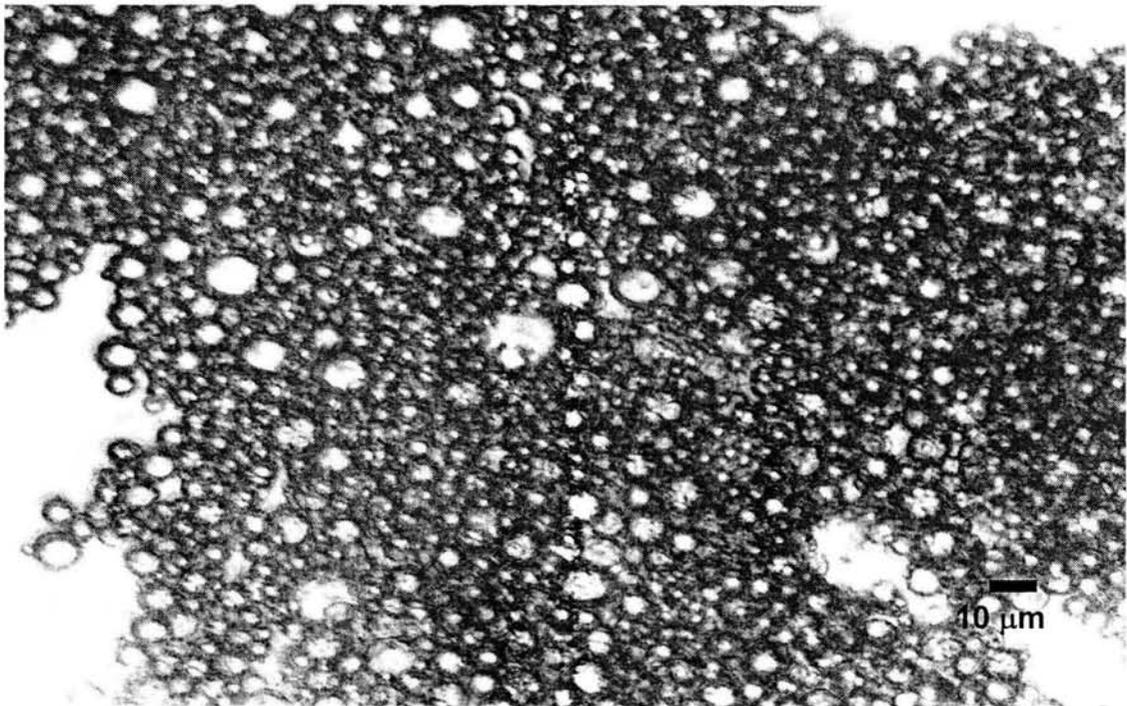


(a)

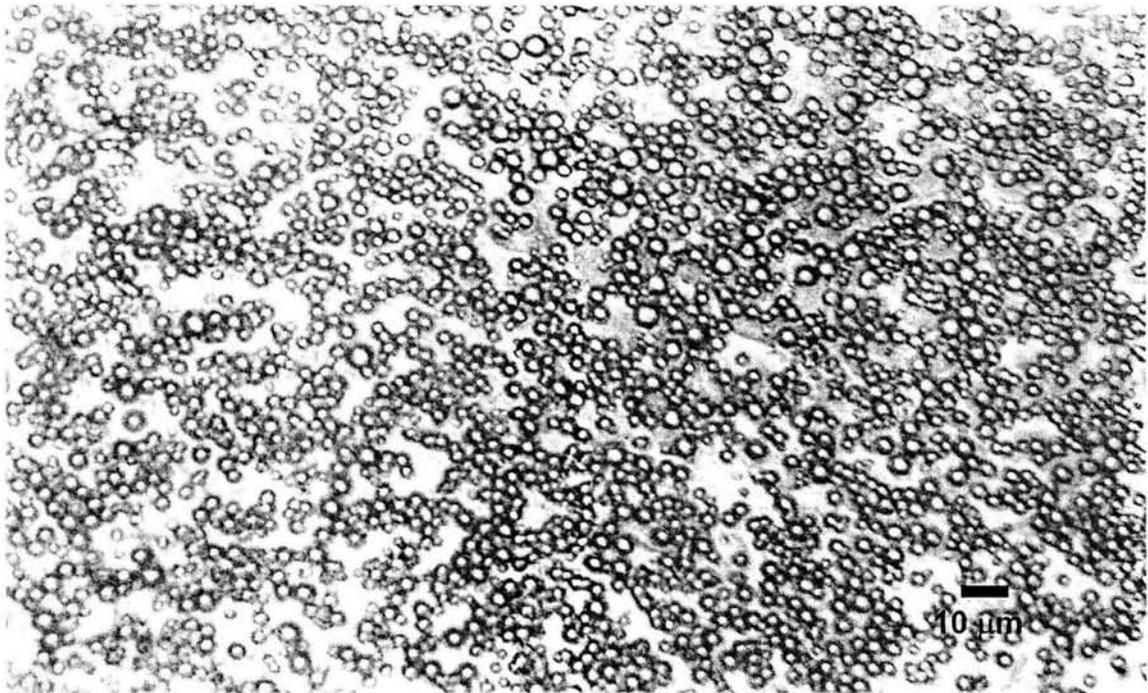


(b)

Figura 3.9 Micrografía de las emulsiones (a) con la mezcla albúmina al 2% - λ -Carragenina al 0.3% Lente 40/0.75 y (b) con la mezcla caseinato de sodio al 2% λ -Carragenina al 0.3% Lente 16/0.40.



(a)

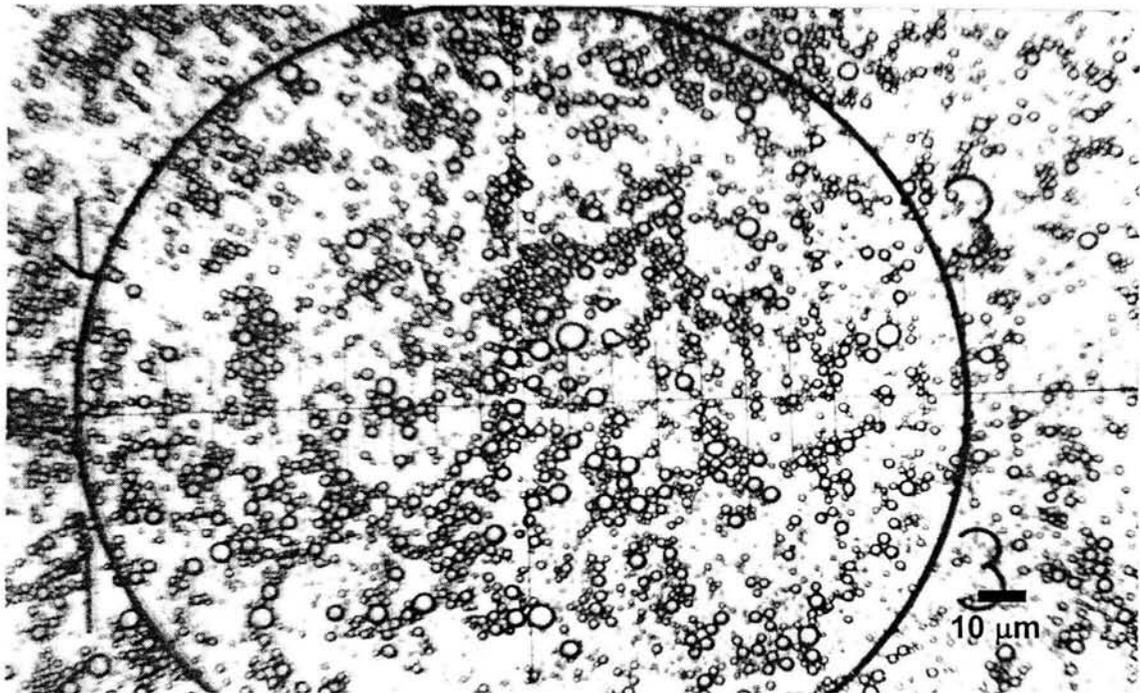


(b)

Figura 3.10 Micrografía de las emulsiones (a) con la mezcla albúmina al 2% - λ -Carragenina al 0.5% Lente 40/0.75 y (b) con la mezcla caseinato de sodio al 2% λ -Carragenina al 0.5% Lente 16/0.40.

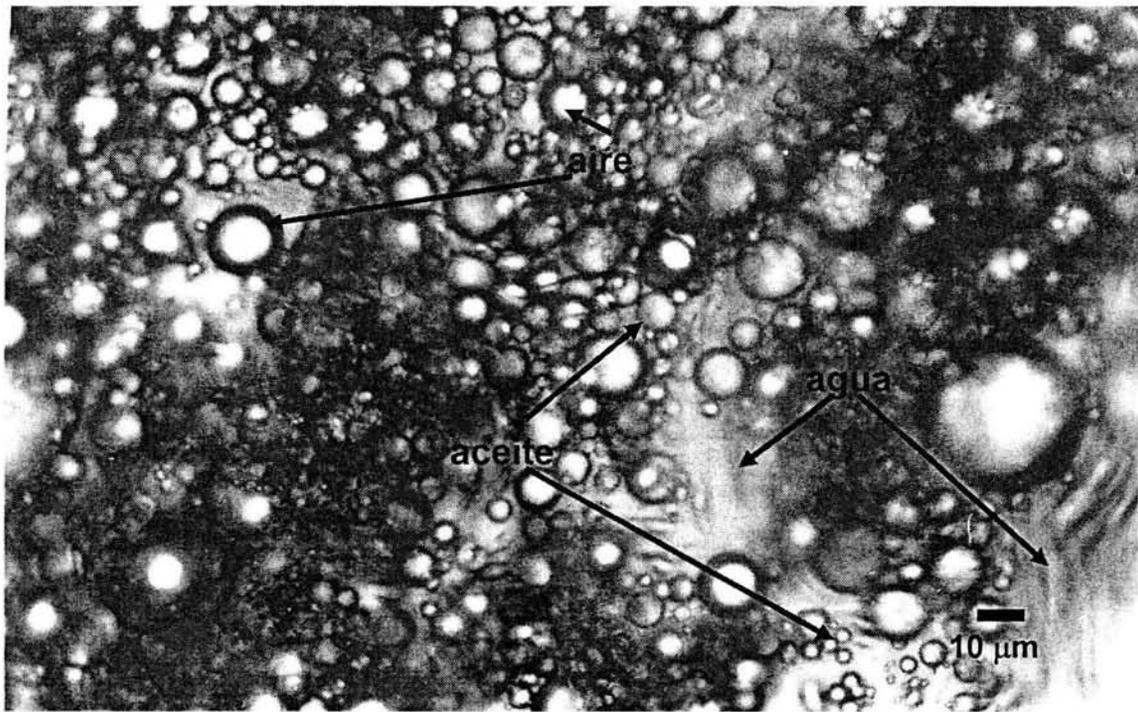


(a)

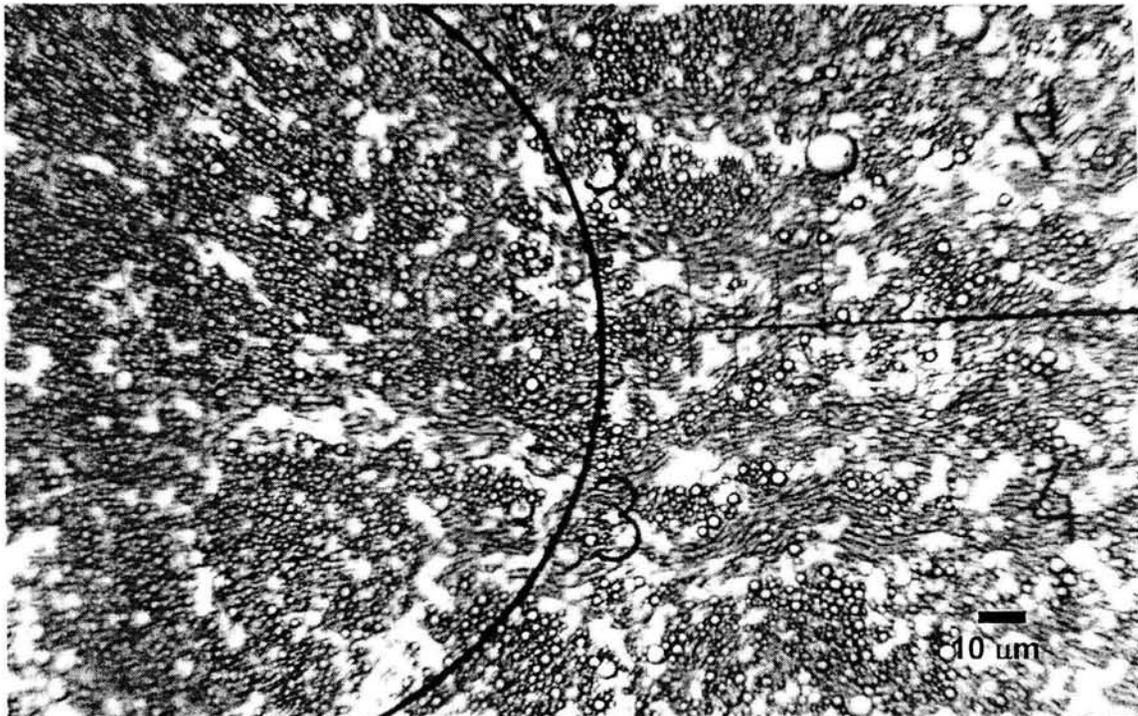


(b)

Figura 3.11 Micrografía de las emulsiones (a) con la mezcla albúmina al 2% - CMC al 0.3% Lente 40/0.75 y (b) con la mezcla caseinato de sodio al 2% CMC al 0.3% Lente 16/0.40.



(a)



(b)

Figura 3.12 Micrografía de las emulsiones (a) con la mezcla albúmina al 2% - CMC al 0.5% Lente 40/0.75 y (b) con la mezcla caseinato de sodio al 2% CMC al 0.5% Lente 16/0.40.

Cuadro 3.3 Diámetros de partícula en emulsiones aceite-agua altamente concentradas estabilizadas con una mezcla proteína-polisacárido aniónico y disolución de polisacáridos.

POLISACARIDOS	Albúmina 2%						Caseinato de Sodio 2%					
	1 CMC 0.3%	2 CMC 0.5%	3 Carr 0.3%	4 Carr 0.5%	5 Trag 0.3%	6 Trag 0.5%	7 CMC 0.3%	8 CMC 0.5%	9 Carr 0.3%	10 Carr 0.5%	11 Trag 0.3%	12 Trag 0.5%
D_{sv} (μm)	23.53	22.1	2.78	16.52	*	34.69	1.95	1.98	1.98	2.21	1.58	2.02
$D_{(v,0.5)}$ (μm)	32.87	32.83	16.50	23.32	*	49.07	5.72	5.01	5.76	5.12	3.33	2.68
$D_{\text{modal}1}$ (μm)	42.72	43.51	17.66	30.35	*	53.50	6.90	6.31	7.24	6.19	3.93	4.38
$D_{\text{modal}2}$ (μm)	-	-	0.30	423.85	*	-	0.55	0.72	0.54	0.73	0.71	0.75
$D_{\text{modal}3}$ (μm)	1.0	1.0	0.98	1.0	0.96	1.0	0.25	2.90	0.94	0.62	0.51	0.89

D_{sv} = Diámetro Sauter medio, $D_{(v,0.5)}$ = Diámetro mediano, D_{modal} = Diámetro modal (1,2 en emulsiones y 3 en disolución proteína-polisacárido aniónico).

* No se determinó - No presentó

3.1.4 FRACCION VOLUMEN DE LA FASE DISPERSA (ϕ)

La concentración de gotas en una emulsión usualmente se describe como la fracción volumen de la fase dispersa (ϕ) y es igual al volumen de gotas en la emulsión entre el volumen total de la emulsión. Es importante conocer la fracción volumen de la fase dispersa porque la concentración de gotas influye en la apariencia, textura, comportamiento reológico, sabor y estabilidad entre otras propiedades (McClements, 1999). Para el cálculo de la fracción volumen de la fase dispersa se determinó la densidad de la mezcla proteína-polisacárido y de la emulsión.

En el Cuadro 3.1 (pág. 54) se mostraron algunas propiedades fisicoquímicas de las dispersiones proteína-polisacárido y de las emulsiones aceite-agua concentradas. Los resultados de la densidad relativa promedio de las dispersiones osciló entre 1.006 y 1.008 y la de las emulsiones osciló entre 0.93 y 0.94, a partir de estos últimos datos se calculó la fracción volumen de las

emulsiones concentradas elaboradas con la mezcla de proteína-polisacáridos aniónicos. Se observó que la emulsión que presenta mayor fracción volumen fue la elaborada con λ -carragenina 0.5%-caseinato de sodio ($\phi = 0.872$). También las emulsiones elaboradas con λ -carragenina 0.3%-caseinato y las de CMC 0.3 y 0.5%-caseinato de sodio presentaron mayor fracción volumen que el resto de las emulsiones con una fracción volumen más cercano al valor propuesto (0.75). Algunas variaciones se presentan en la fracción volumen dentro de la emulsión pueden ser atribuidas a la formación de burbujas de aire, que se incorporaron al formar la emulsión, en especial con la albúmina de huevo debido a que esta proteína posee esa característica que influye en el sistema.

3.1.5 CONDUCTIVIDAD ELECTRICA

La conductividad eléctrica es una medida experimental que indica si se presenta una inversión de fases, en especial cuando se utiliza una concentración elevada de la fracción volumen de la fase dispersa ya que una emulsión puede "sufrir" una inversión de fases, y cambiar la viscosidad de la emulsión ya que ésta es gobernada principalmente por la viscosidad de la fase continua y concentración de la fase dispersa. La emulsión aceite-agua tiene una fase continua acuosa y su conductividad eléctrica es mayor que en una emulsión agua-aceite. Cuando ocurre una inversión de fases se obtiene una reducción dramática de la conductividad eléctrica ya que el aceite pasa a ser la fase continua y éste es muy poco conductor.

Con los resultados presentados en el Cuadro 3.4 y las Figuras 3.7 a la 3.12 se puede verificar que se tiene una emulsión aceite-agua y que no se sufrió ninguna inversión de fases durante la emulsificación ya que éstas presentan una disminución del 50% aproximadamente en la conductividad con respecto a las disoluciones usadas para preparar las emulsiones.

En el Cuadro 3.4 se observa que las emulsiones con la mezcla tragacanto 0.3%-caseinato de sodio 2% y goma tragacanto 0.5%-albúmina 2% presentaron la más alta conductividad, situación similar para las mezclas de CMC al 0.5% con ambas proteínas, en el caso de la emulsión con λ -carragenina 0.5% - albúmina 2% también presentó una conductividad similar a las de CMC al 0.5%

con ambas proteínas. Para las otras emulsiones, la conductividad fue menor siendo la mezcla de goma tragacanto 0.3%-albúmina la de menor conductividad.

Cuadro 3.4 Conductividad eléctrica de emulsiones concentradas aceite-agua.

EMULSIONES	CONDUCTIVIDAD A 25 °C (mS/cm)
tragacanto 0.3% - albúmina 2%	0.190
tragacanto 0.5% - albúmina 2%	0.640
cmc 0.3% - albúmina 2%	0.283
cmc 0.5% - albúmina 2%	0.334
carragenina 0.3% - albúmina 2%	0.287
carragenina 0.5% - albúmina 2%	0.390
tragacanto 0.3% - caseinato 2%	0.640
tragacanto 0.5% - caseinato 2%	0.207
cmc 0.3% - caseinato 2%	0.281
cmc 0.5% - caseinato 2%	0.340
carragenina 0.3% - caseinato 2%	0.330
carragenina 0.5% - caseinato 2%	0.250
Disoluciones de la mezcla proteína - polisacárido	1 – 2.5

Se observa que en la mayoría de las emulsiones, al aumentar la concentración del polisacárido con cualquiera de las proteínas la conductividad es mayor, lo cual es de esperarse ya que se incrementa el número de cargas, excepto para las emulsiones de goma tragacanto 0.3% y λ -carragenina 0.3%, ambas con caseinato de sodio al 2%, quienes presentan mayor conductividad que con una concentración del 0.5%.

La conductividad eléctrica para la disolución de las doce mezclas de proteína-polisacárido aniónico estuvo en un intervalo de 1-2.5 mS/cm, esta conductividad se vió disminuida al elaborar la emulsión, reduciéndose debido al proceso de homogenización y a la dispersión de las gotas de aceite en el medio, provocando un obstáculo a la conducción de las partículas del medio continuo (Azzam, 2002).

3.1.6 POTENCIAL ZETA

En la Figura 3.13 y 3.14 se muestra la distribución del potencial zeta de las diferentes emulsiones a una concentración del polisacárido de 0.3 y 0.5% respectivamente con cada una de las proteínas.

En el Cuadro 3.5 se muestran los valores del potencial zeta para las diferentes emulsiones. Se observó que las emulsiones que contienen la proteína albúmina presentaron un potencial zeta negativo, excepto en el caso de la goma CMC al 0.5% con albúmina, que presentó un potencial zeta positivo y menor, en comparación con las otras gomas. Para las formulaciones con albúmina, las que contienen λ -carragenina al 0.3 y 0.5% y las de CMC al 0.3%, presentaron un potencial mayor indicando posiblemente una mayor estabilidad para estas emulsiones. Mientras que la emulsión albúmina con tragacanto al 0.5% tiene un potencial zeta muy bajo (-3.56 mV).

Para las emulsiones que contienen caseinato de sodio se observó que todas presentan un potencial zeta positivo, excepto para la emulsión que contiene goma tragacanto al 0.3%, que muestra un potencial zeta negativo y de mayor magnitud a los de ese grupo.

Se observó también que en caso de las mezclas CMC al 0.5% con albúmina y tragacanto al 0.5% con caseinato de sodio tienen un potencial zeta muy similar, la que presentó un potencial zeta de menor magnitud fue la de goma tragacanto al 0.5% con albúmina lo que representaría mayor inestabilidad debido a una menor repulsión entre las partículas. Al incrementarse la concentración del polisacárido el potencial se redujo en todos los casos, excepto para la emulsión de albúmina con λ -carragenina que presentó un incremento al aumentar la concentración del polisacárido.

3.2 PROPIEDADES REOLOGICAS EN CIZALLA ESTACIONARIA DE LAS DISOLUCIONES DE POLISACARIDOS ANIONICOS.

Los polisacáridos en su mayoría mostraron un comportamiento fluidificante a la cizalla (pseudoplástico). En la Figura 3.15 se muestra la variación de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de las disoluciones de polisacáridos aniónicos estudiados.

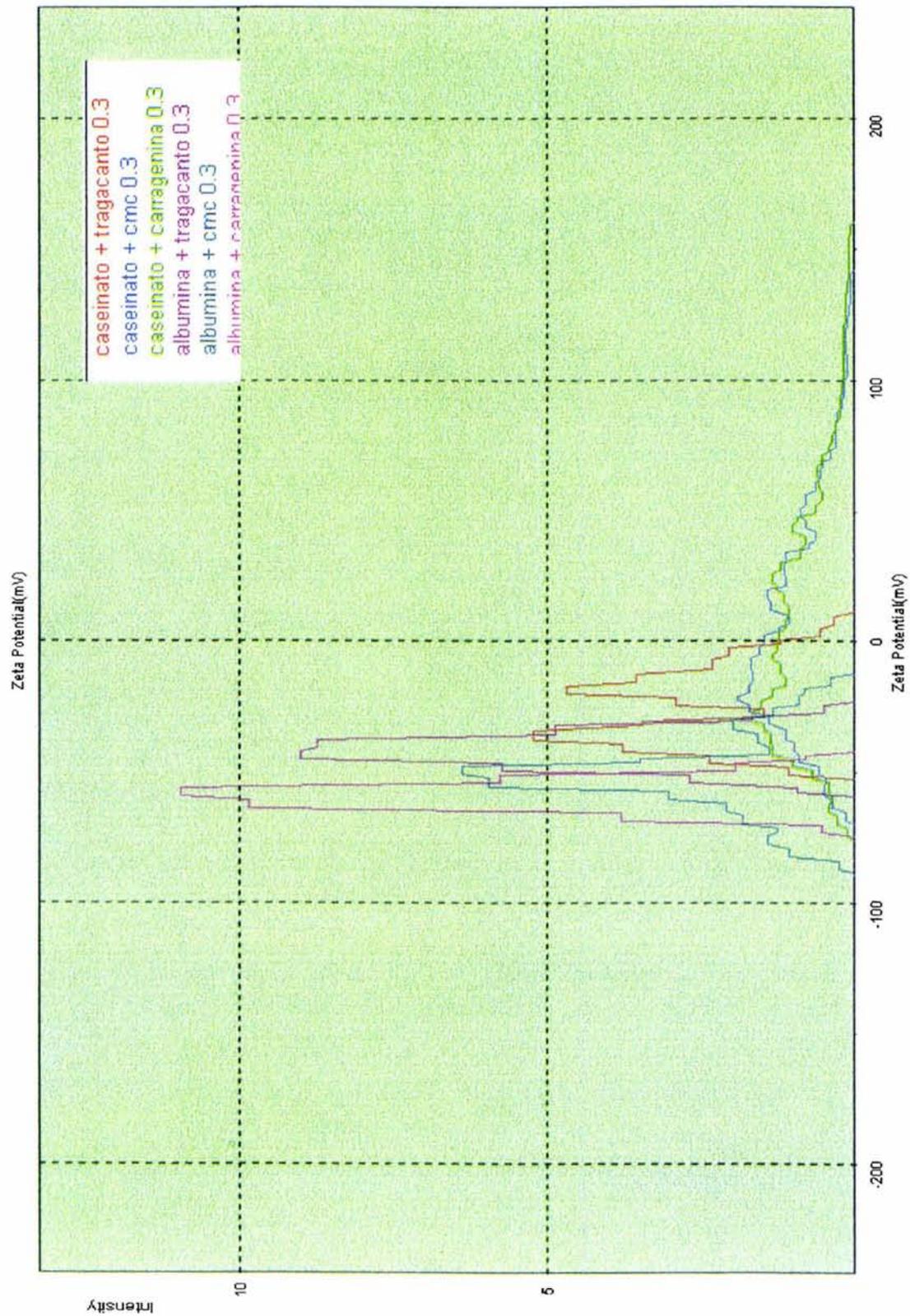


Figura 3.13 Potencial zeta de emulsiones con polisacárido aniónico al 0.3% y albúmina de huevo o caseinato de sodio.

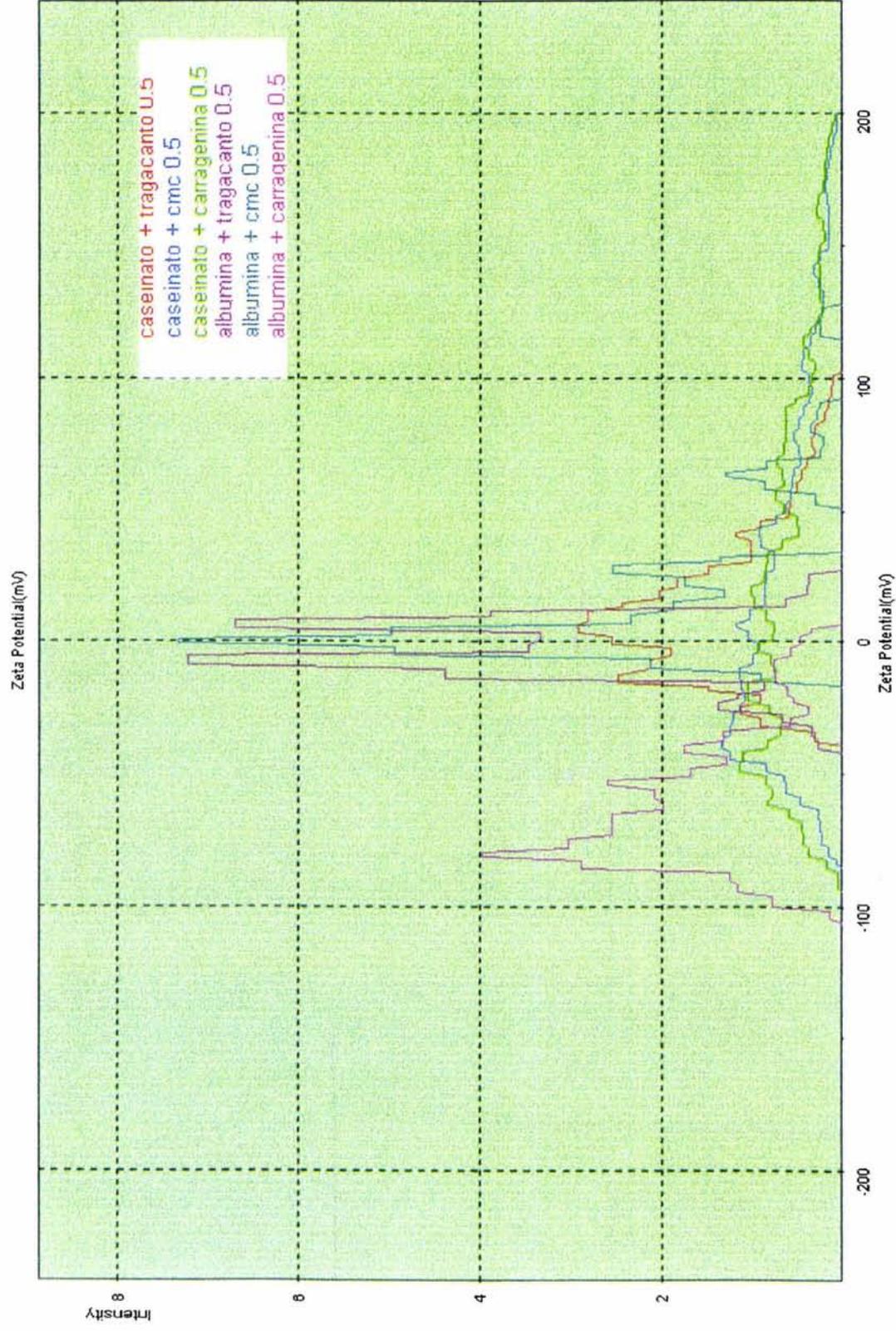


Figura 3.14 Potencial zeta de emulsiones con polisacárido aniónico al 0.5% y albúmina de huevo o caseinato de sodio.

Cuadro 3.5 Potencial zeta de emulsiones concentradas aceite-agua estabilizadas con una mezcla proteína – polisacárido aniónico.

Polisacárido	Albúmina 2%						Caseinato de sodio 2%					
	1 CMC 0.3%	2 CMC 0.5%	3 Carr 0.3%	4 Carr 0.5%	5 Trag 0.3%	6 Trag 0.5%	7 CMC 0.3%	8 CMC 0.5%	9 Carr 0.3%	10 Carr 0.5%	11 Trag 0.3%	12 Trag 0.5%
Potencial zeta (mV).	-53.36	18.25	-61.9	-63.6	-37.8	-3.56	13.3	11.06	11.4	10.46	-21.7	18.33

En todas las disoluciones se observó una disminución de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla. La dependencia fue mayor para la disolución de CMC a las dos concentraciones y para la goma tragacanto 0.5%. En las muestras de λ -carragenina y tragacanto al 0.3% presentaron la menor viscosidad de las disoluciones estudiadas. En estas últimas muestras a velocidades de cizalla bajas $>50 \text{ s}^{-1}$ no se tuvo respuesta en el reómetro debido a la poca sensibilidad del equipo y a velocidades de cizalla altas $< 300 \text{ s}^{-1}$ se alcanzó el régimen turbulento. El ajuste a los modelos reológicos (de la Ley de la Potencia y newtoniano) se hizo únicamente sobre los resultados más representativos, es decir, en aquellos que no presentaron variación, ni turbulencia, obteniéndose en estas muestras un intervalo de velocidad de cizalla menor ($50\text{-}200 \text{ s}^{-1}$) el cual se delimitó calculando el número de Reynolds definido para la turbulencia de Taylor (Rodríguez,1996), este cálculo que se aplicó a todas las muestras estudiadas.

En el Cuadro 3.6 se resumen los parámetros reológicos de la Ley de la Potencia, la viscosidad promedio y el % de coeficiente de variación. La disolución de tragacanto 0.3% y la de λ -carragenina 0.3% presentaron el índice de consistencia (K) más bajo (0.063 y $0.03 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ respectivamente); mientras que la disolución de CMC 0.5%, presentó un índice de consistencia de $1.37 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ mayor en comparación con el resto de los polisacáridos.

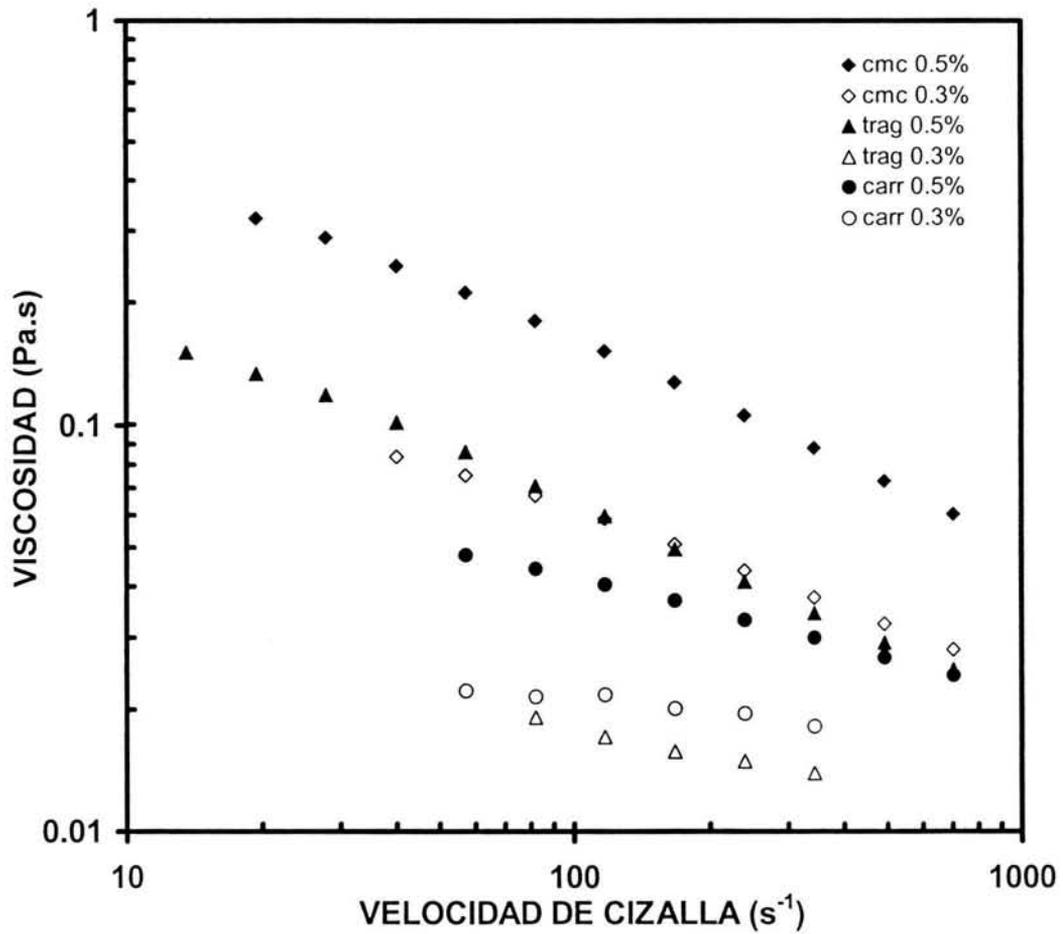


Figura 3.15 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de las disoluciones de polisacáridos aniónicos al 0.3 y 0.5% (cmc-Carboximetilcelulosa, trag-Tragacanto, carr-Carragenina).

La consistencia media se observó en la disolución de tragacanto al 0.5% con $K = 0.52 \text{ Pa.s}^n$.

Cuadro 3.6 Parámetros reológicos de la Ley de la Potencia y viscosidad de las disoluciones de polisacáridos aniónicos a 0.3 y 0.5%.

Disolución (%) Polisacárido	POTENCIA $K(\text{Pa.s}^n)$	n	NEWTONIANO $\eta (\text{Pa.s})$	Intervalo de velocidad cizalla (1/s)
CMC al 0.3%	0.34	0.63		30 - 400
C.V. (%)	4.3	1.7		
CMC al 0.5%	1.37	0.53		10 - 500
C.V. (%)	2.7	0.02		
TRAGACANTO al 0.3%	0.063	0.73	0.0125	70 - 200
C.V. (%)	30.2	3.8	12.9	
TRAGACANTO al 0.5%	0.52	0.55		1 - 400
C.V. (%)	3.4	0.42		
λ -CARRAGENINA al 0.3%	0.03	0.92	0.0213	50 - 200
C.V. (%)	0	0	0	
λ -CARRAGENINA al 0.5%	0.14	0.74		50 - 300
C.V. (%)	2.9	1		

En general, se observa un aumento de la consistencia en función del aumento de la concentración del polisacárido, así como una disminución del índice de comportamiento, teniendo una dependencia de la viscosidad con la velocidad de cizalla.

Los coeficientes de variación de los parámetros reológicos fueron inferiores al 5% por lo que se consideran aceptables, excepto para la disolución de tragacanto al 0.3% que fue de 30%, razón por la cual este polisacárido fue analizado como fluido newtoniano, ya que presentó un coeficiente de variación menor (15%) que aquél considerado como fluido pseudoplástico de acuerdo a la Figura 3.15 y que presenta un coeficiente mayor (30%). Los coeficientes de regresión de acuerdo al modelo de la Potencia y newtoniano fueron superiores a 0.995.

3.3 PROPIEDADES REOLOGICAS EN CIZALLA ESTACIONARIA DE LAS DISOLUCIONES DE MEZCLAS DE PROTEINA-POLISACARIDO ANIONICO.

En la Figura 3.16 se presentan los resultados obtenidos de las mezclas de tragacanto al 0.3 y 0.5% con las dos proteínas (albúmina al 2% y caseinato de sodio al 2%).

En la Figura 3.15 se mostró que la goma tragacanto al 0.3% presentó un comportamiento característico de un fluido ligeramente pseudoplástico ($n = 0.73$), sin embargo, en el Cuadro 3.6 se indica que sus parámetros reológicos tienen un coeficiente de variación muy alto (30%) en comparación con los parámetros reológicos que se presentan para un fluido newtoniano. Algo similar sucede al mezclar esta misma goma con cualquiera de las dos proteínas. En la Figura 3.16 muestra un comportamiento pseudoplástico tanto en la mezcla con albúmina como en la goma sola, sin embargo, presentan un coeficiente de variación muy alto (22.3% la mezcla con albúmina y 34.39% la mezcla con caseína, datos no reportados) en el índice de consistencia, por lo que se ajustó a un comportamiento newtoniano debido a que en este caso presentó menor coeficiente de variación (0% la mezcla con albúmina y 6.82% la mezcla con caseína ver Cuadro 3.7), en la viscosidad.

De acuerdo a lo anterior, se puede establecer que la mezcla de tragacanto al 0.3% no mostró cambios reológicos por efecto de la adición de cualquiera de las dos proteínas ya que con o sin proteínas presenta un comportamiento similar en los diferentes casos, éstos son fluidos newtoniano de baja viscosidad (≈ 0.01 Pa.s).

En la mezcla de tragacanto al 0.5% se observaron diferencias importantes al mezclarse con las dos proteínas, ya que con la albúmina el índice de consistencia aumentó al menos cinco veces ($K = 2.44 \text{ Pa.s}^n$) con respecto a la goma sola, mientras que con caseína el índice de consistencia disminuye prácticamente a la mitad ($K = 0.28 \text{ Pa.s}^n$) (Cuadro 3.7). Este último efecto se reportó cuando se adicionó goma arábiga a soluciones de tragacanto, produciendo una inusual reducción de la viscosidad (Imeson, 1997).

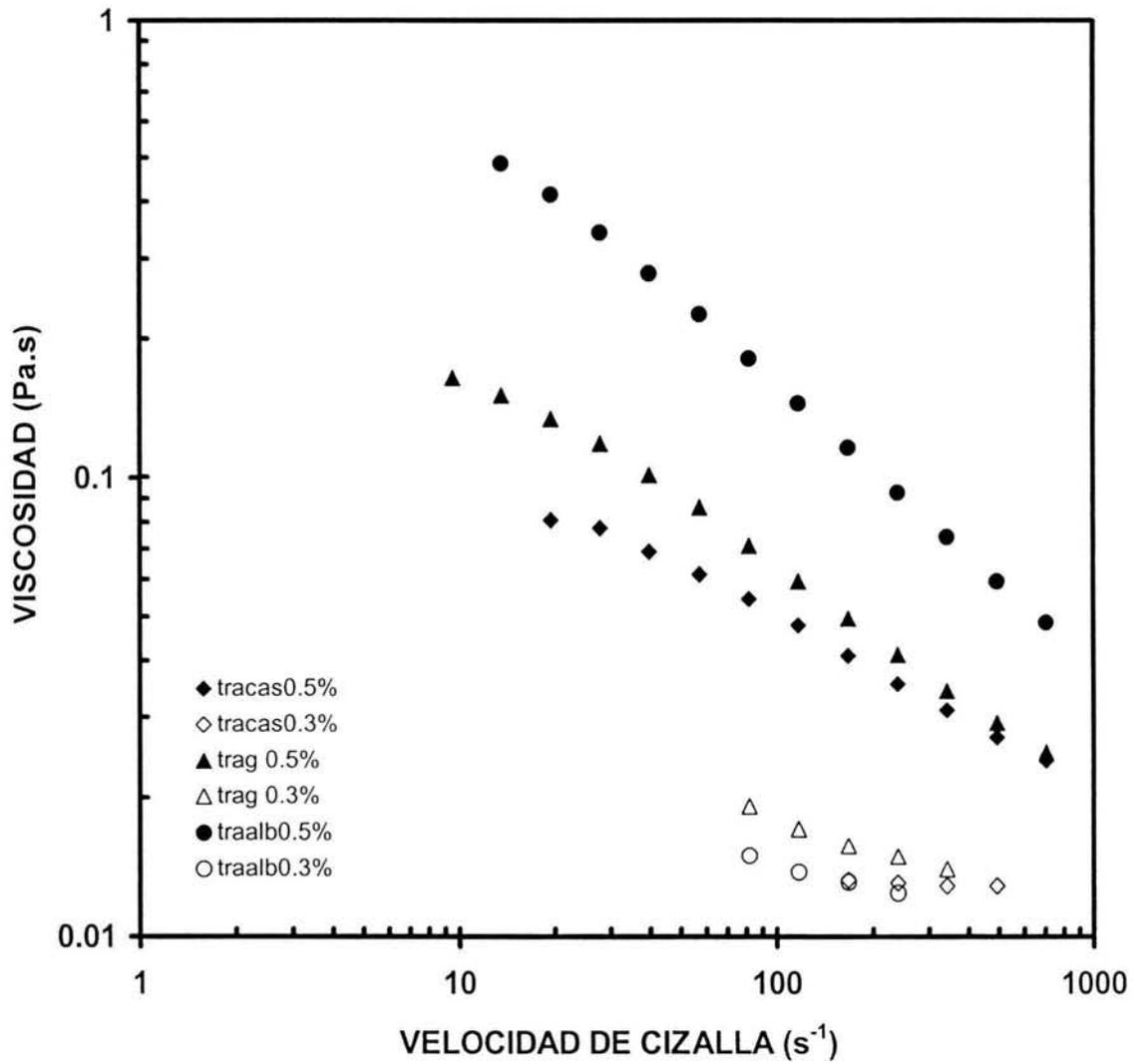


Figura 3.16 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de la goma tragacanto a 0.3 y 0.5%, con albúmina de huevo al 2% y con caseinato de sodio al 2%

En la Figura 3.17 se presentan los reogramas obtenidos de las mezclas de λ -carragenina al 0.3 y 0.5% con las dos proteínas (albúmina al 2% y caseinato de sodio al 2%).

En el caso de la λ -carragenina al 0.3%, presentó una ligera modificación en su consistencia al mezclarse con cualquiera de las dos proteínas al 2%, ya que originalmente el polisacárido por si solo presentó un comportamiento newtoniano con una viscosidad de 0.021 Pa.s, mientras que con albúmina tiene un comportamiento ligeramente pseudoplástico y con caseína presenta un comportamiento newtoniano de menor viscosidad (0.015 Pa.s) que el polisacárido solo. Para la carragenina al 0.5% con ambas proteínas conserva el mismo comportamiento fluidificante a la cizalla, pero el índice de consistencia con albúmina se ve disminuido ($K = 0.062 \text{ Pa.s}^n$) mientras que con caseína el valor es cercano ($K = 0.17 \text{ Pa.s}^n$) al del polisacárido solo ($K = 0.14 \text{ Pa.s}^n$).

En la Figura 3.18 se presentan los resultados obtenidos de las mezclas de CMC al 0.3 y 0.5% con las dos proteínas (albúmina al 2% y caseinato de sodio al 2%).

Las disoluciones de CMC en ambas concentraciones originalmente presentaron un comportamiento pseudoplástico que al ser mezcladas con la albúmina pierden su carácter fluidificante a la cizalla convirtiéndose en fluidos de tipo newtoniano con una viscosidad similar en ambas concentraciones de goma ($\approx 0.01 \text{ Pa.s}$). Para la mezcla de CMC en ambas concentraciones con caseína se mantiene el mismo comportamiento pseudoplástico del polisacárido solo, pero su índice de consistencia se ve disminuido cuatro veces con la concentración de CMC al 0.3% ($K = 0.082 \text{ Pa.s}^n$), tres veces con la concentración de CMC al 0.5% ($K = 0.46 \text{ Pa.s}^n$) lo que confirmaría una interacción entre las macromoléculas.

En la Figura 3.19 se presentan los reogramas obtenidos de las mezclas de tragacanto, CMC, λ -carragenina al 0.5% con las dos proteínas (albúmina al 2% y caseinato de sodio al 2%).

En general se observó que los diferentes polisacáridos a la concentración de 0.5% mezclados con las dos proteínas presentaron diferencias importantes entre ellos.

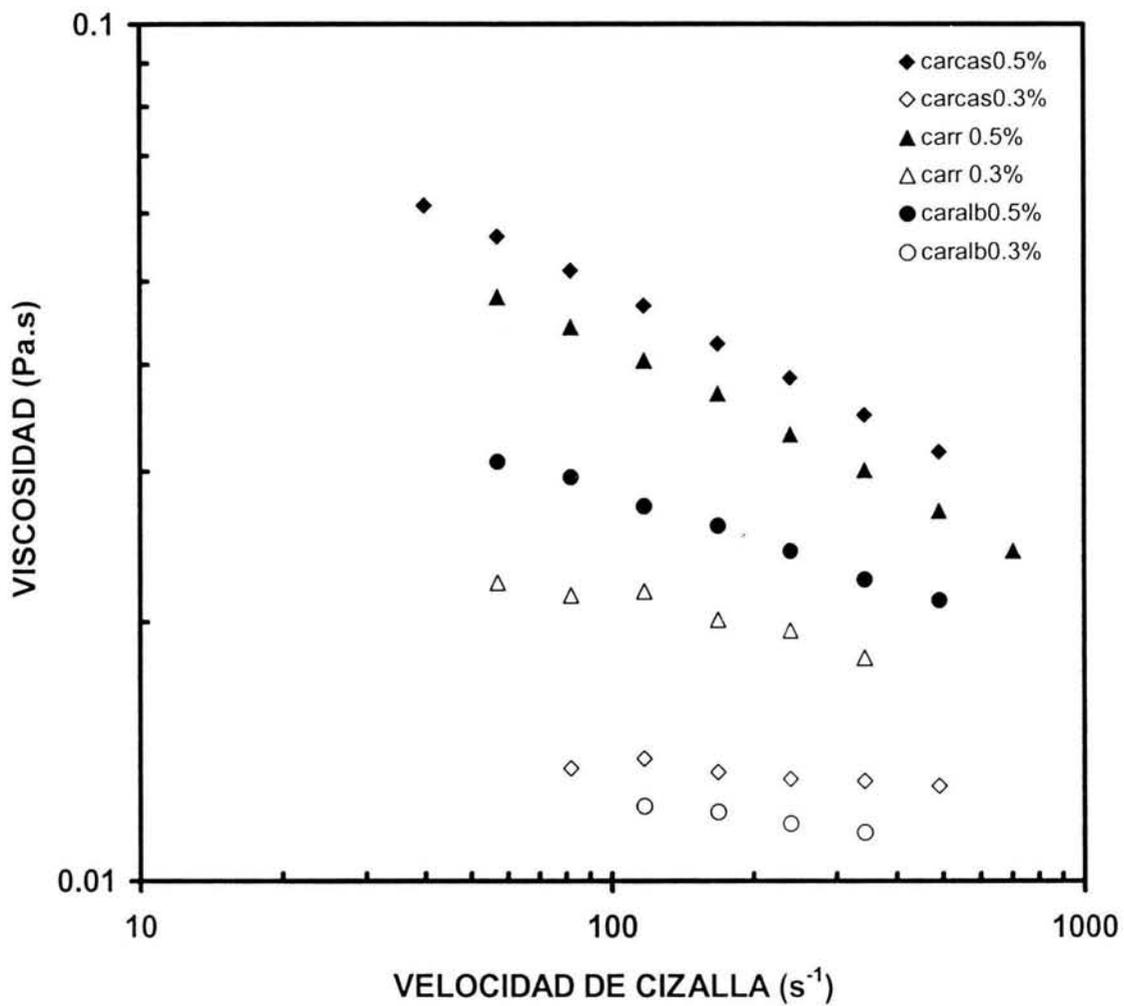


Figura 3.17 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de la λ -carragenina al 0.3 y 0.5%, con albúmina de huevo al 2% y con caseinato de sodio al 2%.

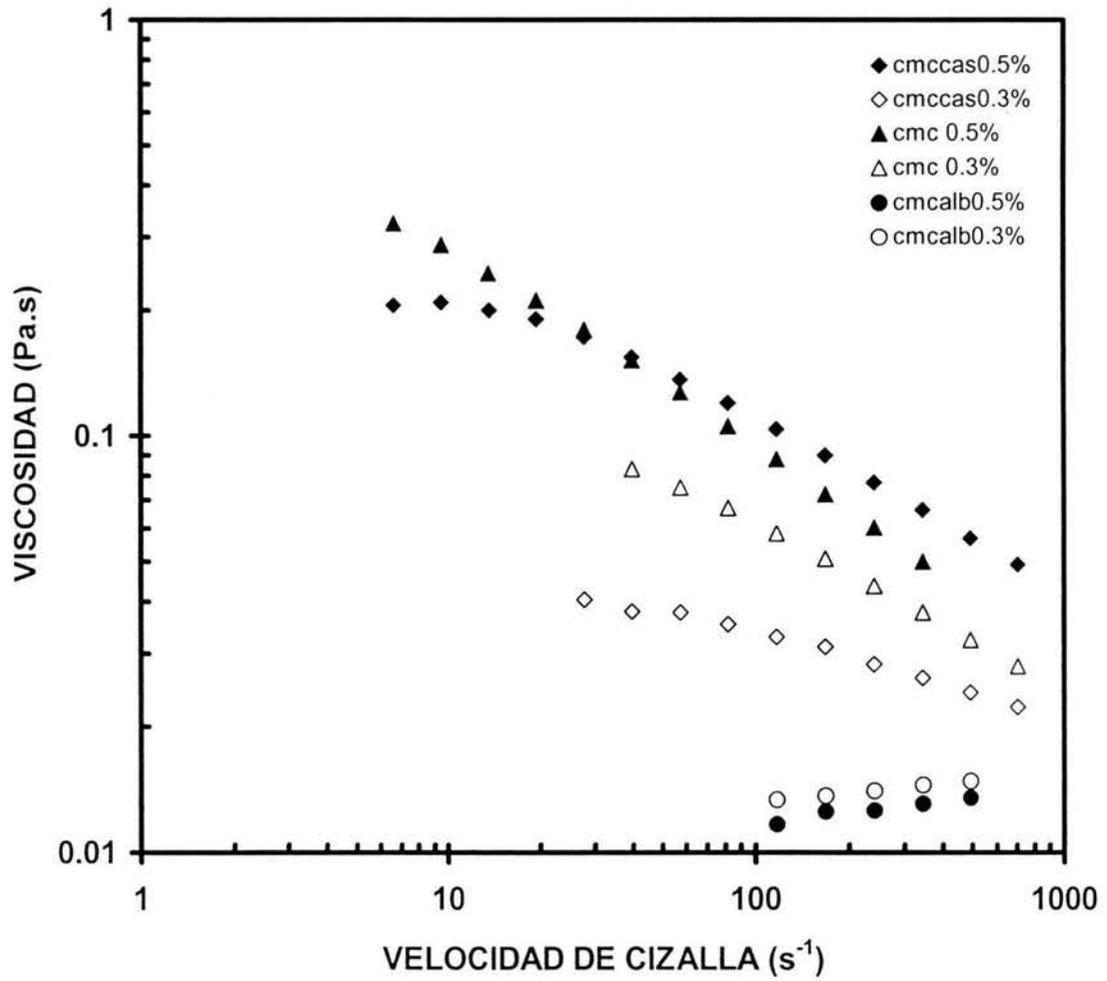


Figura 3.18 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de carboximetilcelulosa de sodio (CMC) al 0.3 y 0.5%, con albúmina al 2% y con caseinato de sodio al 2%.

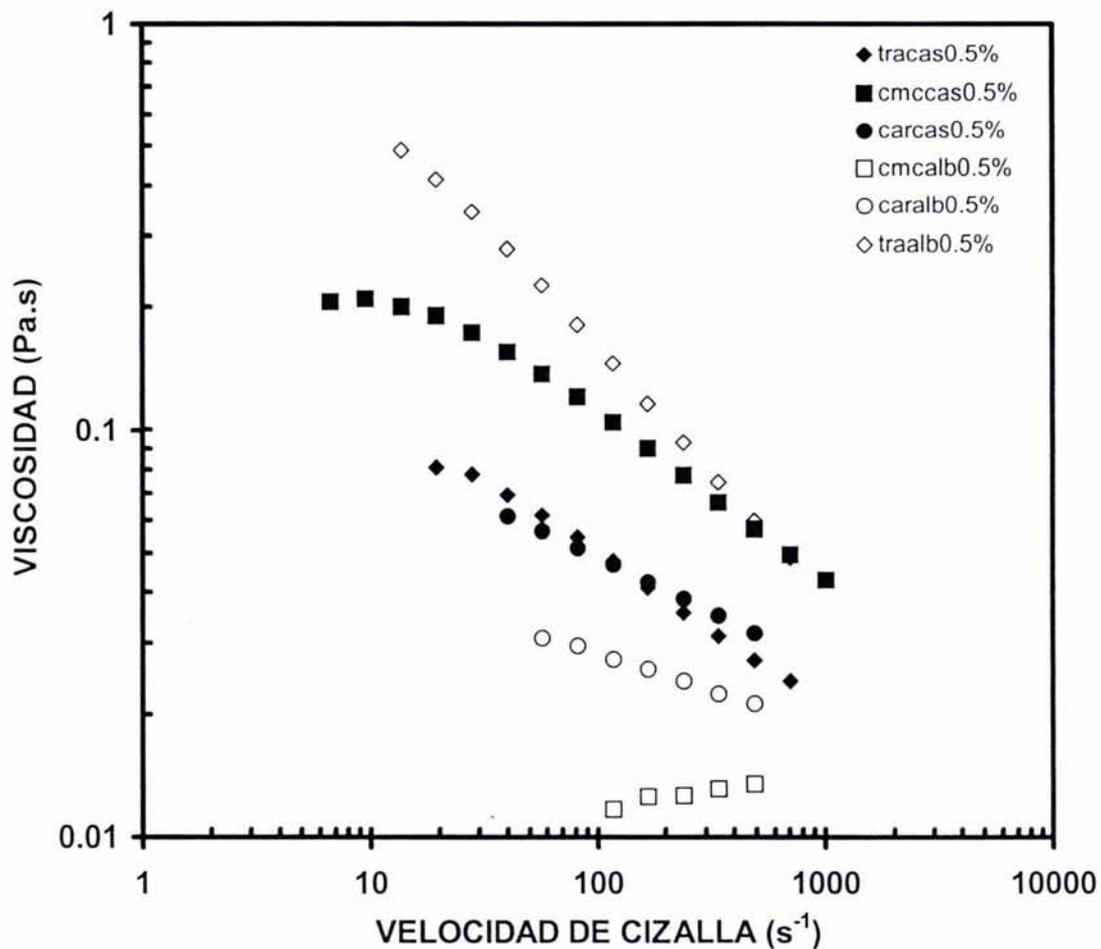


Figura 3.19 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de CMC, goma tragacanto, y λ -carragenina al 0.5% con albúmina al 2% y con caseinato de sodio al 2%.

La disolución de goma tragacanto al 0.5% parece ser la más compatible con la albúmina y la de mayor viscosidad aparente, comparada con la disolución de goma tragacanto a la misma concentración. La mezcla tragacanto y λ -carragenina al 0.5% con caseína muestran viscosidades similares.

Finalmente, con caseinato de sodio las disoluciones de polisacáridos al 0.5% conservan su carácter fluidificante a la cizalla, no siendo el mismo caso para las mezclas con albúmina, excepto para la mezcla tragacanto-albúmina. En el Cuadro 3.7 se resumen los parámetros reológicos de la Ley de la Potencia y la viscosidad de las mezclas de los polisacáridos con las proteínas.

Cuadro 3.7 Parámetros reológicos de la Ley de la Potencia y viscosidad de las disoluciones proteína-polisacárido aniónico.

PROTEINA	ALBUMINA AL 2%				CASEINATO AL 2%			
Disolución (%)	K(Pa.s ⁿ)	n	η (Pa.s)	Intervalo de cizalla (1/s)	K(Pa.s ⁿ)	n	η (Pa.s)	Intervalo de cizalla (1/s)
POLISACARIDO								
CMC al 0.3%			0.014	20 - 150	0.082	0.81		50 -300
C.V. (%)			2.940		0.080	0.33		
CMC al 0.5%			0.014	30 -150	0.460	0.66		1 - 500
C.V. (%)			0.500		1.440	0.29		
TRAGACANTO al 0.3%			0.011	80 - 150			0.016	50 - 150
C.V. (%)			0				6.820	
TRAGACANTO al 0.5%	2.440	0.40		10 - 500	0.280	0.63		20 - 400
C.V. (%)	1.780	1.310			6.420	1.700		
CARRAGENINA λ al 0.3%	0.043	0.71		30 - 150			0.015	50 - 150
C.V. (%)	0	0					7.240	
CARRAGENINA λ al 0.5%	0.062	0.83		50 - 300	0.170	0.73		50 - 400
C.V. (%)	5.540	2.150			7.700	1.8		

3.4 PROPIEDADES REOLOGICAS EN CIZALLA ESTACIONARIA DE EMULSIONES CONCENTRADAS ELABORADAS CON LA MEZCLA PROTEINA-POLISACARIDO ANIONICO.

Los resultados de la sección 3.3 indican de forma indirecta como las interacciones proteína-polisacárido modifican las propiedades de los polisacáridos cambiando los parámetros reológicos de los mismos.

En la Figura 3.20 se presentan las curvas de flujo de las emulsiones elaboradas con CMC al 0.3 y 0.5% y caseinato de sodio al 2%, albúmina al 2%. Las emulsiones elaboradas con CMC al 0.3, 0.5% con caseína al 2% tienen un comportamiento fluidificante a la cizalla y no presentan tixotropía de acuerdo al gráfico de la Figura 3.20. Las emulsiones elaboradas con CMC 0.3, 0.5% con albúmina presentan tixotropía, que fue menor en el caso de la concentración al 0.3%. En lo que respecta a la concentración del polisacárido, se obtiene una mayor viscosidad aparente a mayor concentración, además presentan un comportamiento más fluidificante.

Las emulsiones de CMC al 0.3 y 0.5% con caseinato de sodio presentaron índices de consistencia mucho menores ($K^{0.3\%} = 17.0 \text{ Pa.s}^n$, $K^{0.5\%} = 23.0 \text{ Pa.s}^n$) que las emulsiones que contienen CMC al 0.3 y 0.5% con albúmina donde los índices de consistencia fueron las mayores ($K^{0.3\%} = 51.2 \text{ Pa.s}^n$, $K^{0.5\%} = 86.2 \text{ Pa.s}^n$) los resultados se presentan en el Cuadro 3.8.

En la figura 3.21 se presentan los resultados de las curvas de flujo de las emulsiones elaboradas con λ -carragenina a 0.3 y 0.5% y caseinato de sodio al 2%, albúmina al 2%.

En las emulsiones de λ -carragenina a 0.3 y 0.5% con caseinato de sodio, sólo la de 0.3% presenta un comportamiento diferente (la curva de descenso va por arriba de la de ascenso), mientras que la de 0.5% no presentó dependencia de la velocidad de cizalla. Los índices de consistencia en las curvas de ascenso para estas emulsiones son bajos ($K^{0.3\%} = 19.24 \text{ Pa.s}^n$, $K^{0.5\%} = 24.8 \text{ Pa.s}^n$) en comparación con las elaboradas con albúmina a las mismas concentraciones, estas últimas presentaron tixotropía (ver Figura 3.21) en ambas concentraciones y un índice de consistencia alto para las curvas de ascenso ($K^{0.3\%} = 82.71 \text{ Pa.s}^n$, $K^{0.5\%} = 114.40 \text{ Pa.s}^n$), los resultados se muestran en el Cuadro 3.8.

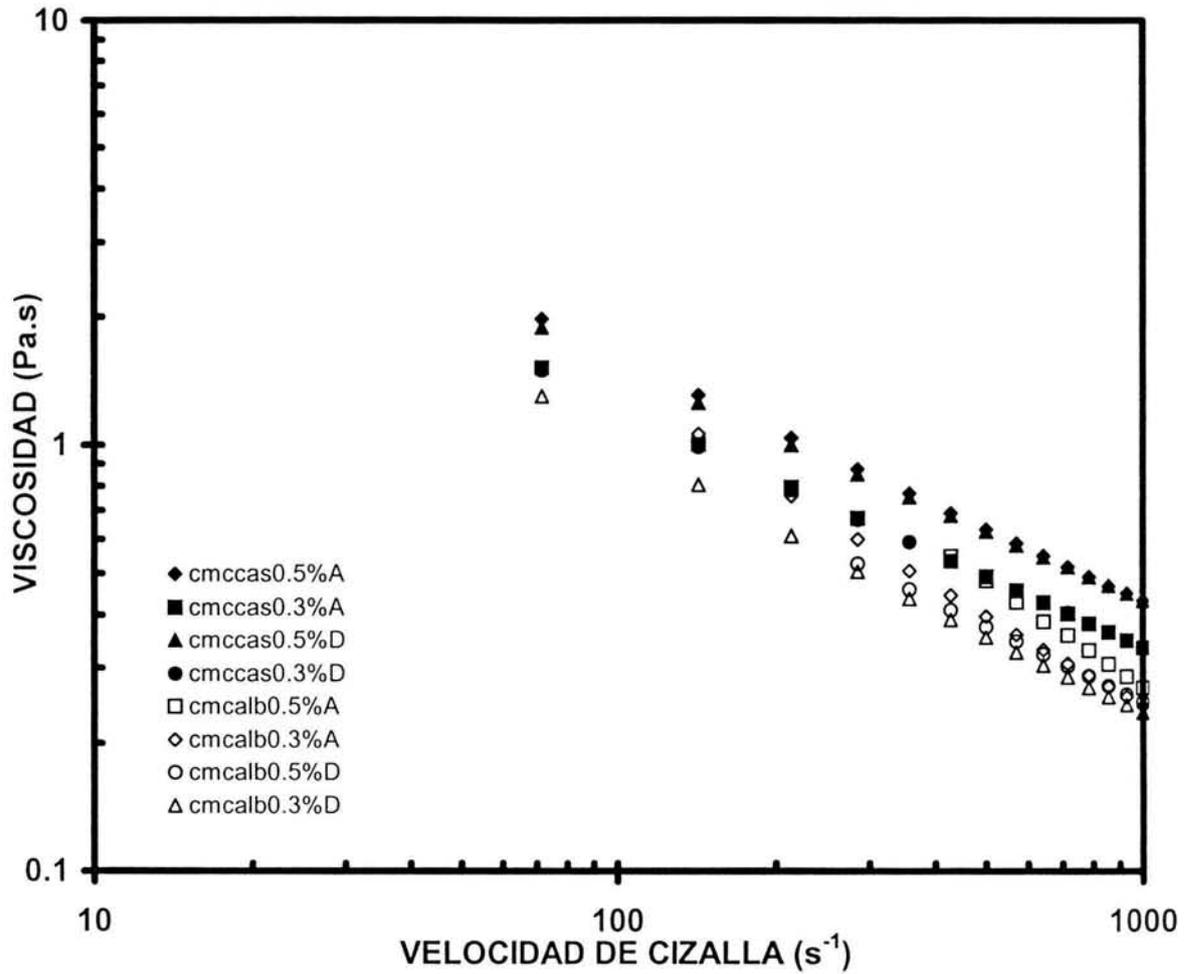


Figura 3.20 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de emulsiones elaboradas con la mezcla de CMC a 0.3 y 0.5 % con albúmina de huevo (alb) al 2 % y con caseinato de sodio (cas) al 2 %. (A – ascenso, D – descenso).

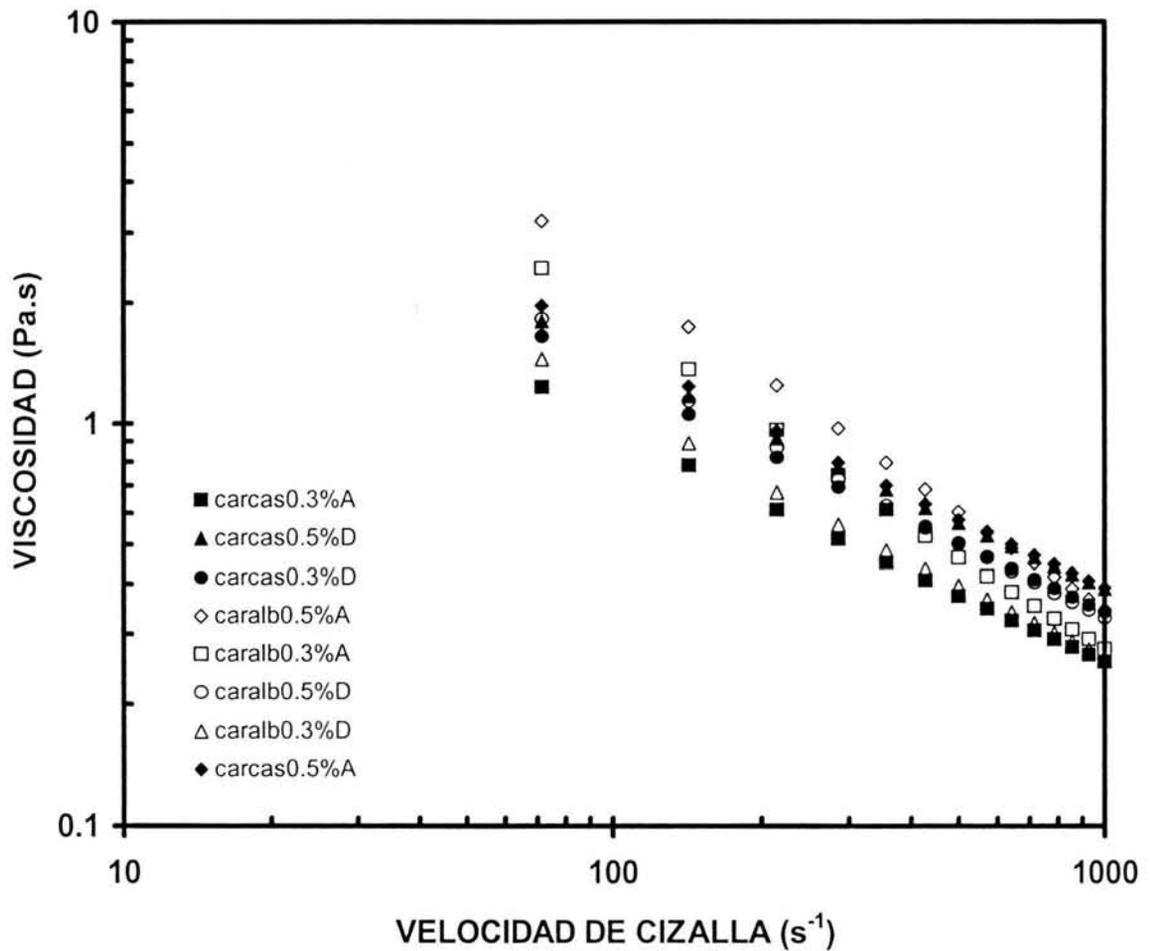


Figura 3.21 Comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de emulsiones elaboradas con la mezcla λ -carragenina (carr) al 0.3 y 0.5 % con albúmina (alb) al 2% y con caseinato de sodio (cas) al 2%. (A – ascenso, D – descenso).

En la Figura 3.22 se muestran las curvas de flujo de las emulsiones elaboradas con tragacanto a 0.3 y 0.5% y caseinato de sodio al 2%, albúmina al 2%.

En las emulsiones elaboradas con tragacanto al 0.3 y 0.5% se observó un comportamiento fluidificante para las que contienen caseína y no presentan tixotropía. Respecto a la concentración del polisacárido no presentan una diferencia importante en el índice de consistencia ($K^{0.3\%} = 61.5 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ y $K^{0.5\%} = 60.7 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$).

Las emulsiones con tragacanto al 0.3 y 0.5% con albúmina presentaron un comportamiento diferente de las otras emulsiones, ya que se observó un descenso del esfuerzo a velocidades de cizalla pequeño ($0-10 \text{ s}^{-1}$) hasta ser prácticamente constante, a velocidades de cizalla mayores, además presentar variaciones en el ascenso y descenso muy grandes y expulsión de la muestra. Con la finalidad de descartar efectos de deslizamiento esta prueba se realizó con dos geometrías, una de cilindros concéntricos con diámetro de cilindro interno 10 mm y longitud 30 mm, diámetro de cilindro externo = 10.850 mm (DIN-Z20) y una placa rugosa con diámetro 35 mm (PP-35) en ambos instrumentos presentó el mismo comportamiento, pero con cilindros concéntricos el esfuerzo medido fue mayor en ambas concentraciones.

Este comportamiento puede ser atribuido a la presencia de un esfuerzo de fluencia (σ_0) en estas muestras ya que en general se observa una resistencia prácticamente constante (σ) al aumentar la velocidad de cizalla..

Todas las otras emulsiones presentaron un comportamiento pseudoplástico (Figura 3.22) en un intervalo de cizalla de $10 - 1000 \text{ s}^{-1}$.

En general, en el Cuadro 3.8 se observa que los índices de consistencia para emulsiones con albúmina independiente del polisacárido (CMC, tragacanto y λ -carragenina) son de tres a cuatro veces mayores que los índices de consistencia para las elaboradas con caseína.

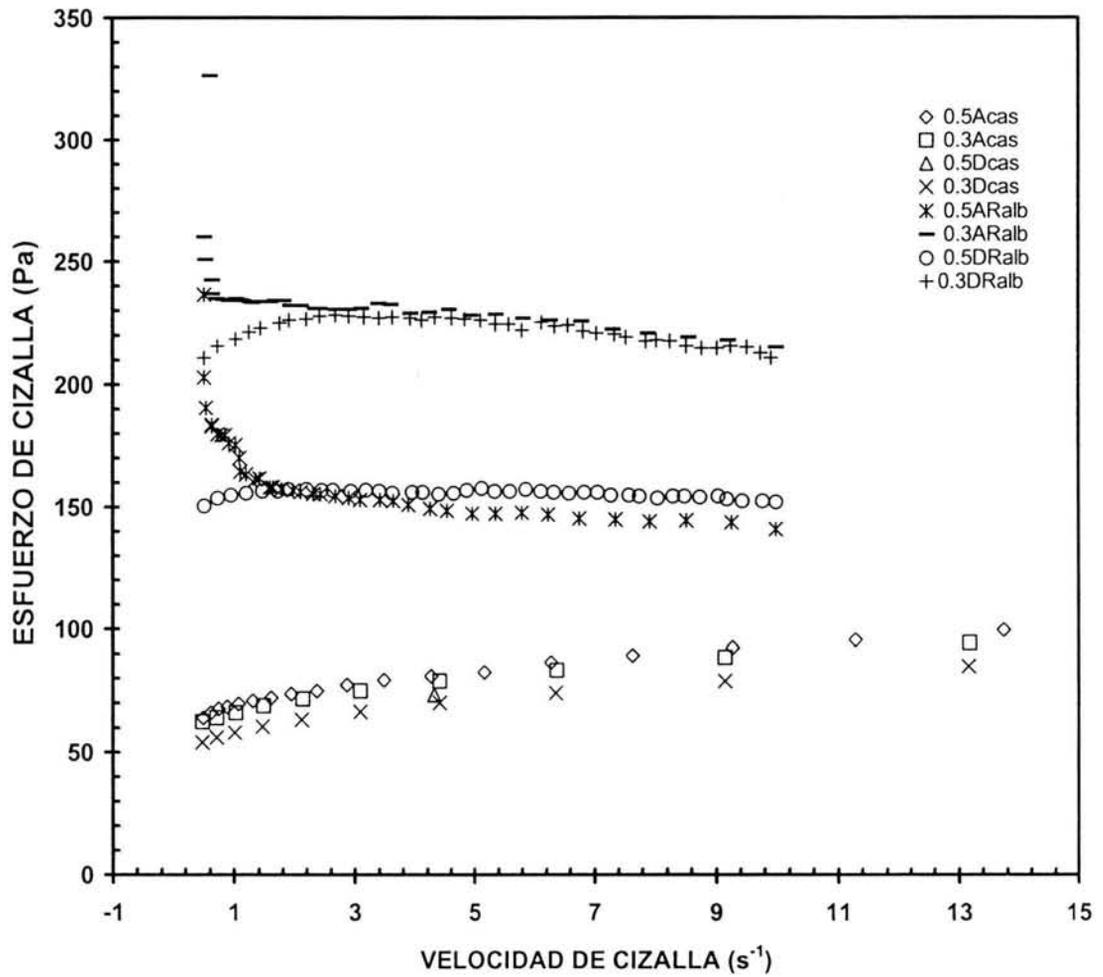


Figura 3.22 Esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla de emulsiones elaboradas con la mezcla de tragacanto a 0.3 y 0.5 % con albúmina al 2 % con geometría de placa rugosa y caseinato de sodio al 2 % con geometría de cilindros.

Cuadro 3.8 Parámetros reológicos de la Ley de la Potencia de las emulsiones aceite-agua elaboradas a partir de las mezclas proteína-polisacárido aniónico.

Emulsion al 75%v/v	K(Pa.s ⁿ)	n	K(Pa.s ⁿ)	n	Tx%
	CURVA DE ASCENSO		CURVA DE DESCENSO		
0.3% CMC + 2% Albúmina	51.21	0.22	21.42	0.34	58.17
C.V.	8.69	4.5	9.94	4.52	
0.5% CMC + 2% Albúmina	86.22	0.17	15.81	0.41	81.66
C.V.	34.98	28.84	52.54	18.88	
0.3% Carragenina + 2% Albúmina	82.7	0.17	20.103	0.37	75.69
C.V.	12.65	10.7	15.72	2.82	
0.5% Carragenina + 2% Albúmina	114.4	0.16	28.06	0.35	75.47
C.V.	11.97	7.87	16.2	4.7	
	CURVA DE ASCENSO		CURVA DE DESCENSO		
0.3% CMC + 2% Caseinato	17.03	0.43	16.23	0.44	4.69
C.V.	10.13	2.86	11.91	3.16	
0.5% CMC + 2% Caseinato	23.06	0.42	19.95	0.44	13.48
C.V.	5.84	1.12	4.71	0.41	
0.3% Carragenina + 2% Caseinato	19.24	0.41	19.77	0.41	2.75
C.V.	4.15	1.46	3.55	1.11	
0.5% Carragenina + 2% Caseinato	24.8	0.4	20.12	0.43	18.87
C.V.	10.75	3.12	11.7	3.11	
0.3% Tragacanto + 2% Caseinato	61.48	0.2	53.75	0.22	12.57
C.V.	0.51	0.49	1.317	0.57	
0.5% Tragacanto + 2% Caseinato	60.71	0.24	35.93	0.34	40.81
C.V.	1.72	1	0.22	0.12	

3.5 PROPIEDADES VISCOELASTICAS EN CIZALLA OSCILATORIA DE LAS EMULSIONES CONCENTRADAS.

Los resultados obtenidos en deformación oscilatoria se analizaron en términos del módulo de almacenamiento o componente elástico (G') y módulo de pérdida o componente viscoso (G''), para ello se presentan los espectros mecánicos de las emulsiones con las dos proteínas (albúmina o caseinato de sodio) y los tres polisacáridos (carboximetilcelulosa de sodio, tragacanto o λ -carragenina) en los que se incluye la desviación estándar de los módulos (señalado con barras).

En la Figura 3.23 se observa que el módulo de almacenamiento (G') es mayor en las emulsiones que contienen la mezcla albúmina–carragenina a 0.3 y 0.5% siendo los módulos muy similares para ambas concentraciones. Al compararlos con las emulsiones que contienen caseinato de sodio–carragenina, los módulos son menores, también se observa que el módulo de almacenamiento (G') es mayor conforme aumenta la concentración de

carragenina, además de tener datos más variables en ambas concentraciones observándose una mayor desviación estándar de los módulos viscoelásticos.

En la Figura 3.24 las emulsiones con albúmina–CMC a 0.3 y 0.5% mostraron un módulo de almacenamiento (G') mayor y casi igual en ambas concentraciones con relación a las que contenían caseinato de sodio. Las emulsiones con caseinato de sodio–CMC al 0.5% presentó un módulo de almacenamiento (G') ligeramente mayor que con caseinato de sodio–CMC a 0.3%. Se observó una desviación estándar pequeña para ambas proteínas (albúmina de huevo y caseinato de sodio).

En la Figura 3.25 las emulsiones mostraron un comportamiento diferente, ya que independientemente de la proteína el módulo de almacenamiento es muy similar entre ellas, excepto para la emulsión a albúmina–tragacanto a 0.5% que está ligeramente por arriba de las demás. En general se observó que presentan un comportamiento más próximo al sólido viscoelástico, donde el módulo de almacenamiento (G') predominó sobre el módulo de pérdida.

Se puede destacar que las emulsiones preparadas con albúmina y los polisacáridos aniónicos (CMC, λ -Carragenina y Tragacanto), presentaron una mayor índice de consistencia y un comportamiento más cercano al sólido viscoelástico comparado con las emulsiones preparadas con caseinato de sodio; es decir, los módulos G' y G'' son superiores a las de emulsiones que contienen caseinato de sodio.

En cuanto al efecto de la concentración de polisacáridos, en general se observó que el tipo de polisacárido estudiado modifica de la misma manera la magnitud de los módulos viscoso y elástico de las emulsiones concentradas con la presencia de ambas proteínas.

Ma y Barbosa-Canova (1995) encontraron que para las mayonesas estudiadas a altas concentraciones de aceite, son más pronunciadas sus características como gel, esto es por que hay empaquetamiento de las gotas a altas concentraciones.

Es importante remarcar que cuando se tienen mayores coeficientes de variación (indicado con barras en las Figuras 3.23, 3.24 y 3.25) en los módulos

elástico y viscoso de las emulsiones pudiera indicar de manera indirecta una mayor inestabilidad de las emulsiones.

Los resultados de este estudio pueden servir de alternativa a emulsiones alimenticias aceite-agua altamente concentradas (75% de fase dispersa) utilizando mezclas de CMC-albúmina y tragacanto-albúmina y a que presentan diferentes comportamientos reológicos que en conjunto con las propiedades fisicoquímicas dan la noción de tener mejor estabilidad para este tipo de productos.

Falta página

N° 89

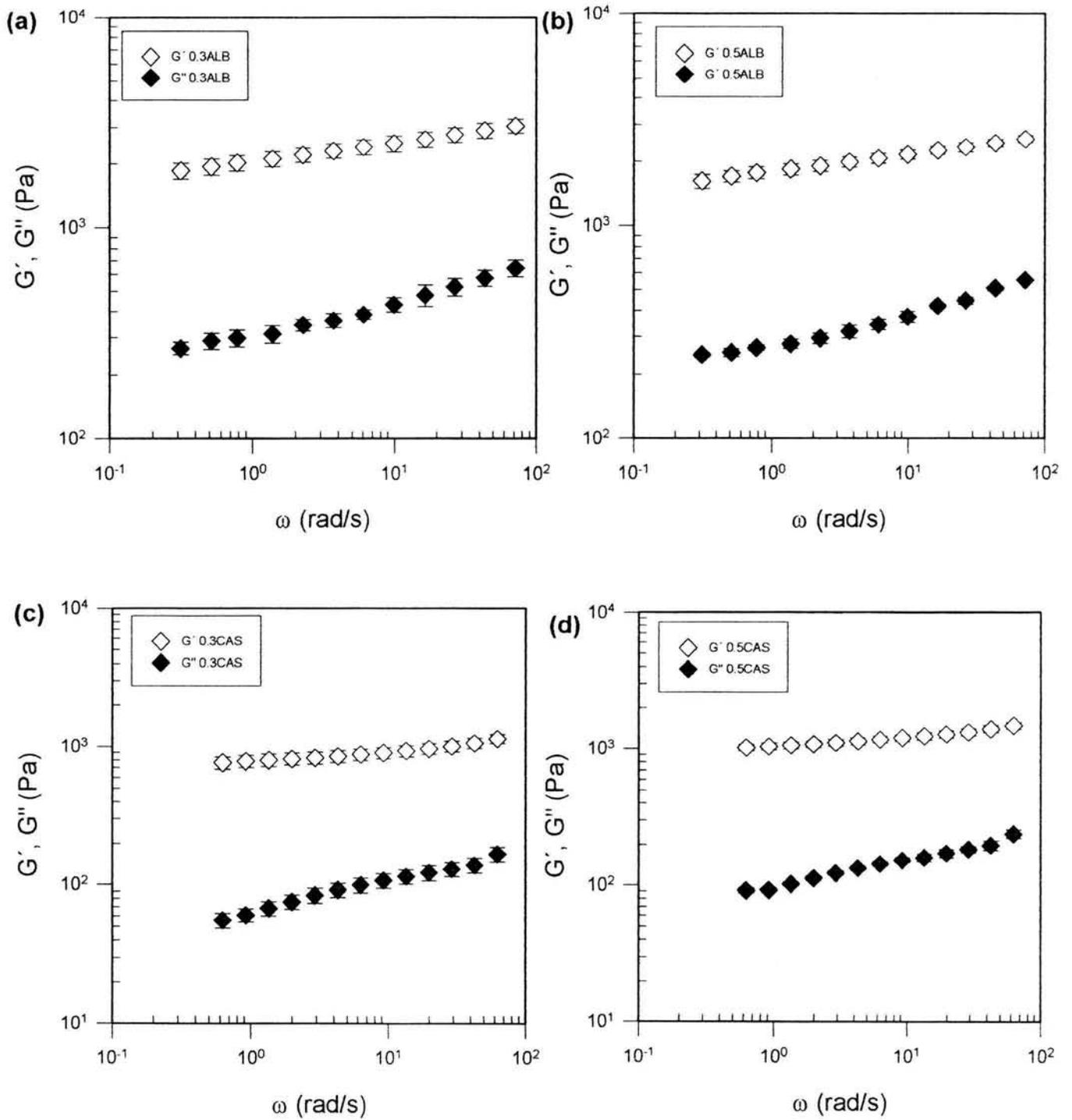


Figura 3.24 Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia (ω) de emulsiones con la mezcla CMC: (a) 0.3%, (b) 0.5% con albúmina de huevo (ALB) y (c) 0.3%, (d) 0.5% con caseinato de sodio (CAS) al 2%.

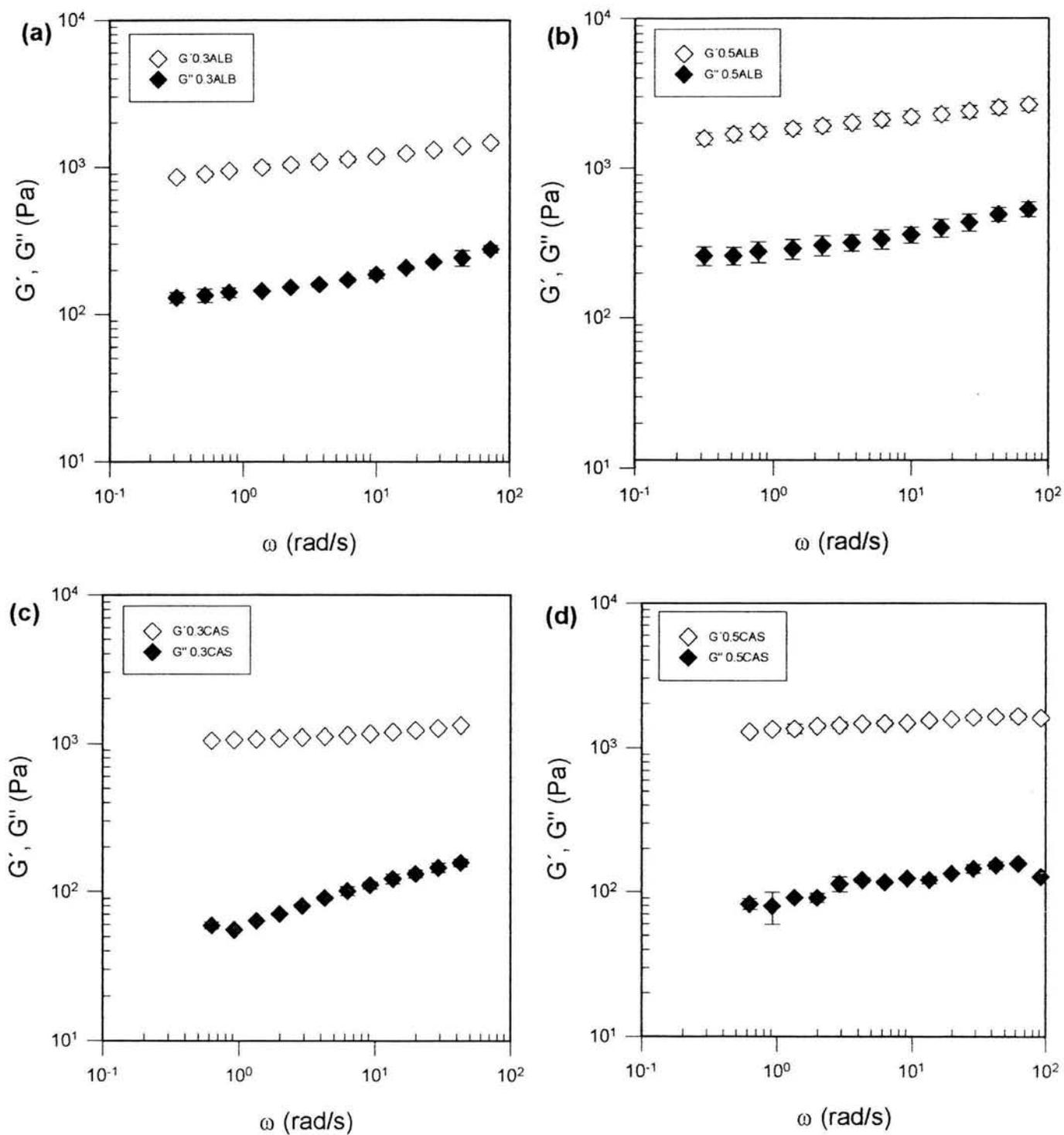


Figura 3.25 Módulo de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función de la frecuencia (ω) de emulsiones con tragacanto: (a) 0.3%, (b) 0.5% con albúmina de huevo (ALB) al 2% y (c) 0.3%, (d) 0.5% con caseinato de sodio (CAS) al 2%.

4. DISCUSSION

4. DISCUSION

La tensión interfacial es otra propiedad importante en la estabilidad de las emulsiones que contienen una mezcla proteína-polisacárido aniónico, ya que, los polisacáridos no sólo incrementan la viscosidad de la fase continua sino que también tienen propiedades de superficie activa como es el caso de la goma tragacanto que ayuda a reducir la tensión interfacial facilitando la emulsificación, es decir, se adsorben fácilmente en la interfase y proporcionan mayor estabilidad a la emulsión (Stephen y Churms, 1995). En este estudio la tensión interfacial de las mezclas proteína-polisacárido aniónico es menor que con la proteína sola. La tensión superficial de la disolución de caseinato de sodio a 1.5 y 2.5% es de 0.0467 y 0.0456 N/m respectivamente y para la disolución de albúmina a 1.5 y 2.5% es de 0.0470 y 0.0469 N/m respectivamente. Las dispersiones de albúmina-polisacárido aniónico a 0.3 y 0.5% están en un intervalo de 0.0218 – 0.0346 N/m, mientras que para caseinato de sodio-polisacárido aniónico el intervalo fue de 0.0184–0.0426 N/m a las mismas concentraciones del polisacárido. La mezcla que presentó menor tensión interfacial fue la de goma tragacanto al 0.3% con caseinato de sodio, esto se atribuye a las propiedades bifuncionales del tragacanto, ya que además de incrementar la viscosidad del medio continuo, disminuye la tensión interfacial aceite-agua. Este polisacárido a una concentración de 0.25 y 0.5% disminuye la tensión interfacial a 0.021 y 0.019 N/m respectivamente (Stephen y Churms, 1995). Esto representa una mayor ventaja al usar una mezcla de proteína-polisacárido aniónico para estabilizar emulsiones.

Las dispersiones proteína-polisacárido aniónico con las que se prepararon las emulsiones presentaron un pH casi neutro, por lo tanto, se trabajó con un pH por arriba del pI (punto isoeléctrico) de la proteína, éstas poseen una carga neta negativa y pueden comportarse como un polianión. A pH neutro pueden ocurrir interacciones electrostáticas entre polisacáridos aniónicos que contienen grupos carboxílicos (tragacanto y CMC) y subunidades cargadas positivamente de las proteínas (ejemplo, las cargas positivas de la superficie de las micelas de la caseína). Los polisacáridos sulfatados (λ -carragenina) son capaces de formar

complejos solubles a valores de pH por arriba del punto isoeléctrico de la proteína (Stephen y Churms, 1995; Tolstoguzov, 1997).

En general, se tienen máximas interacciones electrostáticas repulsivas y un mínimo de interacciones atractivas electrostáticas en las mezclas de proteínas con polisacáridos aniónicos a $\text{pH} > \text{pI}$. También es posible encontrar interacciones repulsivas estéricas debido a los polímeros de gran peso molecular (McClements, 1999).

Estas consideraciones son de gran interés en la elaboración de emulsiones especialmente en aquellas que son concentradas, ya que los polisacáridos además de aumentar la viscosidad de la fase continua presentan interacciones que dependen del pH, fuerza iónica, concentración de los biopolímeros, entre otros lo que ayuda a estabilizar este tipo de emulsiones.

Otra característica de las emulsiones estudiadas fue el tamaño de partícula, que está relacionada con la fracción volumen de la fase dispersa en la que se espera que a mayor fracción volumen menor tamaño de partícula (Rajinder, 1995; Ponton y col., 2001). Las emulsiones que contienen la mezcla de albúmina-polisacáridos aniónicos presentaron un tamaño de partícula mayor ($d_{3,2}$) que la preparadas con caseinato de sodio-polisacáridos aniónicos. Asimismo, se observó que al aumentar la concentración del polisacárido, las emulsiones presentaron un mayor tamaño de partícula. Las micrografías muestran que el tamaño de partícula en las emulsiones es más homogéneo para las elaboradas con caseinato de sodio que las que contienen albúmina, esto puede deberse a la formación de burbujas (carácter espumante de la albúmina) y/o la formación de algunos conglomerados.

La fracción volumen de la fase dispersa es otra propiedad de la que depende la estabilidad de las emulsiones por lo que fue importante determinarla. La fracción volumen de las emulsiones estudiadas fue ligeramente mayor para las que contenían la mezcla de caseinato de sodio- λ -carragenina a 0.3 y 0.5% (0.872) y caseinato de sodio-CMC a 0.3 y 0.5%, que las demás emulsiones. Las emulsiones que presentaron menor fracción volumen son las que contienen la mezcla de albúmina- λ -carragenina a 0.3 y 0.5% y albúmina-CMC a 0.3 y 0.5%, aunque se esperaba que la fracción volumen medida se mantuviera constante

(0.75). La variación que presenta la fracción volumen es mínima y esto puede ser debido al método con que se determinó, para lo cual se cuantificó la densidad de las fases ocasionando un error acumulativo al determinar la fracción volumen de la fase dispersa.

La conductividad eléctrica es una propiedad importante en la elaboración de las emulsiones debido a que una reducción de la conductividad eléctrica conduce a una inversión de fases (McClements, 1999) lo cual no ocurrió debido a que las emulsiones presentaron buena conductividad. La conductividad eléctrica aumentó al incrementar la concentración del polisacárido independientemente de la proteína, esto se debe a que se incrementó el número de cargas, excepto en las emulsiones con goma tragacanto al 0.3% y λ -carragenina al 0.3%, ambas con caseinato de sodio que presentaron mayor conductividad que a una concentración del 0.5% del polisacárido.

Las emulsiones elaboradas con albúmina presentaron un potencial negativo y de mayor magnitud que las que contienen caseinato de sodio que fueron positivos y de menor magnitud, esta diferencia puede deberse a que la albúmina se desnaturalizará exponiendo mayor cantidad de grupos hidrófobos hacia el glóbulo formando una capa adsorbida y más cargada de iones negativos de la proteína (capa Stern) y quedando más grupos hidrófilos expuestos interaccionando con el polisacárido que las emulsiones que contienen caseinato de sodio (Tolstoguzov, 1997), donde el número de cargas negativas puede ser menor que el número de cargas positivas, siendo éstas las que predominen en la superficie de los glóbulos. También se puede comentar que la proteína al interaccionar con el polisacárido pudiera modificar el pI de la proteína (4 – 5) y se estuviera en un pH muy cercano al pI de las mismas donde las cargas prácticamente se neutralizan, por tanto se puede medir un potencial zeta pequeño como es el caso de las emulsiones que contienen caseinato de sodio.

El potencial zeta es una propiedad que expresa la carga neta efectiva sobre la superficie de los glóbulos, esta carga genera fuerzas de repulsión entre los glóbulos y está dado por el espesor de la capa difusa. La carga desarrollada por la adsorción del o los polímeros, la modificación del pH y la concentración

modifican el equilibrio de adsorción–desorción afectando el potencial zeta (Atthey, 1991).

La emulsión con la mezcla CMC al 0.5%-albúmina presentó un potencial zeta positivo (18.25) y de igual magnitud que la emulsión con la mezcla tragacanto al 0.5%-caseinato de sodio (18.33), y la emulsión con la mezcla tragacanto al 0.3%-caseinato de sodio tiene un potencial zeta negativo y de mayor magnitud (-21.7) que a una concentración mayor del mismo polisacárido. En estos casos puede deberse a que un exceso de iones contraen la atmósfera de iones (capa difusa) ocasionando una disminución o cambio en el potencial zeta.

Esta propiedad tiene relación con las interacciones que se están llevando a cabo, el hecho de tener una medición positiva o negativa indica la presencia de interacciones electrostáticas repulsivas, que a mayor potencial zeta habrá una mayor repulsión entre las partículas dando lugar a una mayor estabilidad.

El comportamiento global de las emulsiones está determinado por un balance entre factores reológicos y factores fisicoquímicos, por lo que fue de interés determinar el comportamiento reológico de las dispersiones de los polisacáridos individuales, las dispersiones de las mezclas de proteína-polisacárido aniónico y de emulsiones elaboradas con esta mezcla.

En las dispersiones de los polisacáridos, la viscosidad aparente aumentó al aumentar la concentración del polisacárido. En el caso de la viscosidad aparente en las dispersiones de la mezcla proteína–polisacárido aniónico se tuvieron diferentes comportamientos de acuerdo a la Ley de la Potencia y newtonianos.

La viscosidad aparente de la goma tragacanto al 0.3% no mostró ninguna diferencia al interaccionar con la presencia de las dos proteínas, estas mezclas se comportaron como fluidos newtonianos, mientras que al incrementarse la concentración de tragacanto al 0.5% el índice de consistencia es mayor cinco veces más con albúmina, y con caseína es menor prácticamente a la mitad, esta última presentó también un cambio notable en el potencial zeta.

La viscosidad aparente para la λ -carragenina en ambas concentraciones con cualquiera de las proteínas no presentó grandes cambios, y de igual forma su potencial zeta es casi constante, teniendo una semejanza en estas propiedades.

Para las mezclas de CMC a 0.3 y 0.5% con albúmina pierden su carácter fluidificante debido a las interacciones entre los polímeros, en este caso la mezcla de CMC al 0.5% con la albúmina presenta una diferencia en magnitud y signo del potencial zeta. Esto es un factor determinante en el comportamiento reológico de las emulsiones ya que está determinado por el pH, la concentración de los polímeros, la interacción de las partículas en la fase continua y la concentración de la fase dispersa (McClements, 1999).

Las emulsiones elaboradas con CMC a 0.3 y 0.5% teniendo caseinato de sodio tuvieron una viscosidad aparente mayor que las que contenían albúmina; respecto a la concentración del polisacárido, la viscosidad fue mayor al incrementarse la concentración del polisacárido.

Las emulsiones con λ -carragenina al 0.3 y 0.5% con caseinato de sodio presentaron una viscosidad aparente menor que las que contenían albúmina y por tanto se considera una menor estabilidad en estos sistemas, debido a la dependencia que existe entre la viscosidad y la estabilidad. La emulsión que contenía λ -carragenina al 0.3% con caseinato de sodio mostró un comportamiento de tipo antitixotrópico, por que el descenso de la muestra cizallada está por encima del ascenso formando un bucle de histéresis.

Las emulsiones con tragacanto al 0.3 y 0.5% con caseinato no presentaron modificación con respecto a la concentración del polisacárido, mientras que las elaboradas con albúmina tuvieron un comportamiento diferente a las otras; observándose un descenso del esfuerzo a velocidades de cizalla inferiores a 10 s^{-1} y presentaron variaciones en el ascenso y descenso a velocidades de cizalla mayores a 10 s^{-1} .

En general, la viscosidad aparente de las emulsiones aumentaron al incrementar la concentración del polisacárido independientemente de la proteína, mientras el índice de consistencia fue mayor en las emulsiones con las mezclas que contienen albúmina que las que contienen caseinato de sodio.

En el comportamiento viscoelástico de las emulsiones no se tuvo una diferencia importante en función del tipo de polisacárido (CMC, λ -carragenina y tragacanto) pero si un incremento en los módulos de almacenamiento y de pérdida al aumentarse la concentración del polisacárido aniónico. Respecto al

tipo de proteína si hubo diferencia en los parámetros viscoelásticos (G' y G''), éstos fueron mayores para las emulsiones que contienen albúmina que aquellas que contienen caseinato de sodio, sólo en el caso de las emulsiones con mezcla tragacanto a 0.3 y 0.5% con cada una de las proteínas mostraron un módulo de almacenamiento muy similar, en un intervalo de frecuencia de $10^{-1} - 10^2$ Hz.

La relación de los parámetros viscoelásticos con las propiedades fisicoquímicas antes mencionadas se apoya en estudios realizados por Kiosseoglou y Sherman (1993), Otsubo y Pru'dhomme (1994), Rajinder (1996a, 1996b), Ponton y col. (2001), ellos encontraron que al disminuir el tamaño de partícula, la viscosidad, y los parámetros viscoelásticos (G' y G'') se incrementan en emulsiones de tipo aceite-agua y agua-aceite, este fenómeno no es reproducido en las emulsiones en este trabajo, ya que las emulsiones con albúmina presentaron mayores tamaños de partícula de viscosidad, índice de consistencia, así como G' y G'' . Estos parámetros tampoco tienen una dependencia directa con la fracción volumen como lo reportan Gallegos y col. (1988), Berjano y col. (1990), Ma y Barbosa-Canovas (1991), Ponton y col. (2001), debido a que en este estudio las emulsiones con albúmina tuvieron un módulo de almacenamiento y de pérdida mayor a las emulsiones con caseinato de sodio a una fracción volumen ligeramente menor.

En el caso del potencial zeta, este parámetro presentó una relación directa con los parámetros viscoelásticos de las emulsiones debido a que ambos parámetros dependen de la interacción de polímeros. Las emulsiones con albúmina mostraron un potencial zeta mayor y negativo, la viscosidad, la viscosidad aparente, índice de consistencia, G' y G'' fueron también mayores cuando se compararon con las emulsiones con caseinato de sodio, ya que estas últimas presentan un potencial zeta menor y positivo. Este efecto se relaciona con las interacciones que se llevan a cabo entre las proteínas y los polisacáridos aniónicos, y los posibles complejos formados, lo cual depende del pH en que se encuentren las emulsiones por lo que se supone se tendría una mayor estabilidad en las emulsiones con albúmina que en aquellas con caseinato de sodio.

5. CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

La tensión interfacial de disoluciones de proteínas utilizadas para estabilizar emulsiones fue favorecida por la adición de polisacáridos aniónicos (CMC, tragacanto o λ -carragenina), disminuyendo esta propiedad aproximadamente en un 50% lo cual facilita la emulsificación.

Las dispersiones de la mezcla proteína-polisacárido aniónico con las que se prepararon las emulsiones presentaron un pH casi neutro, por lo tanto el pH utilizado está por arriba del punto isoeléctrico (pI) de las proteínas. A este pH las proteínas poseen carga neta negativa, por lo que se tienen interacciones repulsivas electrostáticas e interacciones repulsivas estéricas por trabajar con macromoléculas de alto peso molecular.

Las emulsiones preparadas con la mezcla albúmina-polisacárido aniónico tuvieron una apariencia espumosa y las preparadas con caseinato de sodio-polisacárido aniónico una apariencia cremosa.

El tamaño del glóbulo no mostró una relación directa con el incremento de la concentración del polisacárido ni con las propiedades de flujo y viscoelásticas de las emulsiones.

Al aumentar la concentración del polisacárido se incrementó la conductividad eléctrica de las emulsiones excepto para las que contenían la mezcla de tragacanto y λ -carragenina con caseinato de sodio.

Las interacciones repulsivas electrostáticas entre los biopolímeros se ve reflejado en la medición del potencial zeta. Para las emulsiones con albúmina el potencial zeta fue negativo y de mayor magnitud que las que contienen caseinato de sodio que fueron positivos y de menor magnitud. Esta medición es indicativa de mayor estabilidad en las emulsiones con albúmina que con caseinato de sodio.

En el comportamiento reológico las dispersiones de la mezcla con caseinato de sodio-polisacárido aniónico presentaron un comportamiento fluidificante a la cizalla, con un índice de consistencia en un intervalo de 0.082 – 0.46 Pa.sⁿ para cizallas entre 1 – 50 s⁻¹ excepto para las que contienen tragacanto y λ -carragenina, ambos disoluciones de polisacáridos a 0.3% presentaron un

comportamiento newtoniano. Para las disoluciones de albúmina–tragacanto al 0.3% y con CMC a 0.3 y 0.5% tuvieron un comportamiento newtoniano en un intervalo de cizalla entre 20 y 150 s^{-1} excepto para tragacanto al 0.5% y λ -carragenina a 0.3 y 0.5% presentaron un comportamiento fluidificante a la cizalla con un índice de consistencia entre 0.043 y 2.44 $Pa.s^n$ en un intervalo de cizalla de 10 a 500 s^{-1} .

Las emulsiones no presentaron el mismo comportamiento reológico que presentó la fase continua (mezcla proteína–polisacárido aniónico), ya que todas fueron fluidificantes a la cizalla que se pueden representar por el modelo de la Ley de la Potencia.

La viscosidad aparente, el índice de consistencia (K) y parámetros viscoelásticos (G' , G'') fueron mayores en las emulsiones que contenían albúmina las cuales presentaron un tamaño de partícula mayor que las emulsiones que contenían caseinato de sodio y presentaron un tamaño de partícula menor.

La concentración del polisacárido no tuvo gran influencia en los parámetros viscoelásticos de las emulsiones.

El potencial zeta fue el factor más determinante en la reología de las emulsiones altamente concentradas elaboradas con la mezcla de proteína (albúmina de huevo o caseinato de sodio)–polisacárido aniónico (CMC, tragacanto o λ -carragenina).

Es posible establecer que las emulsiones con las mezclas de polisacárido aniónico (CMC, tragacanto, λ -carragenina) – proteína (albúmina de huevo o caseinato de sodio) aquí estudiadas no presentan el mismo comportamiento de la fase continua, sino que es el resultado de la relación entre las propiedades fisicoquímicas (tamaño de partícula, interacción proteína-polisacárido, fracción volumen de la fase dispersa, conductividad, pH y potencial zeta) para dar mayor estabilidad a este tipo de sistemas que son frecuentemente encontrados en la industria de alimentos, y modifican también en gran medida el comportamiento reológico de las emulsiones altamente concentradas y estabilizadas con

macromoléculas, debido a interacciones tanto repulsivas por cargas como interacciones estéricas entre las macromoléculas presentes.

Para completar el estudio realizado con las proteínas (albúmina de huevo y caseinato de sodio), mezclados con los polisacáridos aniónicos (tragacanto, CMC o λ -carragenina), se recomendaría determinar el pI (punto isoeléctrico) de la proteína, así como el pI de la proteína mezclado con polisacárido a diferentes concentraciones. También sería conveniente evaluar el efecto del pH en las emulsiones con la mezcla proteína-polisacárido aniónico a pH arriba y abajo del pI. Finalmente, evaluar la estabilidad de las emulsiones con la mezcla proteína polisacárido en función del tiempo, o en condiciones de vida de anaquel aceleradas y nuevamente evaluar las propiedades fisicoquímicas y reológicas con las condiciones mencionadas anteriormente.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

Acton, G. C. y Saffle, R. L. (1971), Stability of oil – in – water emulsion. 2. Effects of oil phase volume, stability test, viscosity, type of oil and protein additive, *Journal of Food Science* **58**: 852-855.

Adamson, W. A., (1982), *Physical Chemistry of Surfaces*, 4^a ed., John Wiley & Sons, New York, EUA.

Anonymous (1977), citado en Coia K. A. y Stauffer, K. R., (1987), Shelf Life Study of Oil/Water Emulsions Using Various Comercial Hydrocolloids. *Journal of Food Science*, **52**,1:166-172.

Athey, D.R., (1991), Colloid Science Applied to Emulsion Polymers en *Emulsion Polymer Technology*, cap. 2, Marcel Dekker, Inc. EUA.

Azzam, M. O. J. y Omari, R. M., (2002) Stability of Egg White-Stabilized Edible Oil Emulsión Using Conductivity Technique, *Food Hydrocolloids*, **16**, 105-110.

Badui, D. S., (1996), *Química de los Alimentos*, Alambra Mexicana, México.

Belitz, H. D. y Grosch, W., (1992), *Química de los Alimentos*, 2^a. ed., Acribia, S.A., Zaragoza España.

Benichou, A., Aserin, A. y Garti, N., (2002), Protein-Polysaccharide Interactions for Stabilization of Food Emulsions, *Journal Dispersion Science and Technology*, **23**, 1-3, 93-123.

Berjano, M., Muños, J., Guerrero, A., Flores, V. y Gallegos C., (1990), Comportamiento Viscoelástico Dinámico de Mayonesas Comerciales., *Revista Agroquímica Tecnológica. Alimentaria*, **30**, 4, 481-491.

Buffo, A. R., Reineccius A. G., (2002), Modeling the Rheology of Concentrated Beverage Emulsions, *Journal of Food Engineering*, **51**, 267- 271.

Castelain, C., Goncalves, M. P., Doublier, J. L. y Lefebvre, J. (1986), Protein-Polysaccharide Interactions: Rheological Evidence for Aggregation Process in Aqueous Cellulose Derivatives- BSA Systems en *Gums and Stabilizers for the Food Industry 3*, Phillips, G. O., Wedlock, D. J., Williams, P. A., Elsevier Applied Science Publishers, London RU.

Coia, K. A. y Stauffer, K. R., (1987), Shelf Life Study of Oil/Water Emulsions Using Various Comercial Hydrocolloids, *Journal of Food Sciencie*, **52**,1:166-172.

Darby, R., (1974) *Emulsion and Emulsion Technology. Surfactant Science series*, **6**,3,2, Editado por Kenneth, J. Lissant, Marcel Dekker, Inc. New york.

Darling, D. F. y Birkett, R. J., (1987) Food Colloids in Practice en *Food Emulsions and Foams*, Editado por Dickinson, E., Royal Society of Chemistry, London, RU.

Dickinson, E. (1992), *An Introduction to Food Colloids*, Oxford University Press New York, EUA.

Dickinson, E. y McClemens D. J., (1996), *Advances in Food Colloids*, cap. 3. Blackie Academic & Professional.

Dickinson, E. y Stainsby, G., (1982), *Colloid in Food*, Applied Science Publisher, London, RU.

Dickinson, E. y Euston, P. S., (1991), Stability of Food Emulsions Containing both Protein and Polysaccharide en *Food Polymer, Gels and Colloids*, por Dickinson, E. The Royal Society of Chemistry, London, RU.

Dominic, W. S., (1989), *Química de Alimentos (Mecanismos y teoría)*, Acribia, S.A. Zaragoza, España.

Fisher, L. R. y Parker, N. S., (1985), How do Food Emulsion Stabilizers work?, *CSIRO Food Research Q.*, **45**, 33-39.

Franco, J.M., Guerrero, A. y Gallegos, C., (1995), Rheology and Processing of Salad Dressing Emulsions, *Rheologica Acta*, **34**, 6: 513-524.

Friberg, S. E. y Larsson, K., (1997), *Food Emulsions*, Marcel Dekker, Inc. New York, EUA.

Gallegos, C., Berjano, M., García, J. y Muños, J., (1988), Aplicación de un modelo cinético al estudio del flujo transitorio en mayonesas, *Fasc.* **39**: 254-263.

Gutierrez, G. Ma. I., (2004), Estudio termodinámico de Superficies en Albúmina, Caseína, Aislado de Maíz y Aislado de soya. Tesis de Licenciatura, Ingeniería de Alimentos, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

Hemar, Y. y Horne, D. S., (1999), Rheology of Highly Concentrated Protein-Stabilized Emulsions, en *Food Emulsions and Foams interfaces, Interacciones and Stability*, editado por E. Dickinson y J. M. Rodriguez Patiño, Royal Society of Chemistry, London, RU.

Huang, X., Kakuda, Y. y Cui, W., Hydrocolloids in emulsions: Particle Size Distribution and Interfacial Activity, *Food Hydrocolloids*, **15**, 533 – 542.

Hunter, R. J., (1995), *Foundations of Colloid Science*, Vol. II, Oxford Science Publications.

Imeson, A., (1997), *Thickening and Gelling Agents for Food*, Blackie Academic & Professional.

Kato, A., Fujshige, T., Matsudomi, N., y Kobayashi, K., (1985), Determination of Emulsifying Properties of Some Protein by Conductivity Measurements, *Journal of Food Science*, **50**:1, 56-58.

Kiosseoglou, V.D. y Sherman, P., (1983), Influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of o/w emulsions and mayonnaise. 1. Viscoelasticity of groundnut oil-in-water emulsions and mayonnaise, *Journal of Texture Studies*, **14**: 397-417.

Kokini, J. L. y Carrillo, R. A., (1989), Effect of Tomato Paste on Rheological Properties and Particle Size Distribution of Model Oil-in-Water Emulsions, *Journal of Food Science*, **54**, 2: 437-439.

Latreille, B. y Paquin, P., (1990), Evaluation of Emulsion Stability by Centrifugation with Conductivity Measurements, *Journal of Food Science*, **55**, 6: 1666-1668.

Ledward, D. A., (1979), Protein-Polysaccharide Interactions en *Polisaccharides in Food*, editado por Blanshard, J. M. V. y Mitchel J. R., Butterworths, London, RU.

Lewis, M.J. (1993), *Propiedades Físicas de los Alimentos y de los sistemas de procesado*, Acribia, S. A., Zaragoza, España.

Lynch, M. J. y Griffin, W. C., (1974), *Emulsion and Emulsion Technology. Surfactant Science series*, **6**,1,5, Editado por Kenneth, J. Lissant, Marcel Dekker, Inc. New york, EUA.

Ma. L. y Barbosa-Canovas, G. V., (1995), Rheological Characterization of Mayonnaise, Part II: Flow and Viscoelastic Properties at Different Oil and Xanthan Gum Concentrations, *Journal of Food Engineering*, **25**: 409-425.

Masson, G. y Jost, R., (1986), A Study of Oil-in-Water Emulsion Stabilized by Whey Proteins, *Colloid & Polymer Science*, **264**, 631-638.

McClements, D. J., (1999), *Food Emulsion*, CRC Press, Boca Raton, EUA.

Muñoz, J. y Sherman, P., (1990), Dynamic Viscoelastic Properties of Some Commercial Salad Dressings, *Journal of Texture Studies*, **21**.

Nussinovitch, A., (1997), *Hydrocolloid Applications*, Gum technology in the food and other industries, Blackie Academic & Professional, New York, EUA.

Otsubo, Y. y Prud'home, R. K., (1994), Rheology of Oil-in-Water Emulsions, *Rheologica Acta*, **33**, 29-37.

Paul, C. P. y Palmer, H. H., (1972), Colloidal Systems and Emulsions en *Food Theory and Applications*, editado por Paul, C. P., y Palmer, H. H., cap. 2. John Wiley & Sons, New York.

Phillips, C. M., (1981), Protein Conformation at Liquid Interfaces and its Role in Stabilizing Emulsions and Foams, *Food Technology*, **1**: 50-57.

Ponton, A., Clément, P. y Grossiord, J.L., (2001), Corroboration of Princen's theory to cosmetic concentrated water-in-oil emulsions, *Journal of Rheology*, **45**, 2: 521-526.

Quintana, J. M., Califano, A. N., Zaritzky, N. E., Partal, P. y Franco, J. M., (2002), Linear and Nonlinear Viscoelastic Behavior of Oil-in-Water Emulsions Stabilized With Polysaccharides, *Journal of Texture Studies* **33**, 215-236.

Rajinder, P., (1995), Oscillatory, Creep and Steady Flow Behavior of Xanthan-Thickened Oil-in Water Emulsions, *AIChE Journal*, **41**, 4: 783-794.

Rajinder, P., (1996a), Rheological Properties of Mixed Polysaccharides and Polysaccharide-Thickened Emulsion. *AIChE Journal*, **42**, 7: 1824-1831.

Rajinder, P., (1996b) Effect of Droplet Size on the Rheology of Emulsions, *AIChE Journal*, **42**, 11: 3181-3190.

Rodriguez, F., (1996), *Principles of Polymer Systems*, 4a ed., Taylor & Francis, New York, EUA.

Roland, I., Piel, G., Delattre, L. y Evrard, B., (2003) Systematic Characterization of Oil-in-Water Emulsions for Formulation Design, *International Journal of Pharmaceutics*, **263**, 85-94.

Samant, S. K., Singhal, R. S., Kulkarni P. R. y Rege, D. V., (1993) Protein-Polysaccharide Interactions: A New Approach in Food Formulations, *International Journal of Food Science and Technology*, **28**, 547-562.

Sharma, S. C., (1981), Gums and Hydrocolloids in Oil-Water Emulsion, *Food Technology*, **1**: 59-67.

Shaw, D.J., (1970), *Introducción a la Química de Superficies y Coloides*, Alambra, S. A.

Sherman, P., (1968), Rheology of Emulsions en *Emulsion Science*, cap. 4, editado por Sherman, P., Academic Press, London, RU.

Sherman, P., (1983), Rheological Properties of Emulsions en *Enciclopedia of Emulsion Technology*, editado por Becher Paul, Marcel Dekker, New York, EUA.

Shurbert, H., (1997), Advances in the Mechanical Production of Food Emulsion, in *Engineering & Food at ICEF*, editado por Ronal Jowitf Sheffield, Academic Press, EUA.

Srinivasan, D. y Alain, P., (1977), Food Proteins and their Applications, Marcel Dekker, Inc., New York.

Stainsby G., (1986), Foaming and Emulsification en *Functional Properties of Food Macromolecules*, editado por Mitchell, J.R. y Ledward, D. A., cap. 7. Elsevier Applied Science, London, RU.

Stauffer (1980)., citados en Coia K. A., Stauffer, K. R., (1987), Shelf Life Study of Oil/Water Emulsions Using Various Comercial Hydrocolloids. *Journal of Food Science*, **52**,1:166-172.

Stephen, A. M., (1995), *Food Polysaccharides and their Applications*, Marcel Dekker, Inc. New Yor, cap. 13,14,15.

Stephen, A. M. y Churms, S. C., (1995), Gums and Mucilages en *Food Polysaccharides and their Applications* editado por Stephen A. M., Marcel Dekker, Inc., New York.

Tolstoguzov, B. V. C., (1977), en Food Proteins and their Applications editado por Srinivasan, D. y Alain,P., Dekker, Inc.,New York, cap. 6.

Tolstoguzov, B. V. C., (1986) Functional Properties of Protein-Polysaccharide Mixtures en *Funtional Properties of Food Macromoleculas*, por Mitchell, J. R. y Ledwar, D. A., cap. 9. Elsevier Applied Science Publishers, New York, EUA.

Toral, Ma. T., (1973), *Fisicoquímica de Superficies y Sistemas Dispersos*, URMO, Bilbao España.

Vernon-Carter, E. J. y Sherman, P., (1981), Citados en Hennock, M., Rahalcar, R. R. y Richmond, P., (1984), Effect of Xanthan Gum Upon the Rheology and Stability of Oil-Water Emulsions, *Journal of Food Science*, **49**: 1271-1274.

Ward-Smith, R. S., Hey, M. J. y Mitchell, J. R., (1994), Protein-Polysaccharide Interaction at the Oil-Water Interface, *Food Hydrocolloids*, **8**, 3-4.

Webb, N. B., Ivey, F. J., Craig, H. B., Jones, V. A. y Monroe, R. J., (1970), Citado en Latreille, B., Paquín, P., (1990). Evaluation of Emulsion Stability by Centrifugation with Conductivity Measurements, *Journal of Food Science*, **55**, 6, 1990.

Zeta-meter Inc. Potencial zeta. Un curso completo en 5 min. [http: www.zeta-meter.com](http://www.zeta-meter.com).