

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA**

**ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES REOLOGICAS DE LA PECTINA Y
MEZCLAS CON OTROS HIDROCOLOIDES EN PROCESOS DE
GELIFICACION PARA LA FORMULACION DE MERMELADAS
TERMORRESISTENTES**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

Christian Israel Ponce Guerrero

MÉXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Jurado asignado:

Presidente	Profa. María de los Ángeles Valdivia López
Vocal	Prof. Felipe de Jesús Rodríguez Palacios
Secretario	Prof. Luis Medina Torres
1er. Suplente	Profa. María Teresa Plata Jiménez
2º. Suplente	Profa. Mariana Ramírez Gilly

Laboratorio 213, Conjunto E, Facultad de Química, Ciudad Universitaria

Asesor

Dr. Luis Medina Torres

Sustentante

Christian Israel Ponce Guerrero

Agradecimientos

Quisiera agradecer a todos aquellos que han pasado por mi vida y han sido importantes de alguna forma para mí. Así que en un ejercicio de memoria y para el recuerdo, trataré de enlistarlos en orden cronológico.

A mi madre Verónica Guerrero, por haberme llevado por las buenas y por las malas al lugar en el que estoy. A mi hermano Diego Ponce por haber contribuido en gran parte a la formación de mi carácter como es hoy en día. A mis abuelos Elodio Ponce, Minerva E. Valle y Gloria Guerrero; a mis tíos y tías Belia Ponce y Arturo Cordova, Minerva Ponce y Clyde Wood, y a todos mis primos Ponce. A la familia de mi Madre y a todos mi primos y tíos; a Daniel Zarabozo H. y familia; a Vania Ávila y familia; a Leonardo Cruz G, Marcos Cruz G. y con mucho énfasis a su familia Neto Cruz y Lupita Gonzáles; a Oscar Flores y Alberto Flores; a todos mis compañeros de la generación '87-'93 de la primaria Ignacio Chávez Sánchez; a Carlos L. Rosillo, Fabiola Escareño, Yadira Terrazas, Israel Contreras, y a todos mis compañeros de la primaria Héroes de Veracruz; a Aarón Vázquez y a toda la familia Vázquez Solís, a mis compañeros de los Scouts de México Grupo 79 de Benito Juárez de '89-'95, a Héctor Luna Medinilla y todos mis compañeros de la Alberca Olímpica, a mis compañeros de Yamaha Paseos de Taxqueña; a Michael Solórzano, Rafael Mendoza, Francisco Zamorategui, Wilbert Zapata y todos mi amigos de la Héroes de Churubusco y colonias aledañas, a mis compañeros del Reims y en especial a Pedro Mendoza Mourillo, Pedro Menéndez, Cynthia Meléndez, Roxana Andrade, Rosa Elena Elvira, Saira Ortuño, Antonio Redondo; a mis compañeros del IPIA y en especial a Octavio y Crespo y Familia , David de Orta y Familia, Carlos J. Fernández, Miguel León, Fabián Romero, Juan Carlos Valdez, Mario Mendoza, Miguel Barranco, y Pedro Juampérez; a mis compañeros de la Prepa 6 generación '96-'99, Rubén Galicia C. y familia, José E. Romero R., René Sánchez R., David Hernández, Hildebrando Castro, Edmundo Figueroa, Dionisio Zabaleta, Felipe Garcés, Elizabeth blancas, Norman Velásquez, Mauricio Pineda, Said Arablím, Miguel Roura, Ana Paula Edgardo Arenas, Nancy Sánchez, Auri Cahuich, Francisco de Diego, Melba Equihua y a todos mis compañeros de los grupos 407, 508 y 601; A mis amigo de la Facultad de química, Ricardo Escobedo, Jaime Gabriel P. Carlo I. Rojas, Isaac Rubens, Armando Chávez, Edwin Cruz, Saúl Pedraza, Jacquelynne Cervantes, Luz Flores, Laura Barbachano, Fabián Hernández, Job Valdespino, Raúl Flores, Olmo Cabrera, Donovan Marbán,

Cuahutémoc Gutiérrez, Alan Rainier, Adolfo García, Raquel Martínez, Adrian Rodríguez, Amanda Bravo, Luis F. Lima, Tania Pintado, Laura Monter, Páris Paredes, Kyoko Hirata, Gerardo Cangas, Carmen Ortiz, Erika Reyes, Francisco Aguilar, Martha Lozano, Mario Reséndiz, Yunatzi Martín del Campo, Lourdes Ruiz, Paulina Pérez, Raymundo Ramírez, Fernando Valencia, Alejandra Saavedra, Mayahuel Jiménez, Alejandra Campos, Johana Ortega; a Nahum Zúñiga, Dan López, Adrián Aguilar, Jorge Salgado, Montserrat Salgado; y a todos mis profesores de la Facultad, ya que de ellos aprendí muchas cosas que se deben y no se deben hacer, en especial al Dr. Luis Medina Torres- "pese a la adversidad, ilo logramos!"-, Dr. Adriana Rodríguez, Dr. Norberto Chavarría, Adela Rodríguez, Julieta Sandoval; y a todos las personas con las que he trabajado.

Finalmente y no por eso menos importantes, a todos aquellos que conocí muy superficialmente a lo largo de mis 25 años de vida, y cuyos nombres no aparecen en la lista anterior, porque todos han dejado en mí parte de ustedes, y bueno o malo ahora forman parte de mí.

G R A C I A S.

ÍNDICE

ÍNDICE	<i>i</i>
RESUMEN	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
INTRODUCCIÓN	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
Objetivo General:	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
Objetivos particulares:	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1. GENERALIDADES	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.1 HIDROCOLOIDES	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2. PECTINAS	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.1 GENERALIDADES	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.2 ESTRUCTURA	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.3 GRADO DE ESTERIFICACIÓN EN LAS PECTINAS	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.4 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.5 QUÍMICA DE LAS SOLUCIONES DE PECTINA	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.6 GELES DE PECTINA	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.7 ESTANDARIZACIÓN	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.8 PECTINAS DE BAJO METOXILO	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.2.10 LEGISLACIÓN	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.3 REOLOGÍA	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.3.1 FLUJO NEWTONIANO	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.3.2 FLUJO NO-NEWTONIANO	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.3.3 FLUIDOS INDEPENDIENTES DEL TIEMPO	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.3.4 FLUJOS DEPENDIENTES DEL TIEMPO	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.3.5 FACTORES QUE AFECTAN EL COMPORTAMIENTO REOLÓGICO	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.3.6 SÓLIDOS VISCOELÁSTICOS (GELES)	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.3.7 MÉTODOS EXPERIMENTALES PARA LA DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE GELES	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.4 ESPECTROMETRÍA DE MASAS	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.4.1 INSTRUMENTACIÓN	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.4.2 MÉTODOS DE IONIZACIÓN POR DESORCIÓN	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.4.3 IONIZACIÓN POR DESORCIÓN DE LÁSER	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.4.4 ANALIZADORES DE MASAS	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.4.5 SISTEMAS DE DETECCIÓN DE IONES	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.4.6 INSTRUMENTOS Y TÉCNICAS PARA LA LDMS (ESPECTROMETRÍA DE MASAS POR DESORCIÓN LÁSER)	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.5 CROMATOGRFÍA DE GAS-LÍQUIDO	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.5.1 INSTRUMENTOS PARA CROMATOGRFÍA DE GASES	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.5.2 SISTEMA DE GAS ACARREADOR	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.5.3 SISTEMA DE INYECCIÓN DE LA MUESTRA	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.5.4 DETECTORES	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
1.5.5 COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS PARA CORMATOGRFÍA DE GASES	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>

2.1 DESARROLLO EXPERIMENTAL	¡Error! Marcador no definido.
2.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS	¡Error! Marcador no definido.
2.2.1 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS ;	¡Error! Marcador no definido.
2.2.2 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE METILACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GAS-LÍQUIDO (CG)	¡Error! Marcador no definido.
2.2.3 DETERMINACIÓN DE LA MASA MOLECULAR POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS	¡Error! Marcador no definido.
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	¡Error! Marcador no definido.
3.1 RESPUESTA DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS ;	¡Error! Marcador no definido.
3.1.1. EFECTO DEL GRADO DE METILACIÓN EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE	¡Error! Marcador no definido.
3.1.2. EFECTO DEL GRADO DE METILACIÓN EN LA CURVAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA AMPLITUD DE DEFORMACIÓN ;	¡Error! Marcador no definido.
3.1.3. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE PECTINA EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE	¡Error! Marcador no definido.
3.1.4. EFECTO DEL pH EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE	¡Error! Marcador no definido.
3.1.5. EFECTO DEL pH EN LAS CURVAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA DEFORMACIÓN	¡Error! Marcador no definido.
3.1.6. EFECTO DE LA ADICIÓN DE CaCl₂, ASÍ COMO DE SU CONCENTRACIÓN EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE ;	¡Error! Marcador no definido.
3.1.7. EFECTO DE LA ADICIÓN DE CaCl₂, ASÍ COMO DE SU CONCENTRACIÓN EN LAS CURVAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA AMPLITUD DE DEFORMACIÓN	¡Error! Marcador no definido.
3.1.8 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE CON LA PRESENCIA DE CaCl₂	¡Error! Marcador no definido.
3.1.9 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LAS CURVAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA AMPLITUD DE DEFORMACIÓN CON LA PRESENCIA DE CaCl₂	¡Error! Marcador no definido.
3.2 EFECTO DEL CaCl₂ EN LA ENERGÍA DE ACTIVACIÓN ;	¡Error! Marcador no definido.
3.3 EFECTO DEL CaCl₂ EN PECTINAS DE BAJO METOXILO PARA LA FORMACIÓN DE GELES	¡Error! Marcador no definido.
3.4 ANÁLISIS DEL PESO MOLECULAR	¡Error! Marcador no definido.
3.5 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE METILACIÓN ;	¡Error! Marcador no definido.
CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS	¡Error! Marcador no definido.
CONCLUSIONES	¡Error! Marcador no definido.
SUGERENCIAS	¡Error! Marcador no definido.
BIBLIOGRAFÍA	¡Error! Marcador no definido.
APÉNDICE A	¡Error! Marcador no definido.
A.1 FUNDAMENTOS DE LA VISCOELASTICIDAD LINEAL ;	¡Error! Marcador no definido.
A.1.1 GENERALIDADES DE LOS ESPECTROS MECANICOS DINAMICOS A PARTIR DE LA TEORIA DE VISCOELASTICIDAD LINEAL ;	¡Error! Marcador no definido.
A.1.2 FUNDAMENTOS DE VISCOELASTICIDAD LINEAL ;	¡Error! Marcador no definido.

A.1.3 ESPECTROS MECANICOS DINAMICOS A PARTIR DE LA TEORIA DE VISCOELASTICIDAD LINEAL.....¡Error! Marcador no definido.

APÉNDICE B..... ¡Error! Marcador no definido.

B.1 FLUJO DE CIZALLA SIMPLE NO ESTACIONARIO REOLOGICAMENTE, OSCILATORIO DE PEQUEÑA AMPLITUD¡Error! Marcador no definido.

APÉNDICE C..... ¡Error! Marcador no definido.

C.1 GENERALIDADES SOBRE PRUEBAS DE TEXTURA¡Error! Marcador no definido.

C.2 EVALUACIÓN DE PRUEBAS DE TEXTURA POR DIVERSOS MÉTODOS¡Error! Marcador no definido.

C.3 ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA¡Error! Marcador no definido.

C.4 ANÁLISIS DE PRUEBAS DE COMPRESIÓN¡Error! Marcador no definido.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Ácido D-galactopiranosilurónico	6
Figura 1.10 Zonas de unión en geles de pectina de alto metoxilo. Las líneas punteadas representan puentes de hidrógeno (Harris, 1990).....	21
Figura 1.11 Modelo para el flujo Newtoniano	35
Figura 1.12 Comportamiento reológico de diversos materiales (esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla) (Bird <i>et al.</i> , 1977).....	36
Figura 1.13 Curvas de flujo	39
Figura 1.14 Comportamientos dependientes del tiempo, Reopexia y Tixotropía.....	40
Figura 1.15 Perfil de tiempo de un experimento de cizalla simple oscilatoria	52
Figura 1.16 Barrido de deformación (%) a una frecuencia angular (rad/s) constante en una prueba dinámica. Se emplea para determinar la zona de deformación lineal de los materiales. (Steffe, 1992)	53
Figura 1.17 Respuesta típica a un barrido de deformación que muestra la región de viscoelasticidad lineal (Steffe, 1992). 53	
Figura 1.18 Diagrama esquemático del multiplicador de electrones. (Chapman 1994)..	62
Figura 1.19 Diagrama esquemático de detector post-aceleración (Chapman 1994).....	64
Figura 1.2 Estructura general del polímero de ácido D-galactopiranosilurónico (D-galacturonano) lineal con enlace $\alpha(1\rightarrow4)$ (representación de Haworth).....	7
Figura 1.20 Diagrama esquemático de un arreglo de detectores (Chapman, 1994)	65
Figura 1.21 Diagrama esquemático de un instrumento de tiempo de vuelo (TOF) (Chapman, 1994).....	67
Figura 1.22 Diagrama esquemático de un instrumento de escaneo (Chapman 1994)....	69
Figura 1.23 Diagrama esquemático de un instrumento de tiempo de vuelo empleado para el análisis por MALDI.....	70
Figura 1.24 Esquema de los componentes básicos de un cromatógrafo de gases (Skoog 2003).....	73
Figura 1.25 Sistema de inyección de la muestra en un sistema de Cromatografía de gases (Skoog, 2003).....	75
Figura 1.26 (arriba) y 1.27 (abajo) Esquema de detectores de conductividad térmica, el elemento térmico puede ser un filamento de platino, oro o tungsteno	77
Figura 1.3 Estructura conformacional de silla del polímero de ácido D-galactopiranosilurónico (D-galacturonano) lineal con enlace $\alpha(1\rightarrow4)$	7
Figura 1.4 Arriba reacción de amidación; abajo representación de Haworth de la pectina con el grupo carboxilo esterificado con metanol (izq.) y amidado con amoniaco (der.)..	8

Figura 1.5 Clasificación de las pectinas y usos de acuerdo a su grado de esterificación con metanol.....	9
Figura 1.6 Zona de unión del gel de pectina de bajo metoxilo con Calcio (Harris, 1990)10	
Figura 1.7 Mecanismos de gelificación de geles de pectinas regulares y de bajo metoxilo (Glicksman, 1969)	11
Figura 1.8 Representación de Haworth de la reacción de degradación de la pectina por β -eliminación.....	16
Figura 1.9 Efecto del pH en pectina de alto metoxilo de gelificación rápida y lenta: arriba en la fuerza del gel, abajo en la temperatura de gelificación	19
Figura 2.1 Curva de compresión esfuerzo <i>versus</i> deformación en sistemas gelificantes (Damasio <i>et al.</i> , 1990).....	87
Figura 2.2 Equipo de compresión un Texturómetro modulo Sintech 1/s	87
Figura 2.3 Determinación de el modulo de Young, esfuerzo y deformación a la fractura corregidos en ensayos de compresiones uniaxial (Tang <i>et al.</i> , 1996).....	88
Figura 3.1 Gráfica del efecto del grado de metilación y estandarización de los tres lotes de pectina en pruebas de cizalla simple a 25°C.	92
Figura 3.10 Gráfica de efecto del $[CaCl_2]$ en la relación de los módulos G'/G'' de soluciones de pectina T-7010 al 2% p/v a 25°C.....	106
Figura 3.11	108
Figura 3.11 Efecto de la temperatura en la viscosidad de soluciones de pectina 2% p/v con $CaCl_2$ 35mM.....	108
Figura 3.12 Efecto de la temperatura en la viscosidad de soluciones de pectina 2% p/v con $CaCl_2$ 50mM.....	108
Figura 3.13 Efecto de la temperatura en la respuesta viscoelástica de soluciones de pectina 2% p/v con $CaCl_2$ 35mM.....	110
Figura 3.14 Efecto de la temperatura en la respuesta viscoelástica de soluciones de pectina 2% p/v con $CaCl_2$ 50mM.....	112
Figura 3.15 Gráfica de la ecuación de Arrhenius. Efecto de la concentración de $CaCl_2$ 35mM sobre la energía de activación E_a	114
Figura 3.16 Gráfica de la ecuación de Arrhenius. Efecto de la concentración de $CaCl_2$ 50mM sobre la energía de activación E_a	114
Figura 3.17 Efecto de la concentración de $CaCl_2$ en geles formados con pectina de bajo metoxilo T-7210 2% p/v en agua desionizada con $CaCl_2$	117
Figura 3.18 Espectro de masas (m/z) de pectina de alto metoxilo 100% tipo T-7061 de Citrico®.....	118
Figura 3.19 Espectro de masas (m/z) de pectina de alto metoxilo tipo T-7010 de Citrico®.....	118

Figura 3.2 Gráfica del efecto del grado de metilación y estandarización de los tres lotes de pectina 2% p/v, en pruebas de oscilatorias de deformación a 25°C.....	93
Figura 3.20 Espectro de masas (m/z) de pectina de bajo metoxilo amidada tipo T-7210 Citrico®.....	119
Figura 3.21 Gráfica de frecuencia angular ω y velocidad de cizalla $\dot{\gamma}$ versus viscosidad dinámica η' y viscosidad η a velocidades equivalentes. Regla empírica de Cox y Mertz	122
Figura 3.3 Gráfica del efecto de la concentración (p/v) de la pectina de alto metoxilo (T-7010) en la viscosidad y comportamiento de las soluciones.....	94
Figura 3.4 Gráfica del efecto de la concentración de pectina en el coeficiente de consistencia "K" ° y el índice de comportamiento de flujo "n" •	95
Figura 3.5 Gráfica del efecto del pH en el comportamiento de flujo en soluciones de pectina al 2% p/v a 25°C.....	97
Figura 3.6 Gráfica del efecto del pH en los módulos de almacenamiento G' y pérdida G'' de soluciones de pectina T-7010 al 2% p/v a 25°C.....	100
Figura 3.7 Gráfica de efecto del pH en la relación de los módulos G'/G'' de soluciones de pectina T-7010 al 2% p/v a 25°C.....	101
Figura 3.8 Gráfica del efecto del $[CaCl_2]$ en el comportamiento de flujo en soluciones de pectina al 2% p/v a 25°C.....	103
Figura 3.9 Gráfica del efecto del $[CaCl_2]$ en los módulos de almacenamiento G' y pérdida G'' de soluciones de pectina T-7010 al 2% p/v a 25°C.....	105
Figura B.1 Perfil de tiempo de un experimento de cizalla simple oscilatoria.....	149
Figura C.1 Curva típica de análisis de perfil de textura obtenida por medio de un texturómetro	165
Figura C.2 Respuesta mecánica de fuerza – deformación en pruebas de compresión con sensores cilíndricos (Fuerza de fractura = h_1 ; Cohesividad = d_1 ; Rigidez = h_1/d_1) (Damasio <i>et al.</i> , 1990).....	169
Figura C.3 Evolución de la máxima fuerza de ruptura (F_{max}) para κ -carragenina + algarrobo y κ -carragenina + algarrobo (LBG) + goma guar a una concentración total de la mezcla de 0.5 % y 0.75 % como función del porcentaje de sustitución de los hidrocoloides (Damasio <i>et al.</i> , 1990).....	171
Figura C.4 Evolución de la fuerza de ruptura para κ -carragenina + algarrobo (LBG) de la mezcla como función de la cantidad de KCl adicionada (0.0, 0.01 M, 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M) (Chen <i>et al.</i> , 2001).....	172

RESUMEN

La naturaleza multicomponente de los alimentos y sus propiedades funcionales han propiciado el desarrollo y estudio de los componentes en forma individual e interactuando con su entorno. En la antigüedad, la selección del mejor polisacárido para alguna aplicación en específico dependía casi exclusivamente de la experiencia de quien la aplicaba. Sin embargo, actualmente, el conocimiento a nivel molecular de la química y de las propiedades funcionales de los polisacáridos permite una mejor selección del biopolímero más apropiado de acuerdo a las necesidades específicas de la industria.

En este estudio se hace un análisis de la respuesta reológica de muestras comerciales de pectina cítrica en función de las condiciones impuestas al medio acuoso (pH, CaCl_2 y temperatura), así como en función del grado de esterificación y grado de polimerización de las cadenas de polisacárido. La forma en que cada uno de ellos contribuye tanto a la textura como a la temperatura de gelificación depende de los valores de todos los parámetros del sistema.

Así pues, los resultados obtenidos muestran que el pH tiene un efecto en las propiedades viscosas y elásticas de las soluciones, sin embargo, pese a lo reportado en la bibliografía, la adición de CaCl_2 produce un aumento en la consistencia de las muestras de pectina de alto metoxilo y éste efecto es mucho más fuerte que el producido por efecto del pH. El pH en el cual se obtiene una mayor viscosidad es **3.40** ($k=0.1130 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$, $n=0.8921$) y la concentración de CaCl_2 que produce la máxima viscosidad y un mayor índice de adelgazamiento a la cizalla (pseudoplasticidad) es **35mM** ($K=0.9879 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$, $n=0.5941$). Por otro lado, la energía de activación se ve afectada por efecto de la adición de CaCl_2 obteniéndose la mayor energía de activación con una concentración 50mM de CaCl_2 **34.8498**

kJ/kg·mol y **24.5872 kJ/kg·mol** con CaCl_2 35mM. Adicionalmente, la **concentración óptima de CaCl_2** para formar geles de pectina cítrica de bajo metoxilo más fuertes y resistentes es **35mM**.

Además, los resultados de espectrometría de masas muestran las cadenas de pectina están en el intervalo de **4.8** a **6.0 kDa**. de peso molecular, lo cual demuestra que las pectinas cítricas comerciales son muy polidispersas en su grado de polimerización además de ser cadenas muy cortas. Finalmente las muestras con mayor contenido de grupos metil-éster son más viscosas y muestran un comportamiento de adelgazamiento a la cizalla más marcado que las pectinas de bajo metoxilo.

INTRODUCCIÓN

Las macromoléculas responsables de las propiedades mecánicas, reológicas y físico-químicas de los sistemas alimenticios son las proteínas y los polisacáridos. La capacidad que tienen estas macromoléculas para realizar funciones estructurales se conoce como propiedad funcional.

Durante algunos años tanto las proteínas como los polisacáridos han sido empleados para desarrollar o modificar la textura de los alimentos. En la antigüedad, la selección del mejor polisacárido para alguna aplicación en específico dependía casi exclusivamente de la experiencia de quien la aplicaba. Sin embargo, actualmente, el conocimiento a nivel molecular de la química y de las propiedades funcionales de los polisacáridos permite una mejor selección del biopolímero más apropiado de acuerdo a las necesidades específicas de la industria. Aunque más de un polisacárido puede satisfacer una propiedad funcional que requiera algún producto, los aspectos económicos de la formulación y/o el mejoramiento de nuevas propiedades funcionales tendrán gran influencia en la decisión final (Medina *et al.* 2000).

El nombre de "**Pectina**" proviene del griego "*πηχτοζ*" que significa coagularse o solidificar. Es un polisacárido compuesto en su mayoría por ácido D-galacturónico, presente en los tejidos de los vegetales y que se emplea desde hace siglos para la gelificación, por ejemplo en mermeladas. La caracterización química de las pectinas es un factor crucial para su correcta aplicación en el ámbito industrial, incluye determinación del grado de metilación, peso molecular, proporción de azúcares neutros y grado de acetilación.

Cuando se utiliza pectina para la preparación de un gel, usualmente uno desea controlar la textura del gel y la temperatura de gelificación. El estudio de los polisacáridos y en especial de las pectinas abarca el análisis de los efectos que son producidos principalmente por: (a) propiedades moleculares de la pectina, por ejemplo el grado de metil esterificación y grado de amidación y (b) composición y condiciones del sistema, por ejemplo pH, actividad acuosa (azúcares), presencia de sales, temperatura y concentración de pectina.

Se debe enfatizar que estos efectos son interdependientes, de modo que la forma en que cada uno de ellos contribuye tanto a la textura como a la temperatura de gelificación depende en conjunto de los valores de todos los parámetros en el sistema. Actualmente la producción de mermeladas comerciales consume la mayor parte de toda la producción de pectina, pero están ganando importancia otras aplicaciones como la estabilización de productos de leche acidificada.

Con base a lo anterior, en este trabajo se estudió la relación de las propiedades reológicas de las soluciones de pectina con las propiedades moleculares como el grado de esterificación y grado de polimerización de un lote de pectina comercial cítrica, así como el efecto de la modificación del pH, la adición de CaCl_2 y el efecto de la temperatura a fin de buscar una ventana de aplicación más amplia en la industria alimentaria.

El presente trabajo se ha dividido en 3 capítulos. En el primer capítulo se hace una breve descripción del estudio, se pone en contexto el presente trabajo.

En el primer capítulo se ha hecho una compilación bibliográfica de: información general del tema, abarcando las bases para el entendimiento del

estudio de las soluciones de **hidrocoloides**, en donde se da una explicación del tipo y origen de algunos hidrocoloides importantes en la industria alimentaria; las **pectinas**, en donde se presenta basta información acerca de este polisacárido empleado como hidrocoloide de gran aplicación como aditivo en la industria alimentaria, tal como la reactividad a sales, pH, así como otros aspectos físicos y químicos; los tipos de comportamientos de flujo que se pueden observar en un estudio reológico; finalmente las bases teóricas para el empleo de las técnicas de espectrometría de masas y cromatografía gas-líquido (CG). En el segundo capítulo se menciona el diseño experimental que se siguió y se enuncia la metodología que se llevó a cabo para la preparación de las muestras para cada uno de los estudios realizados en este trabajo. En el tercer capítulo se muestran los resultados obtenidos en las pruebas reológicas de cizalla simple y oscilatoria para cada efecto estudiado en soluciones de pectina cítrica comercial de alto metoxilo tipo T-7010, así como los resultados de compresión uniaxial de geles de pectina de bajo metoxilo tipo T-7210 en función de la concentración de CaCl_2 , y finalmente se muestran los resultados del análisis de espectrometría de masas y cromatografía de gases de los tres lotes de pectina cítrica comercial.

Los resultados obtenidos se discuten con la información encontrada en artículos acerca de pectinas y otros hidrocoloides similares tales como la goma de mucílago.

Finalmente se enlistan las conclusiones y sugerencias de este trabajo de tesis. Así como para mejorar los resultados obtenidos y se propone una técnica alterna para el análisis del grado de esterificación de las pectinas que podría reducir el tiempo de análisis y el costo en reactivos.

Objetivo General:

- Conocer cualitativa y cuantitativamente la respuesta mecánica de las soluciones de muestras de pectina comercial para su aplicación como aditivo en formulaciones alimenticias, en función de las condiciones impuestas en el medio acuoso.

Objetivos particulares:

- Conocer las características químicas, peso molecular y grado de metilación, de los lotes de pectina comercial empleados en este estudio
- Estudiar el efecto del grado de esterificación de la pectina cítrica en el comportamiento reológico en curvas de cizalla simple y oscilatoria
- Estudiar el efecto de los diferentes factores como son: la concentración de pectina, pH, concentración de CaCl_2 , y el efecto de la temperatura en las curvas de cizalla simple y oscilatoria
- Estudiar el efecto de la adición de CaCl_2 sobre la energía de activación de las muestras de pectina comercial de alto metoxilo T-7010
- Estudiar el efecto de la concentración de CaCl_2 en las propiedades mecánicas de geles de pectina de bajo metoxilo T-7210 en pruebas de compresión uniaxial

1. GENERALIDADES

1.1 HIDROCOLOIDES

El término hidrocoloide ha sido aplicado durante décadas para designar a un conjunto de sustancias con propiedades comunes, tales como: capacidad de retención de agua, de formar geles, o incrementar la viscosidad, de estabilizar suspensiones, entre otras. En términos prácticos Whistler *et al.* (1993) los han definido como "moléculas hidrofóbicas o hidrofílicas de alto peso molecular, usualmente con propiedades coloidales, que en presencia de un disolvente adecuado producen geles o soluciones muy viscosas a concentraciones bajas del hidrocoloide".

Dos de las principales propiedades de los hidrocoloides de mayor interés en la industria de los alimentos son la capacidad de incrementar la viscosidad en el sistema y de formar geles. La primera propiedad la manifiestan todos los hidrocoloides en menor o mayor grado, pero la segunda sólo algunos. Los hidrocoloides que forman geles manifiestan diferentes mecanismos de formación de gel que dependen, entre otras cosas, de su estructura molecular, de la conformación que adoptan sus moléculas en solución y de las características físico-químicas del medio en que se encuentran. Por esto la gelificación de cada hidrocoloide involucra condiciones específicas de fuerza iónica, temperatura de transición sol-gel, pH y concentración principalmente y, la combinación de estas condiciones genera una amplísima gama de propiedades reológicas en los geles y soluciones formadas a partir de ellos.

Los hidrocoloides de uso en la industria alimentaria, químicamente se pueden clasificar en dos grupos: proteínas y polisacáridos, estos últimos con mayor

aplicación por su gran disponibilidad y bajo costo. Generalmente en el ámbito industrial el término "goma" se usa comúnmente para designar a los hidrocoloides pertenecientes al grupo de los polisacáridos, estas gomas usualmente son macromoléculas solubles en agua cuyas propiedades físicas son el resultado de la conformación molecular que adoptan en el sistema en el cual están presentes, por lo tanto se han seleccionado hidrocoloides o gomas para fines específicos de acuerdo a las propiedades funcionales que éstos presentan. En la mayoría de los casos se usan para impartir estabilidad durante el transporte y almacenamiento, para mejorar las propiedades funcionales de los alimentos procesados o para impartir nuevos atributos de textura. De esta forma se aprovecha la ventaja que presentan los hidrocoloides de no alterar ni el aroma ni el sabor de los alimentos, además de no contribuir al aporte nutricional y de requerirse sólo en pequeñas concentraciones del hidrocoloide para lograr el efecto deseado.

Las propiedades mecánicas de un gel son el resultado de un complejo equilibrio que se establece entre las fuerzas de atracción y repulsión que se desarrollan desde la disolución del polímero hasta completar su proceso de formación de gel. Los agentes formadores de geles son aditivos alimentarios de naturaleza macromolecular y capaces de formar geles a concentraciones bajas. El proceso de formación de gel de estos aditivos consiste en una asociación molecular que da lugar a una red tridimensional de considerable estabilidad mecánica, en cuya estructura queda atrapada la fase líquida en la que se desarrolla el proceso. Donde los mecanismos de formación de estas redes dependen de la naturaleza química de las macromoléculas, que determinan su conformación, su flexibilidad, del tipo y número de puntos de entrecruzamiento y de la interacción de las mismas con el disolvente. Aunque el tipo de hidrocoloide y su concentración definen, en cierto modo, el comportamiento mecánico, existen además otros factores que condicionan su composición química y, por ende, sus propiedades mecánicas, como por

ejemplo: la variedad botánica de la que provengan, el grado de madurez alcanzado por la materia prima, el clima y condiciones del medio en el que se cultivó la misma y, muy especialmente, del método de extracción utilizado.

La importancia que ha adquirido el desarrollo de nuevos productos en la industria alimentaria ha impulsado el perfeccionamiento de las técnicas para su purificación y modificación química, así como la composición de los sistemas alimenticios, con el fin de ampliar la gama de posibles aplicaciones como modificadores de textura.

Los polisacáridos solubles en agua presentan importantes aplicaciones industriales (por ejemplo: como emulsificantes, agentes formadores de geles, floculantes, espesantes, formadores de película, etc), debido sobre todo a sus propiedades reológicas, inherente a cada uno de ellos o a una combinación con otros polisacáridos. De esta manera, los hidrocoloides son moléculas de alto peso molecular que en presencia del disolvente adecuado producen geles o soluciones muy viscosas a concentraciones muy bajas. Estos se dividen en dos grupos principalmente: proteínas y polisacáridos.

Los polisacáridos más comunes se obtienen de diferentes fuentes (Glicksman, M., 1982, López Munguía, *et al.* 1993)

1. Naturales.

- a. Exudados de arbustos o árboles (carácter aniónico), por ejemplo: acacia, tragacanto, baraya, ghatti.
- b. Extractos de semillas (carácter no iónico), por ejemplo: algarrobo, goma guar, psyllium, tamarindo.
- c. Extractos de algas marinas (carácter aniónico), por ejemplo: agar, alginatos, carrageninas, furcellaranas.
- d. Derivados de cereales, por ejemplo: almidones nativos y modificados.

- e. Derivados de frutas y vegetales, por ejemplo: pectina, arabinogalactana, inulinas (alcachofas)

De origen animal y microbiano

- f. Derivados de extractos animales, por ejemplo: grenetinas, albúminas, caseinatos, quitina (conchas y caparazones de crustáceos e insectos)
- g. Derivados de origen microbiano (biosíntesis), por ejemplo: dextranas, xantana, gelana.

2. Sintéticas

- a. Derivados de celulosa, por ejemplo: carboximetil celulosa, metil celulosa, hidroximetil celulosa, celulosa microcristalina, etc.

1.2. PECTINAS

1.2.1 GENERALIDADES

“Pectina” es un término general utilizado para sustancias polisacáridas presentes en las paredes celulares de los tejidos vegetales que actúan como material cemento intercelular. Estas se encuentran entre los componentes de la pared celular de algunas cactáceas y frutos en concentración de 5% a 30% en base seca (Villarreal *et al.* 1963) y su habilidad para mantener las propiedades funcionales (turgencia) determina su crecimiento (Jarvis, 1984). La función de la pectina en frutas y vegetales esta relacionada principalmente con la retención de la forma y firmeza de la planta. Pese a su amplia incidencia, solamente se utilizan unas cuantas fuentes de este material para producir pectina comercial como un aditivo para su uso en alimentos. Las pectinas de cítricos y manzanas son esencialmente equivalentes en su aplicación y el contenido de pectina de la cáscara de cítricos es del 20-30% en base seca. Entre los cítricos, el limón es la fuente principal, pero también se usan la lima, la naranja y la toronja (Harris,

1990). Una de las razones de esto es que muchos de los materiales pécticos presentes en la naturaleza no necesariamente tienen las propiedades funcionales, especialmente la habilidad de formar geles. Además existen grandes cantidades de cáscara de cítricos disponible en base mundial, aunque la calidad puede variar considerablemente, por lo que existe gran competencia para obtener la cáscara con pectina de la mejor calidad. Otros sub-productos de la industria alimentaria que contienen cantidades significativas de pectina incluyen la pulpa de la caña de azúcar y las cabezas de girasol. Existe, sin embargo, un uso potencial para la pectina de la caña en que la acetilación se ha mantenido cuidadosamente. Esto surge del hecho bien conocido de que la pectina de caña es más tensoactiva y produce espumado durante su extracción. Ahora se ha demostrado que esta pectina también tiene buenas propiedades emulsificantes y se puede utilizar para estabilizar emulsiones aceite-agua.

El termino inespecífico de protopectina frecuentemente se usa para nombrar las fracciones nativas de pectina en la pared celular que no pueden ser extraídas con métodos no degradativos. Las pectinas son polisacáridos polidispersos en su composición y su peso molecular, su composición varía con la fuente y las condiciones de extracción, ubicación y otros factores ambientales (Chang *et al.* 1994). Fue aislada por primera vez por Bracannot en 1825. Actualmente la producción de pectina es, en principio, un proceso muy simple que consiste en extracción, purificación del extracto y precipitación. Los materiales pécticos comerciales se diferencian generalmente en dos clases, con la designación de *pectinas* a aquellos materiales que tienen cantidades apreciables de grupos metoxilo, cuyos grupos carboxilo sin esterificar pueden estar en varias formas salinas; y con la designación de *ácidos pécticos* para aquellas sustancias que esencialmente están libres de grupos metoxilo. Por lo tanto es posible un extenso rango dentro del grupo de las pectinas, dependiendo del grado de metilación (DM).

Durante el siglo pasado, la pectina adquirió gran importancia como una goma industrial. Actualmente, su papel principal continúa centrado en su uso como un componente del clásico gel azúcar-ácido-pectina importante para la producción de jaleas y mermeladas. (Towle, 1973; Glicksman 1969)

1.2.2 ESTRUCTURA

Industrialmente las pectinas se obtienen de la manzana y de la pulpa de los cítricos y el principal componente de este grupo es un polímero de ácido D-galactopiranosilurónico (D-galacturonano) lineal cuyo grado de polimerización (DP) de las regiones de galactopiranosil in-interrumpido en los segmentos de homogalacturonano de manzana y de los cítricos está en el intervalo de 70 a 100 (Thibault *et al.* 1993), ver Figuras 1.1, 1.2 y 1.3.

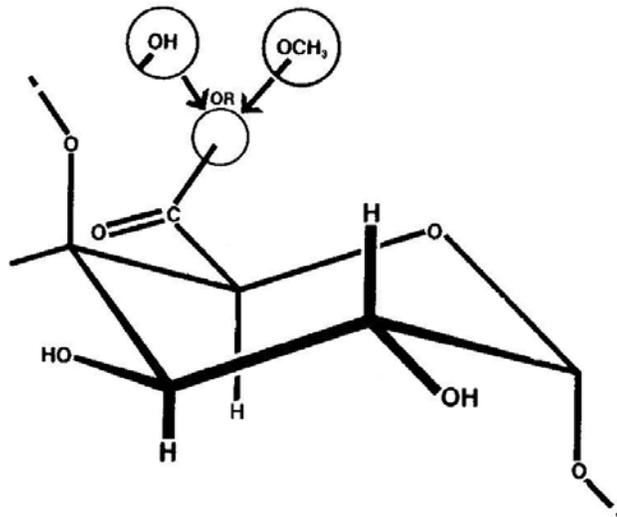


Figura 1.1 Ácido D-galactopiranosilurónico. Los sustituyentes son R= -OH (ácido urónico); -OCH₃ (éster metílico del ácido urónico)

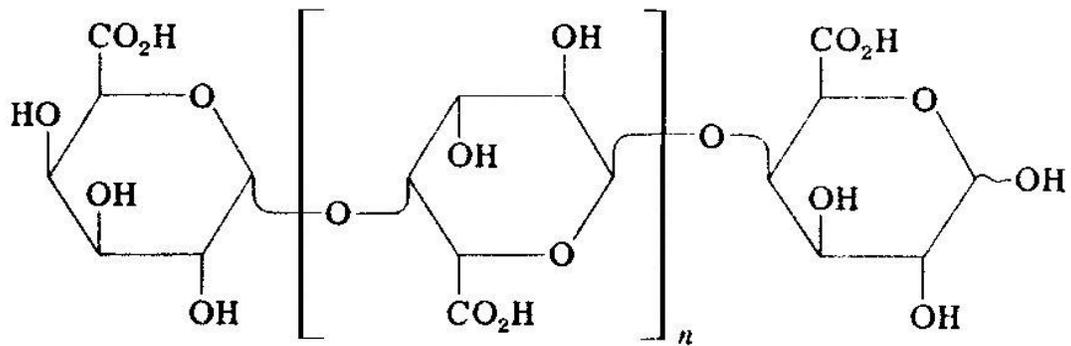


Figura 1.2 Estructura general del polímero de ácido D-galactopiranosilurónico (D-galacturonano) lineal con enlace $\alpha(1\rightarrow4)$ (representación de Haworth).

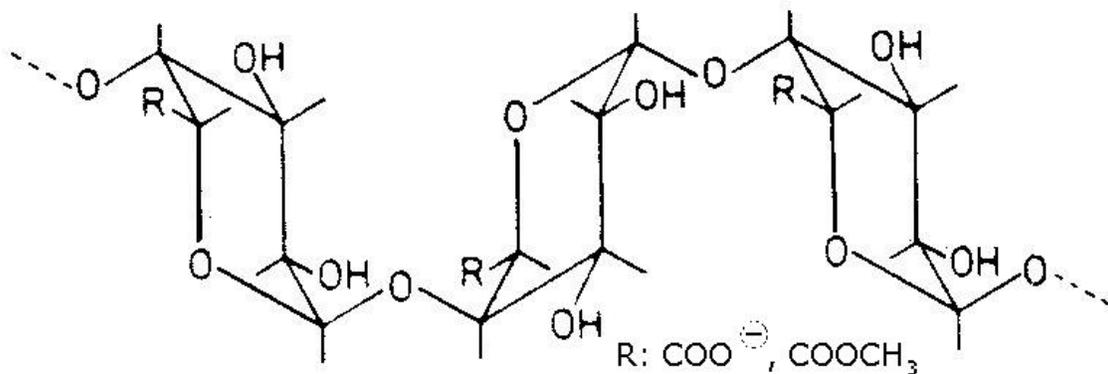


Figura 1.3 Estructura conformacional de silla del polímero de ácido D-galactopiranosilurónico (D-galacturonano) lineal con enlace $\alpha(1\rightarrow4)$.

La pectina comercial puede ser referida como una preparación homopolimérica de un D-galacturonano, pero químicamente las pectinas tienen de 150-500 unidades de ácido α -D-galacturónico con enlace (1 \rightarrow 4) (peso molecular 30,000-100,000) y la cadena troncal (principal) también contiene residuos de L-ramnosa. La frecuencia con que ocurre esto sigue sin ser establecida, aunque se ha sugerido que las unidades de L-ramnosil se pueden concentrar en áreas ricas en ramnosa "regiones velludas" que se interponen entre segmentos de galacturonano relativamente largos "regiones

lisas". Además, la cadena troncal está ramificada con cadenas laterales compuestas principalmente de β -D-galactopiranososa (1 \rightarrow 4) (D-galactano o polímero de D-galactosa) y α -L- arabinofuranosa (L-arabinano o polímero de L-arabinosa que consiste en una cadena principal de unidades de α -L-arabinofuranosil con enlaces (1 \rightarrow 5), a la cual están ligadas unidades sencillas de α -L-arabinofuranosil con enlaces (1 \rightarrow 3) como cadenas laterales sencillas) y ocasionalmente también hay cantidades traza de otros azúcares como la xilosa. Todos estos azúcares en combinación pueden sumar hasta el 20% del grupo, aunque las cantidades de glicanos neutrales en preparaciones comerciales de pectina usualmente están en un orden menor debido a su ruptura durante los pasos de extracción y desmetilación.

Otra característica importante de los galacturonanos es la esterificación con metanol de los grupos carboxílicos en los residuos de ácido galacturónico y en ciertas pectinas sus grupos hidroxilo también están parcialmente acetilados. De este modo la mayoría de las unidades de ácido D-galactopiranosilurónico están esterificadas con metanol en varios grados en la posición C-6 y algunos de los grupos hidroxilo en posición C-2 y C-3 pueden estar esterificados con ácido acético. En algunas pectinas parte de los grupos metil éster pueden estar reemplazados por grupos amida (-CONH₂), ver Figura 1.4.



Reaccion de amidación

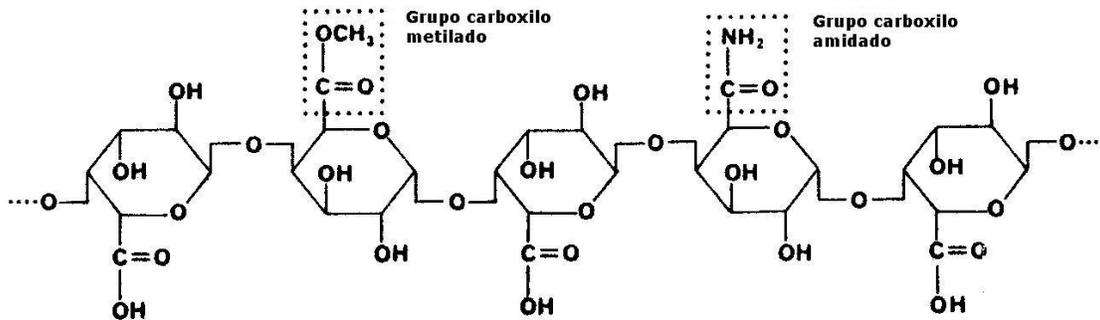


Figura 1.4 Arriba reacción de amidación; abajo representación de Haworth de la pectina con el grupo carboxilo esterificado con metanol (izq.) y amidado con amoniaco (der.)

Las pectinas comerciales muestran una distribución tanto en el peso molecular y grado de esterificación y estas distribuciones influyen sus propiedades y también hacen que la caracterización sea más difícil.

1.2.3 GRADO DE ESTERIFICACIÓN EN LAS PECTINAS

El grado de metilación (DM) se define como el número de moles de metanol por cien moles de ácido galacturónico. De este modo es posible un extenso intervalo dentro del grupo de las pectinas, dependiendo del grado de metilación (DM), y es común clasificar las pectinas de algún modo arbitrariamente de acuerdo a su contenido de grupos éster. Las pectinas que tienen un DM de 70 o mayor (70% o más de grupos carboxilo esterificados) se clasifican como de gelificación rápida o alto metoxilo (HM). Aquellas pectinas con DM de 60-65 se denominan de gelificación lenta; Las pectinas con DM menor de 50 caen en la categoría de pectinas de bajo metoxilo (LM)

(Towle 1973), ver Figura 1.5. Las pectinas con menos del 10% de los grupos carboxílicos metilados se dice que son ácido péctico.

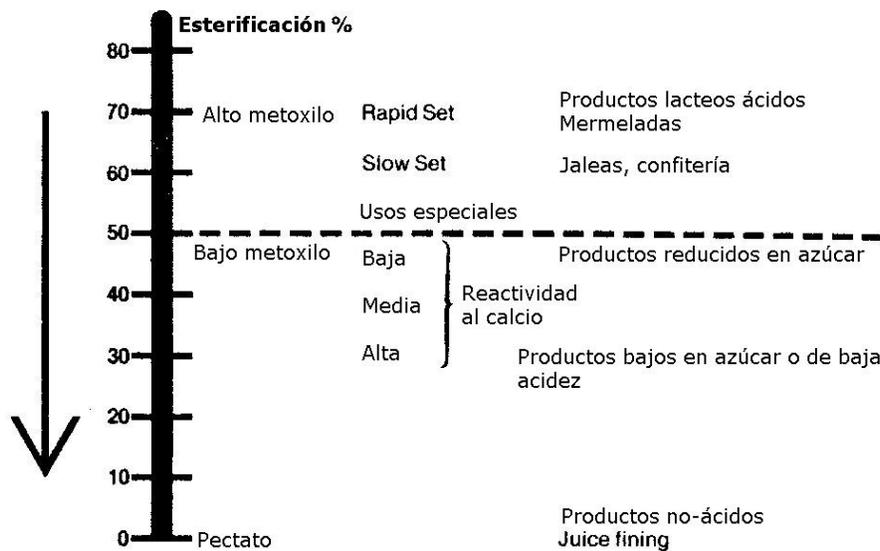


Figura 1.5 Clasificación de las pectinas y usos de acuerdo a su grado de esterificación con metanol.

El grado de acetilación (DAc) se define como el porcentaje de residuos de galactopiranosil esterificados con un grupo acetato. El DAc generalmente es bajo en pectinas nativas, variando entre 3% y 15% (Voragen *et al.* 1995).

El origen botánico y el proceso de extracción determinan el contenido de ácido galacturónico, DM y DAc de las pectinas. En las pectinas de cítricos y de manzana, se pueden medir muy bajos grados de acetilación, en este caso los grupos acetato probablemente estén localizados en las regiones velludas (Harris, 1990).

Las pectinas de bajo metoxilo requieren la presencia de iones Calcio para la formación de geles que son principalmente del tipo valencia primaria. El mecanismo involucrado es el entrecruzamiento de moléculas de pectina adyacentes por cationes divalentes para formar una estructura tridimensional

mediante la formación de sales con los grupos carboxilo de la pectina, ver Figura 1.6 y 1.7. El pH debe ser mayor debido a que solamente los grupos carboxilo disociados participan en el entrecruzamiento de tipo salino. Cuanto mayor sea el número de grupos carboxilo reactivos que puedan formar un puente salino, más fácilmente se formará el puente. Además, debido al aumento del número de grupos cargados, la molécula será más recta, debido a que las moléculas de-esterificadas son más rectas que las esterificadas, son más propensas a formar puentes o enlaces de calcio.

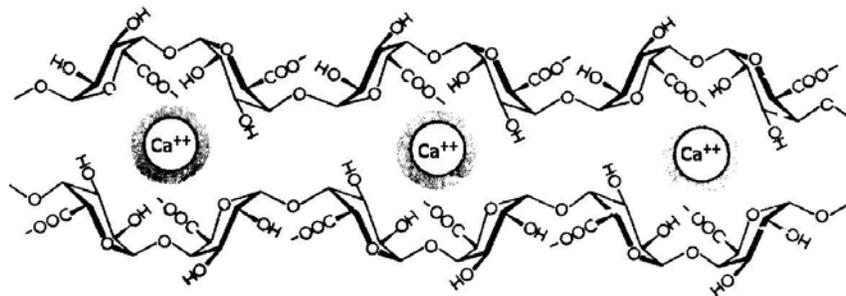
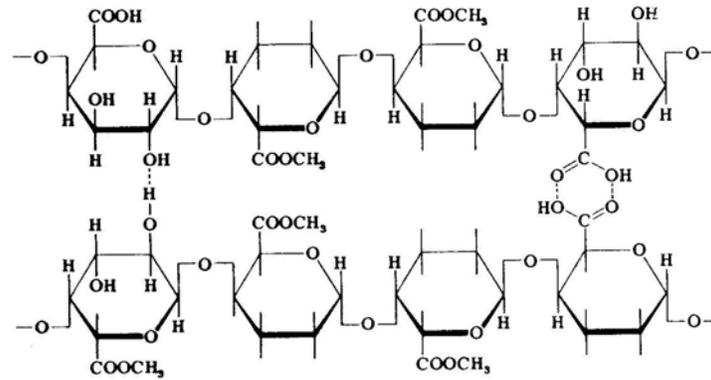
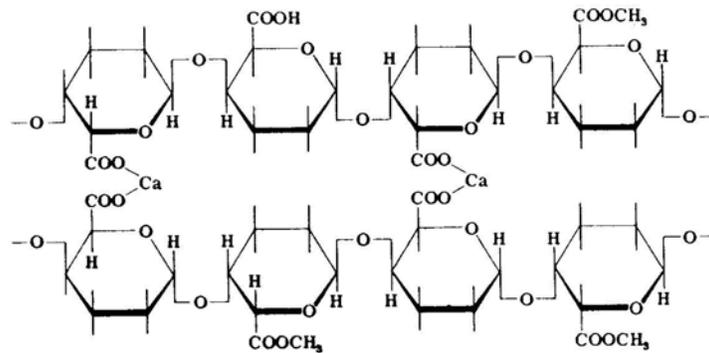


Figura 1.6 Zona de unión del gel de pectina de bajo metoxilo con Calcio (Harris, 1990)



Gel de pectina-azúcar-ácido (Puentes de hidrógeno)



Gel de pectina de bajo metoxilo (Entrecruzamiento con calcio)

Figura 1.7 Mecanismos de gelificación de geles de pectinas regulares y de bajo metoxilo (Glicksman, 1969)

De este modo, el número y distribución de los respectivos agrupamientos éster en la molécula está muy relacionado con las propiedades macro (físicas) y, en todos los tipos de gel de pectina, es necesario mantener un balance adecuado entre las fuerzas de atracción y repulsión.

Los entrecruzamientos que se forman por enlaces iónicos entre carboxilos son fuertes y producen un gel más bien quebradizo, menos elástico que los formados por puentes de hidrógeno con pectinas regulares.

1.2.4 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

El número y distribución de los respectivos agrupamientos éster en la molécula está muy relacionado con las propiedades físicas. Las propiedades de las sustancias pécticas dependen en gran medida de su peso molecular y su grado de sustitución. Dentro de las propiedades físicas de las pectinas, en general, son solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos, aunque se hinchan notablemente y disuelven hasta cierto grado en algunos de los solventes orgánicos más polares.

Las propiedades como la solubilidad en agua, coagulabilidad, tendencia a gelificar y estabilidad hacia las enzimas cambian directamente con el incremento en el grado de esterificación. Su solubilidad en agua también está determinada por la distribución de grupos metoxilo y el peso molecular. Generalmente, la solubilidad aumenta cuando disminuye el peso molecular y cuando se incrementa el contenido de grupos metil-éster, es decir, la solubilidad de las pectinas disminuye con el incremento de la longitud de la cadena y con la disminución de los grupos metoxilo, aunque el pH de la solución, la temperatura y el tipo y concentración de sales presentes, así como la presencia de otras sustancias orgánicas como el azúcar tienen un efecto marcado en la solubilidad y en su respuesta reológica (Harris, 1990). Del mismo modo, la viscosidad de las soluciones de pectina depende de varios factores como lo son el grado de metilación (DM), concentración, temperatura, pH y presencia de sales y su concentración, así como de la temperatura. Aunque, el comportamiento del pH no es completamente predecible, debido a que depende del DM y de cualquier sal que pueda estar presente. Estos cambios se pueden explicar mediante la alteración de la carga eléctrica y la forma de las macromoléculas pécticas.

Las pectinas secas pulverizadas, cuando se agregan al agua, tienen una tendencia a hidratarse muy rápidamente dando como resultado grumos que consisten en paquetes semi-secos de pectina que contenidos en un sobre de material en una forma altamente hidratada. La sacarosa y la D-glucosa (dextrosa) finamente pulverizadas son agentes dispersantes comúnmente utilizados (Towle *et al.* 1973). Los azúcares además de servir como ayudantes de dispersión, también se utilizan por los fabricantes como un diluyente adecuado para propósitos de estandarización.

Las soluciones de materiales pécticos, como es común en las soluciones de la mayoría de los polímeros lineales, muestran características de flujo no-Newtoniano observadas principalmente como una disminución en la viscosidad cuando incrementa la velocidad de cizalla. Esta disminución es más probablemente el resultado de un efecto de orientación. Cuando se incrementa la velocidad de cizalla, las moléculas de pectina, que son largas cadenas acomodadas aleatoriamente, se vuelven altamente alineadas en dirección al flujo con una reducción de interacción entre cadenas de polímero adyacentes. Las soluciones diluidas de pectina (para algunas pectinas de alto grado de esterificación, hasta aproximadamente 0.5%) tienen comportamiento casi Newtoniano, y se afectan poco por la presencia de calcio. Además, la viscosidad de soluciones muy diluidas aumenta cuando se incrementa el pH. Esto se ha interpretado como una expansión de las dimensiones de la molécula debido a repulsiones entre los grupos ácidos disociados en la misma molécula

Por otro lado, la adición de sales de cationes monovalentes, como el cloruro de sodio, a las soluciones de pectina provoca una reducción en la viscosidad, probablemente debido a que los efectos de las cargas se reducen a altas fuerzas iónicas (alta constante dieléctrica de la solución) (Harris, 1990). Este efecto es más pronunciado con la disminución del contenido de metoxilo y

aparentemente es causado por la supresión de cargas en el grupo carboxilo, aunque reduciendo la repulsión entre cadenas adyacentes y permitiendo una asociación más cercana. Además, el efecto de sales de metales alcalinos como cloruro de sodio tampoco es muy predecible. El efecto de la sal depende de la cantidad de sal, el tipo de pectina y el pH de la solución. Una cantidad pequeña de cloruro de sodio (tan baja como 0.6%) producirá un gran aumento en la viscosidad de una solución de pectina DM 40 al 0.8% cuando el valor de pH sea de 2.9. Pero la viscosidad se reducirá a un pH de 4.4. A pH aun mayores (cerca de 6) se minimizan los efectos de las sales si también se agregan fosfatos.

Las sales solubles de cationes divalentes y trivalentes muestran un efecto opuesto, la viscosidad se incrementa en una manera regular con la adición de sales de calcio, bario, estroncio y cationes similares. Sin embargo, si hay sales alcalino terreas presentes en pectinas de 60 DM o menor, la disminución será mayor de lo esperado (Glicksman, 1969). Las soluciones con aproximadamente más de 1% de pectina tienen un comportamiento pseudoplástico. Algunas pectinas aumentarán, en ausencia de calcio, su viscosidad si se reduce el pH dentro de los intervalos típicos de aplicación de pH 2.5-5.5. Esto contrasta con el comportamiento de las soluciones diluidas mencionado anteriormente. Por otro lado, las soluciones de pectina de alto grado de esterificación comparable mostrarán, aún en ausencia de interacciones con metales, ligeramente mayor viscosidad conforme se aumenta el grado de esterificación.

Estos efectos que se muestran como un aumento en la viscosidad incluso para pectinas de DM 75 o mayor, tienen un máximo de viscosidad a pH de 8.55. El efecto de aumento en la viscosidad causado por las sales de iones de calcio aumenta pronunciadamente conforme disminuye el grado de metilación. Este aumento es muy evidente a un DM de 60 y se vuelve mayor

conforme aumenta el DM hasta que alcanza un máximo de 80. Este comportamiento se ha interpretado como una estructuración del agua que rodea los grupos metil-éster hidrofóbicos y se han atribuido a un efecto de puente entre grupos carboxilos posicionados adecuadamente, aunque puede ser que también estén relacionados otros efectos.

En general, las pectinas del mismo tipo se pueden comparar con respecto a la viscosidad cuando están en soluciones del mismo grado, pH, temperatura y contenido de sales (Harris 1990).

Muchas pectinas forman soluciones tixotrópicas en presencia de calcio. La viscosidad de dichas soluciones aumentará con el incremento del pH dentro del intervalo típico de pH de aplicaciones de interés. Se puede obtener un intervalo continuo de texturas que van desde la del agua, pasando por soluciones tixotrópicas, hasta un gel rígido, mediante diferentes combinaciones de concentración y tipo de pectina, concentración de calcio y pH. La sensibilidad al calcio es, en general, más pronunciada para las pectinas de bajo metoxilo que para las pectinas de alto metoxilo, pero puede diferir incluso entre cada pectina del mismo grado de esterificación debido a diferencias en la fuente de la materia prima.

1.2.5 QUÍMICA DE LAS SOLUCIONES DE PECTINA

Las pectinas disueltas llevan una carga negativa que es menor a pH bajo que a pH alto. Los valores de pK_a intrínsecos (extrapolando a cero el grado de disociación) de pectinas de alto grado de esterificación van desde 3.1 hasta 3.3. Se ha reportado un pK aparente de 3.55 para una pectina con 65% DE, mientras que el pectato de 0% DE tiene un pK aparente de 4.10 (Plaschina *et al.*, 1979).

La adición de otros iones metálicos distintos a los álcalis a una solución de pectina provocarán, en la mayoría de los casos, un incremento en la viscosidad o la formación de gel o la precipitación de la pectina. Debido a su carga negativa, las pectinas formarán productos insolubles con macromoléculas cargadas positivamente.

La pectina disuelta tiene buena estabilidad en los valores de pH que se encuentran típicamente en productos alimenticios ácidos. La estabilidad óptima es a pH 4.

La pectina se degrada lentamente por despolimerización así como por desesterificación cuando el pH es cercano a 4, la degradación se incrementa con el distanciamiento del pH óptimo, ver Figura 1.8.

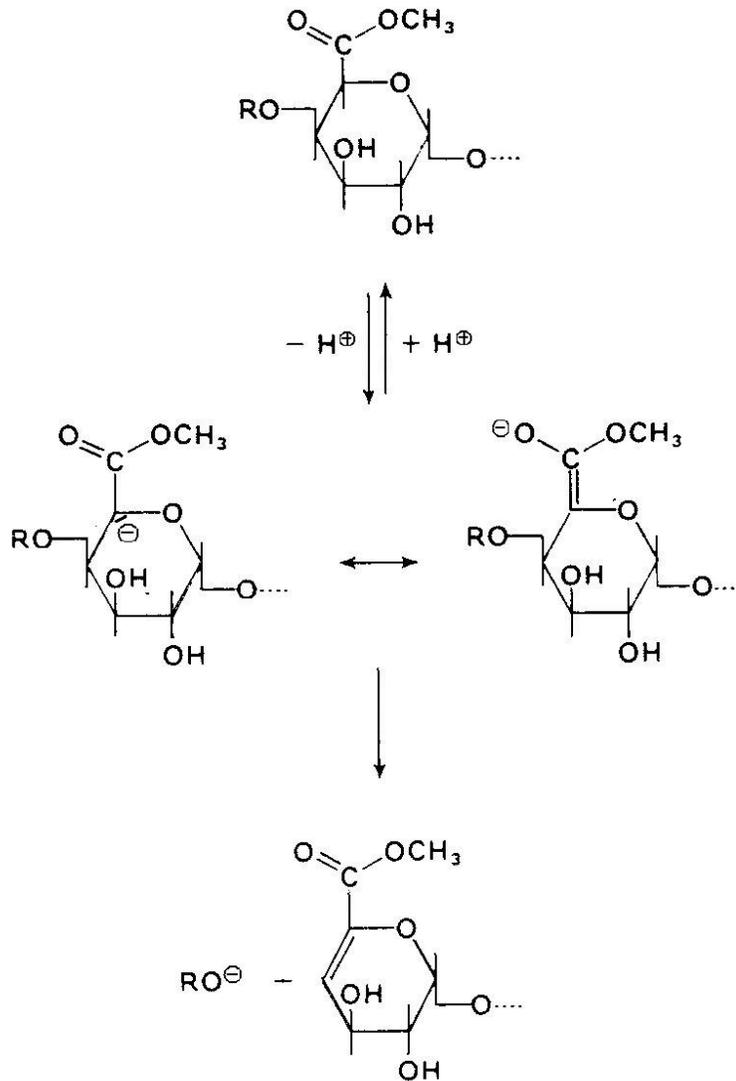


Figura 1.8 Representación de Haworth de la reacción de degradación de la pectina por β -eliminación.

La despolimerización a bajo pH es una hidrólisis, mientras que la degradación a pH alto es una β -eliminación. Lo anterior es significativo a cualquier pH superior a 5. Los enlaces glicosídicos al C-4 de cualquier subunidad de galacturonano esterificado son hendidas más fácilmente por β -eliminación que los enlaces al C-4 de las unidades desesterificadas. Consecuentemente las pectinas de alto metoxilo son más vulnerables a este tipo de degradación que las pectinas de bajo metoxilo.

Por otro lado, la eliminación no ocurre en los residuos donde un grupo amida reemplaza el grupo metoxilo, sugiriendo que las pectinas amidadas pueden de cierto modo ser más resistentes a la despolimerización bajo condiciones alcalinas, aunque las pectinas son más susceptibles a la despolimerización catalizada por bases que los ácidos pécticos. Por esta razón, es importante que se escojan y se regulen las condiciones y tipo de pectina durante el uso industrial de éstas.

La pectina de alto metoxilo (HM) pierde hasta 5% por año de su grado USA-SAG cuando se almacena a 20°C en atmósfera seca. La pérdida es mucho mayor si se almacena la pectina bajo condiciones más cálidas y húmedas (Harris, 1990).

Las pectinas son estables bajo condiciones ligeramente ácidas en un intervalo de pH de 3-4 aunque a pH's más altos o más bajos muestran una disminución en la viscosidad y fuerza del gel causado por la despolimerización. A temperaturas normales sufren despolimerización bajo condiciones fuertemente ácidas y, particularmente a temperaturas elevadas.

Como se mencionó anteriormente, las pectinas son muy inestables en pH alcalino, además de sufrir saponificación de los grupos metoxilo, también se despolimerizan. La velocidad de despolimerización a cualquier tiempo es proporcional a la cantidad de grupos metoxilo restantes y se acelera mucho a temperaturas superiores a 50°C.

La despolimerización es una reacción de β -eliminación y los productos son los mismos que los producidos por acción de la trans-eliminasa en pectina. La saponificación se lleva a cabo simultáneamente con la despolimerización y a una velocidad mayor. Todas las reacciones de la pectina en buffer con pH

10.2 a 25°C se terminan en 30 minutos y, en promedio, se rompe cerca de un enlace glicosídico por cada 80 grupos éster hidrolizados. Además, la pectina también es inestable en soluciones neutras, siendo degradada en una reacción dependiente de la temperatura. La rápida disminución de la viscosidad y el incremento de los grupos reductores finales es indicativo de la desintegración de los enlaces glicosídicos. Debido a esto, solamente los ácidos pécticos o las pectinas de muy bajo grado de esterificación pueden ser utilizadas en productos con pH neutro, especialmente aquellos que requieren calentamiento durante el proceso.

1.2.6 GELES DE PECTINA

El gel normal de pectina de alto metoxilo, como se estableció durante años de desarrollo y uso, se considera para fines prácticos compuesto de una solución diluida (< 1%) de pectina que contenga de 58 a 75% de azúcar como agente deshidratante y ajustado a un pH de 2.8 – 3.5 mediante la adición de un ácido adecuado. Se emplea usualmente ácido cítrico, málico y tartárico. En general, para que se forme un gel, debe estar presente un agente deshidratante como el azúcar, alcohol, o glicerol en cantidades de 50% en peso o mayor y el pH se debe mantener por debajo de 3.5. La velocidad de formación de un gel de pectina se vuelve más rápida conforme el pH y la temperatura se bajan y la concentración de azúcar se eleva (Towle, 1973), ver Figura 1.9.

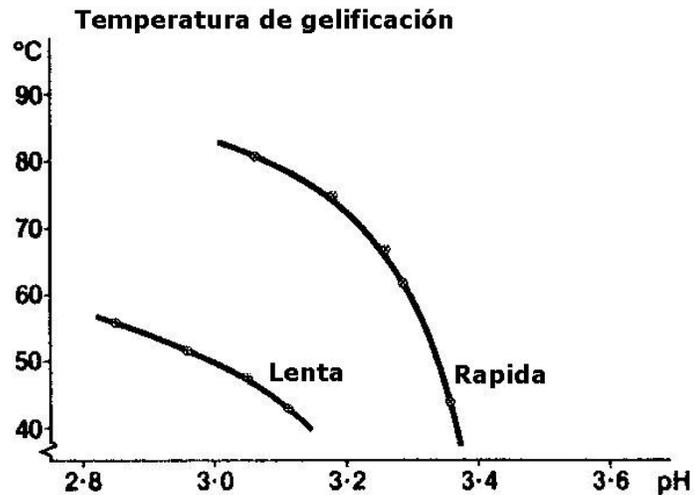
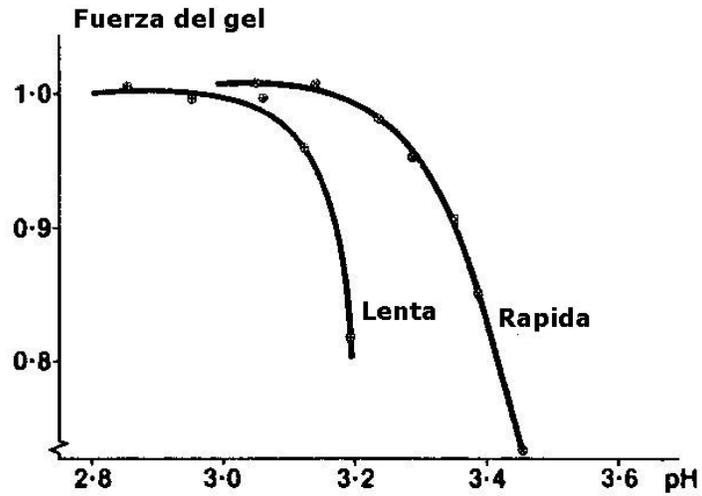


Figura 1.9 Efecto del pH en pectina de alto metoxilo de gelificación rápida y lenta: arriba en la fuerza del gel, abajo en la temperatura de gelificación.

La estructura de estos geles de pectina-azúcar-ácido es completamente diferente que la de la gelatina y, de hecho, el mecanismo involucrado en la formación de gel de pectina también es un tanto diferente.

El mecanismo de formación de geles de pectinas de alto metoxilo en geles con alto contenido de sólidos ha sido investigado ampliamente durante varias

décadas, Olsen (1934) basó su explicación de este fenómeno en las siguientes suposiciones:

- 1) La pectina es un coloide hidrofílico cargado negativamente;
- 2) el azúcar funciona como agente deshidratante;
- 3) los iones hidrogeno del ácido disminuyen las cargas negativas de la pectina, esto permite la coalescencia de las moléculas para formar una red;
- 4) la velocidad de deshidratación y precipitación aumenta directamente conforme la concentración de iones hidrógeno aumenta;
- 5) la deshidratación de la pectina requiere tiempo para alcanzar el equilibrio, por lo que algunos geles se forman más rápidamente que otros o requieren diferentes temperaturas de formación;
- 6) la máxima fuerza del gel se alcanza en el equilibrio.

Comúnmente, las pectinas comerciales son agrupadas en gelificación rápida, media y lenta de acuerdo a su tiempo de gelificación. La fuerza del gel y el tiempo de gelificación de las pectinas es una propiedad intrínseca (Wong, 1989) y el mecanismo de gelificación de las pectinas de alto y bajo metoxilo involucra el entrecruzamiento de cadenas de polisacáridos para formar zonas de nodos similares a las de los geles de alginato o carrageninas. Por lo tanto, el gel de pectina de alto metoxilo (HM) se estabiliza por interacciones hidrofóbicas de los grupos metil-éster así como por puentes de hidrógeno intermoleculares, ver Figura 1.10. Además, Bender (1959) propone que cuando las pectinas forman geles lentamente por enfriamiento gradual, se da un fraccionamiento natural debido al peso molecular. Teóricamente, las fracciones de mayor peso molecular precipitan primero y las de menor peso al final, siguiendo su orden de insolubilidad en alcoholes diluidos.

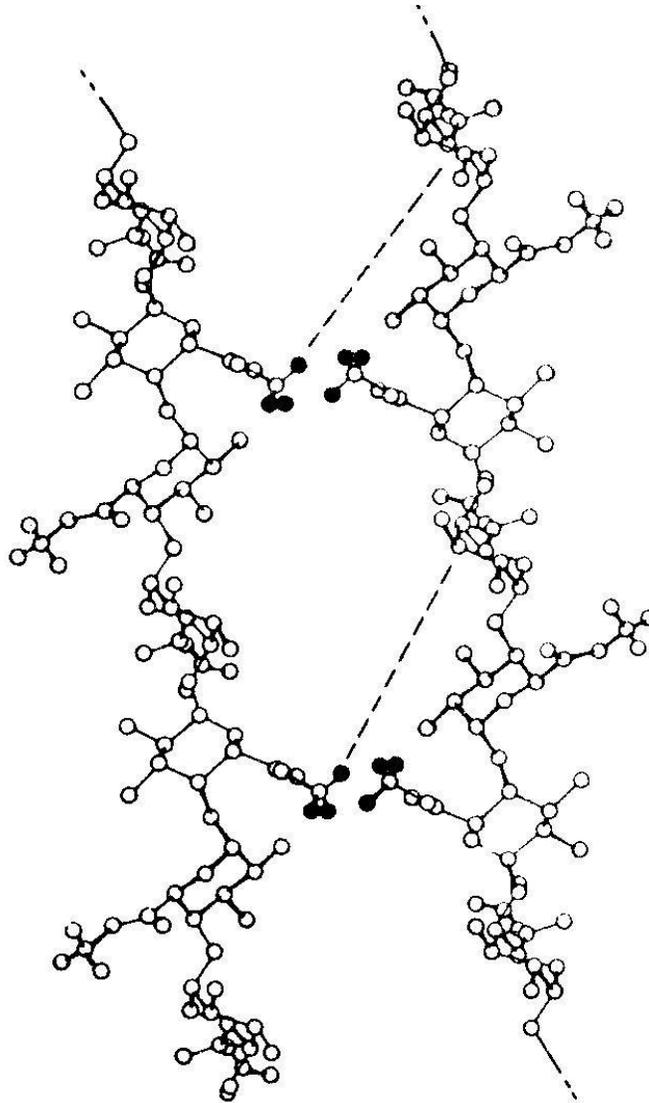


Figura 1.10 Zonas de unión en geles de pectina de alto metoxilo. Las líneas punteadas representan puentes de hidrógeno (Harris, 1990)

La energía libre para la formación de una zona de unión en pectina HM se representa en la Ecuación 1.1:

$$\Delta G^{\circ}_{\text{zona de unión}} = \Delta G^{\circ}_{\text{interacción hidrofóbica}} + \Delta G^{\circ}_{\text{puente de hidrógeno}} - T\Delta S_{\text{entropía configuracional}} \quad \text{Ecuación 1.1}$$

Para DE 70%=	-18.6	-37.5	41.1	KJ/Kg.mol
--------------	-------	-------	------	-----------

Los grupos éster son las partes hidrofóbicas de las pectinas de alto metoxilo, a las cuales, se asocia una contribución de energía con el contacto entre estas áreas hidrofóbicas y el agua. Las áreas hidrofóbicas tenderán a agregarse para minimizar la superficie de contacto, en analogía con la coalescencia de gotas de aceite en agua. Además, los puentes de hidrógeno que se forman entre cadenas de galacturonanos adyacentes contribuyen aun más a la disminución de energía de la formación de las zonas de unión. Sin embargo, se formuló como teoría que la contribución de energía de las interacciones hidrofóbicas es necesaria para hacer la suma de las contribuciones energéticas que favorecen la gelificación, suficientemente grande para exceder las contribuciones de energía que resisten a la gelificación.

Se ha propuesto una zona de unión que está de acuerdo con la hipótesis de arriba y se muestra en la Figura 1.10.

La distribución de los grupos metoxilo en el polímero así como la presencia de otros sustituyentes también son importantes en los mecanismos de formación de gel. Por ejemplo, a un pH bajo utilizado en la gelificación de pectinas de alto metoxilo provoca la protonación de los grupos carboxilato, una disminución en la repulsión electrostática entre las cadenas de pectina y un incremento en los puentes de hidrógeno intermolecular. Sin embargo, los puentes de hidrógeno por si solos no son suficientes para superar la energía de pérdida de entropía (perdida de libertad de movimiento del polímero durante la formación de las zonas de nudos). Así, de este modo, la adición de un co-soluto, disminuye la actividad acuosa, por lo que el agua está menos libre para solvatar la molécula del polisacárido y, por consiguiente, incrementa las interacciones hidrofóbicas entre los grupos metil éster. Por lo tanto, sin sacarosa, la contribución de interacciones hidrofóbicas es demasiado pequeña para formar zonas de nudos estables (Wong, 1989).

Generalmente, conforme aumenta el grado de esterificación de una pectina de alto metoxilo normal, también aumentan las necesidades de agente deshidratante para llevar a cabo la gelificación. Las pectinas con mayor grado de esterificación forman geles de cierto modo a mayor pH, quizás debido a que tienen menos grupos carboxilo libres, que en forma ionizada provocan repulsión de la cadena de polímero.

Además, la ramnosa en la cadena troncal y en las cadenas laterales de azúcares neutros también interfiere con el entrecruzamiento. En las zonas que contienen ramnosa, se distorsiona la cadena troncal.

El efecto de la distribución de los grupos metoxilo en las propiedades gelantes se pueden observar mediante la comparación de pectinas desmetiladas con ácido o base, contra aquellas desmetiladas mediante la acción de enzimas. El primer tipo, que se podría esperar que tuviera una distribución aleatoria de los grupos éster a lo largo de la cadena de polímero, muestra una variación normal en las propiedades del gel al disminuir el contenido de grupos metoxilo, mientras que los últimos muestran anomalías que se ven principalmente como una fuerza de gel menor que lo esperado con respecto al incremento de la desesterificación. Esto es atribuible a la eliminación no aleatoria de los grupos metoxilo para dar segmentos de cadena tanto tipo pectina como ácido péctico, análogo a una mezcla de moléculas de pectina y ácido péctico. (Towle *et al.*, 1973).

Wong *et al.* (1989) enlistan las siguientes características para los materiales pécticos:

- 1.- Pectina de alto metoxilo (HM): contiene arriba de 50% DE y forma geles en un medio con un contenido de sólidos solubles mayor de 55%, a un intervalo de pH de 2.0-3.5.

2.- Pectina de bajo metoxilo (LM): DE menor que 50%. La gelificación se controla por la introducción de iones de calcio y se presenta en un medio con 10-20% de sólidos solubles en un pH entre 2.5 y 6.5. Estas pectinas hacen geles adecuados cuando están presentes en 0.5-1.5%.

También se ha reportado que una fuerza del gel alta esta relacionada con (Glicksman, 1969):

1. Alto peso molecular de las pectinas
2. Alta concentración de pectina
3. Bajo contenido de metoxilo
4. Alta concentración de calcio

La distribución de los grupos metoxilo en el polímero así como la presencia de otros sustituyentes también son importantes porque afectan las propiedades de gelificación. Aunque la presencia de tan poco como un grupo *O*-acetil en la posición 2 ó 3 de uno de cada ocho unidades de ácido D-galactopiranosilurónico es suficiente para prevenir la gelificación, presuntamente interfiriendo con la formación cristalina.

Por otro lado, los iones metálicos divalentes pueden reaccionar con los grupos carboxilo de las cadenas de pectina adyacentes para formar una red de gel. Este entrecruzamiento iónico debido a fuerzas normales de valencia de iones divalentes se puede disminuir temporalmente por iones monovalentes como el sodio que también puede reaccionar con los grupos carboxílicos libres. Usualmente, el efecto de tales iones es limitar la reacción de entrecruzamiento con calcio y mejorar la solubilidad de la pectina de bajo metoxilo en la presencia de calcio. A veces se obtiene un mejor gel cuando

hay presentes sales de citrato de sodio en bajas concentraciones (Glicksman, 1969).

Las pectinas de bajo metoxilo pueden formar geles sin necesidad de azúcar, pero la presencia de pequeñas cantidades (10-20%) de azúcar tiende a impartir propiedades de textura deseables a estos geles. Altas concentraciones de azúcar (60% o mayor) interfieren con la formación de geles debido a que el efecto de deshidratación del azúcar favorece los puentes de hidrógeno y disminuye el entrecruzamiento por fuerzas ordinarias de valencia. Sin embargo el azúcar es necesario para la formación de geles de pectina de alto metoxilo. Del mismo modo, el glicerol, en la misma concentración en peso que la sacarosa forma geles igualmente fuertes con pectina (Glicksman 1969). Aunque la naturaleza del azúcar empleado tiene un efecto marcado en la velocidad de gelificación (May, 1992). Goldthwaite (1909) propuso que el azúcar retira la capa de moléculas de agua protectora de las moléculas de pectina permitiendo la atracción entre cadenas y la formación de zonas de entrecruzamiento.

Adicionalmente, la temperatura es otro factor importante, donde las pectinas de bajo metoxilo formarán geles mucho más estables a temperaturas mucho mayores. La temperatura de formación de gel y la estabilidad del gel dependerá de la composición inicial del gel. Los geles hechos con altas concentraciones de pectina se formarán y serán estables a temperaturas de 120-150°F, mientras que los geles que utilicen bajas concentraciones de pectina no son estables a temperaturas por encima de 100°F.

Por otro lado, se ha diseñado un gran número de métodos para su uso con geles de pectinas, mientras que otros se han adaptado. Dichos métodos se pueden agrupar de acuerdo a su acción en el gel en (Towle *et al.*, 1973):

1. Aquellos que dan una medida de la fuerza del gel a través de la deformación controlada del gel dentro de los límites elásticos y
2. Aquellos que miden la fuerza del gel mediante la ruptura

En la respuesta mecánica de las pectinas, se ha reportado que la deformación de las pectinas de alto metoxilo es lineal respecto a una baja velocidad de cizalla y posteriormente la recuperación del material es completa. La relación entre el valor de hundimiento y la fuerza de rompimiento no son constantes, pero están relacionadas al peso molecular de la pectina. Existe una relación entre la composición química y el mecanismo de gelificación de éstas.

1.2.7 ESTANDARIZACIÓN

Para fines comerciales, en las pectinas se hace una estandarización descendiente hacia un grado norma de 150 con azúcares neutros con el fin de obtener una determinada fuerza de gel mediante la dilución de la pectina, con dextrosa o sacarosa finamente pulverizados, a fin de que 1 parte de pectina comercial establezca 150 partes de sólidos (sacarosa). Los grados por encima de 200 se obtienen comúnmente para pectina cruda de alto metoxilo. Para la determinación del grado de las pectinas, los geles se preparan bajo condiciones estándar como las siguientes:

- (a) sólidos solubles en el refractómetro: 65%
- (b) pH = 2.20-2.40
- (c) fuerza del gel: 23.5% SAG

Para esta estandarización se utiliza el método USA-SAG, el cual se implementó por el comité de estandarización de pectina IFT en 1959 y hay disponible un procedimiento detallado en la bibliografía (Harris, 1990).

Los factores más importantes en el establecimiento de los grados del producto son el poder gelificante y el tiempo de gelificación. El poder gelificante es una medida de la cantidad de pectina que se requiere para lograr una cierta rigidez de un gel de pectina. Por lo tanto, el grado de una pectina se expresa como el número de gramos de azúcar que un gramo de pectina puede mantener en un gel de una textura estándar.

El tiempo de gelificación se define como el tiempo entre el momento en que las condiciones de gelificación se encuentran presentes y el momento en que comienza la gelificación de la jalea. Éste representa el tiempo disponible para envasar las jaleas dentro de los contenedores. Un tiempo de gelificación muy corto puede dar como resultado la formación del gel dentro del equipo de llenado, mientras que un tiempo de gelificación muy largo puede producir retrasos en el envasado. Cuando están presentes partículas de frutas, las condiciones de gelificación están cronometradas para dar una pequeña gelificación antes del llenado y de este modo prevenir que los pedazos de fruta se distribuyan de forma desigual en el contenedor.

Así como la fuerza del gel, el tiempo de gelificación de una pectina en particular es una propiedad intrínseca de la pectina.

Para fines prácticos, el tiempo de gelificación bajo condiciones definidas se ha visto que es un parámetro muy útil en el cual basar los grados de las pectinas. De este modo, las pectinas comerciales son agrupadas comúnmente en gelificación rápida, media y lenta de acuerdo a su tiempo de gelificación, aunque también existen disponibles pectinas con grados fuera de estos límites para usos especiales.

Doesburg y Grevers (1960), encontraron que el tiempo de gelificación de jaleas de pectina con bajo contenido de cenizas aumenta al disminuir el grado de esterificación, mientras que las jaleas de pectinas con grados de esterificación más bajos muestran tiempos de gelificación más bajos. El pH bajo así como un alto contenido de azúcar disminuyen el tiempo de gelificación.

En la Tabla 1.1 se relacionan los tipos de pectina en función de su tiempo de formación de gel (Towle, 1973):

Tabla 1.1 Clasificación de las pectinas de acuerdo al tiempo de gelificación.

Tipo de pectina	Grado de esterificación %	Tiempo de gelificación seg.
Gelificación rápida	72-75	20-70
Gelificación media	68-71	100-135
Gelificación lenta	62-66	180-250

1.2.8 PECTINAS DE BAJO METOXILO

Existen cuatro procesos conocidos que se emplean para la producción de pectinas de bajo metoxilo parcialmente desesterificadas y son los siguientes: 1) tratamiento ácido a bajas temperaturas por mucho tiempo; 2) tratamiento con álcali o amoniaco acuoso diluido; 3) tratamiento enzimático (con o sin álcali); 4) tratamiento con amoniaco en un sistema alcohólico.

Las pectinas que se obtienen por estos métodos son del mismo tipo general pero tienen diferencias importantes en la viscosidad y sensibilidad a los iones calcio. Las pectinas que se preparan por desmetilación con ácido o álcali

usualmente tienen un contenido de metoxilo entre 2-5%, mientras que las que se obtienen por desmetilación enzimática tienen un contenido entre 2-7% (Glicksman, 1969). La principal ventaja de las pectinas amidadas es su mayor tolerancia a los cambios en el nivel de calcio. Existe un cierto límite de iones calcio, debajo del cual no se formará un gel hasta alcanzar una concentración mínima de iones calcio. Por encima de este nivel, la fuerza del gel aumenta rápidamente conforme aumenta la concentración de calcio, alcanza un máximo y después cae. En este intervalo, la temperatura de gelificación aumentará desde la temperatura ambiente y se acerca hasta el punto de ebullición conforme se alcanza la máxima fuerza del gel. La razón por la que disminuye la fuerza del gel, es que en un gel preparado convencionalmente con calentamiento, la gelificación empieza durante la preparación de la mezcla y esta parte de la fuerza no se recupera después de que se vierte. Tales geles son muy quebradizos, grumosos y propensos a la sinéresis. Para obtener un gel no quebradizo, elásticos y sin sinéresis es necesario trabajar por debajo de la máxima temperatura y fuerza del gel, es decir, por debajo de la concentración óptima de calcio aparente. Otro factor importante es la concentración de quelante, si el agente quelante se aumenta, el sistema forma geles menos fácilmente y a menor temperatura. Si se reduce la concentración de quelante, la fuerza del gel y la temperatura de gelificación aumentan y si no hay agente quelante presente se vuelve imposible formar un gel sin pregelificación y de textura quebradiza. El papel del pH es más complejo, pero en general conforme aumenta el pH, de alguna manera se reduce la tendencia a formar un gel. A pH menor, la misma concentración de calcio requerirá menos pectina para reaccionar. Además, conforme la actividad acuosa del sistema disminuye, aumentando el contenido de sólidos del sistema mediante la adición de azúcar, es más fácil formar un gel y se requiere menos calcio o menos pectina. Por lo tanto, se vuelve indispensable el empleo de un agente quelante de calcio en el sistema para balancear el efecto del incremento de los sólidos (May, 1992).

Comparado con las pectinas regulares, hasta 1969 solamente una pequeña cantidad de pectina de bajo metoxilo se utilizaba para la producción de alimentos. Sin embargo, las nuevas propiedades funcionales de este hidrocoloide le dan un mayor y más diverso número de aplicaciones, así que las pectinas de bajo metoxilo se han utilizado en un amplio intervalo de alimentos, incluyendo gran variedad de productos alimenticios gelificados (Glicksman, 1969).

1.2.9 DEGRADACIÓN ENZIMÁTICA

Se sabe que varios tipos de enzimas degradan la molécula de pectina. Estas se pueden agrupar en categorías de acuerdo al modo en que actúan como (a) pectina-esterasa, (b) trans-eliminadas o liasas y (c) poligalacturonasas.

Las pectina-esterasas se encuentran en la mayoría de las plantas y son sintetizadas por algunos microorganismos. Su acción sobre la pectina da como resultado la hidrólisis del grupo metil-éster con la formación de metanol y unidades libres de ácido D-galacturónico y, muy probablemente, contribuyen en parte a la disminución del contenido de metil éster de las pectinas.

Algunos microorganismos producen liasas que rompen las sustancias pécticas. Esta despolimerización avanza del mismo modo que el mecanismo de la β -eliminación que ocurre durante la despolimerización de la pectina catalizada en medio básico, dando un grupo terminal insaturado no reductor.

Las enzimas despolimerizantes (poligalacturonasas) son producidas por cierto número de microorganismos y se encuentran en pequeñas cantidades

en algunas frutas y vegetales, pero esencialmente ausentes en los cítricos (Towle, 1973).

La naturaleza no solamente proporcionó a las plantas con medios enzimáticos para la degradación de la pectina, sino que también dio al sistema digestivo humano un mecanismo enzimático de cierta forma similar para digerir las pectinas ingeridas normalmente como parte de de las frutas ingeridas (Glicksman, 1969), aunque las pectinas entran dentro de la definición de "fibra dietética".

1.2.10 LEGISLACIÓN

Las pectinas siempre se han considerado como un constituyente natural de los alimentos humanos y no se ha cuestionado su uso como un aditivo alimenticio seguro, aunque está regulada como aditivo alimenticio en muchos países y está definida como tal por la Comisión del Codex Alimentarius de las Naciones Unidas, por la Comunidad Europea y en los EUA. La pectina goza de una posición única en su mercado principal, se vende para su uso en jaleas, mermeladas y conservas y casi esta libre de competencia con otras gomas. Las razones de aplicación en el mercado incluyen la ausencia total de off-taste y el hecho de que los estándares alimenticios parecen proteger a la pectina como un componente natural en estos productos y su uso no se limita solamente a los alimentos (Towle *et al.* 1973).

La pectina para uso comercial ha sido definida por la Joint FAO/OMS Expert Committee on Food Additives (JECFA) de la forma siguiente:

"La pectina consiste principalmente en metil-ésteres de ácido poligalacturónico y sus sales de sodio, potasio, calcio y amonio. Que se obtiene por extracción acuosa de materiales vegetales comestibles

apropiados, usualmente cítricos o manzanas. No se deben usar otros precipitantes orgánicos que no sean metanol, etanol e isopropanol. En algunos tipos, se pueden convertir algunas porciones de los ésteres metílicos en amidas primarias mediante el tratamiento con amoniaco en condiciones alcalinas. El producto comercial se diluye normalmente con azucres con propósitos de estandarización y mezclada con sales buffer grado alimenticio necesarios para el control del pH y de las características de formación de gel deseadas. "

Las especificaciones que ha recomendado la JECFA se resumen abajo. Los métodos analíticos pertinentes se pueden encontrar en el original.

- *Ácido galacturónico*. No menos de 65% en base seca libre de cenizas (después de remover los azucres mediante lavados con ácido y metanol)
- *Grado de amidación*. No mas de 25
- *Perdida por secado*. No mas de 12% (105°C, 2h)
- *Cenizas insolubles en ácido*. No mas de 1%
- *Metales pesados* (en mg/Kg.). Como máximo 3; Pb máx. 10; Cu máx. 50; Zn máx. 25
- *Alcoholes*. La suma de metanol, etanol e isopropanol no mayor a 1%
- *Nitrógeno*. No más de 2.5% después de lavar con ácido y metanol
- *Dióxido de azufre*. No más de 50mg/Kg.

Se puede encontrar una compilación de especificaciones incluyendo las del Codex alimentario y las del Council of the European Communities en un artículo de Højgaard Christensen (Harris, 1990).

La Sociedad Química Americana definió fundamentalmente a la "Pectina" como aquellos ácido pécticos capaces de formar el tipo estándar de jaleas de

fruta cuando hay presentes azúcar y ácido en las proporciones correctas. Las "sustancias pécticas", que son todas modificaciones de polímeros de ácido galacturónico, se pueden diferenciar por el grado de sustitución de metoxilo.

1.3 REOLOGÍA

La reología es la ciencia que se dedica al estudio de la deformación y el flujo de los materiales. Esta ciencia abarca el área de flujo de fluidos, la cual es de suma de la importancia para la industria en el procesamiento y transporte de alimentos. La ventaja de usar el término reología es para describir que varios de los conceptos asociados con el flujo de fluidos pueden ser utilizados en la descripción de: a) flujo de suspensiones, b) flujo de productos granulares o polvos y c) productos alimenticios sólidos.

Los alimentos además de presentar un color, olor y sabor característico, exhiben un determinado comportamiento mecánico al ser deformados. Éstos pueden ser de diferente consistencia (dura o blanda, correosos, gomosos o quebradizos) y de textura, en los cuales unos fluyen fácilmente y otros con dificultad (Muller, 1973; Lewis, 1987).

Idealmente un material puede encontrarse en cualquiera de estas dos formas: elástico y/o viscoso.

Los parámetros reológicos fundamentales son la elasticidad y la viscosidad y los productos alimenticios raramente exhiben estos componentes de manera ideal, estos conceptos sirven únicamente como una base para el desarrollo de teorías más complejas. Cuando el cuerpo esté bajo un esfuerzo de cizalla o presión hidrostática, los coeficientes involucrados son los módulos de cizalla y volumen.

De forma diferente al comportamiento elástico, varios fluidos alimenticios pueden ser descritos mediante un comportamiento ideal viscoso, por ejemplo: suponiendo un sistema de dos placas paralelas, la respuesta de un fluido viscoso ideal cuando una fuerza es aplicada sobre el plano a una distancia (dy) a la superficie más baja. Si la superficie superior se mueve a una velocidad ($v+dv$) y la superficie inferior se mueve a una velocidad (v), la respuesta del fluido viscoso ideal entre las dos superficies será la siguiente:

$$\tau = \mu dv/dy \quad \text{Ecuación 1.2}$$

En la Ecuación 1.2, τ es el esfuerzo de corte o fuerza de cizalla por unidad de área, μ es el coeficiente de viscosidad, dv/dy es el gradiente de velocidad, éste existe entre las dos superficies y es equivalente a la velocidad de deformación. El comportamiento de un fluido como el descrito por la Ecuación 1.2 es conocido como comportamiento Newtoniano. El agua y fluidos similares son fluidos newtonianos, tal como se presenta en la Figura 1.11.

Sin embargo, varios productos alimenticios presentan algún tipo de comportamiento como una combinación de materiales elásticos y viscosos. Este tipo de materiales son caracterizados mediante la relación entre el esfuerzo de cizalla y la deformación, la cual es más compleja que el comportamiento elástico ideal o el viscoso ideal.

Por otro lado, cuando se trabaja con soluciones de polímeros es útil determinar las viscosidades de soluciones diluidas. Cuando se disuelve un polímero en un solvente, hay un aumento notable de la viscosidad del solvente. Las viscosidades de los solventes puros y de las soluciones se pueden medir y además se pueden calcular varios valores a partir de la información obtenida.

1.3.1 FLUJO NEWTONIANO

El comportamiento de flujo de algunos fluidos puede ser caracterizado por un sólo parámetro, la viscosidad Newtoniana, la cual está definida por la Ecuación 1.2 (Rao y Rizvi, 1986), donde existe una relación lineal entre el esfuerzo constante τ y la velocidad de deformación γ .

El flujo Newtoniano de fluidos en general entre los dos planos no se mueve a la misma velocidad (Vernon *et al*, 1985; Rao y Rizvi 1986), adquiere una determinada cantidad de movimiento en la dirección del eje X. Este fluido comunica, a su vez, parte de su cantidad de movimiento a la capa adyacente de fluido, dando lugar a que se mantenga en movimiento en la dirección del eje X, de tal manera que se establece un gradiente de velocidad dentro del fluido, definido como la velocidad en cualquier punto de fluido dividido por la distancia desde ese punto hasta la pared de la placa, también llamada velocidad de deformación o velocidad de corte (dv/dy) (Toledo, 1980)

La rapidez con que se mueve este líquido varía de acuerdo a su distancia del plano superior, la velocidad máxima ocurre en la capa adyacente al plano superior y es cero en la capa adyacente al plano inferior (Vernon *et al.*, 1985; Lewis, 1987) ver Figura 1.11.

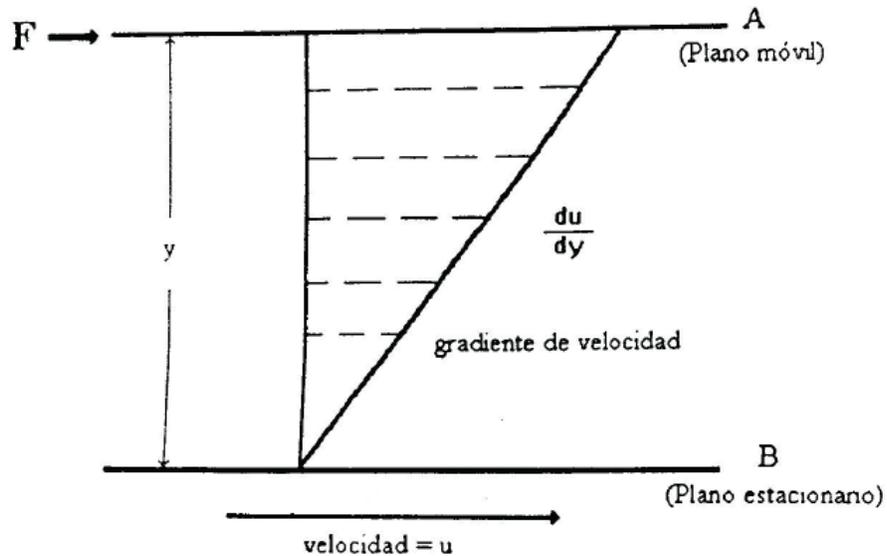


Figura 1.11 Modelo para el flujo Newtoniano

En un fluido, la viscosidad del líquido μ está dada por la Ecuación 1.3 y ésta se mantiene constante (Vernon *et al.* 1985; Lewis 1987).

De esta manera, un fluido Newtoniano se define como aquel en el cual la representación del esfuerzo cortante en función de la velocidad de corte es una línea recta y a la constante de proporcionalidad se le denomina coeficiente de viscosidad (Muller 1973). Sin embargo, el comportamiento de flujo de la mayoría de los alimentos no puede ser caracterizado con una viscosidad constante. A los materiales que muestran una desviación del comportamiento de flujo Newtoniano se les conoce generalmente como fluido de comportamiento No-Newtonianos (Vernon *et al.* 1985; Lewis, 1985) ver Figura 1.12

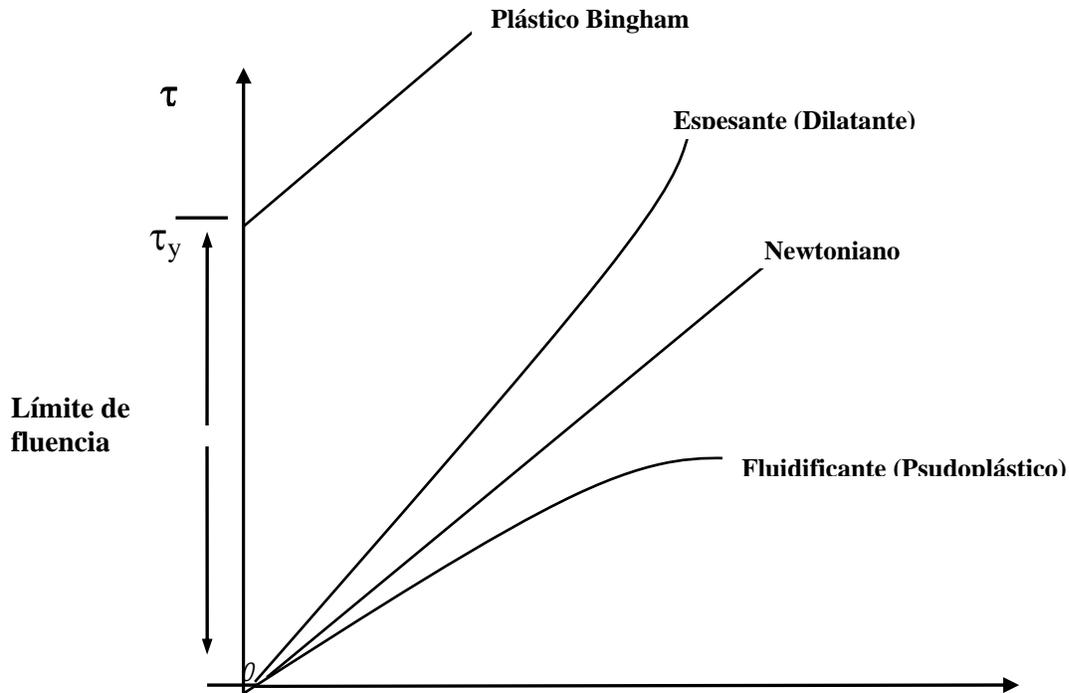


Figura 1.12 Comportamiento reológico de diversos materiales (esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla) (Bird *et al.*, 1977).

1.3.2 FLUJO NO-NEWTONIANO

En flujo no-Newtoniano la viscosidad varía conforme se cambia la velocidad de corte, es decir, el esfuerzo constante τ y la velocidad de corte γ no están relacionadas linealmente (Medina *et al.*, 2001). Este tipo de flujo viene descrito por la ecuación:

$$\mu = k * \gamma^{n-1} \quad \text{Ecuación (1.3)}$$

Los fluidos no-Newtonianos son más difíciles en su manejo y para su clasificación experimental, debido a que su viscosidad llega a depender de las condiciones experimentales seleccionadas (Lewis, 1987). Este tipo de fluidos se dividen en dos categorías principales atendiendo al comportamiento de esfuerzo constante / velocidad de deformación:

1. Fluidos en los que el esfuerzo constante es independiente del tiempo o duración de la acción cortante (**tiempo independientes**).
2. Fluidos en los que el esfuerzo cortante depende del tiempo o duración de la acción cortante (**tiempo dependientes**).

1.3.3 FLUIDOS INDEPENDIENTES DEL TIEMPO

Ejemplos de fluidos no-Newtonianos, donde el esfuerzo de corte es independiente del tiempo son:

1. Fluidos de adelgazamiento a la cizalla (Pseudoplásticos).

A este tipo de fluidos pertenecen la mayoría de los fluidos no-Newtonianos como: gomas, mucílagos, grasas, mayonesas, etc., los cuales experimentan una disminución de la viscosidad η al aumentar el esfuerzo de corte (Bird, R. B., 1977, Geankoplis C. J., 1978).

La Ecuación 1.4 de dos parámetros se transforma en la ecuación de la ley de Newton cuando el índice de comportamiento al flujo es igual a la unidad ($n=1$). En este caso el índice de consistencia k es igual a la viscosidad, por lo que la desviación del valor de n con respecto a la unidad es una medida del grado de desviación del comportamiento Newtoniano.

2. Fluidos de reoespesamiento (Dilatantes)

Este es un fenómeno de espesamiento independiente del tiempo, que se da a alta velocidad de corte, se trata del fenómeno opuesto al de la pseudoplasticidad. La gráfica no es lineal, pero los valores de τ y $\dot{\gamma}$ están unívocamente relacionados. Algunas soluciones dilatantes son las harinas de

maíz y el azúcar en solución, el almidón en agua y una solución que contenga concentraciones elevadas de polvos en agua (Geankoplis, 1986).

El fenómeno de dilatancia también es el resultado de los factores que intervienen en un fluido pseudoplástico, sin embargo, la concentración y la variación en la forma de los materiales juega un papel crítico en esta conducta. La dilatancia puede ser visualizada como partículas de tamaño variado y formas encerradas, acomodadas y empacadas herméticamente, de tal manera que el flujo comienza a ser más difícil cuando la presión incrementa. Con el incremento de la velocidad de corte, las grandes partículas flexibles llegan a alargarse gradualmente incrementando el radio axial de las partículas, contribuyéndose así a originarse el fenómeno de dilatancia (Rha, 1978) ver Figura 1.12.

Los sistemas dilatantes y pseudoplásticos son evaluados a través del modelo de la Ley de Potencia o de Oswald y de Waele, que matemáticamente viene expresada por la Ecuación 1.4 (Lewis, 1987, Rao y Risvi, 1985):

$$\tau = k(dv/dy)^n, \quad \tau = k\dot{\gamma}^n \quad \text{Ecuación 1.4}$$

Donde, τ (Pa) es el esfuerzo constante, k (Pa·sⁿ) es el índice de consistencia, (dv/dy) , $\dot{\gamma}$ (s⁻¹) es la velocidad de deformación y n es el índice de flujo del comportamiento del flujo. Además de considerar el comportamiento no-lineal, algunos fluidos no-Newtonianos también tienen características elásticas (como el caucho), por lo que en general exhiben una recuperación elástica de las deformaciones que ocurren durante el flujo, es decir, muestran propiedades tanto viscosas como elásticas (Rao y Steffe, 1992), donde parte de la deformación se recupera al eliminar el esfuerzo ver Figura 1.13.

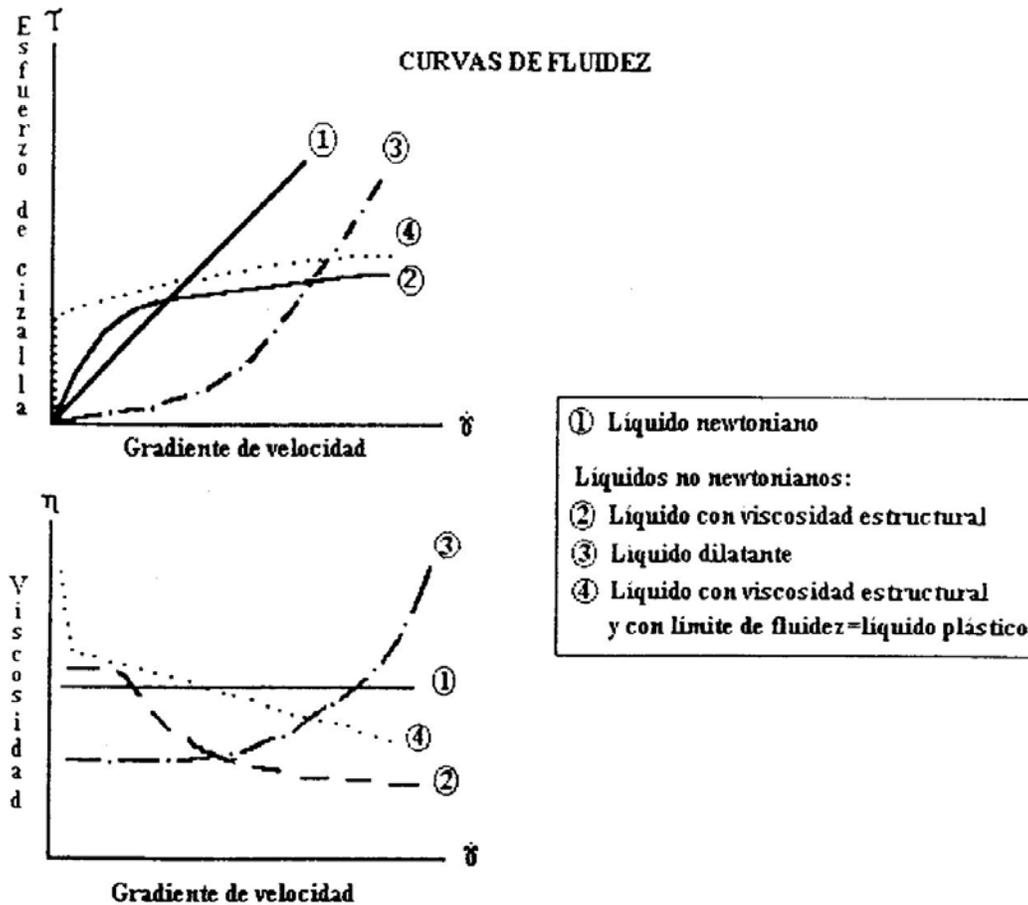


Figura 1.13 Curvas de flujo

1.3.4 FLUJOS DEPENDIENTES DEL TIEMPO

1. Tixotropía

La tixotropía, es un comportamiento que presenta un ablandamiento dependiente del tiempo. La representación gráfica que le corresponde es una curva similar a la de pseudoplasticidad, en donde μ desciende a medida que aumenta la velocidad de deformación.

Difiere, sin embargo, de ella en que el descenso de μ no está relacionado exclusivamente con la velocidad de deformación, sino también con el tiempo.

Manteniendo constante la velocidad de deformación, μ desciende con el tiempo, de manera que μ no depende sólo de la velocidad, sino también de la duración de la deformación.

Si las representaciones de τ en función de $\dot{\gamma}$ son dependientes del tiempo, terminan formando un bucle de histéresis (proceso de deformación en la que las fases de carga y descarga no coinciden) (Muller, 1973, Rao y Rizvi, 1985) ver Figura 1.14.

2. Reopexia.

La reopexia es el fenómeno inverso de la tixotropía. La reopexia es un espesamiento dependiente del tiempo, que es el diagrama τ vs. $\dot{\gamma}$, ver Figura 1.14 y, en el que estos dos parámetros no están unívocamente relacionados. Existen dos valores de $\dot{\gamma}$ para cada valor de τ y a la inversa, si se hacen rutinariamente pruebas cíclicas. Por lo tanto es necesario un riguroso control del tiempo en las determinaciones.

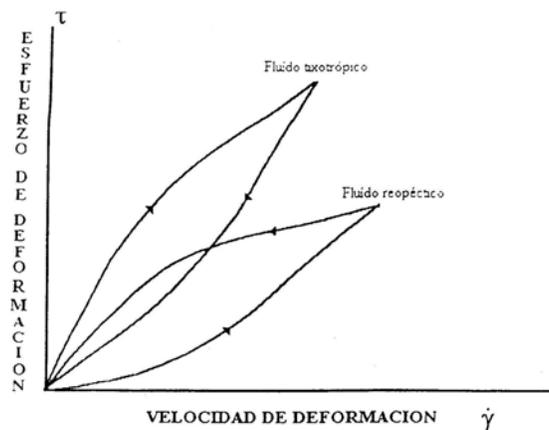


Figura 1.14 Comportamientos dependientes del tiempo, Reopexia y Tixotropía.

Los factores que contribuyen a que se dé la tixotropía son los que también contribuyen a la pseudoplasticidad y los factores que causan el comportamiento de flujo reopéctico son los que causan la dilatancia. Ambas conductas son el resultado de un re-arreglo de la estructura con reducida resistencia al flujo, mientras que la reopexia implica el espesamiento o arreglo estructural con alta resistencia al flujo (Rha, 1978).

Estudiar la consistencia y textura que presentan estos materiales involucra el área de la reología que se encarga de estudiar el flujo de fluidos, la cual es importante en la industria del procesamiento de alimentos. Sin embargo, existen varios factores en los alimentos que hacen que las propiedades reológicas de estos sistemas sean más complejas.

Entre estos factores se encuentran:

- a. Temperatura
- b. Presión
- c. Constitución físico-química de la sustancia (humedad y reacciones químicas)
- d. Gradiente de velocidad
- e. Tiempo

De manera ideal, un material puede comportarse en cualquiera de dos formas: elástico ideal o viscoso ideal. Sin embargo, los biopolímeros raramente exhiben un comportamiento ideal. Los fluidos estructurados, es el caso de la mayoría de los polisacáridos de uso alimenticio, generalmente presentan un comportamiento reológico no Newtoniano, es decir, la relación entre el esfuerzo de corte y la velocidad de deformación no es lineal.

1.3.5 FACTORES QUE AFECTAN EL COMPORTAMIENTO REOLÓGICO

La reología de los alimentos está relacionada principalmente con sus cualidades y su aceptación. Las propiedades de flujo de un alimento tienen relación directa con las operaciones del procesamiento de los alimentos y su textura. Aún más, las mediciones reológicas pueden ser formas más objetivas o más convenientes de evaluar las interrelaciones que existen entre la reología de un alimento y otras propiedades como la densidad, estabilidad y contenido de sólidos.

De esta manera la función material de la **viscosidad** puede ser simplemente definida como la fricción interna que actúa dentro del fluido, es decir, la resistencia a fluir (Lewis, 1987). En el procesamiento de los alimentos es importante tomar muy en cuenta la propiedad de transporte que define el comportamiento hidrodinámico de algún fluido, es decir, la viscosidad (Lewis, 1987).

La estimación de la viscosidad es muy importante para el control de calidad, particularmente en productos que se supone sean de una consistencia particular en relación a su apariencia o sensación, por ejemplo: crema, yogurt, etc. (Rao y Rizvi, 1985; Lewis 1987).

1.3.5.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA

Los alimentos fluidos están sujetos a diferentes temperaturas durante su procesamiento, almacenamiento, transportación, venta y consumo. Por esta razón, las propiedades reológicas son estudiadas como una función de la temperatura. Generalmente la viscosidad desciende al aumentar la temperatura (Muller, 1973; Vitali y Rao 1984; Rao y Rizvi, 1986).

Generalmente, la ecuación que describe este fenómeno es la llamada de Arrhenius:

$$\mu = A \cdot \exp(E_a / R \cdot T)$$

Ecuación 1.5

Dónde, μ es la viscosidad (Pa·s); A es una constante (Pa·s); E_a es la energía de activación al flujo (kJ/kg·mol); R es la constante de los gases (8.314 kJ/kg·mol·K) y T la temperatura absoluta en Kelvin (K).

Es generalmente aceptada la aplicabilidad de esta ecuación, no obstante se encuentran otros modelos que describen con éxito el comportamiento de la viscosidad al variar la temperatura (Muller, 1973). Así en el caso de los fluidos que obedecen la ecuación de la Ley de Potencia, la ecuación de Arrhenius es generalmente usada para cuantificar el efecto de la temperatura sobre el índice de consistencia k (Ibarz *et al.* 1995).

$$k = k_0 \cdot \exp(E_a / R \cdot T)$$

Ecuación 1.6

Donde k (Pa·s) es el índice de consistencia y k_0 (Pa·s) es una constante.

1.3.5.2 EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN

Otro factor que afecta la viscosidad es la concentración de sólidos, la cual al aumentar produce un incremento de la viscosidad. Esto, al igual que la temperatura, repercute en ciertas operaciones unitarias como la evaporación, ósmosis inversa, etc., en donde la viscosidad del producto determina en muchas ocasiones el grado de concentración al que es posible llegar (Lewis, 1987).

1.3.6 SÓLIDOS VISCOELÁSTICOS (GELES)

1.3.6.1 COMPORTAMIENTO VISCOELÁSTICO

El término viscoelástico hace referencia a la coexistencia de propiedades viscosas y elásticas en un material. Cuando un cuerpo es sometido a un esfuerzo o una deformación, en su interior se generan "reacomodos" moleculares que requerirán tiempos finitos de acuerdo a la estructura del material, cuando el tiempo invertido en éstos es menor al tiempo de observación el comportamiento de este material se describe como "viscoso". De forma contraria, cuando los reacomodos en el interior del cuerpo se llevan a cabo en tiempos muy grandes, mayores al tiempo de observación, el comportamiento se describe como "elástico". En un material puramente viscoso, toda la energía requerida para producir la deformación se disipa en forma de calor, mientras que un material puramente elástico, toda la energía de la deformación se almacena y puede recuperarse completamente. Sin embargo, fuera de idealizaciones, todos los materiales poseen tanto propiedades viscosas como elásticas dependiendo de la escala de tiempo de observación y de la magnitud del esfuerzo o deformación a los que sean sometidos. En un material viscoelástico, parte de la energía impuesta en la deformación puede ser almacenada bajo condiciones apropiadas y esta energía almacenada siempre va acompañada de disipación (Arnaud *et al.*, 1989; Tschoegl, 1989).

A partir de determinaciones viscoelásticas es posible obtener información de la naturaleza y cambios configuracionales del material así como de las interacciones intermoleculares en función del tiempo de observación (Ferry, 1980). El comportamiento reológico de materiales viscoelásticos se describe a partir de funciones materiales dependientes del tiempo únicamente (viscoelasticidad lineal) o en el caso más general, el esfuerzo es función de la historia de deformación a lo largo del tiempo (Tschoegl, 1989). Basados en el principio de superposición, la teoría de la viscoelasticidad lineal puede representarse matemáticamente por medio de ecuaciones diferenciales lineales con coeficientes constantes, en donde tales coeficientes son

funciones materiales constantes durante pequeños cambios en las variables (esfuerzo, deformación).

Existen además varios modelos viscoelásticos lineales, los cuales representan casos particulares de la ecuación principal, entre las cuales se puede citar la ecuación de Newton de la viscosidad, la ecuación de Hooke de la elasticidad, el modelo de Maxwell y el modelo de Jeffreys (Barnes *et al.*, 1989; Bird *et al.*, 1987), ver Apéndice A.

La viscosidad no lineal representa mayor complejidad teórica y matemática, por lo que la mayor parte de los trabajos experimentales se han desarrollado en la región lineal, aún así en la literatura se pueden encontrar modelos viscoelásticos no lineales con un respaldo teórico importante.

1.3.6.2 VISCOELASTICIDAD LINEAL

La teoría de la viscoelasticidad se cree que surgió hace más de un siglo cuando Maxwell (Bird, 1987) se propuso estudiar a los gases como fluidos viscoelásticos. En el modelo de Maxwell se combinan las ecuaciones clásicas constitutivas que describen el comportamiento ideal de un sólido elástico y de un fluido viscoso: La ley de Hooke y la Ley de Newton. Sin embargo la ley de Hooke es válida sólo para pequeños desplazamientos o gradientes de deformación, por lo tanto es obvio que el modelo de Maxwell también debe cumplir con tal restricción. Por esta razón se ha denotado con η_0 al término de viscosidad en ese modelo, ya que se deberá analizar con él, fluidos sometidos a gradientes infinitesimales de deformación o de velocidad de deformación. Este modelo es de los más simples para describir a un fluido con características tanto elásticas como viscosas.

La teoría de viscoelasticidad lineal se respalda en el principio de superposición de Boltzman (Barnes, 1989); Bird, 1987; Tschoegl, 1989) que Ferry ha citado así: "los efectos de cambios secuenciales en deformación son aditivos". Partiendo de este principio, se puede construir una superposición de modelos de Maxwell, en donde vamos a tener la sumatoria de deformaciones infinitesimales que van a generar efectos secuenciales (esfuerzos).

1.3.6.3 DESCRIPCIÓN Y CLASIFICACIÓN DE GELES

Es indiscutible la importancia de los geles y de los procesos de formación de éstos en los alimentos. Desde la antigüedad esta propiedad funcional se ha explotado en tecnologías aplicadas a sistemas alimenticios, como la fabricación de quesos, jaleas, yogurt, pudines, entre otros. A pesar de esto, el conocimiento del fenómeno de formación de geles y las propiedades reológicas de estos sistemas no ha tenido el avance deseado.

Existe una diversidad de definiciones de gel, muchas de ellas se enfocan a la estructura molecular y otras en las características reológicas que presentan estos sistemas. La gran dificultad que existe para definir un gel parece deberse principalmente a la complejidad y diversidad estructural que existe en sistemas gelificados. Clark ha descrito un gel típico en alimentos como un material que contiene una red continua, bien definida, constituida a partir de un polímero (fase sólida) y sumergida en un disolvente acuoso (fase líquida) (Clark, 1992). En esta definición se hace énfasis en la microestructura del gel. Otros autores hacen uso de términos reológicos para su definición, Ferry utiliza el concepto de flujo no estacionario (Ferry, 1980); Ziegler y Foegeding definen a un gel como "una red tridimensional continua de dimensiones macroscópicas que no muestra flujo estacionario, a pesar de estar inmersa en un medio líquido". De acuerdo a estas descripciones, un gel puede

comportarse como un sólido pero sin perder las características del componente líquido. Al referirse a "flujo no estacionario" en las definiciones, es necesario hacer referencia a la escala de tiempo de observación experimental y a la magnitud del esfuerzo o deformación de cizalla para complementar la definición (depende del equipo empleado).

Se ha establecido que la formación de geles se genera por entrecruzamientos de cadenas poliméricas, los cuales pueden ser de dos tipos, enlaces covalentes o interacciones físicas menos estables (puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, interacciones hidrofóbicas, atracciones electrostáticas). Los geles pertenecientes al primer grupo se han denominado geles químicos y los pertenecientes al segundo, geles físicos (Doublier, 1992).

Reológicamente, se han descrito los geles como sólidos viscoelásticos, por lo que es deseable especificar la magnitud de tiempo de relajación de esfuerzos para que la definición sea válida. No hay duda que la mayoría de los geles físicos tienen tiempos de relajación finitos por lo que algunas veces se designa como "sólidos suave" pero al aplicar este concepto se debe indicar el intervalo aceptable de valores de módulos reológicos para adecuar a los geles a esta especificación. Considerando todo lo anterior, Clark y Ross-Murphy en 1987, ante la dificultad de limitar los valores de esfuerzo o deformación a los cuales se aplica el concepto de gel, propusieron una subdivisión de geles físicos en "geles fuertes o verdaderos" y "geles débiles", de acuerdo a las propiedades de flujo que estos manifiesten y al comportamiento microscópico. Para Clark y Ross-Murphy (1987) un gel fuerte o verdadero es aquel que forma una estructura macroscópica estable mecánicamente, capaz de autosostenerse y por lo tanto no muestra flujo estacionario en la escala de tiempo propia de la medición, los geles débiles, por otra parte, se han descrito como redes tridimensionales de carácter

transitorio, donde la componente elástica es menos evidente por lo cual fluyen mas fácilmente cuando los esfuerzos aplicados son lo suficientemente grandes (Steffe, 1992).

Existen otras clasificaciones de geles que se basan en el tipo de estructura que forman y en el mecanismo de formación de gel que se lleva a cabo, tal es el caso de la clasificación propuesta por Flory 1974, él clasifica a los geles en cuatro grupos: estructurales lamelares; redes poliméricas formadas por agregación física, predominantemente desordenadas, pero con regiones locales ordenadas; redes poliméricas formadas por uniones covalentes y estructuras desordenadas formadas por partículas o agregados coloidales. Los geles formados a partir de biopolímeros se ubican dentro del segundo grupo de esta clasificación dentro del cual también se encuentran los geles débiles y fuertes propuestos por Clark y Ross-Murphy (1987). Una clasificación más tecnológica divide a los geles simplemente como termo-reversibles y termo-irreversibles, de acuerdo a su capacidad de transición gel-sol al incrementar la temperatura.

La gran importancia que han tenido las propiedades mecánicas y sensoriales de los alimentos así como la necesidad de cuantificar objetivamente estas propiedades, ha impulsado el desarrollo de la reología en el área de fluidos biológicos. Los polisacáridos y las proteínas son las macromoléculas responsables de la mayoría de las propiedades funcionales. La formación de geles ha sido trascendental en las últimas décadas, principalmente en la relación a la estabilidad y textura de sistemas alimenticios.

1.3.6.4 NATURALEZA VISCOELÁSTICA DE GELES FORMADOS A PARTIR DE BIOPOLÍMEROS

En polímeros formados por un único componente gelificante, el proceso de formación de gel se ha descrito a partir de la creación de zonas de unión, asumiendo que cuando las condiciones del entorno son propicias para la gelificación, en el interior del polímero se llevan a cabo entrecruzamientos entre cadenas involucrando grandes zonas de unión que se van extendiendo hasta ocupar todo el volumen de la solución (punto de gel). Estos entrecruzamientos pueden ser de naturaleza química (enlaces covalentes) o de naturaleza física menos estable (puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals, atracciones electrostáticas). En muchos geles de interés en alimentos las interacciones predominantes son de tipo físico, que al tener un nivel energético muy bajo comparado con los enlaces covalentes, son de vida corta, formándose y deshaciéndose continuamente. Cuando el sistema ha llegado al punto de gel, la incorporación de las cadenas restantes va reforzando la red, reafirmando las características elásticas del gel hasta llegar a un estado pseudoestacionario donde existe un equilibrio entre la formación de enlaces cruzados y la desintegración de éstos, lo que se confirma con la estabilización de las propiedades reológicas del gel (módulos dinámicos G' y G'') (Doublier, 1992).

Las determinaciones reológicas en estado pseudoestacionario, (denominado así porque se ha precisado que nunca se llega a un estado estacionario real (Ferry, 1980), pues la red continuamente está en construcción) de geles físicos, ilustran el comportamiento de las redes tridimensionales que conforman el gel a diferentes tiempos de observación. Si el tiempo de observación es menor al tiempo característico de los enlaces que promueven la formación de zonas de unión, el material tendrá un comportamiento típico de sólido, pero si el tiempo de observación es mayor que el tiempo de vida de las zonas de unión, el comportamiento del material será típico de un líquido, es decir fluye. El comportamiento sólido-líquido prevaleciente en los geles les confiere una naturaleza viscoelástica, por lo tanto, para una

adecuada caracterización reológica es imprescindible el conocimiento de las propiedades viscoelásticas.

Para caracterizar completamente un gel, es necesario hacer determinaciones sobre un amplio intervalo de tiempo, en la práctica esto no es posible debido a ciertas limitantes que presentan las pruebas reológicas y al equipo disponible; para ampliar el espectro de tiempo en la caracterización reológica, se ha recomendado combinar varias técnicas geométricas para que la información no proporcionada por una técnica sea facilitada por otra complementaria (Doublier, 1992). A pesar de que algunos autores recomiendan esta combinación de técnicas, no se han encontrado reportes de estudios en geles de sistemas alimenticios.

1.3.7 MÉTODOS EXPERIMENTALES PARA LA DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES VISCOELÁSTICAS DE GELES

Existen varias pruebas reológicas no estacionarias para caracterizar materiales viscoelásticos. Doublier los ha clasificado en tres grupos (Doublier, 1992):

1. Métodos de ultrasonido: a partir de estas pruebas se obtiene información a tiempos muy cortos de observación (10^{-4} a 10^{-6} s). Como el tiempo experimental, en la mayoría de los casos, es menor que el tiempo de relajación de las interacciones intermoleculares, el material se comporta durante esta técnica como sólido viscoelástico.
2. Métodos transitorios (fluencia y relajación de esfuerzos): son los más antiguos y clásicamente utilizados, proveen información a tiempos de observación desde 10s hasta varias horas, por lo tanto se emplean frecuentemente para analizar los movimientos moleculares lentos que

se suponen ocurren en el interior del gel. En estas pruebas se presentan diferentes casos:

- i) relajación de esfuerzos después de una deformación repentina
- ii) relajación de esfuerzos después del cese de un flujo de cizalla estacionario
- iii) incremento de esfuerzos después del inicio de una velocidad de cizalla constante
- iv) fluencia después de un esfuerzo repentino

El primer y último caso se aplican tanto en líquidos como en sólidos viscoelásticos y los restantes sólo a líquidos viscoelásticos. La información obtenida en estos procesos de relajación y fluencia es útil para interpretar las interacciones intermoleculares que tienen lugar en el material analizado, en la escala de tiempo de estas pruebas.

3. Métodos dinámicos: complementan los experimentos no estacionarios y proporcionan información a tiempos muy cortos de observación (0.1 a 100s). Su uso es más reciente que los de fluencia y relajación de esfuerzos.

En estos experimentos el material se somete a un esfuerzo (o deformación) oscilatorio sinusoidal a una frecuencia ω (Hz, rad/s) y una amplitud de onda determinada, ver Figuras 1.15 y 1.16, si el comportamiento viscoelástico es lineal, ver Figura 1.17, la respuesta del material (deformación o esfuerzo) oscilará también sinusoidalmente pero estará fuera de fase con la perturbación aplicada, ver Figura 1.15.

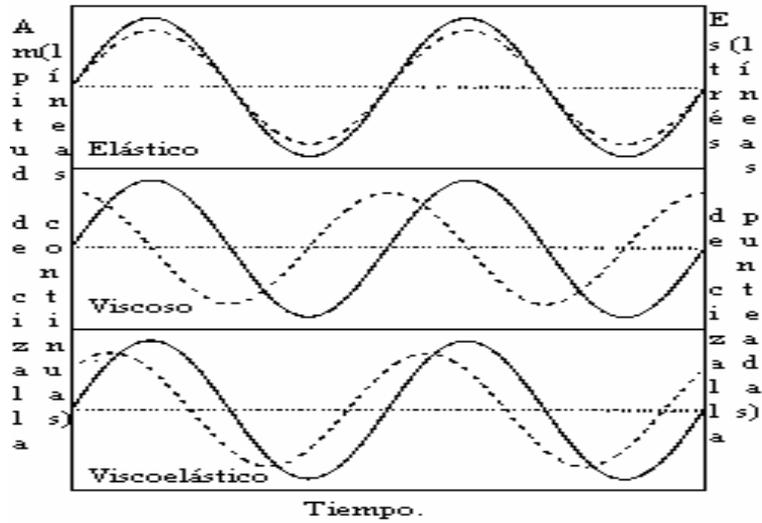


Figura 1.15 Perfil de tiempo de un experimento de cizalla simple oscilatoria.

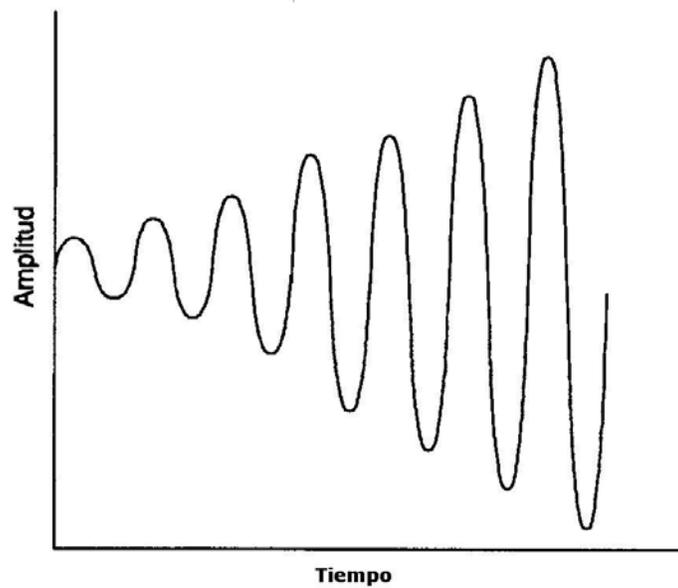


Figura 1.16 Barrido de deformación (%) a una frecuencia angular (rad/s) constante en una prueba dinámica. Se emplea para determinar la zona de deformación lineal de los materiales. (Steffe, 1992)

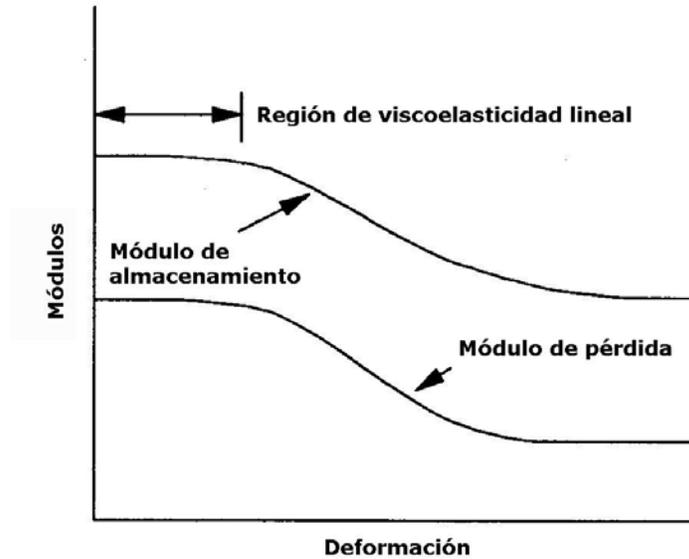


Figura 1.17 Respuesta típica a un barrido de deformación que muestra la región de viscoelasticidad lineal (Steffe, 1992)

La diferencia de fase (δ) entre el esfuerzo y la deformación, así como la amplitud de la deformación y del esfuerzo se miden y se utilizan para determinar las funciones materiales propias de este tipo de prueba:

G' : Módulo de almacenamiento, es indicativo de la energía almacenada y recuperada por el material durante cada ciclo de deformación (componente elástica)

G'' : Módulo de pérdida, representa la cantidad de energía que se disipa en forma de calor en cada ciclo de deformación (componente viscosa)

El desarrollo matemático para la deducción de las funciones materiales a partir de este método así como las suposiciones empleadas para dicho desarrollo puede encontrarse en la bibliografía (Steffe, 1992).

1.4 ESPECTROMETRÍA DE MASAS

El concepto de espectrometría de masas es relativamente simple: Un compuesto se ioniza (método de ionización), y los iones se separan en base a su relación masa/carga (método de separación de iones), y el número de iones que representa cada "unidad" masa-carga se registra en un espectro. En el modo generalmente usado de impacto de electrones, un espectrómetro de masas bombardea la sustancia bajo investigación con un haz de electrones y cuantitativamente registra el resultado como un espectro de fragmentos de iones positivos.

Este registro es un espectro de masas. Cómo se logra esto se esbozará con suficiente detalle para dar cierta apreciación de las potencialidades de la espectrometría de masas de la forma en que se aplica para la identificación de compuestos químicos orgánicos (Silverstein, 2006).

1.4.1 INSTRUMENTACIÓN

La pasada década ha sido un tiempo de rápido crecimiento y cambio en la instrumentación para la espectrometría de masas. En vez de discutir instrumentos individualmente, los tipos de espectrómetros de masas se pueden dividir en:

1. métodos de ionización
2. métodos de separación de iones

En general, el método de ionización es independiente del método de separación de iones y viceversa, aunque existen excepciones. Algunos métodos de ionización dependen de la salida de un cromatógrafo (por ejemplo: LC-MS), mientras que otros no permiten el uso de cromatógrafos para introducir la muestra (por ejemplo FAB y MALDI).

El requerimiento mínimo del instrumental que se requiere para la química orgánica es la habilidad para registrar el peso molecular del compuesto en estudio hasta el número entero más cercano. Por lo tanto, el registro debe mostrar un pico en, por decir, de masa 400, que sea distinguible de un pico de masa 399 o de masa 401. Para seleccionar masas moleculares posibles mediante la medición de las intensidades de los picos isotópicos, los picos adyacentes se deben separar muy claramente. Arbitrariamente, un valle entre dos picos adyacentes no debe ser mayor que 10% de la altura del pico mayor. Este grado de resolución se llama resolución de "unidad" y se puede obtener hasta una masa de aproximadamente 3000 Da en los instrumentos disponibles de "resolución de unidad".

Para determinar la resolución de un instrumento, se consideran dos picos adyacentes de intensidad casi idéntica. Estos picos se deben escoger de forma que la altura del valle entre los picos sea cerca de 10% de la intensidad de los picos. La resolución (R) es:

$$R = M_n / (M_n - M_m) \quad \text{Ecuación 1.7}$$

Donde M_n es el número de masa mayor de los dos picos, y M_m es el número de masa menor.

Existen dos categorías importantes dentro de los espectrómetros de masas: los de baja resolución (unidad) y los de alta resolución. Los instrumentos de baja resolución se pueden definir arbitrariamente como los instrumentos que separan las unidades de masa hasta m/z 3000 [$R = 3000 / (3000 - 2999) = 3000$]. Un instrumento de alta resolución (por ejemplo: $R = 20,000$) puede diferenciar entre $C_{16}H_{26}O_2$ y $C_{15}H_{24}NO_2$ [$R = 250.1933 / (250.1933 - 250.1807) = 19857$]. Esta clase importante de espectrómetros de masas, que

pueden tener una R tan grande como 100,000, pueden medir la masa de un ión con suficiente precisión como para determinar su composición atómica.

Todos los espectrómetros de masas comparten características en común y tienen métodos para la ionización de la muestra y para la separación de los iones en base a m/z . Una vez separados, los iones deben ser detectados y cuantificados; el método de detección de iones es dependiente hasta cierto punto del método de separación de iones.

1.4.2 METODOS DE IONIZACIÓN POR DESORCIÓN

Los métodos de ionización por desorción son aquellas técnicas en que las moléculas de la muestra son emitidas desde una fase condensada hacia la fase vapor como iones. Su uso principal es para compuestos grandes, no volátiles o iónicos. Puede haber desventajas significativas. Los métodos de desorción no utilizan la muestra disponible eficientemente. A menudo, el contenido de información es limitado. Para compuestos desconocidos, los métodos se usan principalmente para proporcionar el peso molecular, y en algunos casos para obtener una masa exacta. Sin embargo, aún para este propósito, se debe usar con precaución debido a que el ión molecular o el ión cuasimolecular puede no ser evidente. Los espectros resultantes a menudo son complicados por abundantes iones de la matriz.

1.4.3 IONIZACIÓN POR DESORCIÓN DE LÁSER.

Un pulso de rayo láser puede utilizarse para ionizar las muestras para la espectrometría de masas. Debido a que este método de ionización es pulsado, se debe usar con espectrómetros de masas tanto de tiempo de vuelo como de Transformada de Fourier. Se ha encontrado que hay dos tipos de láser que se emplean ampliamente: el láser de CO_2 , el cual emite

radiación en la región de infrarrojo lejano, y un láser de frecuencia-cuadruplicada de neodimio/granate de itrio aluminio (Nd/YAG), el cual emite radiación en la región UV a 266nm. Sin la asistencia de una matriz, el método está limitado para bajos pesos moleculares (<2kDa).

El poder de este método se ve favorecido fuertemente mediante el uso de la asistencia de una matriz (Matriz Assisted Desorption Ionization MALDI). Se emplean ampliamente dos materiales de matriz, ácido nicotínico y ácido sinapínico, los cuales tienen bandas de absorción que coinciden con el láser empleado, y se pueden analizar exitosamente muestras con pesos moleculares de hasta dos o tres cientos mil Da. Unos cuantos pico moles de la muestra se mezclan con el compuesto matriz seguido de la irradiación pulsada, la cual causa que los iones de la muestra (los cuales generalmente se observan como monómeros cargados sencillamente aunque ocasionalmente como iones con carga múltiple y dímeros sean expulsados de la matriz hacia el interior del espectrómetro de masas.

Los iones resultantes tienen poco exceso de energía y muestran poca propensión a fragmentarse. Por esta razón, el método es bastante empleado para mezclas. La exactitud de la masa es baja cuando se emplea con un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo (TOF-MS por sus siglas en inglés), pero se puede obtener muy alta resolución con un espectrómetro de masas de transformada de Fourier (FT-MS por sus siglas en inglés). Así como con otros métodos de asistencia de matriz, MALDI sufre de interferencia de fondo debido al material de la matriz, la cual es exacerbada por aducción de la matriz. Por lo tanto, la asignación de un ión molecular de un compuesto desconocido puede ser incierta.

1.4.4 ANALIZADORES DE MASAS

El analizador de masas, el cual separa la mezcla de iones que se generan durante el paso de ionización por m/z para obtener un espectro, es el corazón de cada espectrómetro de masas, y existen diferentes tipos con diferentes características (Silverstein, 2006), por ejemplo: analizadores de sector magnético, filtros de masa cuadrupolo, trampas de iones cuadrupolo, analizadores de tiempo de vuelo, e instrumentos de resonancia ión ciclotrón. Los primeros dos tipos representan la gran mayoría de los instrumentos utilizados en el análisis orgánico (Chapman, 1994).

1.4.4.1 ESPECTRÓMETRO DE MASAS DE TIEMPO DE VUELO

En este trabajo se empleó el espectrómetro de masa de tiempo de vuelo (TOF por sus siglas en inglés), el cual es muy simple. Los iones son acelerados a través de un potencial (V) y se permite que se muevan a través de un tubo hacia el detector. Si se hace la suposición que todos los iones que llegan al inicio del tubo tienen la misma energía dada por $zeV = mv^2/2$, entonces los iones de masas diferentes tendrán diferentes velocidades: $v = (2zeV/m)^{1/2}$. Si un espectrómetro posee un tubo de largo L , el tiempo de vuelo para un ión dado está dado por: $t = (L^2 m / 2zeV)^{1/2}$, de donde fácilmente se puede calcular la masa de un ión dado.

El aspecto crítico de este instrumento, por lo demás sencillo, es la necesidad de producir los iones a un tiempo y posición conocidos exactamente. Estas limitaciones generalmente limitan a los espectrómetros TOF para utilizar técnicas de ionización por pulsos, los cuales incluyen desorción plasma y láser (por ejemplo MALDI).

La resolución de los instrumentos TOF generalmente es menor que 20,000 debido a algunas variaciones de la energía de los iones que es inevitable. También, como la diferencia entre los tiempos de llegada al detector puede

ser tan pequeña como 10^{-7} s, se requieren sistemas electrónicos rápidos para lograr una resolución adecuada. Del lado positivo, el intervalo de masas de estos instrumentos es ilimitada, y como los cuadrupolos, tienen excelente sensibilidad debido a la falta de ventanas de resolución. Es por esto que la técnica es más útil para grandes biomoléculas (Silverstein, 2006)

Una ventaja importante de los instrumentos de tiempo de vuelo es su potencialmente alta sensibilidad que resulta de dos características del instrumento: primero, alta transmisión debido a la ausencia de haces definidores de cortes (beam defining slits); segundo, la separación temporal de iones los cuales, aunque separación espacial, no desvía ningún ión del detector. El reciente desarrollo de dispositivos de registro de alta velocidad ha hecho posible registrar corrientes iónicas (temporales) que contienen información correspondiente al intervalo completo de masa.

Una buena resolución de masa se logra menos fácilmente con un instrumento de tiempo de vuelo debido a que se ve afectada por varios factores que aumentan el tiempo en que el paquete de iones alcanza el detector. Estos factores son la longitud del pulso formador de iones, el tamaño limitado del volumen en que se forman los iones y la energía cinética propagada de los iones. Debido a esto, para un espectrómetro de masa de tiempo de vuelo, es esencial un diseño cuidadoso de la fuente de iones.

En el primer espectrómetro de masas de tiempo de vuelo comercial, los iones se formaban de la fase gaseosa por ionización por impacto de electrones. El hecho de que los iones se pudieran crear en diferentes posiciones dentro del haz de electrones se compensaba con el uso de una fuente de iones con dos regiones aceleradoras de iones. En contraste con los procesos continuos de ionización en fase gaseosa, como la ionización por impacto de electrones, los espectrómetros de masas de tiempo de vuelo son

directamente y simplemente compatibles con la formación de iones por desorción directa de una superficie, por ejemplo, espectrometría de masas por desorción láser y desorción plasma. Estas técnicas de ionización por pulsos dan tiempos de ionización cortos y bien definidos y una región de ionización pequeña y perfectamente bien definida, lo cual es ideal para los análisis de tiempo de vuelo.

La resolución en un instrumento de tiempo de vuelo se puede mejorar mediante el uso de un reflectrón (un espejo de iones). Después de atravesar el tubo de vuelo, los iones entran al campo de retraso, que se define por una serie de rejillas, y se voltean y regresan a través del tubo de vuelo. El principio del reflectrón es que un ión con alta energía penetrará en el campo de retraso más profundamente, tardará más tiempo en voltearse, y se juntará con otro ión más lento (de la misma masa) en el momento en que ambos lleguen al detector. El reflectrón produce la pérdida de algunas señales iónicas. En parte esto se debe a la introducción de rejillas adicionales, por lo que se han diseñado reflectrones sin rejillas.

Los métodos de tiempo de vuelo son muy adecuados para las mediciones donde la corriente iónica disponible está limitada por el método de ionización, por ejemplo los fragmentos de fisión del ^{252}Cf o los pulsos láser, y para problemas donde la muestra es limitada. Las técnicas de ionización por pulsos también se pueden usar con un flujo continuo de muestra, pero el proceso es, naturalmente, mucho menos eficiente con respecto al consumo de muestra. Una implementación interesante en este caso es presentar la muestra como un haz molecular que dé un enfriamiento de la energía interna y reduzca la energía cinética propagada. Es posible lograr más correcciones de la energía propagada después de la ionización por láser utilizando un reflectrón y bajo estas condiciones se pueden registrar poderes de resolución relativamente altos.

1.4.5 SISTEMAS DE DETECCIÓN DE IONES

1.4.5.1 EL MULTIPLICADOR DE ELECTRONES

Los iones que se produjeron de la fuente se separan de acuerdo a su relación masa carga en la sección del analizador. Como resultado de esta separación, las diferentes corrientes de iones de intensidades variables, en el intervalo de aproximadamente 10^{-9} A hasta un mínimo de quizás 10^{-18} A en el seguimiento de un ión dado, pueden llegar al detector.

La forma más ampliamente empleada para la detección de estas corrientes es el multiplicador de electrones, ver Figura 1.18.

El multiplicador de electrones puede ser tanto del tipo dinodo discreto como dinodo continuo. Un dinodo multiplicador discreto consta de 12-20 dinodos hechos de berilio-cobre, el cual tiene buenas propiedades de emisión secundaria, eléctricamente conectado a través de una red resistiva. El impacto inicial de iones energéticos en el primer dinodo de conversión resulta en la emisión de electrones. Estos electrones son entonces acelerados por el voltaje aplicado dentro de las siguientes colisiones en cada paso de la cadena del dinodo, resultando eventualmente en una emisión de electrones muy amplificada.

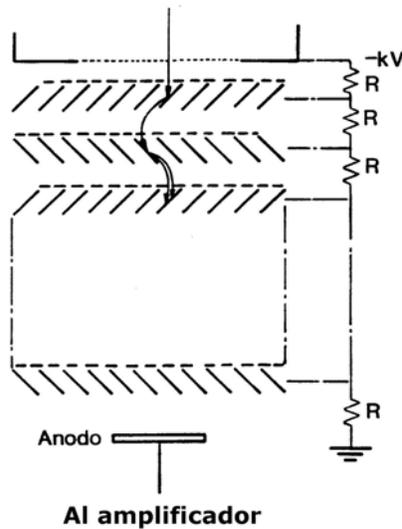


Figura 1.18 Diagrama esquemático del multiplicador de electrones. (Chapman 1994).

El canal multiplicador continuo está hecho de vidrio barnizado con plomo el cual tiene buenas propiedades de emisión secundaria y es eléctricamente resistivo. Un voltaje aplicado entre los extremos del tubo creará un campo uniforme a lo largo del tubo. Un ión incidente en la superficie interna en un extremo liberará electrones secundarios que serán acelerados por el campo para producir colisiones subsecuentes con la pared interna. Los detectores Channeltron son, de hecho, curvos para prevenir falsos pulsos debidos al movimiento de iones positivos formados dentro del detector. Los canales multiplicadores de electrones son muy compactos y también pueden estar hechos en forma de platos microcanales que se usan como la base para arreglos de detectores.

La ganancia del multiplicador de electrones, el cual puede tener un valor máximo en exceso de 10^6 , depende del voltaje aplicado y se produce virtualmente sin ruido y con una constante de tiempo muy pequeña. Un plato conector, colocado después del dinodo final, está conectado a un pre-

amplificador que convierte la corriente de salida en un voltaje adecuado para registro, por ejemplo: por digitalización. El voltaje de salida (V) de este amplificador está dado por la Ecuación 1.8:

$$V = GIR_f \quad \text{Ecuación 1.8}$$

donde G es la ganancia del multiplicador, R_f es la resistencia retroalimentada del amplificador (generalmente 10^8 ohms), e I es la corriente de entrada al multiplicador (Chapman, 1994).

1.4.5.2 DETECTORES POST-ACELERACIÓN

Si consideramos la detección de iones de alta masa, la velocidad de un ión en el impacto con la superficie del multiplicador está dado por la Ecuación 1.9:

$$v = 1.39 \times 10^4 [(V_a - V_t)(z/M)]^{0.5} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1} \quad \text{Ecuación 1.9}$$

donde V_a es la fuente de voltaje de aceleración, V_t es el voltaje en la superficie objetivo, y M/z es la relación masa carga del ión. Por lo tanto, un ión de masa 1000 Da, que alcanza el detector con una energía de 10 keV, tendrá una velocidad de $4.4 \times 10^4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. Bajo estas condiciones, la detección por un multiplicador de electrones es eficiente. Con un ión de mayor relación masa-carga, por ejemplo: insulina ($M= 5734$, $z=1$), bajo las mismas condiciones de impacto alcanza $1.8 \times 10^4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ y la eficiencia de detección disminuye dramáticamente. Una solución a este problema es aumentar la velocidad del ión para obtener una detección eficiente.

En un detector de post-aceleración (PAD por sus siglas en inglés), ver Figura 1.19, el haz de electrones se acelera, después del análisis de masas, hasta un objetivo de metal separado, el cual generalmente esta localizado fuera del

eje. Los electrones e iones negativos del objetivo son acelerados hacia un multiplicador de electrones. El objetivo se opera con una diferencia de potencial entre -8 y -30 kV. Los detectores de post-aceleración son ampliamente utilizados en la espectrometría de masas orgánica para facilitar la detección de iones de alto peso molecular. La detección de iones negativos a menudo utiliza una forma de PAD en que el dinodo de aceleración se mantiene a un alto voltaje positivo. Bajo estas condiciones, el impacto de iones negativos provoca la salida de iones positivos los cuales se aceleran hacia el multiplicador.

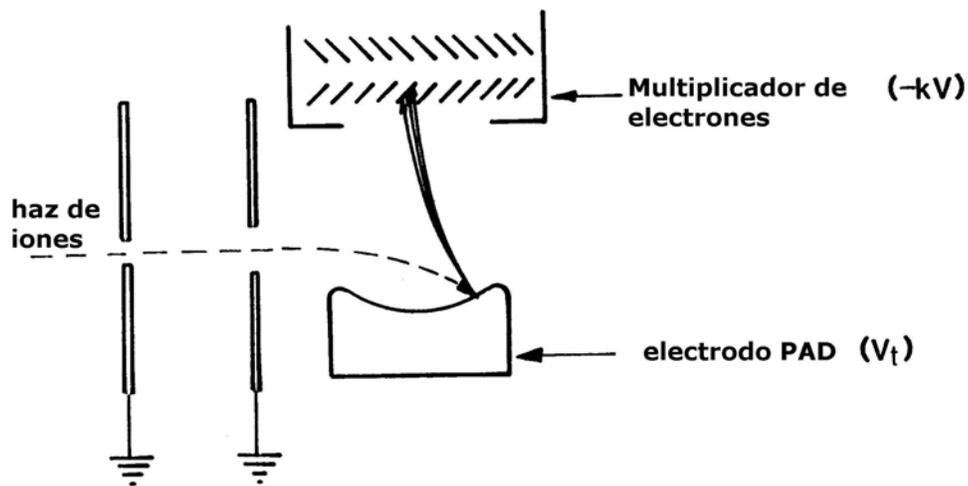


Figura 1.19 Diagrama esquemático de detector post-aceleración (Chapman 1994).

De hecho, recientemente se ha reportado que no hay un umbral universal de velocidad a $1.8 \times 10^4 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ como se había sugerido previamente. Por el contrario, se ha demostrado que las eficiencias de detección medidas para aminoácidos y péptidos se pueden relacionar en una sola ecuación que contenga tanto el peso molecular como la velocidad del ión como variables.

1.4.5.3 ARREGLO DE DETECTORES

Un arreglo de detectores para un instrumento de sector magnético está diseñado para incrementar los límites de detección mediante el registro simultáneo de los iones con varios valores adyacentes de masa. Estos detectores están basados en microcanales multiplicadores instalados de forma que estén a lo largo del plano focal del instrumento. En este arreglo, los electrones de los platos microcanal son acelerados hacia la cara cubierta de fósforo de un acoplado de fibra óptica. Los fotones que se generan en el fósforo se transmiten a través de la fibra óptica hacia un arreglo de fotodiodos, montado afuera del sistema de vacío, ver Figura 1.20.

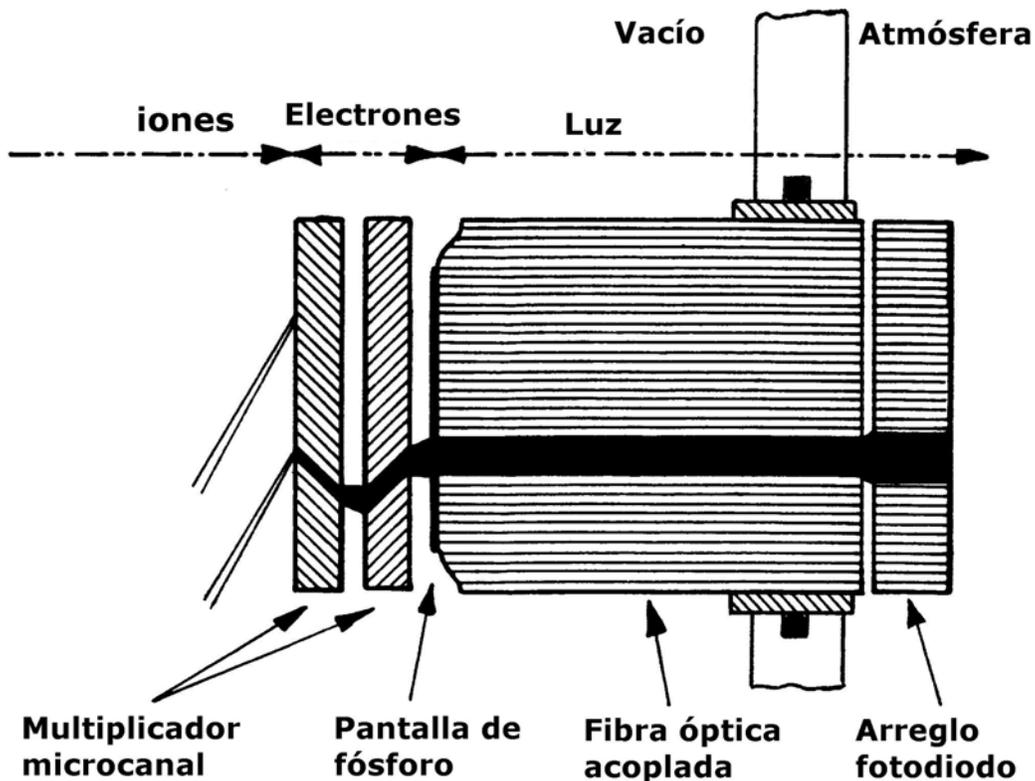


Figura 1.20 Diagrama esquemático de un arreglo de detectores (Chapman, 1994)

Otro tipo de detector de iones es el arreglo de posición y tiempo resuelto (position and time resolved array). En este dispositivo, los electrones que se producen por los platos microcanales son acelerados hacia el plato colector que consiste en varias tiras conductoras conectadas por capacitores. Los amplificadores sensibles a cargas localizados en cada extremo de los platos colectores registran la corriente en la cadena de capacitores y, comparando estas dos corrientes, se puede determinar la posición de la nube de electrones en el plato con gran exactitud. Con este arreglo, el tiempo de llegada de un ión también puede ser medida y relacionada con el valor simultáneo del campo magnético, para que el arreglo pueda ser utilizado mientras el instrumento está barriendo.

1.4.6 INSTRUMENTOS Y TÉCNICAS PARA LA LDMS (ESPECTROMETRIA DE MASAS POR DESORCIÓN LÁSER)

Aunque tanto las ondas continuas como los pulsos de láser se han utilizado desde los primeros experimentos, los pulsos de láser ahora se emplean exclusivamente tanto en los regímenes UV como IR. La escala de tiempo corto de la operación de pulsos láser significa que la LDMS no es totalmente compatible con la operación convencional de escaneo. Por otro lado, el pulso láser es una fuente ideal de iones para un analizador de tiempo de vuelo el cual puede registrar todos los iones producidos por cada pulso láser. El intervalo de masa virtualmente ilimitado del analizador TOF es una ventaja particular en el análisis de materiales de alto peso molecular por desorción/ionización láser asistido por una matriz. El espectrómetro de masas de transformada de Fourier también es un instrumento muy adecuado para los experimentos de desorción/ionización y varios autores han utilizado esta combinación tanto con láser IR como UV.

Los primeros experimentos en desorción/ionización láser, estaban basados en un instrumento reflectrón TOF comercial. Un instrumento similar después fue modificado mediante la adición de instalaciones para post-ionización. En el último caso, las moléculas neutras eran desorbidas por el primer láser UV mientras que el último láser UV se disparaba con un retraso de tiempo variable para fotoionizarlos, en la fase gaseosa, directamente por encima de la superficie de la muestra.

Para el trabajo de haz molecular, la muestra puede volatilizarse por un pulso de láser de CO_2 , ver Figura 1.21. Después, las moléculas neutras se embarcan en un haz supersónico de átomos de argón que se forma por expansión de gas argón a 1 atmósfera a través de un orificio de $100\mu\text{m}$ de diámetro. La reducción en la propagación de la energía cinética que resulta del embaucamiento es un factor importante en la habilidad de la técnica de haz molecular para ofrecer una resolución de masa altamente mejorada con un espectrómetro de masa de tiempo de vuelo. El haz molecular entonces es irradiado e ionizado por un rayo láser transversal ajustable (tunable dye laser) en la región de origen. La disminución de los niveles de energía interna de las moléculas del analito en la expansión deriva en bandas de absorción angostas y por lo tanto en una ionización muy selectiva.

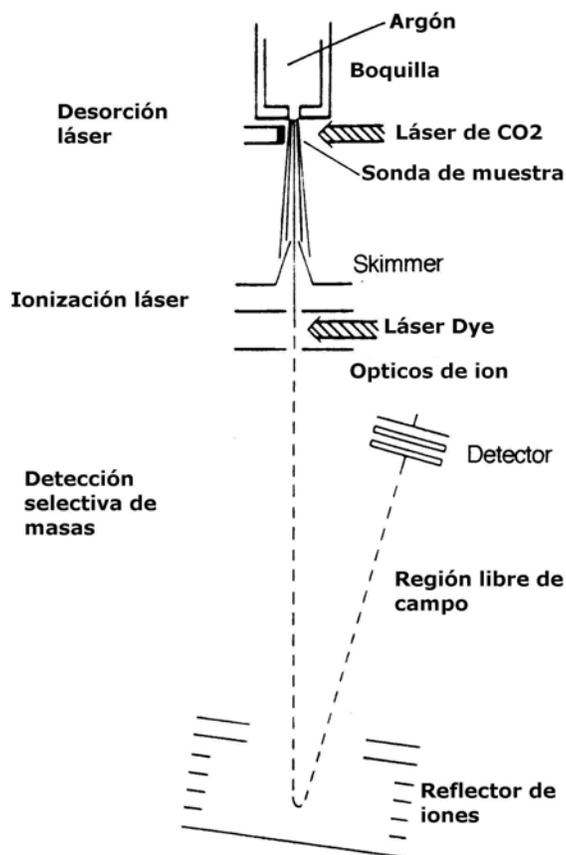


Figura 1.21 Diagrama esquemático de un instrumento de tiempo de vuelo (TOF) (Chapman, 1994).

Si los experimentos de desorción láser se llevan a cabo en una fuente convencional de ionización química de alta presión, se puede aumentar el tiempo de vida de las moléculas neutras por colisiones dentro del gas plasma reactivo. Además, las moléculas neutras también se ionizarán por los procesos comunes de ionización química por colisión ión-molécula. Por estos medios la desorción láser se puede hacer más compatible con operaciones de escaneo convencionales y da un sistema mediante el cual se puede registrar el espectro de ionización química de moléculas relativamente polares.

Un uso alternativo de un láser en una fuente de electrones de impacto que también es compatible con un instrumento de escaneo es utilizar el láser

para volatilizar la muestra indirectamente por medio del sustrato. La energía de un pulso de láser de rubí se utiliza para vaporizar la muestra por medio de una fibra óptica que se acopla en una sonda hueca y que alcanza el soporte de la muestra, ver Figura 1.22. La ionización posterior de las moléculas neutras volatilizadas es por medio de impacto de electrones convencional. Con esta configuración, una duración relativamente larga de la señal sugiere que la evaporación de la muestra dura mucho tiempo después del pulso láser. Resulta muy interesante que muchos iones de baja masa molecular se observan fácilmente debido a la ausencia de ruido químico a menudo presente en los métodos de ionización suave.

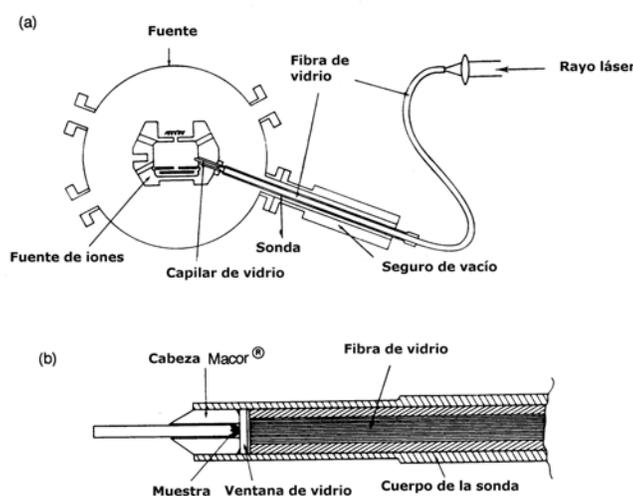


Figura 1.22 Diagrama esquemático de un instrumento de escaneo (Chapman 1994).

1.4.6.1 DESORCIÓN/IONIZACIÓN LÁSER ASISTIDA POR UNA MATRIZ (MALDI)

En sus experimentos pioneros con desorción/ionización láser asistida por una matriz, se utilizó el mismo instrumento que en los primeros experimentos, ver Figura 1.22. Para la MALDI de biomoléculas grandes, con este

instrumento el rayo láser se desenfoca hasta un diámetro de 10-50 μ m e incide sobre la muestra en un ángulo de 45° respecto a la normal. Los iones desorbidos después se aceleran con una energía de 3kV por el analizador de masas. En el detector los iones se post-aceleran a 20kV para una detección más eficiente de iones de alta masa por el multiplicador de electrones. Por este medio, las biomoléculas intactas, con pesos moleculares considerablemente por encima de cualquier cosa previamente alcanzable, se ionizaron exitosamente, ver Figura 1.23.

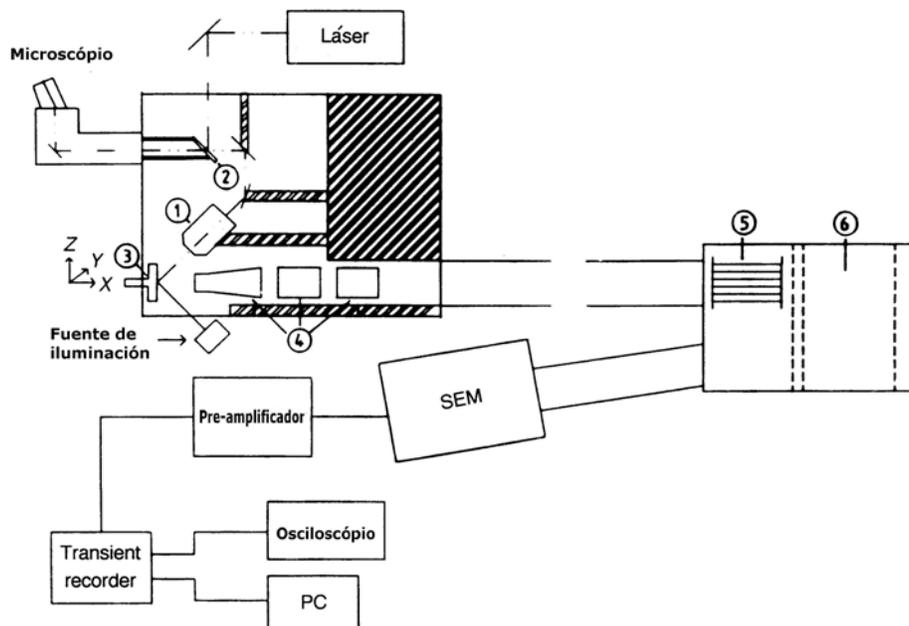


Figura 1.23 Diagrama esquemático de un instrumento de tiempo de vuelo empleado para el análisis por MALDI.

En otro equipo, los iones que se producen son acelerados con una energía de aproximadamente 20kV para el análisis de masas en un instrumento lineal de tiempo de vuelo, en vez de un reflectrón. Se utiliza un detector microcanal sin post-aceleración sustancial para la detección de los iones.

La densidad de potencia de láser es un parámetro crítico para la operación exitosa en el modo de asistencia de una matriz. El uso de una densidad de potencia muy alta puede dar como resultado la pérdida de pequeños fragmentos neutros del ión molecular.

El descubrimiento de que con la elección correcta de una matriz, también se puede utilizar una luz láser de 355 nm de un láser de Nd-YAG abrió la posibilidad de utilizar otros tipos de láser, como un láser más barato de Nitrógeno (337nm), como una alternativa al láser de Nd-YAG empleado hasta la fecha.

Dos de las matrices orgánicas más efectivas para emplearse a 337 ó 355 nm son el ácido 2,5.dihidroxibenzóico (DHB) y el ácido 3,5-dimetoxi-4-hidroxicinámico (ácido sinapínico). Cada una de estas nuevas matrices tiene una tendencia reducida a producir iones generados fotoquímicamente y, debido a los altos pesos moleculares de estas matrices, la presencia de cualquier ión formado se resuelve fácilmente del ión molecular. El uso de longitudes de onda más grandes también elimina cualquier posibilidad de absorción de la luz láser del analito por sí sólo, porque la mayoría de los biopolímeros no absorbe luz en esta longitud de onda. Cuando se emplean estas matrices, los analitos son relativamente inmunes a los efectos de contaminantes orgánicos e inorgánicos.

Un proceso típico de preparación de muestra (Chapman, 1994) es mezclar 5µl de la solución de la matriz (5-10 g·L⁻¹ en agua o una mezcla agua/orgánico) con 0.5µL de la solución del analito (10⁻⁵-10⁻⁶ M en 0.1% de ácido trifluoroacético o una mezcla ácido trifluoroacético/orgánico). Se carga una alícuota de esta mezcla (0.5-1µL) que contenga aproximadamente 10⁻¹² moles del analito en la sonda y se seca antes de introducirlo en el espectrómetro de masas.

Se ha encontrado una amplia gama de matrices útiles, que incluyen glicerol, urea, ácidos carboxílicos y aquellos que se emplean en la desorción/ionización láser UV. El uso de ácido caféico como matriz en varios casos promueve cargas múltiples (Chapman, 1994).

La MALDI muestra una ventaja única, comparada con otros métodos de espectrometría de masas, para el análisis de biomoléculas, debido a que el rendimiento del analito-iones relacionados parece no disminuir conforme aumenta el peso molecular.

La desorción/ionización láser asistida por una matriz implementada en un instrumento de tiempo de vuelo es una técnica extremadamente sensible. En la práctica, se requiere cerca de 1 pmol del analito debido a las limitaciones de manejo de la muestra. En comparación con el electroespray (ES por sus siglas en inglés), la MALDI se puede aplicar a una amplia gama de biopolímeros, por ejemplo: proteínas, glicoproteínas, oligonucleótidos y oligosacáridos. Con la elección de una matriz adecuada, la MALDI es más tolerante que la ionización por ES respecto a la presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos. La minimización de los efectos de supresión significa que la MALDI es un método adecuado para el análisis directo de mezclas de proteínas y es el método a elegir para el análisis preliminar de muestras de composición desconocida.

1.5 CROMATOGRAFÍA DE GAS-LÍQUIDO

La cromatografía de gas líquido permite separar los componentes de una muestra vaporizada en virtud de que éstos se distribuyen entre una fase gaseosa móvil y una fase estacionaria líquida o sólida contenida en una columna. La muestra que se va a analizar se lleva a la fase gaseosa y se

inyecta en una de las cabezas de la columna cromatográfica. La elución de los componentes se realiza mediante el flujo de una fase gaseosa móvil que, a diferencia de la de otros métodos cromatográficos, es inerte y no interactúa con las moléculas de las especies de la muestra; sólo las transporta a través de la columna. La cromatografía gas-líquido es la que tiene más aplicaciones en todos los campos de la ciencia, y se le conoce más comúnmente como *cromatografía de gases* (CG).

El fundamento de la cromatografía de gas-líquido es la separación del analito entre una fase gaseosa móvil y una fase líquida estática adherida en la superficie de un empaque sólido inerte o en las paredes de una columna capilar.

1.5.1 INSTRUMENTOS PARA CROMATOGRAFÍA DE GASES

En la década de los noventa dio comienzo la CG en tubo capilar junto con las técnicas de CG de alta velocidad. En la Figura 1.24 se muestra un esquema de los componentes básicos de un cromatógrafo de gases, y en seguida se describen brevemente.

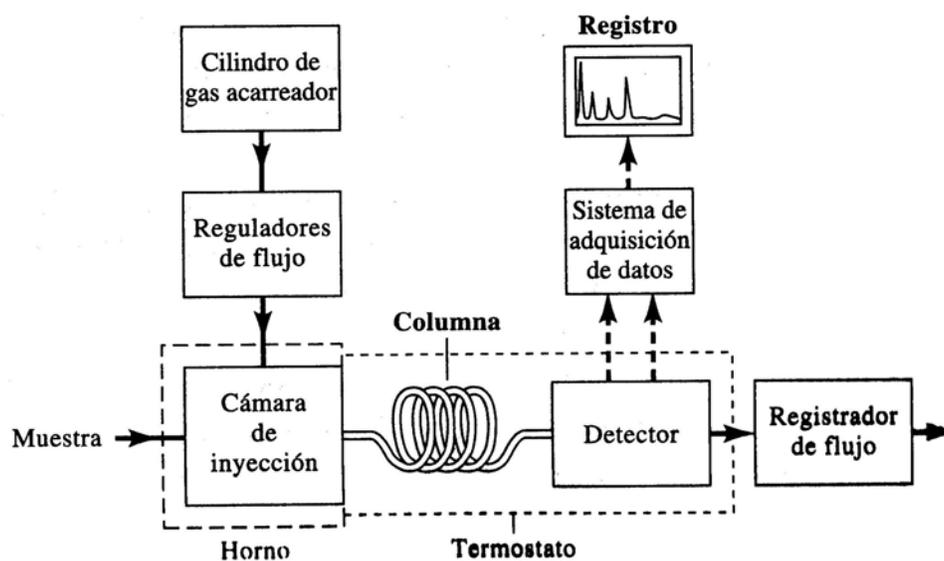


Figura 1.24 Esquema de los componentes básicos de un cromatógrafo de gases (Skoog 2003).

1.5.2 SISTEMA DE GAS ACARREADOR

La fase gaseosa móvil de un cromatógrafo de gases debe ser químicamente inerte, por lo cual se utiliza gas helio; aunque también pueden emplearse otros gases como argón, nitrógeno e hidrógeno. Ya que los gases vienen comprimidos en tanque de presión, es necesario disponer de reguladores de presión y manómetros para controlar la velocidad de flujo del gas.

Las presiones que se alcanzan en la entrada de la columna van de 10 a 50 psi (lb/pulg² por arriba de la presión atmosférica) y proporcionan un flujo de 25 a 50 mL/min. Muchos cromatógrafos comerciales ya vienen equipados con circuitos electrónicos que miden el flujo de gas, además de un sistema controlado por computadora para regular la velocidad de flujo.

1.5.3 SISTEMA DE INYECCIÓN DE LA MUESTRA

Para optimizar la eficacia de la columna cromatográfica, es indispensable que la muestra tenga el tamaño adecuado para inyectarla como un "bolo" de vapor; si las muestras son voluminosas o se inyectan lentamente, se obtienen bandas muy anchas y su resolución es pobre. Las muestras pequeñas se inyectan con microjeringas calibradas a través de un diafragma o septo de caucho o de silicona que desemboca en una cavidad (o puerta) donde se calienta la muestra antes de pasar a la cabeza de la columna. La temperatura que se alcanza en esta cavidad, ver Figura 1.25, es de unos 50°C por arriba del punto de ebullición del componente menos volátil de la muestra. Los volúmenes de muestra para las columnas analíticas empacadas de manera normal van desde unas décimas de microlitro hasta 20µL; en

tanto que en capilares los volúmenes se reducen hasta 100 veces o más. En estas columnas es necesario utilizar un mecanismo para fraccionar la muestra e inyectar sólo una pequeña porción conocida (1:100 hasta 1:500); el resto se desecha.

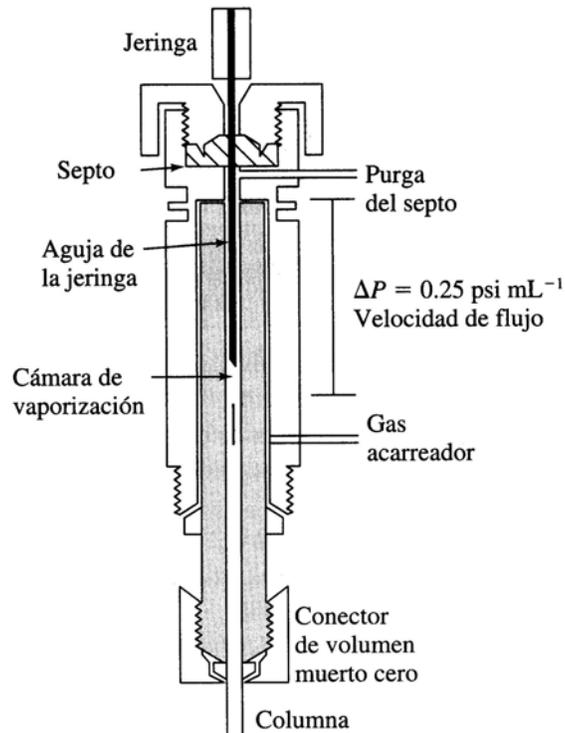


Figura 1.25 Sistema de inyección de la muestra en un sistema de Cromatografía de gases (Skoog, 2003).

1.5.4 DETECTORES

Los sistemas de detección para la cromatografía de gases deben responder rápidamente a las pequeñas concentraciones de solutos que salen de la columna. En cualquier instante, la concentración de soluto en el gas acarreador no llega a más de unas cuantas partes por mil, y a menudo es dos órdenes de magnitud menor. Además, como el tiempo que tarda en

pasar un pico de señal por el detector suele ser de un segundo (o menos), es imprescindible que éste responda totalmente a dicho lapso.

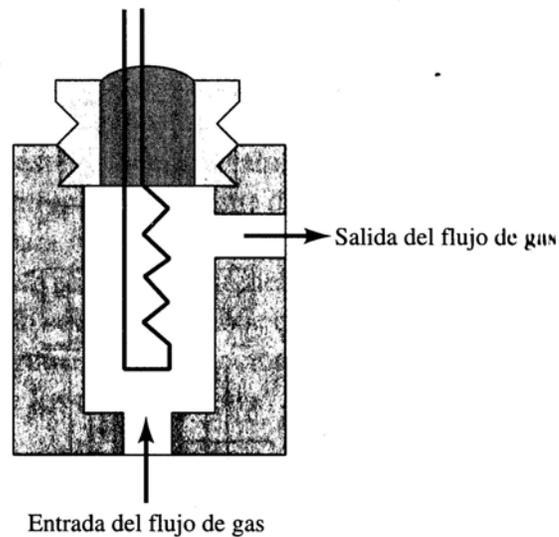
Otras propiedades del detector incluyen en que debe dar una respuesta rápida, que sea lineal, estable y uniforme para una gran variedad de especies químicas; o de manera alternativa, la respuesta debe ser selectiva y predecible hacia uno o varios tipos de soluto. Sin embargo, no existe un solo detector que cumpla con todos estos requisitos.

1.5.4.1 DETECTORES DE CONDUCTIVIDAD TÉRMICA

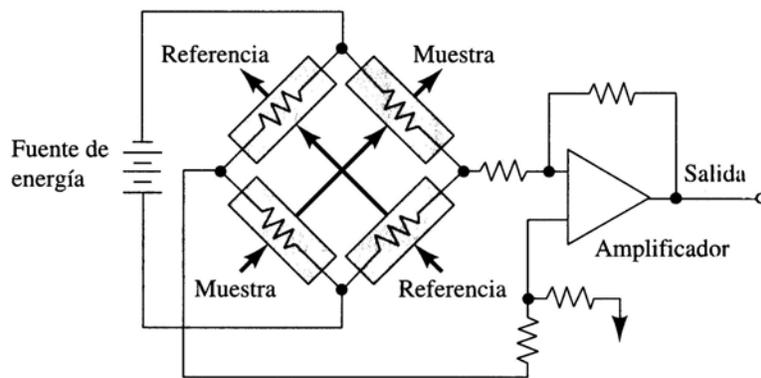
Estos detectores fueron los primeros que se emplearon en la cromatografía de gases, y continúan siendo de gran utilidad. El detector se compone de una fuente calentada eléctricamente, cuya temperatura, a una energía constante, depende de la conductividad térmica del gas circundante. El elemento térmico puede ser un filamento de platino, oro o tungsteno, ver Figura 1.26, o bien un pequeño termistor. La resistencia eléctrica de este elemento dependerá de la conductividad térmica del gas. Casi siempre se utilizan detectores gemelos; uno de ellos, se coloca sobre la cámara de inyección de la muestra, y el otro, justo por debajo de la columna; aunque también se puede dividir la corriente de gas. Los detectores se montan en dos brazos de un simple circuito de puente, ver Figura 1.27, para cancelar la conductividad térmica del gas acarreador, con lo que también se reducen las variaciones en la temperatura, la presión y la energía eléctrica. Dado que el helio y el hidrógeno tienen una conductividad térmica casi seis a diez veces mayor que la de muchos compuestos orgánicos, aún la misma cantidad de una especie orgánica reducirá considerablemente la conductividad térmica del efluente de la columna, dando como resultado un aumento sustancial en la temperatura del detector. La detección es menos satisfactoria cuando se utilizan gases

acarreadores que tienen una conductividad térmica muy cercana a la de los componentes de la muestra.

Los detectores de conductividad térmica en general son simples, tienen un intervalo dinámico bastante lineal (alrededor de cinco órdenes de magnitud), responden a muchas especies orgánicas e inorgánicas y, lo más importante, no destruyen la muestra y los solutos se pueden recuperar tras su detección. Su principal limitación es su menor sensibilidad frente a otros detectores que son 10^4 a 10^7 veces más sensibles.



a)



b)

Figura 1.26 (arriba) y 1.27 (abajo) Esquema de detectores de conductividad térmica, el elemento térmico puede ser un filamento de platino, oro o tungsteno.

1.5.5 COLUMNAS Y FASES ESTACIONARIAS PARA CROMATOGRAFÍA DE GASES

Las columnas que se emplean en cromatografía de gases son de dos tipos: columnas *capilares* o *tubulares abiertas* y columnas *empacadas*. Estas últimas tienen capacidad para muestras más grandes y son más versátiles que las primeras; mientras que las columnas capilares tienen una resolución inigualable.

1.5.5.1 COLUMNAS CAPILARES O TUBULARES ABIERTAS

La mayoría de estas columnas se fabrican de *sílice fundida bastante pura* para reducir al mínimo los residuos de óxidos metálicos. Los tubos tienen un diámetro interno de 0.1 a 0.5 mm, y se les da mayor resistencia recubriéndolos con una capa protectora de poliimida que se aplica al momento de hacer el capilar. Las columnas llegan a ser muy flexibles y pueden enrollarse en forma de serpentín hasta alcanzar un diámetro de unos cuantos centímetros.

1.5.5.2 FASES LÍQUIDAS PARA LA CROMATOGRAFÍA DE GAS-LÍQUIDO

La fase líquida inmobilizada en una columna para cromatografía de gases deberá reunir las siguientes propiedades: (1) *ser poco volátil* (idealmente, su punto de ebullición deberá estar a más de 100°C de la máxima temperatura de operación de la columna); (2) *tener estabilidad térmica*; (3) *ser*

químicamente inerte, y (4) *exhibir características de disolvente* para que los valores de k y α , de los solutos por resolver, caigan dentro de un intervalo adecuado.

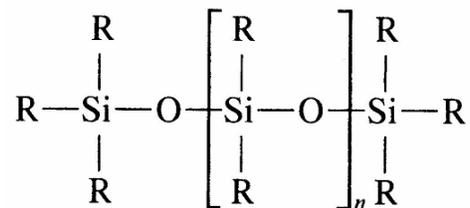
En el desarrollo de la cromatografía de gases, sólo una docena de fases estacionarias o menos han demostrado ser satisfactorios para la mayoría de las determinaciones analíticas.

El tiempo de retención de un analito en una columna dependerá de su constante de distribución, que a su vez se relaciona con la naturaleza química de la fase estacionaria líquida. Para que ésta funcione, deberá generar diferentes cocientes de partición de los distintos componentes de la muestra, pero además, no deberán ser demasiado grandes o pequeños. En el primer caso los tiempos de retención serían muy largos, y los cocientes muy pequeños reducen los tiempos de retención y hacen que la resolución sea incompleta.

Para que el tiempo de residencia de un analito en la columna sea razonable, deberá exhibir cierto grado de compatibilidad (solubilidad) con la fase estacionaria. La polaridad es el efecto del campo eléctrico en las inmediaciones de una molécula, y se mide por el momento bipolar de esa especie. Las fases estacionarias polares contienen grupos funcionales como $-CN$, $-CO$ y $-OH$. Las no polares son del tipo de los hidrocarburos y los dialquilsiloxanos, y las de poliésteres son altamente polares. Los analitos polares contienen grupos alcohol, ácidos y aminas; los hidrocarburos saturados son no polares. Como norma, la polaridad de la fase estacionaria deberá igualar a la de los componentes de la muestra. Si esto se logra, el orden de elución estará determinado por el punto de ebullición de los eluyentes.

La Tabla 1.2 es un listado en orden creciente de polaridad de las fases estacionarias más comunes para las columnas tubulares abiertas y las columnas empacadas que se emplean en la cromatografía de gases. Con estos seis líquidos se pueden obtener separaciones satisfactorias para 90% o más de las muestras analizadas por un investigador.

De los líquidos enumerados en la Tabla 1.2, cinco son polidimetil siloxanos, cuya estructura general es:



En el primero de ellos, polidimetil siloxano, todos los grupo $-\text{R}$ son $-\text{CH}_3$, los cuales le confieren un carácter relativamente no polar. En los demás polisiloxanos de la Tabla 1.2, parte de los grupos metilo están sustituidos por grupos funcionales fenilo ($-\text{C}_6\text{H}_5$), cainopropilo ($-\text{C}_3\text{H}_6\text{CN}$) y trifluoropropilo ($-\text{C}_3\text{H}_6\text{CF}_3$). Cada uno de los porcentajes que se señalan en la Tabla 1.A indican el grado de sustitución de los grupos metilo por el grupo mencionado. Así, en el 5% fenil polidimetil siloxano, el 5% de los átomos de silicio se enlaza con un anillo fenilo. Con la sustitución de los grupos metilo se aumenta gradualmente la polaridad de los líquidos.

El quinto líquido mencionado en la Tabla 1.2 es un polietilen glicol que posee muchas aplicaciones en la separación de especies polares, y presenta la siguiente estructura

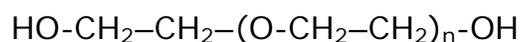


Tabla 1.2 Algunas fases estacionarias líquidas para cromatografía de gas líquido			
Fase estacionaria	Nombre comercial común	Temperatura máxima, °C	Aplicaciones comunes
Polidimetil siloxano	OV/1, SE-30	350	Fase no polar para usos generales; hidrocarburos; compuestos aromáticos polinucleados; fármacos, esteroides, PCBs
5% de fenil-polidimetil siloxano	OV/3, SE-52	350	Ésteres metílicos de ácidos grasos, alcaloides, fármacos, compuestos halogenados
50% de fenil-polidimetil siloxano	OV/17	250	Fármacos, esteroides, pesticidas, glicoles
50% de trifluoropropil-polidimetil siloxano	OV/210	200	Compuestos aromáticos clorados, compuestos nitroaminados, bencenos alquil sustituidos
Polietilenglicol	Carbowax 20M	250	Ácidos libres, alcoholes, ésteres, aceites esenciales, glicoles
50% de cianopropil-polidimetil siloxano	OV/275	240	Ácidos grasos poliinsaturados, ácidos resínicos, ácidos libres, alcoholes

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 DESARROLLO EXPERIMENTAL

El desarrollo experimental se llevó a cabo en dos fases. En la primera fase, se hizo un análisis químico de tres lotes de pectina cítrica comercial, uno de ellos de alto metoxilo estandarizada con sacarosa clave T-7010, otro de alto metoxilo sin estandarizar clave T-7061 y el último de bajo metoxilo amidada clave T-7210 de alta reactividad al Calcio. Todas las muestras fueron proporcionadas amablemente por Industrias Ragar S.A. de C.V.

Dentro de los dos análisis que se llevaron a cabo en esta primera fase, en el primero se les realizó un análisis de espectrometría de masas MALDI-TOF para determinar la masa molecular de las cadenas de pectina. Durante el segundo análisis de la primera fase, se midió el contenido de grupos metil-éster por cromatografía de gases, limitando los resultados a la cantidad de metanol liberado (área del pico en el cromatograma).

En la segunda fase de este estudio, se realizó un estudio de la respuesta reológica de las soluciones de pectina a diferentes condiciones impuestas del medio, para lo cual se prepararon soluciones diferentes concentraciones de: (1) pectina; (2) pH; (3) Cloruro de Calcio (CaCl_2). El diseño experimental se realizó para observar el efecto que tiene cada variable a analizar sin interacción entre ellas.

En la Tabla 2.1 se muestra el diseño experimental para la segunda fase de análisis. En el nombre de cada columna se muestran las variables que se manejaron para cada prueba realizada.

Tabla 2.1 Diseño experimental de la segunda fase del estudio.

Prueba	Pectina (% p/v)	pH	CaCl ₂ (mM)	Temperatura
Efecto del grado de metoxilación	2.0 (T-7061)	*	0	25°C
	2.0 (T-7010)	*	0	25°C
	2.0 (T-7210)	*	0	25°C
Efecto de la concentración	0.3	3.11	0	25°C
	0.5	3.03	0	25°C
	0.7	3.12	0	25°C
	1.0	3.12	0	25°C
	1.5	3.32	0	25°C
	2.0	3.4	0	25°C
Efecto del pH	2.0	2.35	0	25°C
	2.0	4.0	0	25°C
Efecto del CaCl ₂	2.0	*	35	10°C
				25°C
				40°C
				60°C
	2.0	*	50	10°C
				25°C
			40°C	

* No se midió

Los geles de pectina de bajo metoxilo (T-7210) se prepararon mediante la adición de iones calcio en diferentes concentraciones (15, 25, 35, 50 mM), para evaluar el efecto que tiene el calcio en este tipo de pectinas, mediante el análisis de compresión uniaxial en el texturómetro.

2.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS

2.2.1 DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS

Las pruebas de cizalla simple y oscilatoria se realizaron en un reómetro TA Instruments AR 2000 con una geometría de cilindros concéntricos de doble gap.

En una balanza, se pesó la cantidad de pectina comercial que se indica en el diseño experimental y se disolvió en 60 - 70 ml agua desionizada caliente y con agitación hasta la completa disolución, evitando la formación de grumos. Para el caso del efecto del CaCl_2 , además se pesó en una nave de plástico, y por separado, exactamente la cantidad de CaCl_2 necesaria para lograr la concentración que se indica en el diseño experimental y se disolvió en agua desionizada a temperatura ambiente. Una vez que la pectina estuvo completamente disuelta se agregó el CaCl_2 y se enjuagó el recipiente tres veces con agua desionizada. Cuando la solución se enfrió hasta temperatura ambiente, en un matraz aforado de 100 ml se llevó hasta la marca con agua desionizada. Para el caso del efecto del pH, después de completar a los 100 ml. de solución, se midió el pH con un potenciómetro y se ajustó según el diseño experimental con NaOH o HCl 1 N, 0.5 N ó 0.1 N según se necesitó. La solución se mezcló nuevamente por agitación y se almacenó en un recipiente con tapa en refrigeración durante un periodo mayor a 24h y menor a 72h hasta su análisis en el reómetro.

Para el análisis de las muestras en el reómetro, se colocó la muestra en el recipiente para la muestra y se hicieron las pruebas de barrido de cizalla simple empezando en velocidades de cizalla desde 5 hasta 250 1/s vs. viscosidad de cizalla.

Para las pruebas oscilatorias, primero se hizo un barrido de deformación a frecuencia constante para determinar la zona de deformación lineal. Una vez que se determinó la zona de deformación lineal, se hizo un barrido de frecuencia con una deformación constante, midiendo la respuesta de los módulos de almacenamiento y pérdida (frecuencia angular ω vs. G' y G'')

2.2.1.1 PRUEBAS DE CIZALLA SIMPLE

Se prepararon soluciones con cada tipo de pectina de acuerdo con el diseño experimental de la Tabla 2.1 en agua desionizada y se estudió el comportamiento reológico de viscosidad respecto a la velocidad de cizalla.

2.2.1.2 PRUEBAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA DEFORMACIÓN

Para las pruebas oscilatorias, se prepararon soluciones de acuerdo al diseño experimental de la Tabla 2.1 en agua desionizada y se estudió el comportamiento viscoelástico para cada tipo de pectina en un barrido de frecuencia dentro de la región de viscoelasticidad lineal, determinada previamente mediante un barrido de deformación a 1 Hz de frecuencia a una temperatura de 25°C.

2.2.1.3 PRUEBAS DE COMPRESIÓN UNIAXIAL EN GELES DE PECTINA DE BAJO METOXILO

Para las pruebas de compresión uniaxial. Se utilizó un texturómetro MTS Sintech 1/S (MTS, USA) con celda de carga de 100 N., equipado con un cilindro de prueba de 2.8 cm. de diámetro y se ajustó la velocidad de compresión a 10 mm/min. Las curvas de compresión uniaxial se realizaron a una deformación del 70% y el área de contacto de la celda fue de 3.14 cm². Los geles se cortaron con altura de 2.0 cm. Finalmente los resultados son presentados como deformación de Hencký.

Se prepararon soluciones de pectina al 2% (p/v) en agua desionizada. Se calentaron las soluciones hasta una temperatura cercana a ebullición y se les agregó CaCl_2 en concentración 15, 25, 35 y 50 mM, para formar geles y analizarlos en el texturómetro.

En este tipo de pruebas reológicas de sólidos, se conoce la forma y tamaño de la muestra y ésta se colocó entre dos platos paralelos rígidos del texturómetro, ver Figuras 2.1, 2.2 y 2.3. El plato superior (cabezal) se mueve hacia abajo a una velocidad constante, registrando la fuerza en función del tiempo, posteriormente estos resultados son convertidos a valores de esfuerzo y deformación (deformación de Hencky) para obtener parámetros reológicos fundamentales (por ejemplo, módulo de Young, esfuerzo a la fractura, deformación, entre otros) (Medina *et al.*, 2003). Los resultados son presentados como deformación de Hencky contra esfuerzo corregido. Donde, para el caso de estudio la deformación más utilizada es la deformación verdadera, definida por Hencky como la más apropiada (Medina *et al.*, 2003). De acuerdo con Hencky, la deformación verdadera (ε_H) para pruebas en compresión está dada por la expresión logarítmica adimensional que relaciona el cambio de altura en cada instante t (ΔH) con la altura actual del espécimen en ese instante t (H):

$$\varepsilon_H = \int_{H_0}^H \frac{dH}{H} = \ln H - \ln H_0 = \ln \frac{H}{H_0} \quad \text{Ecuación 2.1}$$

Donde, ε_H = Deformación de Hencky (-), H = Altura en el instante t (m), H_0 = Altura inicial (m). Para el uso de la deformación de Hencky es conveniente considerar que el volumen de la muestra es constante.

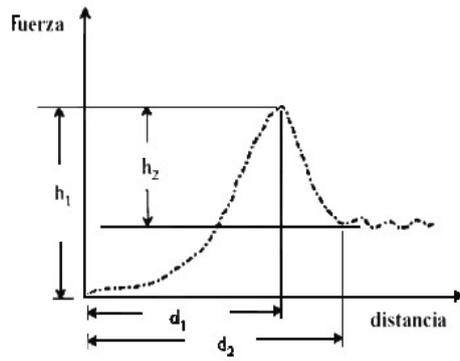


Figura 2.1 Curva de compresión esfuerzo *versus* deformación en sistemas gelificantes (Damasio *et al.*, 1990)



Figura 2.2 Equipo de compresión un Texturómetro modulo Sintech 1/s

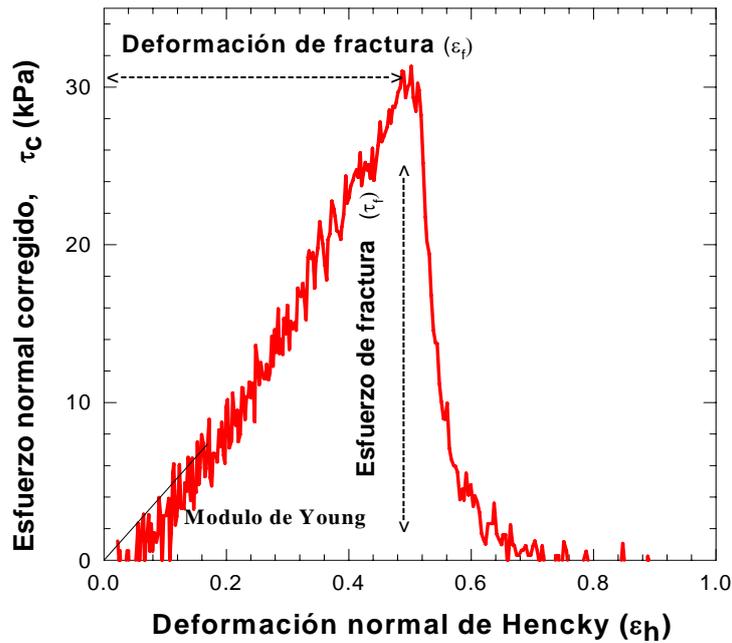


Figura 2.3 Determinación de el modulo de Young, esfuerzo y deformación a la fractura corregidos en ensayos de compresiones uniaxial (Tang *et al.*, 1996).

Cabe resaltar que, dentro de los esfuerzos normales, existen distinciones en función del área transversal en donde éste se aplique. De esta manera, si el área de la sección transversal de la prueba cambia constantemente durante la deformación, el esfuerzo ingenieril no representa precisamente el estado de deformación del material, por lo tanto para calcular el esfuerzo basándose en el área de la sección transversal actual, se utiliza el esfuerzo verdadero. El esfuerzo verdadero, relaciona la fuerza aplicada en el tiempo actual sobre el área transversal en el tiempo t, dada por la ecuación:

$$\sigma_T \equiv \frac{F_T}{A_T} \quad \text{Ecuación 2.2}$$

Donde, σ_T = Esfuerzo verdadero (Pa), F_T = Fuerza en el tiempo actual (N), A_T = Área transversal en el tiempo actual (m^2). Después de definir esfuerzo y deformación, nos permite visualizar como el esfuerzo y la

deformación son mejores parámetros para evaluar y clasificar la respuesta mecánica en este tipo de sistemas de geles de pectinas.

2.2.2 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE METILACIÓN POR CROMATOGRAFÍA DE GAS-LÍQUIDO (CG)

El grado de metilación se determinó mediante un proceso de hidrólisis alcalina con NaOH en un sistema de calentamiento con reflujo, seguido de una cuantificación de metanol por cromatografía de gases en un equipo Hewlett Packard 5890 series II, acoplado a un detector de conductividad térmica (TCD), utilizando helio como gas acarreador. Se utilizó una columna de Innowax 30m (ID. 0.53 Megabore).

Las condiciones de evaluación se describen a continuación:

Temperatura del inyector: 170°C

Temperatura del horno: 40°C x 3 min; 150°C x10 min; vel. 10°C/min.

Temperatura del detector. 150°C

Para cada lote y por triplicado, se pesaron 0.1g de pectina comercial y se mezclaron cuidadosamente con 4 ml de agua destilada caliente evitando la formación de grumos. En un matraz de bola se vació la solución de pectina cerciorándose de enjuagar tres veces el recipiente original con agua destilada sin exceder un total de 5ml de agua destilada y se adicionaron 1.3ml de NaOH 1N. En un sistema de reflujo se calentó a ebullición durante 30 minutos y después de ese tiempo se dejó enfriar. Ya con el matraz bien frío se neutralizó a pH 6-7 medido con un potenciómetro y se aforó a 25ml en un matraz aforado. Se guardó en un recipiente con tapa a una temperatura no mayor a 4°C hasta su análisis en el cromatógrafo.

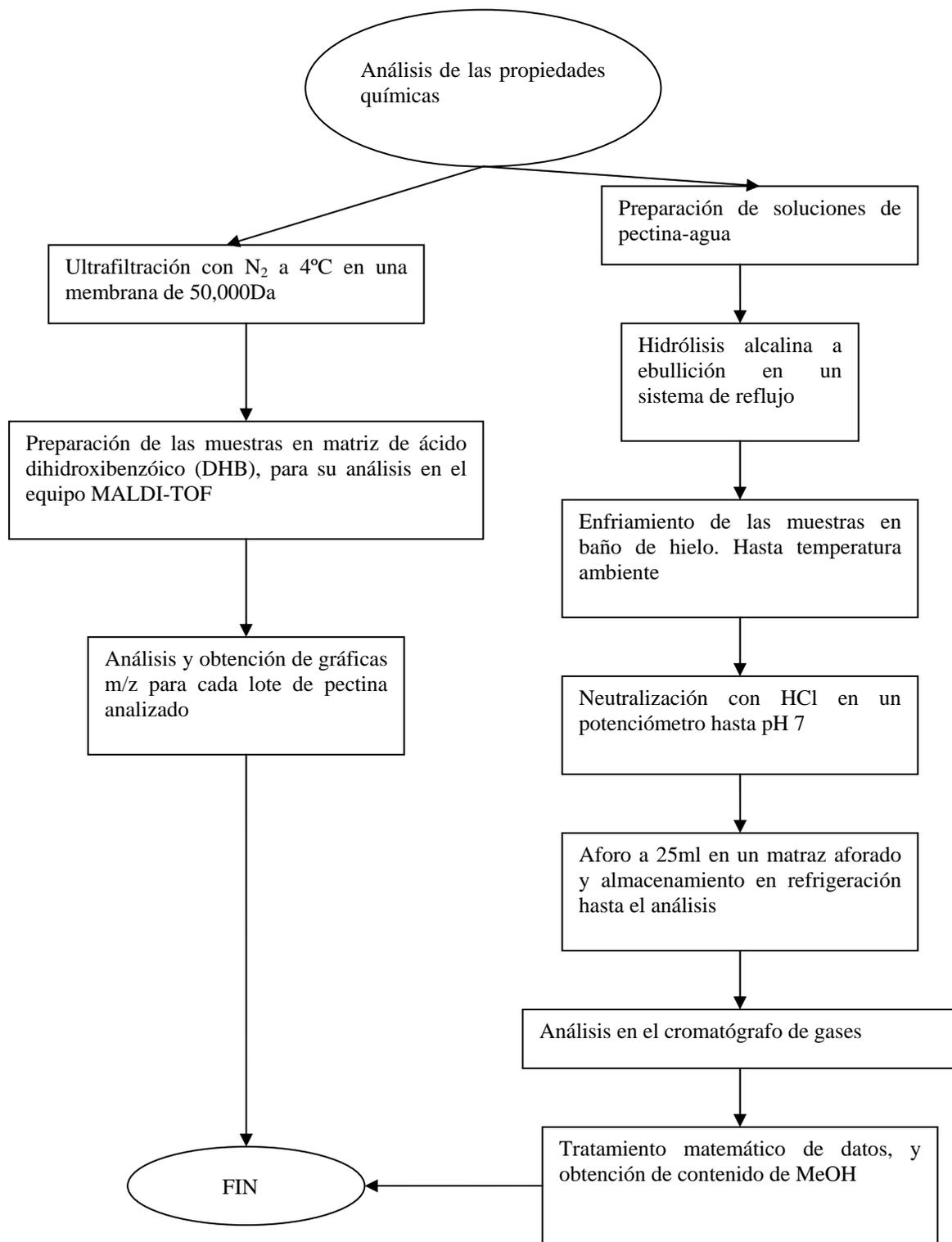
2.2.3 DETERMINACIÓN DE LA MASA MOLECULAR POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

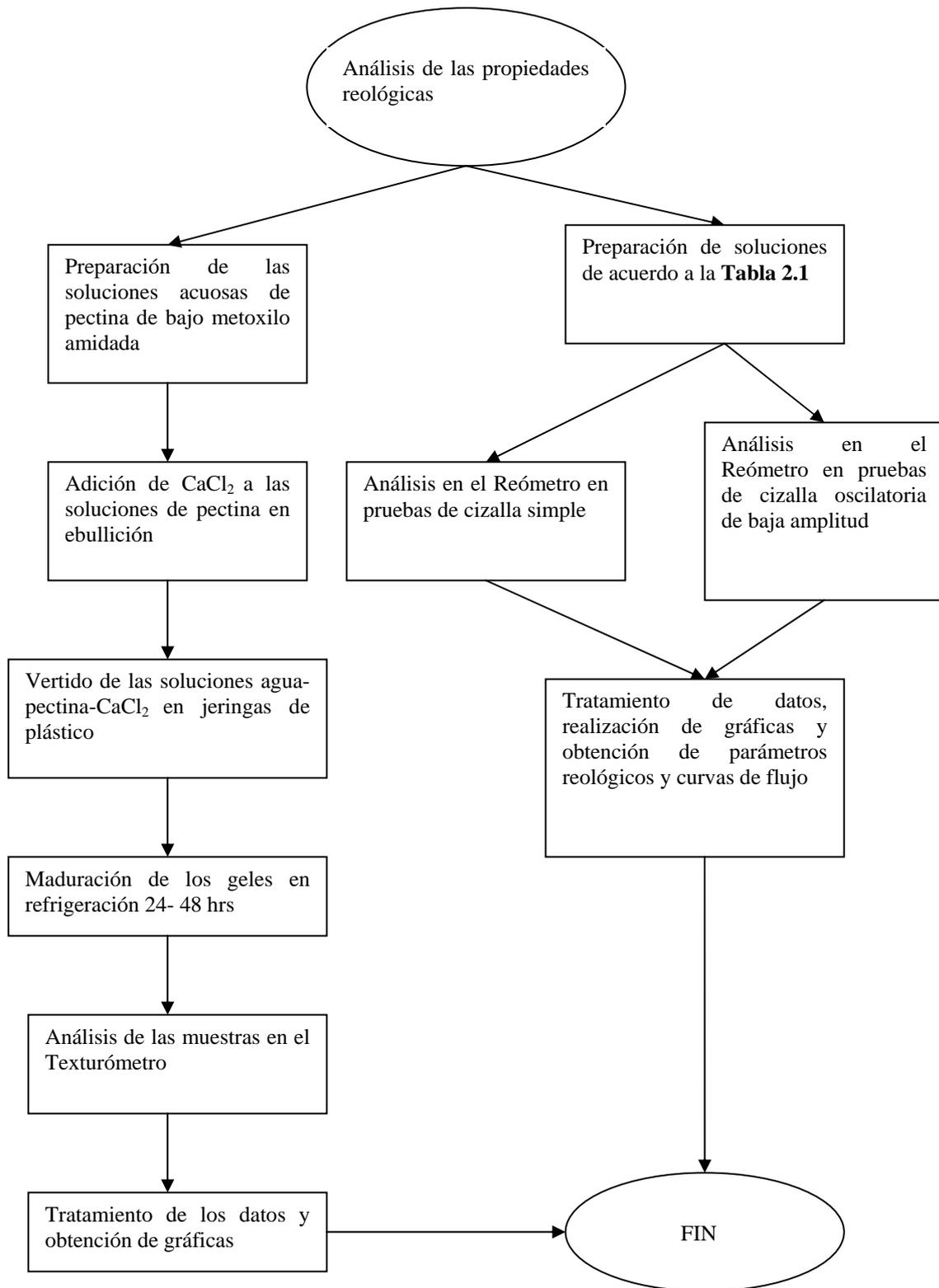
La determinación del peso molecular se llevó a cabo mediante la ultrafiltración, para la eliminación de azúcares de bajo peso molecular, de soluciones de pectina comercial 100 pmol/ μ l H₂O desionizada (suponiendo un peso molecular de 60,000Da.) en un equipo de ultrafiltración Amicon® de 100ml utilizando una membrana Millipore® de corte de 50,000 Da. y gas N₂ como gas de empuje a una temperatura de 4°C. Cada muestra se sometió a tres lavados con agua destilada de 100ml. cada uno.

Después de la ultrafiltración, las muestras se prepararon para el análisis de espectrometría de masas en un equipo MALDI-TOF marca Bruker Daltonics® utilizando una matriz de ácido dihidroxibenzóico (DHB) y como estándar de peso molecular la proteína "ubiquitina" con un peso molecular cercano a 8564 Da. en una matriz de ácido sinapínico.

En la preparación de las muestras para análisis en el espectrómetro de masas, se prepararon diluciones 1:3, 1:5, 1:10, 1:15 y 1:10 de muestra: matriz. Para la preparación de la matriz para polisacáridos: en un eppendorf de 1ml se tomaron 200 μ l de acetonitrilo (ACN): H₂O: ácido trifluoroacético (30: 70: 0.1 %), se le adicionó 1mg de ácido dihidroxibenzóico (DHB), se agitó en el vortex durante 30s y se centrifugó a 5140 rpm durante 2 minutos.

Para la preparación de la matriz para los estándares de peso molecular proteínas anhidrasa carbónica, BSA, lisozima y ubiquitina: en un eppendorf de 1ml se tomaron 200 μ l de acetonitrilo (ACN): H₂O: ácido trifluoroacético (30: 70: 0.1 %), se le adicionó 1mg de ácido sinapínico, se agitó en el vortex durante 30s y se centrifugó a 5140 rpm durante 2 minutos y se realizó una mezcla 1:3 de matriz y solución de proteína (Instituto de Química, UNAM).





3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 RESPUESTA DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS

Los resultados reológicos se ajustaron adecuadamente mediante el modelo de la ley de la potencia empleando la Ecuación 3.1 (Medina *et al.*, 2000; Brito-De la Fuente, Choplin y Tanguy, 1997):

$$\eta = k \dot{\gamma}^{n-1} \quad \text{Ecuación 3.1}$$

donde η es la viscosidad de cizalla (Pa·s), k es el índice de consistencia (Pa·sⁿ), $\dot{\gamma}$ es la velocidad de cizalla (1/s) y n es el índice de comportamiento de flujo (adimensional).

3.1.1. EFECTO DEL GRADO DE METILACIÓN EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE

El efecto que tiene el grado de metilación en las soluciones de pectina es directamente proporcional a su respuesta viscosa en pruebas de cizalla simple, lo cual se puede observar en la Figura 3.1, teniendo como resultado que: para las pectinas de alto metoxilo estandarizada con sacarosa (tipo T-7010) se observa un comportamiento de adelgazamiento a la cizalla (pseudoplástico) y su viscosidad varía de 0.15 a 0.1 Pa·s en el intervalo de cizalla de 5 a 245 1/s; por otra parte para la pectina de bajo metoxilo de alta reactividad al calcio se observa un comportamiento Newtoniano y una viscosidad entre 0.023 a 0.025 Pa·s dentro del mismo intervalo de velocidad de corte. El efecto que tiene la estandarización es similar al efecto de dilución, una pectina pura (tipo T-7061) muestra una mayor desviación del comportamiento Newtoniano hacia un comportamiento de carácter pseudoplástico y una mayor viscosidad que una pectina estandarizada con sacarosa (tipo T-7010).

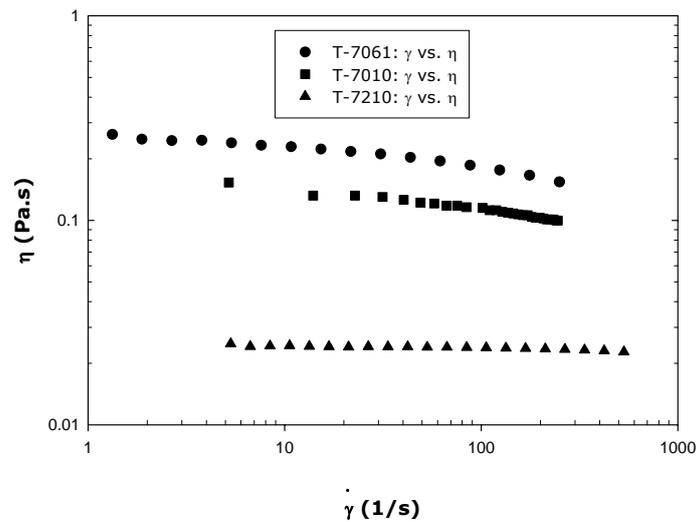


Figura 3.1 Gráfica del efecto del grado de metilación y estandarización de los tres lotes de pectina en pruebas de cizalla simple a 25°C.

3.1.2. EFECTO DEL GRADO DE METILACIÓN EN LA CURVAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA AMPLITUD DE DEFORMACIÓN

Las pruebas oscilatorias en la Figura 3.2, muestran que los módulos elásticos y viscoso (G' y G'') tienen una dependencia respecto a la frecuencia (comportamiento típico de fluidos viscoelásticos) donde $G'' > G'$ para todos los lotes comerciales analizados, es decir, la componente del módulo de pérdida o viscosa predomina sobre la componente de almacenamiento o elástica para cualquier tiempo de observación, debido a que los re-arreglos de las estructuras formadas por las cadenas de pectina se llevan a cabo a tiempos menores que los tiempos de observación aplicados (Medina *et al.*, 2000). Además, durante las pruebas de cizalla oscilatoria o de frecuencia, la estandarización tiene el mismo efecto de dilución observado en la respuesta de viscosidad a la cizalla simple (lote T-7061 vs. T-7010). En ambas muestras se presentan los mismo comportamientos en los espectros mecánicos dinámicos, de ambos

módulos G' y G'' (lote T-7010 vs. T-7210), aunque de magnitudes diferentes.

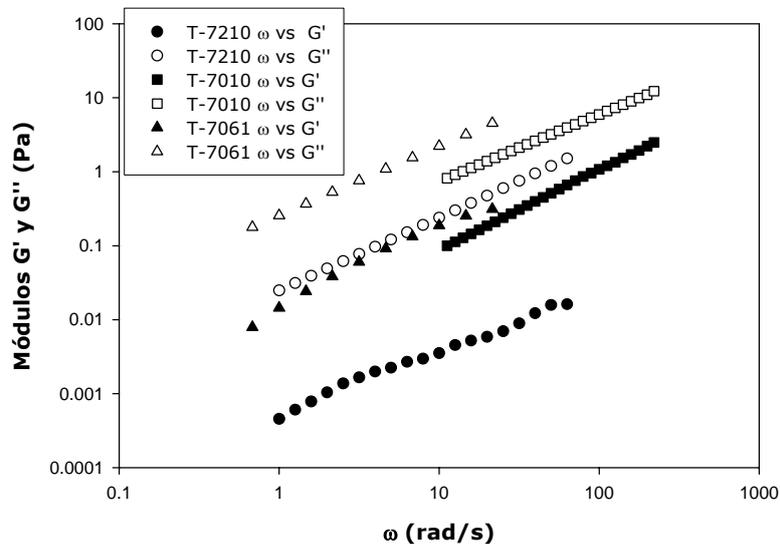


Figura 3.2 Gráfica del efecto del grado de metilación y estandarización de los tres lotes de pectina 2% p/v, en pruebas de oscilatorias de deformación a 25°C.

3.1.3. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE PECTINA EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE

En la Figura 3.3 se muestra la respuesta mecánica al esfuerzo de cizalla de una serie de soluciones de pectina de alto metoxilo T-7010, según el diseño experimental en la Tabla 2.1. Se observa un comportamiento Newtoniano en todas las soluciones desde el 2% hasta el 0.3% (p/v), lo cual contrasta al comportamiento observado durante el análisis del efecto del grado de metilación, donde solamente la pectina de bajo metoxilo de alta reactividad al calcio lote T-7210 en concentración 2% (p/v) presenta un comportamiento Newtoniano y los otros dos lotes T-7061 y T-7010 a la misma concentración, muestran un comportamiento no Newtoniano del tipo pseudoplástico.

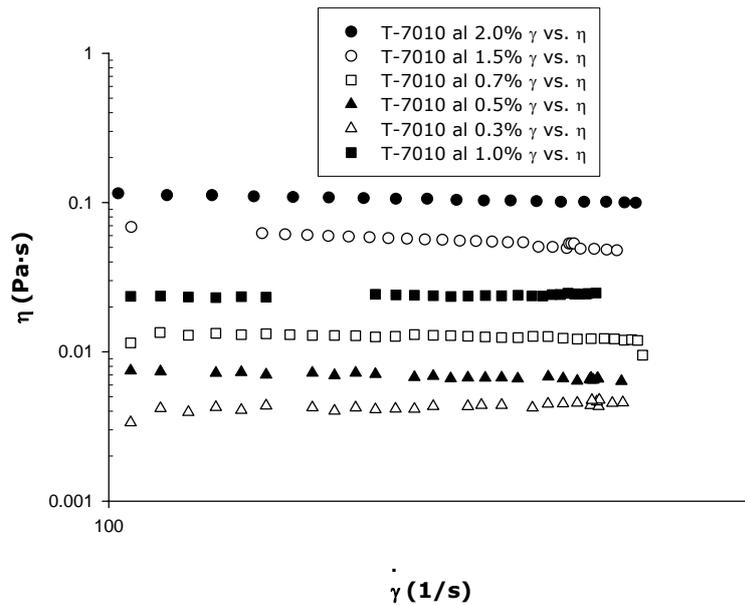


Figura 3.3 Gráfica del efecto de la concentración (p/v) de la pectina de alto metoxilo (T-7010) en la viscosidad y comportamiento de las soluciones. Realizado en un reómetro Haake (Rotovisco RV 20 CV 20N) con una geometría de cilindros concéntricos ZB15.

El efecto observado es función de la dilución, aunque si se observa la Figura 3.4 (concentración de pectina vs. k y n), no solamente se afecta el índice de consistencia k , el cual aumenta conforme aumenta la concentración de pectina, reflejado como un aumento de la viscosidad, sino que además, conforme las soluciones se van haciendo más concentradas, el índice de comportamiento de flujo n se va alejando de la unidad hacia valores inferiores, es decir, el comportamiento de flujo se va haciendo más pseudoplástico. Este comportamiento es característico de soluciones de polisacáridos en conformación de rollo aleatorio (random coil), el cual también muestran otros polisacáridos, como las galactomananas, dextranas, λ -carragenina, derivados de celulosa, entre otros (Morris *et al.*, 1981).

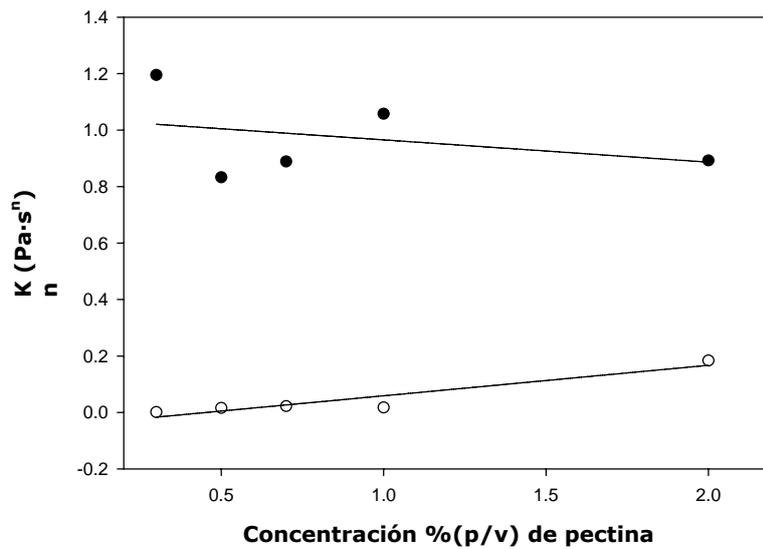


Figura 3.4 Gráfica del efecto de la concentración de pectina en el coeficiente de consistencia "K" \circ y el índice de comportamiento de flujo "n" \bullet .

3.1.4. EFECTO DEL pH EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE

Los valores de pH seleccionados para analizar este efecto, corresponden al pK_a de la pectina reportado en la bibliografía (Harris, 1990) $pK_a \approx 3.40$, que incluso corresponde al pH de la solución de pectina al 2% p/v en agua desionizada a 25°C. En este valor de pH la molécula tiene el mismo número de grupos carboxilo protonados y desprotonados. La disociación de este políácido es compleja y los valores de pK_a aparente son función del grado de esterificación y dependen en cierta medida de la distribución intramolecular de cargas (Zhong *et al.*, 1997). Un valor de **pH 2.35** que es un valor de concentración de protones cerca de una escala logarítmica mayor que el pK_a , en donde la mayoría de los grupos carboxilo libres están protonados y un valor de **pH 4.00**, que se seleccionó por ser un punto por encima del pK_a de las pectina, en donde gran parte de los grupos carboxilo libres están cargados negativamente (desprotonados),

aunque Zhong *et al.*, (1997) reportan que incluso a pH 4.4 las muestras de pectina no están totalmente ionizadas. Además, el valor de **pH 4.00** está fuera del intervalo de pH de aplicación de las pectinas de alto metoxilo para la formulación de mermeladas comunes.

En la Figura 3.5 se observa el efecto tanto en la viscosidad de las soluciones como en el comportamiento de flujo. Como referencia, se observa que a un valor de pH 3.40, es decir, la solución blanco sin efecto del pH, la solución muestra un comportamiento pseudoplástico con un índice de comportamiento de flujo de **$n=0.8921$** y un índice de consistencia de **$k=0.1130 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$** . Comparando estos valores con los obtenidos a un valor medido de pH 2.35, donde hay mayor concentración de protones en el medio, se observa un acercamiento hacia el comportamiento Newtoniano, que se expresa con un valor de índice de comportamiento de flujo de **$n=0.9263$** , aunque por otro lado se presenta una disminución en la viscosidad, que se observa con un valor de índice de consistencia **$k=0.0835 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$** . Se sabe que a un pH más ácido, las cadenas de polisacárido tienen menos cargas negativas, debido a la neutralización de los grupos carboxilo libres para formar ácidos carboxílicos protonados, lo cual hace que aumente la energía libre como consecuencia de la disminución de los grupos hidrofílicos que interaccionen con el agua. De este modo, y como consecuencia, para compensar esta inestabilidad del sistema es necesario el plegamiento de las cadenas mediante interacciones hidrofóbicas, asemejando la coalescencia de gotas de aceite dentro de un medio acuoso para disminuir la superficie de contacto aceite-agua, que además se favorecen por la formación de puentes de hidrógeno entre pectinas. Por consiguiente, es posible que el plegamiento y/o entrecruzamiento de las cadenas de polisacárido produzcan una disminución de la consistencia y que las moléculas de polisacárido, al estar en estructuras más compactas y/o asociadas, provoquen que el comportamiento tienda un poco más hacia un comportamiento Newtoniano.

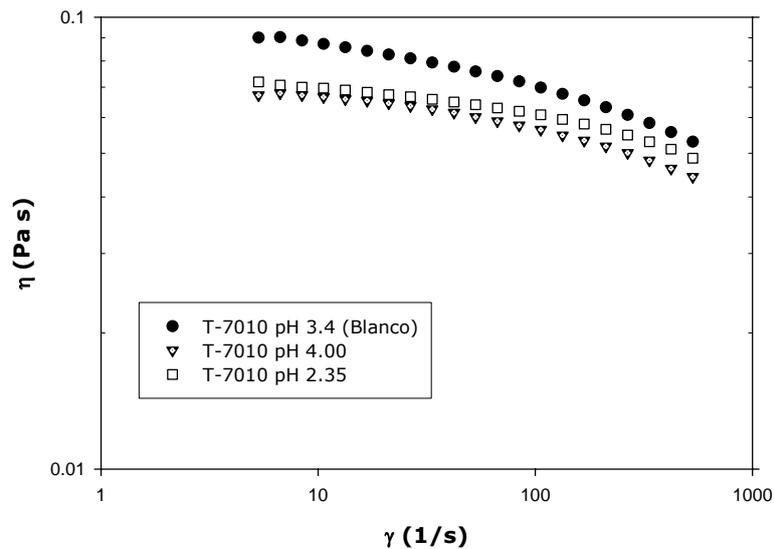


Figura 3.5 Gráfica del efecto del pH en el comportamiento de flujo en soluciones de pectina al 2% p/v a 25°C.

Siendo que las pectinas de alto metoxilo tienen pocas unidades de ácido galacturónico sin esterificar, es probable que bajo estas condiciones de pH sea igualmente favorable la asociación o entrecruzamientos de cadenas que el plegamiento de una misma cadena, tal como se observa en su respuesta mecánica.

El comportamiento de la solución de pectina a un valor medido de **pH 4.00**, es decir a un pH menos ácido, se obtuvieron valores de índice de adelgazamiento al flujo de cizalla **$n=0.9148$** y de índice de consistencia **$k=0.0819 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$** , los cuales son muy similares a los resultados obtenidos a un valor de pH 2.35, aunque los fenómenos físicos involucrados, se presume, son distintos. Por encima del **pK_a** de una molécula, los grupos ácidos comienzan a perder sus protones y a cargarse negativamente. Estas cargas producen un aumento de las repulsiones electrostáticas entre cadenas de polisacárido, aunque favorecen las interacciones hidrofílicas con el agua y por lo tanto disminuye la energía libre del sistema, es decir es una interacción favorable. Del mismo modo, las moléculas cargadas

negativamente, posiblemente tiendan a separarse entre ellas y a extenderse en el medio.

En este punto se debe notar que el único azúcar que tiene carga en la cadena de polisacárido es el ácido galacturónico no esterificado con metanol y, en pectinas de alto metoxilo de gelificación rápida, solamente es un pequeño porcentaje del total de monómeros de azúcar del polímero pectina.

Por lo tanto, contrariamente a lo sugerido para valores de pH más ácidos, se sugiere que la causa de la disminución en el coeficiente de consistencia se deba al plegamiento de las cadenas mismas para eliminar las interacciones entre grupos hidrofóbicos y el agua, en vez de la asociación por entrecruzamientos de las cadenas de polisacáridos. Estos fenómenos son los mismos que se han señalado como causantes de deficiencias en el proceso de formación de geles de pectina por efecto del pH (Glicksman, 1969). Además, Medina *et al.* (2000) reporta que para la goma de mucílago, un incremento del pH provoca un aumento en los valores de viscosidad y, que en la región alcalina, los valores de viscosidad tienden a un valor constante. Por otro lado, en el mismo estudio, los valores de viscosidad disminuyen rápidamente entre pH 7.0 y 2.0. Al observar la curva de viscosidad en función del pH del estudio de Medina *et al.* (2000), se observa una curva de forma sigmoidal similar a la que se obtiene en una valoración potenciométrica ácido-base, que hace suponer que el valor de pK_a de la goma de mucílago esté en un valor cercano de **pH 6.2**. Sin embargo, en la misma curva **no** se observa un máximo en la viscosidad como sucede en este estudio de pectinas a **pH 3.40**. Medina *et al.* (2000) señalan que la ionización de los grupos carboxilo de la goma de mucílago por encima de pH 7 podría explicar el comportamiento de la viscosidad reportado para la goma de mucílago. Esto además está de acuerdo a lo reportado por Trachtenber y Mayer (1982) respecto al aumento de la

viscosidad intrínseca conforme al aumento del pH. Sin embargo, en este estudio no se observa el mismo efecto.

3.1.5. EFECTO DEL pH EN LAS CURVAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA DEFORMACIÓN

En la Figura 3.6 se observa que a 25°C, para todas las muestras, independientemente del tiempo de observación que se tome, la componente viscosa G'' siempre es mayor que la elástica G' . Además, el efecto que tiene el pH en los módulos para los tres valores de pH estudiados, se puede interpretar de la siguiente manera: cuando el valor de pH se aleja del valor de pK_a (referencia) hacia valores más ácidos o más neutros, el valor medido para la componente viscosa G'' disminuye y, aunque el cambio es evidente, no es muy drástico; por otro lado, la componente elástica G' sí se afecta más fuertemente por efecto del pH aunque, ya sea que para valores de pH más ácidos o más neutros, el efecto del pH es casi el mismo: la disminución en la elasticidad de las muestras. Esto significa que, para los tres valores de pH estudiados, ya sea para tiempos cortos como para tiempos largos de observación, se da el reacomodo de las cadenas de polisacáridos dentro del tiempo de observación. Si empatamos esto con los datos de cizalla simple, podemos suponer que las asociaciones por entrecruzamientos de las cadenas de polisacáridos no son suficientemente fuertes y, quizás el fenómeno responsable del comportamiento observado en las pruebas de cizalla simple, abatimiento de la consistencia y comportamiento menos pseudoplástico respecto al valores de pH alejados del pK_a , sea el plegamiento, más que el entrecruzamiento, de las cadenas de polisacáridos, lo que significa que son geles débiles, según la definición de Clark y Ross-Murphy (1987).

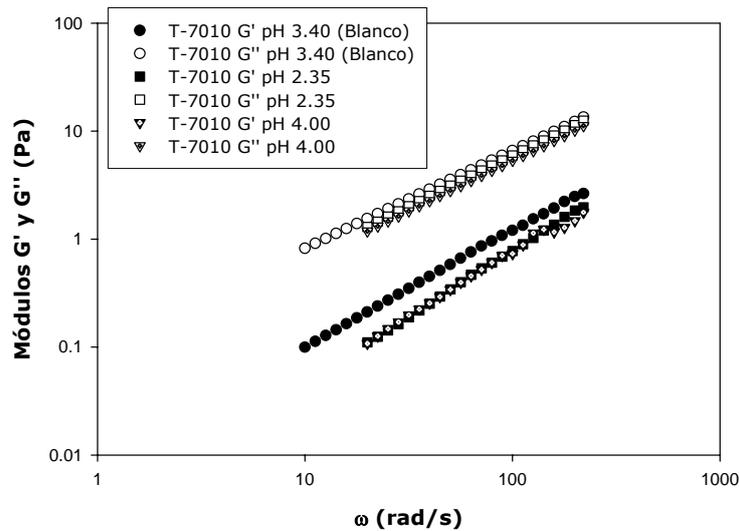


Figura 3.6 Gráfica del efecto del pH en los módulos de almacenamiento G' y pérdida G'' de soluciones de pectina T-7010 al 2% p/v a 25°C.

Analizando ambas Figuras 3.6 y 3.7, se observa que a pesar del desplazamiento de la componente elástica G' y viscosa G'' hacia valores ligeramente menores, respecto al blanco de referencia ($\text{pH}=\text{p}K_a$) representada con círculos negros, la diferencia de los módulos permanece casi constante, esto se observa en la Figura 3.7 como líneas paralelas de pendiente muy similar. Esto significa que, en las Figuras 3.7 y 3.10 (G'' vs. G'), conforme se aumenta o se disminuye la diferencia entre los módulos viscoso y elástico ($G''-G'$), se afecta la pendiente de las curvas graficadas en las mismas Figuras. Es decir, si aumenta la componente viscosa de la muestra, la pendiente de la curva disminuye y si la componente elástica aumenta la pendiente de la curva también aumenta. El módulo complejo $|G^*|$, que relaciona a los módulos elástico y viscoso, tanto a pH 2.35 como a 4.00 disminuye poco respecto a la referencia, es decir, dentro de los valores de pH estudiados, el efecto de pH es nulo respecto a la respuesta viscoelástica de las soluciones de pectina que se analizaron.

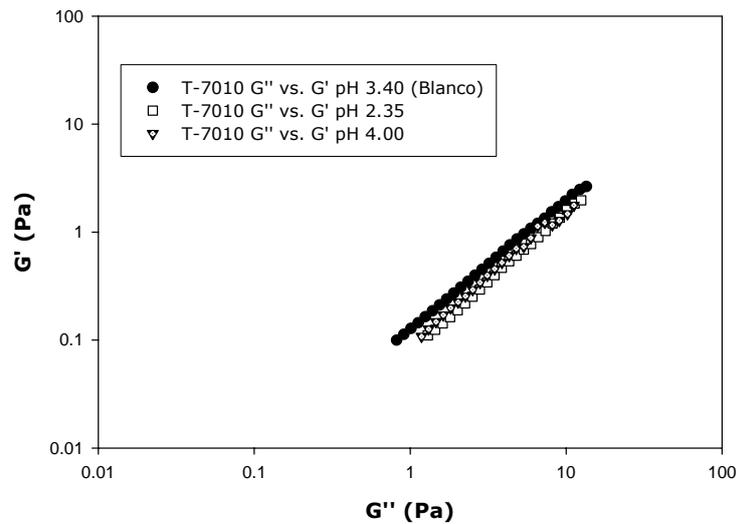


Figura 3.7 Gráfica de efecto del pH en la relación de los módulos G'/G'' de soluciones de pectina T-7010 al 2% p/v a 25°C.

3.1.6. EFECTO DE LA ADICIÓN DE CaCl_2 , ASÍ COMO DE SU CONCENTRACIÓN EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE

El efecto de la fuerza iónica en la viscosidad es importante, no solamente para determinar si la pectina se comporta como un polielectrolito, sino también para estimar las propiedades funcionales reológicas, ya que las moléculas cargadas muestran una fuerte dependencia de la fuerza iónica (Medina *et al.* 2000).

Previo al estudio de este efecto en pectina de alto metoxilo, se realizaron las pruebas de compresión uniaxial en geles de pectina de bajo metoxilo amidadas T-7210, cuyos resultados se muestran más adelante. De ese estudio previo, se determinó que las concentraciones de CaCl_2 a considerar para evaluar este efecto en pectinas de alto metoxilo tipo T-7010 serían: 0mM; 35mM y 50mM porque corresponden al blanco de referencia, a la concentración óptima de CaCl_2 para la formación de geles

y a un exceso de CaCl_2 por encima de la concentración óptima, respectivamente.

En la Figura 3.8, se puede observar el efecto que tiene la adición de CaCl_2 en diferentes concentraciones sobre el comportamiento de flujo de las soluciones de pectina de alto metoxilo tipo T-7010 a 25°C . La curva de referencia está representada con círculos negros y corresponde a una solución de pectina al 2% p/v en agua desionizada sin calcio agregado **CaCl_2 0mM**. Los parámetros reológicos de esta curva son los mismo que el blanco de referencia en el estudio del efecto del pH: índice de consistencia **$k=0.1130 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$** e índice de comportamiento de flujo **$n=0.8921$** . Si comparamos estos parámetros con los calculados para la solución de pectina 2% p/v en agua desionizada con **CaCl_2 35 mM** a 25°C , representada con cuadros negros, los cuales son: índice de consistencia **$k=0.9879 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$** e índice de comportamiento de flujo **$n=0.5081$** . Es evidente que cuando aumenta la concentración de CaCl_2 hasta 35mM, también hay un aumento en la consistencia de cerca de un ciclo logarítmico. Además, hay una desviación del comportamiento de flujo hacia la pseudoplasticidad. Sin embargo, al aumentar nuevamente la concentración de CaCl_2 hasta 50mM, la viscosidad de cizalla disminuye **$K=0.2706 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$** con respecto a la concentración de CaCl_2 35mM pero se mantiene por encima de la consistencia del blanco de referencia. El índice de comportamiento de flujo muestra la misma tendencia que el índice de consistencia, es decir, cambia a **$n=0.7804$** , disminuyendo con respecto a la concentración de CaCl_2 35mM, pero se mantiene por encima del índice de comportamiento de flujo del blanco de referencia. Traduciendo estos números con respecto al comportamiento reológico, se puede decir que: un aumento en la concentración de CaCl_2 hasta 35mM produce un aumento en la consistencia de la solución y su comportamiento se vuelve más pseudoplástico; en cambio, un nuevo aumento hasta 50mM de CaCl_2 , produce una nueva disminución de la consistencia y un comportamiento menos pseudoplástico con respecto a la concentración de CaCl_2 35mM,

pero mayor consistencia y mayor pseudoplasticidad con respecto al blanco de referencia.

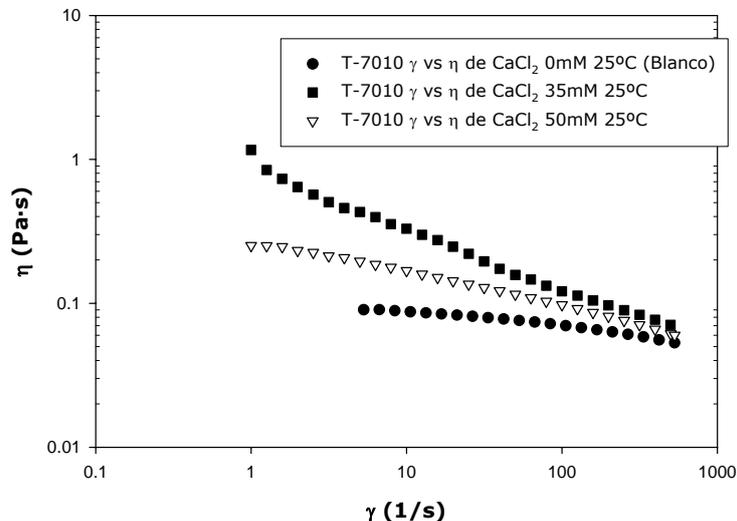


Figura 3.8 Gráfica del efecto del $[\text{CaCl}_2]$ en el comportamiento de flujo en soluciones de pectina al 2% p/v a 25°C

En contraste, Medina *et al.* (2000), reportan que un incremento en la fuerza iónica produce una disminución de la viscosidad “como se espera para polielectrolitos”. De este modo, para la goma de mucílago, cuya respuesta se esperaría que fuera similar al de la pectina, debido a que cualitativamente su composición química es similar y que ambos son polielectrolitos, en el estudio de Medina *et al.* (2000), reportan que hay una clara reducción de la viscosidad dependiente de la concentración de Ca^{++} y Mg^{++} y, que esta disminución, es mayor para iones Ca^{++} y Mg^{++} que para iones Na^+ y K^+ . Medina *et al.* (2000) explican que a una fuerza iónica impuesta nula (cero), las cargas negativas producen una fuerte repulsión intermolecular y por ende una molécula más expandida, y esto justifica la alta viscosidad de la goma de mucílago en agua desionizada. Por otro lado, la adición de iones reduce la repulsión y la expansión molecular provocando una reducción significativa en la viscosidad. Estos resultados se reportan en concordancia con lo reportado con Trachtenber y Mayer (1982) para la goma de mucílago (Median *et al.* 2000). Sin

embargo, la pectina muestra un aumento en la viscosidad y en la pseudoplasticidad aún con CaCl_2 en supuesto exceso (50 mM) a diferencia de lo reportado por otros autores (Trachtenber y Mayer, (1982); Medina *et al.*, 2000).

Un estudio interesante, sería la combinación de las condiciones impuestas del medio, estudiadas en este trabajo, en conjunto con la combinación de diferentes tipos de pectinas (alto y bajo metoxilo), ya que pese a lo reportado en la literatura (May, 1990), la respuesta mecánica de la pectina de alto metoxilo, de forma similar a la pectina de bajo metoxilo, es más fuertemente dependiente del contenido de iones Ca^{++} que del pH, para los valores evaluados en este estudio.

3.1.7. EFECTO DE LA ADICIÓN DE CaCl_2 , ASÍ COMO DE SU CONCENTRACIÓN EN LAS CURVAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA AMPLITUD DE DEFORMACIÓN

Al analizar de manera conjunta el efecto del CaCl_2 en los módulos de almacenamiento G' y pérdida G'' en la Figura 3.9, se observa que: independientemente del tiempo de observación, cuando aumenta la concentración de CaCl_2 hasta 35mM, el módulo viscoso G'' y elástico G' también aumentan, pero el efecto es mucho más pronunciado sobre el módulo elástico G' que sobre el módulo viscoso G'' , disminuyéndose la diferencia entre los módulos. Lo mismo pasa al cambiar, ya sea de 0mM o 35mM de CaCl_2 a 50mM de CaCl_2 , ambos módulos aumentan, pero el incremento es más evidente en la componente elástica de la muestra. Esto indica una clara tendencia a formar redes macromoleculares con propiedades elásticas importantes (Medina *et al.* 2000). También se observa que las muestras con CaCl_2 50 mM tienen una mayor componente elástica y viscosa que las muestras con CaCl_2 35mM y 0mM.

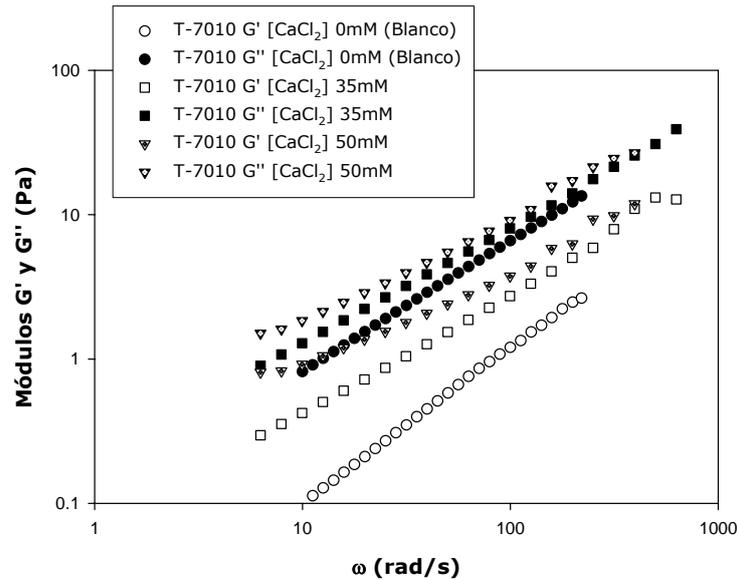


Figura 3.9 Gráfica del efecto del $[\text{CaCl}_2]$ en los módulos de almacenamiento G' y pérdida G'' de soluciones de pectina T-7010 al 2% p/v a 25°C.

Al analizar la relación que se produce entre los módulos en la Figura 3.10, se observa que conforme aumenta la respuesta de ambos módulos en magnitud, las curvas se desplazan hacia arriba y hacia la derecha en la gráfica G'' vs. G' (valores mayores), y la pendiente de las curvas disminuye conforme disminuye diferencia $G''-G'$, es decir, al aumentar el contenido de CaCl_2 aumenta la elasticidad de las muestras. Respecto a la respuesta del módulo complejo, que relaciona la frecuencia angular tanto con la componente viscosa como con la elástica, se observa que a tiempos de observación cortos, hay una respuesta viscoelástica muy similar en magnitud para las tres soluciones analizadas para el estudio del efecto de la concentración de CaCl_2 , esto se observa como un cruce o casi superposición de la curvas desde una frecuencia angular de 99.0 hasta 396.5 rad/s. Aunque a tiempos de observación largos, hay una diferencia en la magnitud de la respuesta viscoelástica, siendo mayor la respuesta del módulo complejo (viscoelasticidad lineal) para la solución con CaCl_2 50mM, seguido de la solución con CaCl_2 35mM y por último el blanco de referencia con CaCl_2 0mM, en orden decreciente de magnitud.

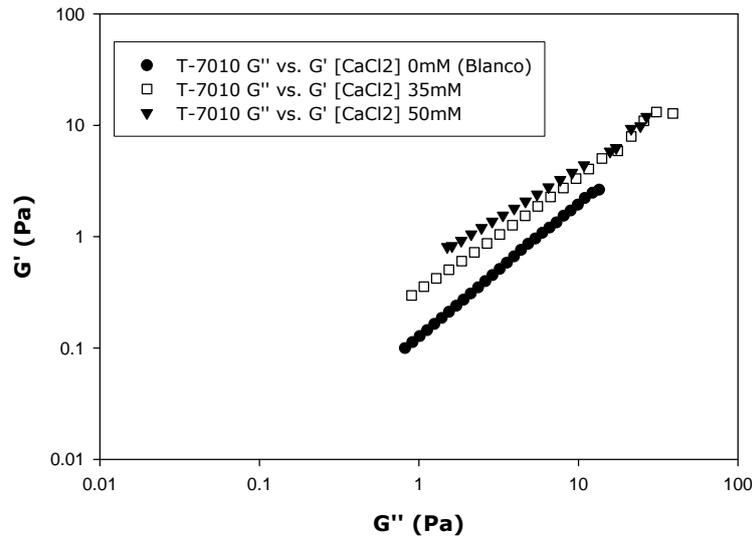


Figura 3.10 Gráfica de efecto del $[\text{CaCl}_2]$ en la relación de los módulos G'/G'' de soluciones de pectina T-7010 al 2% p/v a 25°C.

3.1.8 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LAS CURVAS DE VISCOSIDAD A LA CIZALLA SIMPLE CON LA PRESENCIA DE CaCl_2

En las Figuras 3.11 y 3.12 se puede ver el efecto que produce la variación de la temperatura en el comportamiento de flujo de soluciones de pectina de alto metoxilo T-7010 al 2% p/v en agua desionizada con CaCl_2 . Como ya se observó previamente en el estudio del efecto del CaCl_2 , la adición de CaCl_2 35mM y 50mM produce un aumento en la de consistencia con respecto al blanco de referencia, pero el índice de comportamiento disminuye con respecto al blanco de estudio (CaCl_2 0mM; pectina 2% p/v, pH 3.4, 25°C). Además de la concentración de CaCl_2 , la temperatura también tiene un marcado efecto en el comportamiento de flujo de las soluciones. La Tabla 3.1 resume los parámetros reológicos que resultan de la aplicación de diferentes temperaturas a diferentes concentraciones de CaCl_2 .

Tabla 3.1 Efecto de la temperatura en los parámetros reológicos de soluciones de pectina T-7010 2% p/v en agua desionizada con CaCl₂.

CaCl ₂	Temperatura °C	k (Pa·s ⁿ)[múltiplo]*	n [múltiplo]*
35mM	10	1.4920 [1.82]	0.5319 [0.90]
	<i>25^{ref.}</i>	<i>0.8186 [1.00]</i>	<i>0.5941 [1.00]</i>
	40	0.2937 [0.36]	0.7109 [1.20]
	60	0.3066 [0.37]	0.5319 [0.90]
50mM	10	0.7638 [2.65]	0.6523 [0.86]
	<i>25^{ref.}</i>	<i>0.2884 [1.00]</i>	<i>0.7619 [1.00]</i>
	40	0.1864 [0.65]	0.7722 [1.01]

ref. Es la temperatura tomada como referencia para el análisis del comportamiento de los parámetros reológicas.

La tendencia que se observa en el coeficiente de consistencia, valores de **k** con respecto a la temperatura, para ambas concentraciones de CaCl₂ es: el aumento en la temperatura produce un decremento en la consistencia de las soluciones; el índice de comportamiento de flujo, por su parte, cambia en forma inversa al índice de consistencia, es decir, aumenta conforme aumenta la temperatura.

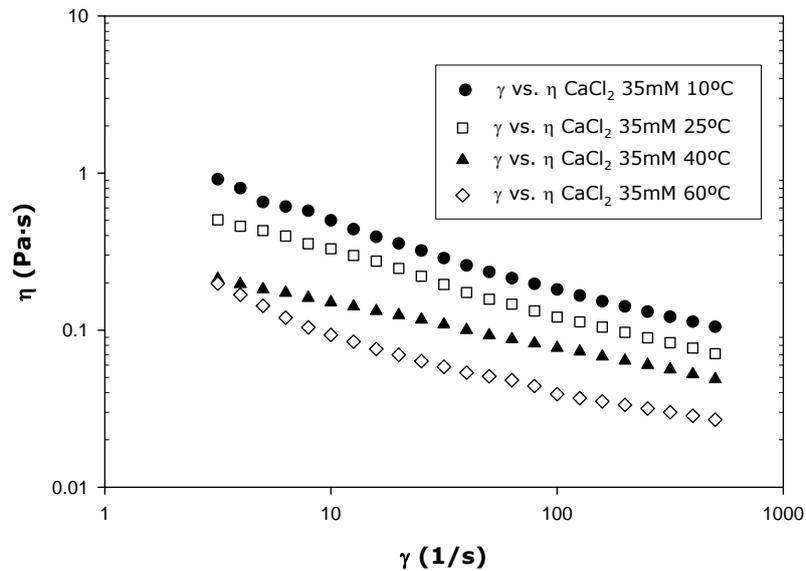


Figura 3.11 Efecto de la temperatura en la viscosidad de soluciones de pectina 2% p/v con CaCl_2 35mM.

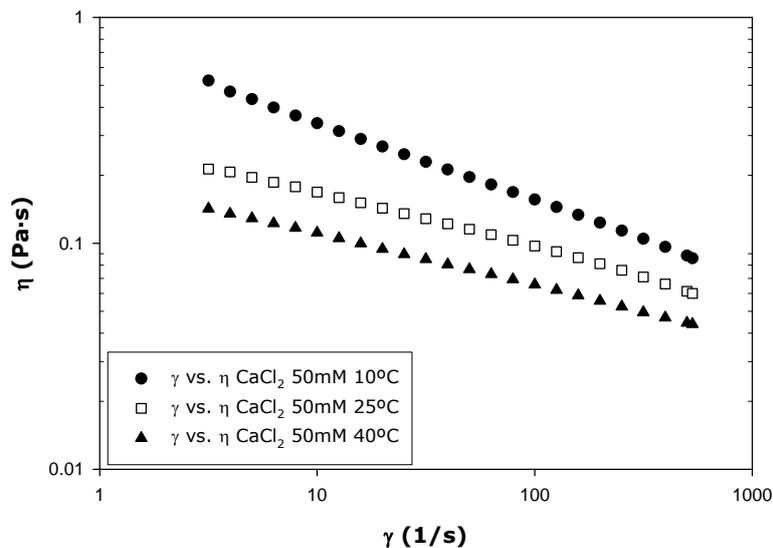


Figura 3.12 Efecto de la temperatura en la viscosidad de soluciones de pectina 2% p/v con CaCl_2 50mM

Tomando como referencia la temperatura ambiente 25°C , una disminución de la temperatura a 10°C produce: un aumento de **82%** en el índice de consistencia con CaCl_2 35mM y de **165%** con CaCl_2 50mM; además de una disminución de **10%** en el índice de comportamiento de flujo con

CaCl₂ 35mM y de **14%** con CaCl₂ 50mM. Por otro lado, al aumentar la temperatura hasta 40°C produce: una disminución de **64%** en el coeficiente de consistencia con CaCl₂ 35mM y de **35%** con CaCl₂ 50mM; además de un aumento de **20%** en el índice de comportamiento de flujo con CaCl₂ 35mM y de **1%** con CaCl₂ 50mM. Además, un nuevo incremento de la temperatura hasta 60°C produce: una disminución del **63%** en el coeficiente de consistencia y una disminución del **10%** índice de comportamiento de flujo con CaCl₂ 35mM.

Todos los datos muestran las mismas tendencias (aumento del índice de comportamiento de flujo y decremento del coeficiente de consistencia conforme aumenta la temperatura), salvo los valores de los parámetros reológicos de la muestra con CaCl₂ 35mM a 40°C, los cuales presentan un comportamiento que sale de la tendencia de los demás parámetros calculados.

3.1.9 EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LAS CURVAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE BAJA AMPLITUD DE DEFORMACIÓN CON LA PRESENCIA DE CaCl₂

Al analizar el efecto que tiene la temperatura sobre las propiedades viscoelásticas de las muestras analizadas, en la Figura 3.13 se observa que con un contenido de CaCl₂ tan bajo como 35mM a 10°C y a un tiempo de observación largo, a frecuencias angulares bajas (**<49.91 rad/s**), la componente elástica predomina sobre la componente viscosa, esto indica que: bajo estas condiciones impuestas, se forman arreglos moleculares, cuyos re-acomodos tardan un tiempo mayor que el tiempo de observación, de este modo, se observa un cruce de las curvas de las componentes elástica y viscosa a un valor de $\omega \approx 49.91 \text{ rad/s}$ y el predominio de la componente viscosa en valores de $\omega < 49.91 \text{ rad/s}$. Estos resultados son muy extraños, debido a que a bajas frecuencias, existe tiempo suficiente para que los arreglos moleculares se reacomoden

y las muestras fluyan y, a altas frecuencias, el tiempo para los re-arreglos moleculares es muy pequeño y se esperaría que la componente elástica G' predominara sobre la componente viscosa G'' . Este predominio de G' sobre G'' , sería el normal esperado para soluciones de polisacáridos y se observa en la goma de xantana en concentración superior a 1% y en la goma de mucílago al 5% w/w en agua desionizada a pH 4.8 y fuerza iónica 0.1025M (Rajinder, 1995; Medina *et al.* 2000). Este fenómeno se ha atribuido a cambios de alargamiento de la conformación de rollo aleatoria random coil. Sin embargo, la naturaleza de este fenómeno aun es controversial y no del todo claro (Medina *et al.* 2000). Nuevamente, los resultados que muestra la solución de pectina al 2% p/v en agua desionizada a 10°C con CaCl_2 35mM se oponen a esta tendencia.

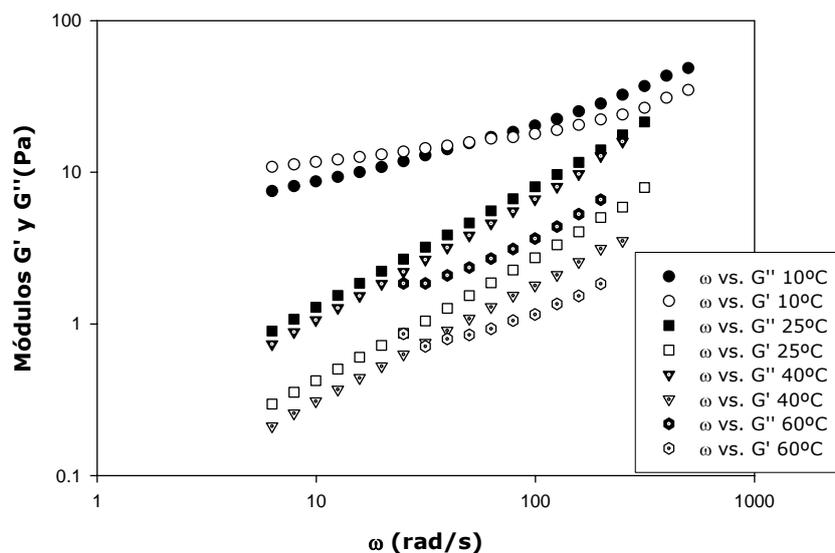


Figura 3.13 Efecto de la temperatura en la respuesta viscoelástica de soluciones de pectina 2% p/v con CaCl_2 35mM.

En este momento, se debe recordar que las muestras preparadas para el análisis de masa molecular por espectrometría de masas se prepararon en **agua desionizada** y se concentraron durante la **ultrafiltración** a casi el doble de la concentración inicial de pectina, debido a que el volumen inicial se reducía de 2ml de muestra a 1ml de filtrado aproximadamente. Además, los **lavados** del filtrado se realizaron con **agua destilada**, que

podiera o no contener iones en solución, a una temperatura cercana a 4°C. Es por esto que las suposiciones hechas, acerca del posible entrecruzamiento de cadenas y formación de agregados que se retuvieron en la membrana de ultrafiltración Amicon ® de 50kDa de corte, son muy posiblemente veraces.

Adicionalmente, cuando se aumenta la temperatura de 25°C a 40°C, no hay un gran cambio en las propiedades viscoelásticas de las muestras, siendo muy similar la respuesta de los módulos y la relación entre ellos. Sin embargo, al aumentar la temperatura hasta 60°C, la componente viscosa tiende a disminuir y se empieza a tener problemas con las mediciones ya que se empieza a observar mucho ruido en la señal, el cual se eliminó para hacer un mejor análisis de las gráficas. Del mismo modo, la componente elástica tiene el mismo comportamiento que la componente viscosa, aunque la reducción de la componente viscosa es mucho más drástica de 10°C a 25°C y después de este punto se presenta un comportamiento muy similar en ambos módulos. En ambos casos, por encima de 25°C y hasta 60°C, el módulo de almacenamiento y de pérdida (G' y G'') disminuyen en su magnitud cerca de un ciclo logarítmico.

De lo anterior se puede deducir es que posible obtener características viscoelásticas, el conjunto los módulos de almacenamiento y pérdida, completamente diferentes al variar la temperatura. Mientras que a 10°C las propiedades viscoelásticas son totalmente distintas a cualquier otra temperatura analizada en este estudio, por arriba de 25°C, los cambios implican una disminución en la magnitud de la respuesta mecánica.

AL observar la Figura 3.14, se puede decir que: a una concentración de CaCl_2 50mM, la temperatura tiene un efecto de atenuación gradual de las propiedades viscoelásticas, en cierto grado proporcional al aumento de la temperatura. Esto significa que tanto la componente viscosa como la elástica, disminuyen proporcionalmente conforme aumenta la temperatura

y este efecto de atenuación es más marcado en la componente elástica (G') que en la viscosa (G''). Una posible explicación es: un aumento en la temperatura proporciona la energía suficiente para deshacer una fracción de las interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas entre cadenas y electrostáticas con el ión Ca^{++} y, debido a esto, la componente elástica se ve disminuida en mayor proporción por efecto de la temperatura. Aunque una disminución de la temperatura (por ejemplo a 10°C) elimina energía del sistema favoreciendo las interacciones hidrofóbicas e hidrofílicas entre cadenas y electrostáticas con el ión Ca^{++} y aumenta la respuesta viscoelástica de las muestras, también se observa que a esta temperatura la diferencia entre los módulos de pérdida y almacenamiento se disminuye a tiempos largos de observación ($\omega < 6.28 \text{ rad/s}$).

Estas suposiciones también son válidas para una concentración de CaCl_2 35mM, aunque probablemente, el exceso en la concentración de CaCl_2 , interfiera con los plegamientos de las moléculas y/o favorezca la formación de interacciones electrostáticas e hidrofílicas del sistema.

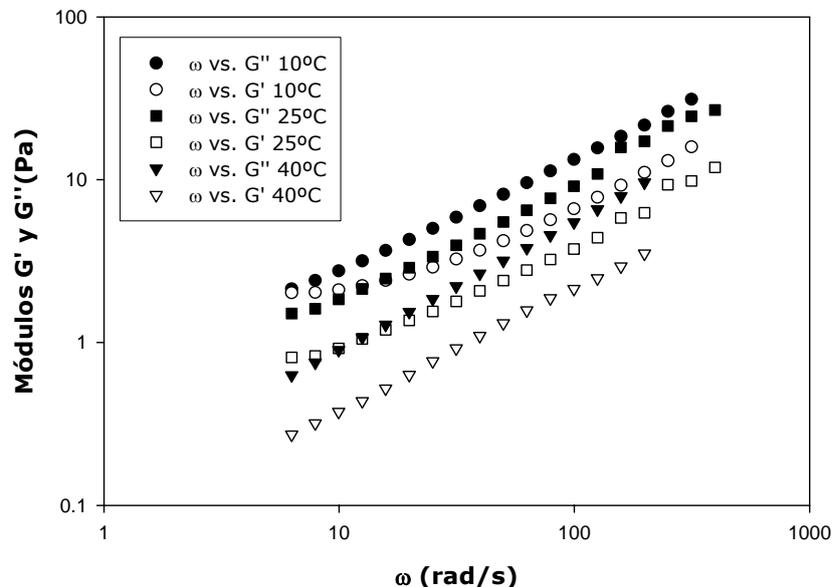


Figura 3.14 Efecto de la temperatura en la respuesta viscoelástica de soluciones de pectina 2% p/v con CaCl_2 50mM

Al igual que con CaCl_2 35mM, el efecto de la temperatura sobre el módulo complejo $|G^*|$, que representa la respuesta viscoelástica, es la disminución del módulo complejo con respecto al aumento en la temperatura. Sin embargo, a 10°C la respuesta viscoelástica cambia a tiempos largos de observación ($\omega < 15.78$ rad/s). Este fenómeno también se observa a 25°C aunque en menor proporción. Conforme aumenta la frecuencia angular ($\omega > 15.78$ rad/s), la respuesta viscoelástica tiene un comportamiento casi idéntico para las tres temperaturas evaluadas, pero de magnitudes decrecientes respecto al incremento en la temperatura. Este efecto se observa como líneas paralelas a altos valores de frecuencia angular ω , estos resultados no se muestran en este trabajo.

3.2 EFECTO DEL CaCl_2 EN LA ENERGÍA DE ACTIVACIÓN

De la Tabla 3.1, se tomaron los valores de k (Pa·s) y T (K), para graficar $1/T$ vs. $\ln k$ y obtener así las Figuras 3.15 y 3.16 (gráficas de van't Hoff) que representan el comportamiento descrito por la ecuación de Arrhenius (Ecuación 1.6). Aunque no se cuenta con los datos de la energía de activación (E_a) de un blanco de referencia (pH 3.4, pectina de alto metoxilo T-7010 2% p/v en agua desionizada), se puede observar que un aumento en la concentración de CaCl_2 de 35mM a 50 mM ($\Delta \text{CaCl}_2 = 15\text{mM}$) implica un aumento del 41.7% en la energía de activación, que varía de **24.5872 kJ/kg·mol** con CaCl_2 35mM a **34.8498 kJ/kg·mol** con CaCl_2 50mM. Este aumento en la energía de activación, indica que al aumentar la concentración de CaCl_2 el sistema se vuelve más estable, ya que implica que se requiere una mayor cantidad de energía para alcanzar el estado de transición de las muestras (Wark, 1991). Es decir, un aumento en la concentración de CaCl_2 favorece la termorresistencia de las muestras.

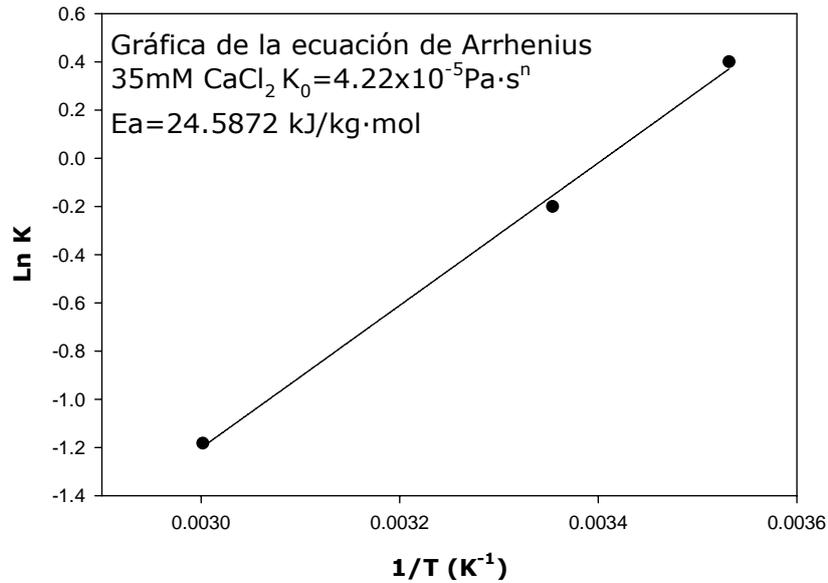


Figura 3.15 Gráfica de la ecuación de Arrhenius. Efecto de la concentración de CaCl₂ 35mM sobre la energía de activación E_a .

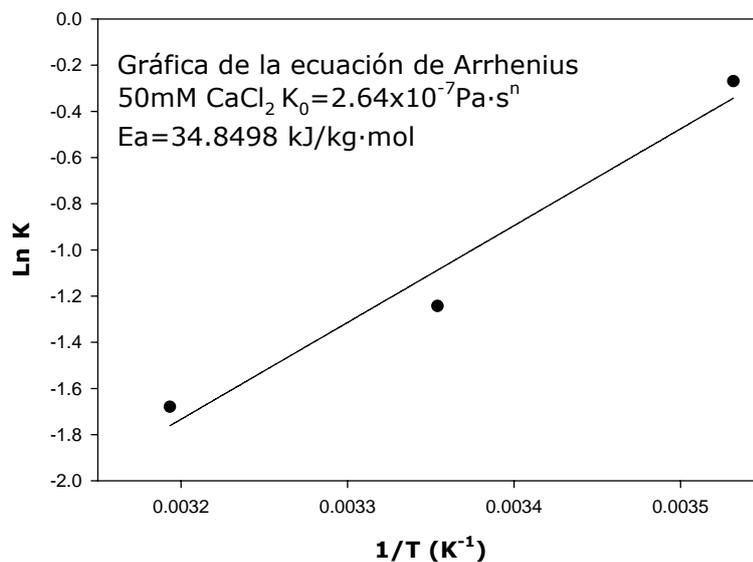


Figura 3.16 Gráfica de la ecuación de Arrhenius. Efecto de la concentración de CaCl₂ 50mM sobre la energía de activación E_a .

La energía de activación da un estimado de la entalpía de sitios de entrecruzamiento a lo largo de las cadenas de pectina, considerando, por supuesto, que el concepto de equilibrio de entrecruzamiento (ajustable por cambios de temperatura) es válido (Clark y Farrer, 1996). Al

comparar estos valores de E_a con la Tabla 3.2, se observa que el aumento de la cantidad de CaCl_2 de 35 mM a 50mM, produce cambios más drásticos, en el índice de consistencia de la muestra que contiene CaCl_2 50mM en el intervalo de 10°C a 25°C (**165%**) contra la muestra que contiene CaCl_2 35mM (**82%**). Por encima de esta temperatura, en el intervalo de 25° a 40°C, el cambio es más drástico en la muestra que contiene CaCl_2 35mM (**-64%**) contra la muestra que contiene CaCl_2 50mM (**-35%**). Los datos no pueden compararse por encima de estas temperaturas ya que no se cuenta con los valores de **k** y **n** para la muestra que contiene CaCl_2 50mM a 60°C, aunque la muestra con CaCl_2 35mM muestra nuevamente un cambio de **-63%** en el índice de consistencia **k** y una cambio de **-10%** en el índice de comportamiento de flujo. Un efecto contrario se observa en la goma de mucílago de acuerdo a lo reportado por Medina *et al.*, (2000), donde indican que: un valor de E_a mayor significa un cambio más rápido en la viscosidad con **respecto a la temperatura** y, conforme la temperatura aumenta, la viscosidad disminuye (Medina *et al.* 2000). Esta tendencia observada en la goma de mucílago solamente se observa por debajo de 25°C en ambas muestras de pectina.

De manera similar, un aumento en la Energía de activación (E_a) (de **24.5872 kJ/kg·mol** con CaCl_2 35mM a **34.8498 kJ/kg·mol** con CaCl_2 50mM: **$\Delta=10.2626\text{kJ/kg·mol}$**) produce un cambio menor en la consistencia de las muestras a temperatura constante (por ejemplo a 25°C **k** varía de **0.8180 Pa·s** con CaCl_2 35mM a **0.2884 Pa·s** con CaCl_2 50mM).

Resulta interesante notar que algunos biopolímeros como la xantana y el mucílago muestran propiedades viscosas estables con respecto a la temperatura (Kang & Pettitt, 1983; Rajinder, 1995, Medina *et al.* 2000).

Tabla 3.2 Efecto de la temperatura y la $[\text{CaCl}_2]$ en los parámetros reológicos de soluciones de pectina 2% p/v.

	35mM (k, n)	50mM (k, n)
10°C	82%, -10%	165%, -14%
25°C	--,--*	--,--*
40°C	-64%, 20%	-35%, 1%
60°C	-63%, -10%	

*Temperatura tomada como referencia

3.3 EFECTO DEL CaCl_2 EN PECTINAS DE BAJO METOXILO PARA LA FORMACIÓN DE GELES

Como es bien sabido, una gran deformación de fractura significa un gel muy deformable y un gran esfuerzo de fractura significa un gel fuerte. La firmeza del gel se caracterizó a través del módulo de Young inicial cuyos resultados no se muestran aquí. De las gráficas de deformación de Henkey vs. esfuerzo normal en la Figura 3.17, podemos ver que los geles con CaCl_2 en concentración **35mM tienen una mayor fuerza de ruptura** que cualquier otro gel en estudio. Se observa claramente como el efecto de la concentración de CaCl_2 afecta en forma directa a la rigidez de los geles formados desde una concentración de CaCl_2 15mM hasta alcanzar un máximo a una concentración de CaCl_2 35 mM, la cual se puede considerar la concentración óptima de CaCl_2 para la formación de estos geles. Posteriormente, los geles se vuelven más maleables y menos rígidos ($\text{CaCl}_2 > 50\text{mM}$). Este fenómeno se observa en la Figura 3.17, como una fuerza de ruptura menor que todos los demás geles estudiados. Una posible explicación es la saturación de cargas y el fenómeno de pre-gelificación debido a la ausencia de un agente quelante, reportado como necesario para la formación de geles de bajo metoxilo por May (1992) durante la preparación de los geles de pectina de bajo metoxilo. Es claro que dependiendo de la mezcla pectina- CaCl_2 , se producen geles de

diferentes características comparados en fuerza y deformabilidad y, por lo tanto, hay un fuerte efecto dependiente de la fuerza iónica.

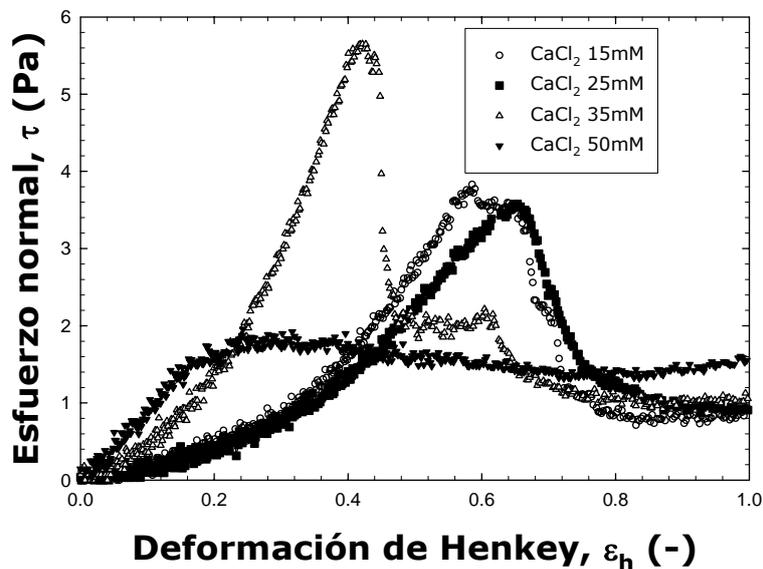


Figura 3.17 Efecto de la concentración de CaCl_2 en geles formados con pectina de bajo metoxilo T-7210 2% p/v en agua desionizada con CaCl_2 .

3.4 ANÁLISIS DEL PESO MOLECULAR

Los resultados del análisis de masas no presentan un grado de polimerización (DP) bien definido para los tres lotes, esto posiblemente se explica a que las pectinas son polidispersas en su composición y peso molecular (Towle, 1989; May, 1992). La composición varía con la fuente y condiciones de extracción impuestas (Chang *et al.* 1994). Tal como se observa en las Figuras 3.18, 3.19 y 3.20. La masa molecular que se obtienen mediante el análisis por espectrometría de masas (MALDI-TOF MS) está en el intervalo de 4.8 kDa. a 6.0 kDa. muy por debajo de lo reportado para pectinas similares por otros autores (Goycoolea y Cárdenas 2003; Cardoso 2003, Pagani, 1992) e incluso para otros polisacáridos de composición química parecida, tal como la goma de mucílago (2.3×10^4 Da.) (Medina *et al.*, 2000).

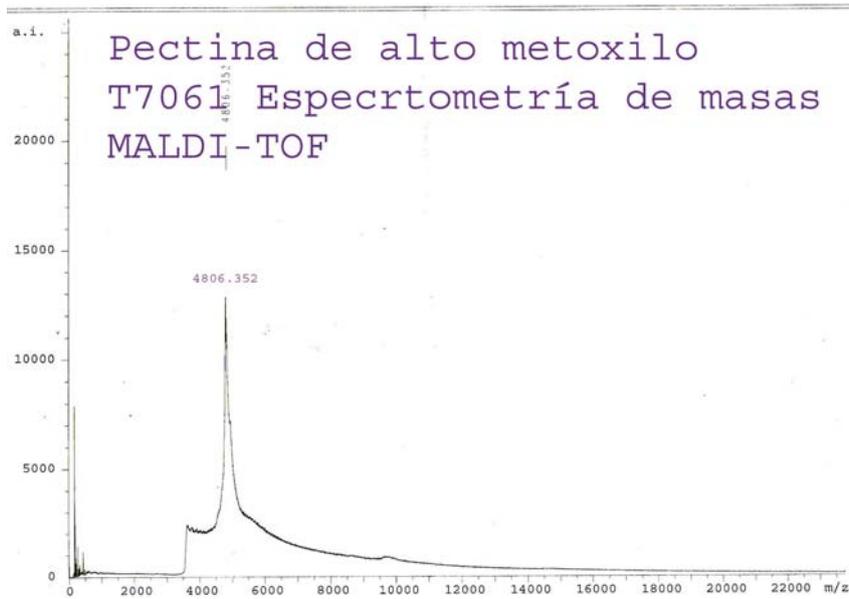


Figura 3.18 Espectro de masas (m/z) de pectina de alto metoxilo 100% tipo T-7061 de Citrico®.

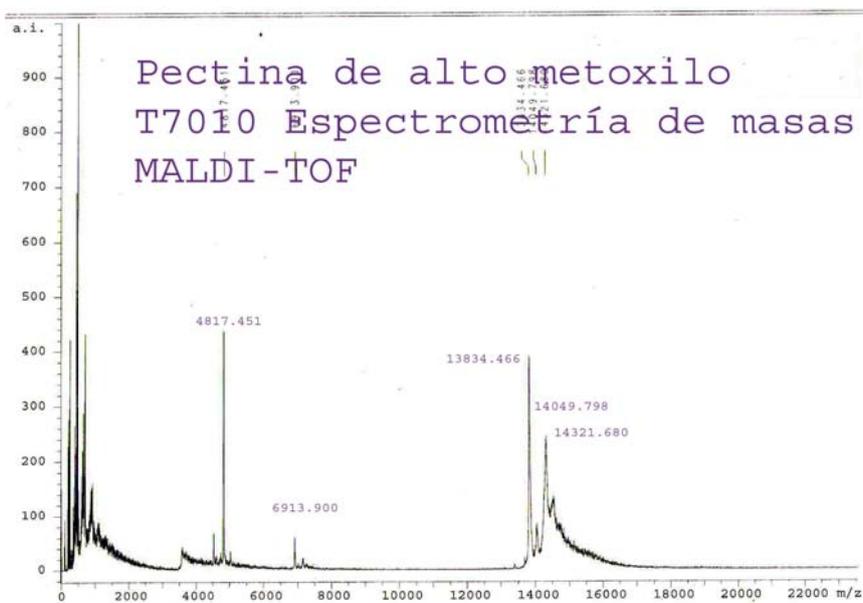


Figura 3.19 Espectro de masas (m/z) de pectina de alto metoxilo tipo T-7010 de Citrico®.

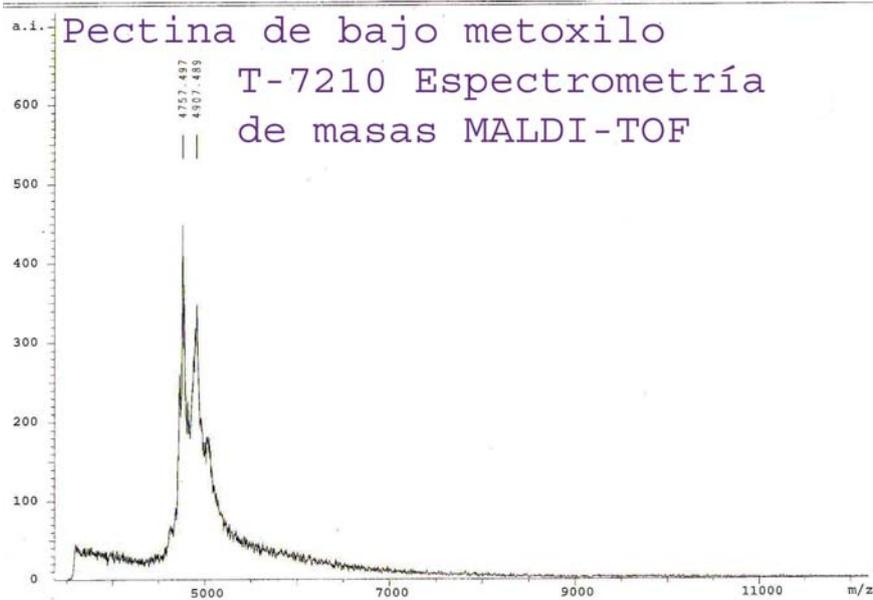


Figura 3.20 Espectro de masas (m/z) de pectina de bajo metoxilo amidada tipo T-7210 Citrico®.

Los resultados de otros autores posiblemente se deban a que, en el presente estudio, durante la ultra filtración se empleó una membrana Amicon ® de 50 kDa. de corte que retuvo en su mayoría las pectinas analizadas, demostrándose, posteriormente por espectrometría de masas, que la masa molecular es mucho menor al tamaño del poro de la membrana de ultra filtración (<50 kDa). De igual forma, Majdoub *et al.*, (2001) en su estudio de pectinas de nopal, separaron dos fracciones de la extracción de pectinas mediante ultrafiltración, donde la fracción que ellos denominaron fracción de alto peso molecular, HWS $M_w \sim 14.2 \times 10^6$ determinado por cromatografía SEC no pasó una membrana de corte de 100 kDa donde no detectaron proteínas y, la fracción de bajo peso molecular, LWS $M_w \sim 4000$ determinada por cromatografía SEC, que sí pasó a través de la membrana, está constituida primordialmente por proteínas.

En un estudio realizado por Pagani (1999), reportó valores de masa molecular de pectina de alto metoxilo obtenidas de melocotón a partir de diferentes condiciones de extracción, los cuales se obtuvieron por SEC-HPLC y variaban entre ≈ 85 y 108 kDa. Adicionalmente, Medina *et*

al., (2000) reportan valores de peso molecular de goma de mucílago de $M_w = 3.4 \times 10^6$ Da. y peso molecular promedio $M_n = 2.4 \times 10^6$ Da, obtenidos por HPLC-SEC, los cuales corresponden a trímeros y dímeros, respectivamente, del peso molecular obtenido por viscosimetría (1.12×10^6 Da) de la misma goma de mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*). Para el cálculo de este último valor, Medina *et al.* utilizaron las constantes de Mark-Houwink reportadas por Huber *et al.*, (1993) las cuales son **$K = 2.7 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$** y **$\alpha = 1.068$** y los valores de viscosidad intrínseca **$[\eta] \approx 10.5 \text{ dl}\cdot\text{g}^{-1}$** y son válidas para polisacáridos lineales.

El fenómeno que probablemente este sucediendo en este estudio, y en otros estudios empleando SEC-HPLC (Marshall *et al.* 1984) y ultrafiltración, es un entrecruzamiento favorecido por interacciones hidrofóbicas de cadenas relativamente pequeñas de polisacáridos dentro del equipo, que previo y durante al análisis en el espectrómetro de masas hacen suponer una masa molecular mayor. De hecho diversos autores han descrito que se puede formar agregados parcialmente cristalinos de α -L-arabinanos (1 \rightarrow 5) y también los β -D-galactanos (1 \rightarrow 4) pueden dimerizarse para formar dobles hélices (Bluhm & Sarko, 1977). La presencia de este fenómeno está comprobada mediante el aumento del radio de giro (R_g) descrito en el estudio realizado por Marshall *et al.* (1984). Además, para comprobar la posible formación de arreglos moleculares, se deben analizar de manera conjunta los espectros de viscoelasticidad de las soluciones de pectina, a las mismas condiciones empleadas durante la ultrafiltración de las pectinas analizadas en este estudio ($P > P_{\text{Atm.}}$ y $T < 10^\circ\text{C}$), los cuales no se realizaron en este trabajo.

Dentro del estudio realizado por Pagani (1999), de los resultados reportados para pectinas de melocotón, las constantes de Mark-Houwink reportadas son **$K = 7.526 \times 10^{-26}$** y **$\alpha = 5.166$** , los cuales son válidos para valores de viscosidad intrínseca entre 2.0 y 8.0 $\text{dL}\cdot\text{g}^{-1}$. Con estas

constantes es posible calcular la viscosidad intrínseca de las soluciones de pectina a partir de la masa molecular y viceversa.

Los valores de las constantes de Mark-Houwink reportados por Pagani (1999) son muy diferentes a los reportados para la goma de mucílago por Hubert *et al.*, (1993) y, en este punto es importante señalar que, fueron calculados a partir de valores de masa molecular obtenidos por SEC-HPLC. Además, de acuerdo a lo reportado para goma de mucílago por Medina *et al.*, (2000) y para otros polisacáridos por Bluhm y Sarko, 1977, es muy probable que se estén observando dímeros, trimeros u oligómeros formados por cadenas de pectina que forman arreglos moleculares.

En esta sección, se comparan los valores de peso molecular y de las constantes de Mark-Houwink de pectinas contra los de goma de mucílago de nopal debido a que ambos son polisacáridos que se comportan como poli-electrolitos (Pals y Hermans, 1952) y están constituidos casi por los mismos azúcares aunque en diferente proporción (Medina *et al.*, 2000).

Los resultados presentados en esta sección, cuando son comparados con los de la literatura para otros polisacáridos y otros métodos de medición, es evidente que los valores de masa molecular obtenidos son dependientes del método de medición, de la composición del polisacárido, de las condiciones de extracción, así como del origen de las muestras.

Por otro lado, las cadenas de pectina que se estudiaron, además de tener un peso molecular muy bajo, son lineales. Al analizar la Figura 3.21, se observa que la regla empírica de Cox y Mertz se cumple, al superponerse las curvas de viscosidad a la cizalla y la viscosidad dinámica en valores equivalentes de velocidad de corte $\dot{\gamma}$ y frecuencia angular ω . Esto hace suponer que en las cadenas de pectina no hay ramificaciones importantes tanto en número como en tamaño.

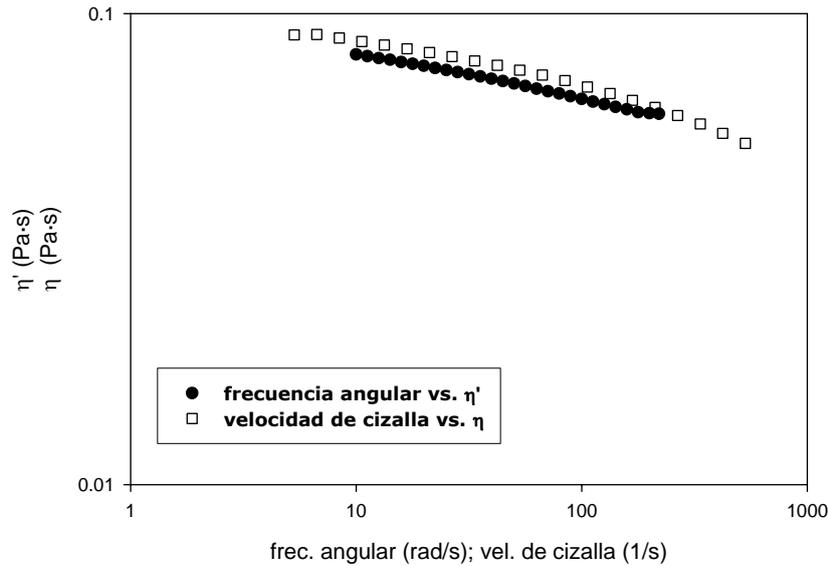


Figura 3.21 Gráfica de frecuencia angular ω y velocidad de cizalla γ versus viscosidad dinámica η' y viscosidad η a velocidades equivalentes. Regla empírica de Cox y Mertz.

3.5 DETERMINACIÓN DEL GRADO DE METILACIÓN

Comparando los contenidos relativos de metanol liberado por cada muestra, que se expresa como la relación de las áreas del pico producido por el metanol obtenidas para los tres tipos de pectinas analizadas y multiplicadas éstas, por el volumen de las muestras, se puede afirmar que el lote T-7061 contiene un mayor número de grupos metil-éster en relación con el tipo T-7010 (2.08 veces) y estos dos a su vez tienen más grupos metil-éster que el tipo T-7210 (T-7061 8.42 veces vs. T-7210; T-7010 4.05 veces vs. T-7210). Con esta información no es posible comparar los resultados con respecto al grado de esterificación debido a que no se cuantificó el contenido de ácido galacturónico en cada muestra de pectina, ni la cantidad de pectina en cada lote comercial. Por lo tanto, se tuvo que hacer un análisis de resultados respecto a la cantidad de metanol liberado por la misma cantidad de muestra. Con base a lo anterior, podemos hacer las siguientes suposiciones: la muestra T-7061 tiene el mismo o un mayor grado de esterificación que la muestra T-7010.

Además, los dos lotes de alto metoxilo T-7061 y T-7010 tienen un mayor grado de metilación que el lote T-7210. Para saber exactamente el grado de metilación de cada muestra, aún falta cuantificar el contenido de pectina y determinar el contenido de ácido galacturónico en cada muestra. Sin embargo, los resultados se pueden apoyar con lo reportado en la literatura para determinar el grado de metilación en las pectinas. El contenido de ácido galacturónico se ha reportado por diversos autores y en promedio, para la pectina de limón, es de: 83.61% \pm 1.73 p/p de ácido galacturónico (Zhong *et al.* 1997); 60.8% (Kravtchenko *et al.*, 1992). El grado de metilación DM se calcula con la siguiente ecuación:

$$DM = (\text{CH}_3\text{OH}/\text{AGA}) \times 100 \quad \text{Ecuación 3.2}$$

Donde, **DM** es el grado de esterificación del grupo carboxilo con metanol, **CH₃OH** es el número de moles de metanol por unidad de masa de pectina, **AGA** es el contenido de ácido galacturónico por unidad de masa de pectina (Forni *et al.* 1994).

La Tabla 3.3 resume los resultados obtenidos del análisis por Cromatografía de Gases.

Tabla 3.3 Contenido de metanol liberado de las muestras de pectina

Muestra	Área promedio del pico	Volumen total del promedio (ml)	Contenido relativo de metanol.
T-7210 (LM) ref.	3618.8	25.74	1X ^{ref.}
T-7010 (HM) estd.	15082.7	25.00	4.05 X*
T-7061 (HM)	31362.1	25.00	8.42 X *; 2.08 X **
100%			

^{ref.} Referencia; *Número de veces respecto a la referencia; ** Número de veces respecto al estándar (estd.).

CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

CONCLUSIONES

A pesar de ser un polisacárido que se emplea desde hace muchos años, actualmente el uso de la pectina como aditivo alimenticio sigue siendo materia de estudio en la industria de aditivos alimentarios.

De los resultados analizados podemos concluir que:

- La masa molecular medida para los tres lotes de pectina estudiados (T-7061, T-7010 y T-7210) está en el intervalo de 4.8kDa a 6.0kDa, en una cadena lineal sin ramificaciones, y debido a que son muestras comerciales no tienen un índice de polimerización bien definido.
- La técnica empleada para el análisis de peso molecular (MALDI-TOF), presenta una gran ventaja en tiempo y exactitud con respecto a las técnicas empleadas en otros estudios.
- Las pectinas con un contenido mayor de grupos metil-éster (T-7061 y T-7010) son más viscosas que las pectinas de bajo grado de esterificación.
- El comportamiento de flujo también es dependiente del grado de esterificación, de este modo tenemos que, para pectina de bajo metoxilo (T-7210), el comportamiento de flujo es Newtoniano, mientras que para las pectinas de alto grado de esterificación el comportamiento es no-Newtoniano del tipo pseudoplástico.
- Para el efecto del pH, la máxima consistencia ($k=0.1130 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$) y máximo comportamiento pseudoplástico ($n=0.8921$) se presenta a

un valor de pH 3.40, y cualquier variación hacia valores más ácidos o más neutros produce una disminución de la consistencia y un comportamiento menos pseudoplástico.

- El CaCl_2 provoca cambios más drásticos que el pH en la viscosidad y la viscoelasticidad de las muestras analizadas.
- La consistencia aumenta drásticamente hasta alcanzar un máximo con CaCl_2 35mM ($K=0.9879 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$) y después disminuye, pero se mantiene por encima del blanco con CaCl_2 50mM ($K=0.2706 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$).
- El comportamiento pseudoplástico de las muestras presenta un máximo ($n=0.5941$) con CaCl_2 35mM y después disminuye hacia un comportamiento menos pseudoplástico ($n=0.7619$), sin alcanzar a ser Newtoniano con CaCl_2 50mM.
- Todas las muestras con CaCl_2 tienen un comportamiento más pseudoplástico que las muestras sin CaCl_2 (0mM $n=0.8921$).
- El CaCl_2 aumenta la viscoelasticidad de las muestras y este efecto es mucho más marcado sobre la componente elástica que sobre la viscosa. Esto indica una clara tendencia a formar redes macromoleculares con propiedades elásticas importantes (Median *et al.* 2000).
- La respuesta viscoelástica puede verse casi empatada en las tres muestras empleadas para el análisis del efecto de CaCl_2 (0mM, 35mM y 50mM) por encima de una frecuencia angular ~ 99 (rad/s).
- La temperatura también tiene un fuerte efecto en la respuesta mecánica de las muestras. El aumento de ésta, produce un

decremento en el índice de consistencia de las soluciones y un aumento en el índice de comportamiento de flujo.

- A 10°C las muestras con CaCl₂ 35mM forman arreglos moleculares cuyos re-acomodos tardan más tiempo que el tiempo de observación.
- Al aumentar la temperatura a 25°C, 40°C y 60°C no hay un gran cambio en las propiedades viscoelásticas de las muestras, siendo muy similar la respuesta de los módulos (G' y G'') y la relación entre ellos.
- La viscoelasticidad de las muestras estudiadas son fuertemente dependientes del contenido de CaCl₂ y de la temperatura.
- El efecto de la concentración de CaCl₂ afecta en forma directa a la rigidez de los geles de pectina de bajo metoxilo formados con CaCl₂ desde una concentración de 15mM hasta alcanzar un máximo a una concentración de CaCl₂ 35 mM, la cual se puede considerar la concentración óptima de CaCl₂ para la formación de estos geles. Posteriormente los geles se vuelven más maleables y menos rígidos (CaCl₂ ≥50mM).
- La energía de activación está en función de la concentración de CaCl₂ y se aumenta conforme aumenta su concentración: de **24.5872 kJ/kg·mol** con CaCl₂ 35mM a **34.8498 kJ/kg·mol** con 50mM de CaCl₂
- Dependiendo de la mezcla pectina (LM)-CaCl₂, se producen geles de diferentes características comparados en fuerza y deformabilidad, por lo tanto, hay un fuerte efecto dependiente de la fuerza iónica y

de este modo es posible obtener gama de propiedades viscoelásticas.

SUGERENCIAS

Actualmente es posible encontrar en la literatura una gran variedad de técnicas para el análisis del contenido de grupos metil-éster en pectinas, sin embargo, una técnica que se ha estado desarrollando a lo largo de la última década y que ha dado resultados satisfactorios es la "electroforesis capilar". Esta técnica presenta requerimientos mínimos de reactivos y cantidad de muestra y además reduce el tiempo de análisis significativamente comparado con otras técnicas. Se puede encontrar información de esta técnica en los artículos de Zhong *et al.*, 1996 y 1997; Ström *et al.*, 2004 y 2005; Jiang *et al.*, 2004; y Goubet *et al.*, 2005.

BIBLIOGRAFÍA

Arnaud, J. P., Choplin, L., Lacorx, C., Rheological behavior of Kappa-carrageenan/Locust bean gum mixed gels, *J. Textura Stud.*, **19**, 419-430 (1989).

Ballantyne, B., Marrs, T. y Turner, P. "General and applied Toxicology", Stockton Press, Vol. 2, pp. 1343-1371, N.Y. (1993).

Barford, R.A.P. Magidman, S. Phillips y M. Fishman (1986) "Estimation of Degree of Methylation of Pectin by Pyrolysis-Gas Chromatography". *Analytical Chemistry* (58) 2576-2578.

Barnes, H. A., Hutton, J. F., Walters, F. R. S., *An Introduction to Rheology*, Elsevier Science Publishers B.V., 1ª Edición (1989).

Bird, R. B., Armstrong, R. C., Hassager, O., *Dynamics of Polymeric Liquids*, Vol. 1, Wiley New York (1987).

Bluhm, T. L., & Sarko, A. (1997). "Conformational studies of polysaccharide multiple helices". *Carbohydrate Research*, **54**, 125-138

Brito-De la Fuente, E., Choplin, L., Tanguy, P. A. (1997) *Transactions of the Institution of Chemical Engineers A*, 75, 52.

Cardoso, S. M., Coimbra M. A., da Silva, J. A., (2003) "Temperatura dependence of the formation and meeting of pectin-Ca²⁺ networks: a rheological study". *Food hydrocolloids*, **xx**, xxx-xxx

Chang, K. C., Dhurandhar, N., You, X. and Miyamoto, A. (1994). "Cultivar/location and processing methods affect the quality of sunflower pectin". *J. Food Sci.*, **59**: 602.

Chapman, J.R., "Practical Organic Mass Spectrometry: A guide for Chemical and Biochemical Analysis", Ed. John Wiley & Sons, 2ª Edición, 1994, Manchester UK, 1994

Clark, A. H., Gels and Gelling en "Physical Chemistry of Foods", H.G. Schwartzberg, R. W. Harter (editores), Marcel Dekker, Inc., 263-305 (1992).

Clark, A. H., Evans, K. T. y Farrer, D. B. (1994) *Int. J. Biol. Macromol.*, **16**, 125-130.

Doublier, J. L., Viscoelastic properties of food gels en "Viscoelastic properties of foods", Rao, M. A., Steffe, J. F., (editores), Elsevier Applied Science, London, 371-434 (1992).

Ferry, J. D., Viscoelastic Properties of polymers, John Wiley & Sons, 3ª edición (1980).

Fogarty William and Owen P. (1980), "Pectinases and Pectic Polysaccharides" en Industrial Gums.

Forni, E., Penci, M. & Polesello A., (1994) "A preliminary characterization of some pectins from quince fruit (*Cydonia oblonga* Mill.) and prickly pear (*Opuntia ficus indica*) peel" *Carbohydr. Polym.*, **23**, 231-234

Geankoplis, C. J., "Non-Newtonian Fluids., Transport Process and Unit Operations"., Allyn and Bacon Inc, Boston (1978, 1986).

Glicksman, F. M., "Gum Technology in the food industry", Academic Press, 1^a Edición, New York, London, 1969 p.159

Glicksman, F. M., Food Applications of Gums en "Food Carbohydrates", Lineback D. R., Inglett G. E. (editores), 1st Basic Symposium Series, Avi Publishing Company, Inc, 270-295 (1982).

Goycoolea, F. M. and Cárdenas A. (2003), " Pectins from *Opuntia spp.*: A short Review". *J. PACD.*, 17-29

Harrys, Peter., "Food Gels", Elsevier Applied Science, 1^a Edición, London & New York, 1990.

Hinton, C.L., "Fruit Pectins", Chemical Publishing Co. 1940, p. 27-32

Jarvis, M. C., (1984). "Structure and properties of pectin gels in plant cell wall". *Plant Cell Environ.*, **7**: 197-201.

Klavons Jerome y Raymond Bennett (1986), "Determination of Methanol Using Alcohol Oxidase And its Application to Methyl Ester Content of Pectins" *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. (34) 597-599

Kravtchenko, T.P., Voragen A.G.I. & Pilnik, W. (1992). *Carbohydr. Polym.*, **18**(4), 253-63

Kritchevsky, D., *et al.*, "Dietary fiber Chemistry, Physiology and Health effects", Ed. Plenum Press, pp. 341 New York & London, 1990.

Lewis, M. J., "*Physical properties of foods and processing system*". Ed. Ellis Horwood Ltd. Chischester, England. pp 465 (1987).

Lexow, D.G. Dongowsky y G. Berth (1981) "Osmometric determination of the molecular Weight of low esterified pectins in aqueous solutions" *Nahrung*. 19-21

López Munguía-C, A., Brito, E., Galindo, E., *Cap. 13-Biopolímeros*, en *Biotecnología alimentaria*, Garcia, M., Quintero, R. y López, A., Ed. LIMUSA, México, D.F. (1993).

May, C.D. (1997). Pectin. En: *Thickening and gelling agents for food*. Imeson, A. London, Blackie Academia and Professional: 230-261.

Majdoub, H., Roudesli, S. y Deretani, A. (2001). Polysaccharides from prickly pear and nopals of *Opuntia Picus-indica*: extraction, characterization and polyelectrolyte behavior. *Polym. Int.*, **50**: 552-560.

Marshall L. Fishman, Philip E. Pfeffer, Robert A. Bradford, y Landis W. Doner., (1984) "Studies of pectin Solution Properties by High Performance Size exclusion", *J. Agr. and Food Chem.*, 372-378.

Medina L., Brito-De la Fuente, E., Torrestiana-Sánchez, B. y Katthian, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia Picus indica*). *Food Hydrocolloids*, **14**: 417-424.

Medina T.L, Brito D.E, Torrestiana S.B, Alonso S.(2003) Mechanical properties of gels formed by mixtures of mucilage gum (*Opuntia ficus indica*) and carrageenans. *Carbohydrate Polymers* 52 143–150.

Miyamoto A. y K.C. Chang. (1992) "Extraction and Physicochemical Characterization of pectin from sunflower Head Residue". *Journal of Food Science* (57) pp. 1439-1443

Morris, E. R., Cutler, A. N., Ross-Murphy, S. B., Rees, D. A., Price, J. (1981). *Carbohydrate Polymers*, 1, 5-21.

Morton-Jones, D. H. 1989. *Polymer Processing*. Chapman and Hall. New York.

Muller, A. G., "Introducción a la reología de los alimentos", Ed. Acribia, Zaragoza, España (1973).

Olea, Serrano, F. Martínez, M. Ruiz y R.García-Villanova (1984) "Estudio de la degradación de las pectinas metiladas en zumos y néctares, determinación del metanol por cromatografía de fase gaseosa" *Anales de Bromatología*. (36) 71-75

Pagani i, J., "Degradación enzimática y características física y químicas de la pectina del bagazo de melocotón", *Servei de Publicacions Universitat de Lleida*, Salamanca España (1999).

Phatak, L., Chang y Brown., "Isolation and Characterization of Pectin in Sugar Beet Pulp" 1988 *Journal of Food Science*. (53) pp 830-833

Plaschina, I. G., Braudo, E. E., Tolstoguzov, V. B., Circular-dichroism studies of pectin solutions. *Carbohydrates Res.*, **60** (1978) 1.

Plöger, Annette (1992) "Conductivity Detection of Pectin: a Rapid HPLC Method to Analyze Degree of Esterification". *Journal of Food Science* (57) 1185-1187

Rajinder, P., (1995). *AIChE Journal*, 41, 783-794.

Rao, M. A., 1986. Rheological properties of fluid foods. En: Rao, M. A., y S.S.H. Rizvi (editores). *Engineering Properties of Foods*. Marcel Dekker, Inc. New York. pp 1-48.

Rao, M. A., Steffe., 1992. *Viscoelastic Properties of Foods*. Ed. British Library Catalogin in Publication Data. Gran Bretaña, Londres.

Rha, Chokyun, 1978, *Rheology of Fluid Food Technology*. Vol. 32. No. 7, pp 77-82.

Rodríguez. F. 1982. *Principles of Polymer Systems*, Secon edition. Hemisphere Publishing Corp., New York.

Rolin, C. (1992) en Whistler, R. L. y BeMiller, J. N. (Eds), *Industrial Gums-Polysaccharides and their Derivates*, 3^a Edición Academia Press, London, pp. 257-293.

Severs. E. T. 1962. *Rheology of Polymers*. Reinhold Publishing Company, New York.

Silverstein R.M., Webster F.X., "Spectrometric identification of Organic Compounds" Ed. John Wiley & Sons, 7^a Edición, Nueva York, 2006.

Skoog, D.A., West, D.M., Holler F.J., Crouch S.R., "Química Analítica" McGraw-Hill, 7ª Edición, México D.F. 2003. pp. 687-693.

Southgate., "Determination of food Carbohydrates", Elsevier Scientific Pu. Co., 2ª Edición. Gran Bretaña, 1992, p. 233

Steffe, J.F., "Rheological Methods in Food Process Engineering", Freeman Press, 1ª Edición, EUA (1992).

Thibault, J.-F., Renard, C.M.G.C., Axelos, M.A.V., Roger, P. and Crepeau, M.J. (1993). *Carbohydr. Res.*, **238**: 271.286

Towle G.A. & Christensen. O., "Industrial Gums", Ed. R. Whistler. Academic Press, 2ª Edición New York, 1973, p. 429.

Trachtenberg, S., Mayer, A. M., (1982). *Phytochemistry*, 21, 2835-2843.

Tschoegl, N. W., The Phenomenological Theory of Linear Viscoelastic Behavior. An Introduction, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York (1989).

Vernon, Carter E. J., Torre Blanca A. y Lever García, C. A. 1985. Propiedades Reológicas de Emulsiones Alimenticias. Rev, Tecnología Alimentaria Vol. 18, No. 1 México D.F.

Vitali A. A., y Rao M. A., "*Flow Properties of low –pulp concentrated orange juice: Effect of temperature and concentration*"., Journal of Food Science. 49 (3): 882-888. (1984b).

Voragen, A.G.J., Pilnik, W., Thibault, J.-F., Axelos, M.A.V. and Renard, C.M.G.C. (1995). Pectins. In: *Food Polysaccharides and their Applications*. Stephen, A.M. New York, Marcel Dekker: 287-339.

Walter, R-H; Jacon, -S-A., (1994) "Molecular Weight approximations of ionic polysaccharides by pH determination", *Food Hydrocolloids* 8(5): 469-480 ; 35 ref.

Walter, Reginald, R. Sherman y C. Lee (1991) "The Chemistry and Technology of Pectin" Academic Press Inc. USA pp. 133

Wark, K., "Termodinámica", 5ª Edición, Ed. McGraw-Hill, México D.F. 1991.

Whistler, R. L. (1993). En R. L. Whistler y J. N. BeMiller, *Industrial Gums, Polysaccharides and their derivatives* (pp 1-19). Vol. 1. New York: Academia Press.

Wilson, Linda, J. Ding y E. Woods (1991) "Gas Chromatographic Determination and Pattern Recognition Analysis of Methanol and Fusel oil Concentrations in Whiskeys" *Journal of the Association of Analytical Chemistry*" (74) 248-256

Wong, Dominic W.S., "Mechanism and theory in food chemistry", Ed. An Avi Book, 1ª Edición, New York, USA, 1989.

Zhong, H.-J., Williams, M. A. K., Keenan, R. D., Goodall, D. M., Rollin, C. *Carbohydr. Polym.* **1997**, 32, 27-32.

APÉNDICE A

TEORIA DE LA VISCOELASTICIDAD LINEAL

A.1 FUNDAMENTOS DE LA VISCOELASTICIDAD LINEAL

La viscoelasticidad lineal es aplicada cuando la deformación encontrada por los materiales es suficientemente pequeña, para que el material no modifique su estado de equilibrio. Una característica del comportamiento lineal es que las propiedades reológicas medidas son independientes de la magnitud de la deformación o el esfuerzo aplicado, y las relaciones entre el esfuerzo, la deformación y su dependencia con el tiempo son descritos generalmente por ecuaciones constitutivas o ecuaciones reológicas de estado.

A.1.1 GENERALIDADES DE LOS ESPECTROS MECANICOS DINAMICOS A PARTIR DE LA TEORIA DE VISCOELASTICIDAD LINEAL

La teoría de viscoelasticidad en la cual se basan las pruebas de cizalla oscilatoria de pequeña amplitud surgió hace más de un siglo, cuando Maxwell propuso estudiar a los gases como fluidos viscoelásticos. Maxwell, estableció como un fluido manifiesta tanto propiedades elásticas como viscosas, presentando cada una de estas contribuciones. En esta sección se van a presentar expresiones de G' y G'' a partir de las cuales se obtiene el espectro de módulos de rigidez (G) y de tiempos de relajación de esfuerzos (λ) y utilizando el modelo de Maxwell, Ecuación A.1.

Los únicos componentes del tensor de esfuerzos y del tensor de deformación no nulos para este sistema son los componentes en la dirección θ, z . Por lo tanto, el modelo de Maxwell se puede escribir como:

$$T_{\theta,z} + \lambda_1 \frac{\partial T_{\theta,z}}{\partial t} = -\eta_0 \dot{\gamma}_{\theta,z} \quad \text{A.1}$$

Este modelo combina las dos ecuaciones clásicas constitutivas que describen el comportamiento ideal de un sólido elástico y de un fluido viscoso: La ley de Hooke y la Ley de Newton. Analizando el modelo se aprecia que para el caso en estado estacionario se convierte en la ecuación de Newton de viscosidad, mientras que para el caso en que los cambios del esfuerzo con respecto al tiempo son de importancia el término que contiene la derivada predomina en el primer miembro de la ecuación e integrando este término con respecto al tiempo se transforma en la ley de Hooke.

La Ecuación A.1 describe de manera simple a un fluido con características tanto elásticas como viscosas. Un análisis detallado se encuentra reportado en la literatura (Bird, R.B., Armstrong, R.C., Hassager, O., 1987). Una forma de resolver esta ecuación es utilizando las transformadas de Fourier para $u=\omega$, sin embargo, si $f(t)=0$ para $t < 0$, la transformada de Fourier se convierte en la de Laplace en el dominio de las frecuencias.

Por lo tanto, usando la transformada de Laplace en el modelo de Maxwell, Ecuación A.1 donde para $t < 0$, se obtiene la siguiente ecuación:

$$T_{\theta,z}(s) + \lambda_1 [s T_{\theta,z}(s) - T_{\theta,z}(0)] = \eta_0 \dot{\gamma}_{\theta,z}(s) \quad \text{A.2}$$

Despejando de la Ecuación A.2 el esfuerzo de cizalla, y evaluando $\tau_{\theta\zeta}(0)$:

$$\tau_{\theta,z}(s) = \frac{\eta_0 \gamma_{\theta,z}(s)}{1 + s \lambda_1} \quad \text{A.3}$$

En consecuencia, el modelo de Maxwell en el dominio de frecuencias ($s=i\omega$) será:

$$\tau_{\theta,z}(i\omega) = \frac{\eta_0 \gamma_{\theta,z}(i\omega)}{1 + i\omega \lambda_1} \quad \text{A.4}$$

Por otra parte, sustituyendo: $\gamma_{\theta,\zeta} = i\omega \gamma_{\theta,\zeta}$ en la Ecuación A.4, se obtiene una expresión para el esfuerzo de cizalla en el dominio de frecuencias:

$$\tau_{\theta,z}(i\omega) = \frac{\eta_0 i\omega \gamma_{\theta,z}(i\omega)}{1 + i\omega \lambda_1} \quad \text{A.5}$$

A partir del análisis de las ecuaciones de cizalla oscilatoria de pequeña amplitud (Bird, R.B., Armstrong, R.C., Hassager, O., 1977; Rodríguez H.A., et al., 1999) el módulo complejo G^* se define como la relación entre el esfuerzo de cizalla y la deformación relativa, por lo que empleando la ecuación anterior en la definición de G^* :

$$G^*(i\omega) = \frac{T_{\theta,z}(i\omega)}{\gamma_{\theta,z}(i\omega)} = \frac{\eta_0 i\omega}{1 + i\omega \lambda_1} \quad \text{A.6}$$

Sustituyendo en la ecuación anterior η_0 por $\lambda_1^* G_1$, y multiplicando y dividiendo el lado derecho de la ecuación por el conjugado del denominador se obtiene la expresión:

$$G^*(i\omega) = \frac{i\omega \lambda_1 G_1 + \omega^2 \lambda_1^2 G_1}{1 + \omega^2 \lambda_1^2} \quad \text{A.7}$$

Por otro lado, la componente elástica y viscosa del modulo complejo (G^*) se representan por la expresión:

$$G^*(i \omega) = G' + i G'' \quad \text{A.8}$$

Sustituyendo la parte real e imaginaria de las ecuaciones anteriores en la expresión A.8, se obtienen los módulos dinámicos:

$$G''(\omega) = \frac{\omega \lambda_1 G_1}{1 + \omega^2 \lambda_1^2} \quad \text{A.9}$$

$$G'(\omega) = \frac{\omega^2 \lambda_1^2 G_1}{1 + \omega^2 \lambda_1^2} \quad \text{A.10}$$

Empleando en las Ecuaciones A.9, A.10 el principio de superposición de Boltzman, se obtienen las expresiones de los modelos dinámicos:

$$G'(\omega) = \sum_{k=1}^n \frac{\omega^2 \lambda_k^2 G_k}{1 + \omega^2 \lambda_k^2} \quad \text{A.11}$$

$$G''(\omega) = \sum_{k=1}^n \frac{\omega \lambda_k G_k}{1 + \omega^2 \lambda_k^2} \quad \text{A.12}$$

Por medio de las Ecuaciones A.11 y A.12 es posible ajustar datos experimentales de G' y G'' al modelo viscoelástico generalizado de Maxwell, fijando un número finito de tiempos de relajación de acuerdo al intervalo de frecuencia experimental. Calculando los valores respectivos de G por medio de algoritmos de regresión no lineal, se obtiene un espectro de tiempos de relajación y módulos de rigidez. Existen otros modelos que se han propuesto en régimen de viscoelasticidad lineal.

En este trabajo solo nos enfocaremos al de Maxwell. El modelo de Maxwell se aplica por su simplicidad de análisis y por el antecedente histórico de ser la primera referencia que se tiene de un modelo viscoelástico. Además, las deformaciones o las velocidades de deformación son aditivas; esto es, que la deformación o velocidad de deformación es igual a la suma de las deformaciones de la componente elástica de un sólido y la de la componente viscosa.

Dentro de la ciencia de alimentos, el estudio de la gelificación en todos sus aspectos es de importancia relevante. Los alimentos por su gran contenido acuoso y por su composición macromolecular (proteínas, polisacáridos, lípidos), se visualizan por muchos autores como “geles multicomponentes” que manifiestan un comportamiento viscoelástico típico de un gel físico; de ahí la importancia del conocimiento de la teoría viscoelástica y la aplicación de sus principios para la evaluación de propiedades reológicas en estos sistemas.

A.1.2 FUNDAMENTOS DE VISCOELASTICIDAD LINEAL

La teoría de viscoelasticidad surgió hace más de un siglo cuando Maxwell se propuso estudiar a los gases como fluidos viscoelásticos. Maxwell propuso que un fluido que manifestara tanto propiedades elásticas como viscosas se debería comportar siguiendo su modelo:

$$(1 + \alpha_1 \frac{\partial}{\partial t} + \alpha_2 \frac{\partial^2}{\partial t^2} + \dots + \alpha_n \frac{\partial^n}{\partial t^n}) \tau_{ij} = (\beta_0 + \beta_1 \frac{\partial}{\partial t} + \beta_2 \frac{\partial^2}{\partial t^2} + \dots + \beta_m \frac{\partial^m}{\partial t^m}) \gamma_{ij} \quad (\text{A.12})$$

donde, $\lambda_1 = (\eta/G)$, tiempo de relajación, $\eta_0 =$ viscosidad de cizalla a muy bajas velocidades- de deformación

En el modelo de Maxwell se combinan las dos ecuaciones clásicas constitutivas que describen el comportamiento ideal de un sólido elástico y de un fluido viscoso: La Ley de Hooke y la Ley de Newton. Sin embargo, la Ley de Hooke es válida solo para pequeños desplazamientos o gradientes de deformación, por lo tanto es obvio que el modelo de Maxwell también debe de cumplir tal restricción. Por esta razón se ha denotado con η_0 al término de viscosidad en ese modelo, ya que se deberá analizar con él fluidos sometidos a gradientes infinitesimales de deformación o de velocidad de deformación.

Analizando la Ecuación A.12 verificamos que para el estado estacionario la ecuación se traduce a la de Newton de la viscosidad, mientras que para el caso en que los cambios del esfuerzo con respecto al tiempo son de importancia, el término que contiene la derivada predomina en el primer miembro de la ecuación, el cual integrando con respecto al tiempo se transforma en la Ley de Hooke, donde G' es el módulo elástico. Por lo tanto, esta ecuación es de los más simples para describir a un fluido con características tanto elásticas como viscosas. Existen otros modelos que se han propuesto también en el régimen de viscoelasticidad lineal pero en esta sección solo nos enfocaremos al de Maxwell que es un modelo viscoelástico.

La Ecuación A.12, se puede reorganizar como ecuación diferencial lineal de primer orden y resolverla para el esfuerzo, generando:

A.13

$$\tau_{ij}(t) = \exp^{-\frac{t}{\lambda_1}} \left[\int \left(-\frac{\eta_0}{\lambda_1} \dot{\gamma}_{ij}(t) \right) \exp^{\frac{t}{\lambda_1}} dt + C \right]$$

A fin de
ahorrar
confusiones,

se hace el cambio en la variable de integración a t' y se fijan los límites de

integración. La elección se hace de forma arbitraria. Valores diferentes en los límites solo generarían diferentes valores en la constante de integración. La constante de integración se evalúa tomando como condiciones de frontera un esfuerzo y una velocidad de deformación finitos cuando $t \rightarrow \alpha$. Considerando estas condiciones, por simple inspección en el segundo término del lado derecho de la ecuación anterior la constante de integración vale cero.

Por tanto, la evaluación para el primer término requiere el uso de la regla de L'Hôpital, ya que tanto el numerador como el denominador tienden a cero $t \rightarrow \alpha$; obteniendo el limite cuando $\tau \rightarrow \alpha$:

$$\lim \tau_{ij}(t) = -\eta_0 \gamma_{ij}(t_\infty) \quad \text{A.14}$$

Por lo tanto, si la rapidez de deformación es finita a tiempos que se extienden a cero, el esfuerzo también lo será. Escribiendo nuevamente la ecuación anterior con el valor evaluado de C y con los límites de integración, tenemos:

$$\tau_{ij}(t) = - \int_{-\infty}^t \left[\frac{\eta_0}{\lambda_1} e^{-(t-t')/\lambda_1} \right] \gamma_{ij}(t') dt' \quad \text{A.15}$$

Lo señalado en la ecuación anterior entre paréntesis se denomina "*módulo de relajación del modelo de Maxwell*". Este modelo señala que el esfuerzo en un tiempo presente " t " es dependiente de la rapidez de deformación relativa en el tiempo t y en todos los tiempos pasados t' , con un factor de

ponderación que decrece exponencialmente conforme se retrocede en el tiempo. Este factor de ponderación se denomina "módulo de relajación".

Integrando la Ecuación A.15 por partes, se obtiene:

$$\tau_{ij}(t) = + \int_{-\infty}^t \left[\frac{\eta_0}{\lambda_1^2} e^{-(t-t')/\lambda_1} \right] \gamma_{ij}(t, t') dt' \quad \text{A.16}$$

En donde, el término entre corchetes es ahora denominado "*función memoria*". El factor exponencial en este término describe la memoria desvaneciente del material; esta nueva forma que adquiere el modelo describe al esfuerzo del material en el tiempo t como dependiente de la historia de las deformaciones para todos los tiempos t' intermedios entre t y α .

La teoría de viscoelasticidad lineal descansa en el principio de superposición de Boltzman, que Ferry ha citado como: "*Los efectos de cambios secuenciales en deformación son aditivos*".

Partiendo de este principio, se puede construir una superposición de modelos de Maxwell, en donde vamos a tener una sumatoria de deformaciones infinitesimales que van a generar efectos secuenciales (esfuerzos); por lo tanto, reescribiendo la Ecuación A.12 desde el punto de vista del k ésimo esfuerzo parcial, utilizando η_k y λ_k como constantes:

$$(\tau_{ij})_k + \lambda_k \frac{\partial (\tau_{ij})_k}{\partial t} = - \eta_k (\gamma_{ij})_k \quad \text{A.17}$$

$$\tau(t) = \sum_{k=1}^{\infty} \tau_k(t) \quad \text{A.18}$$

Resolviendo la Ecuación A.17, para τ_k e integrando por partes la ecuación resultante obtenemos los modelos de Maxwell generalizados desde el punto de vista del módulo de relajación Ecuación A.18 y de la función memoria:

$$\tau(t) = - \int_{-\infty}^t \left[\sum_{k=1}^{\infty} \frac{\eta_k}{\lambda_k} \exp^{-(t-t')/\lambda_k} \right] \gamma(t') dt' \quad \text{A.19}$$

$$\tau(t) = + \int_{-\infty}^t \left[\sum_{k=1}^{\infty} \frac{\eta_k}{\lambda_k} \exp^{-(t-t')/\lambda_k} \right] \gamma(t, t') dt' \quad \text{A.20}$$

Este modelo genera un gran espectro de tiempos de relajación y viscosidades. Algunos autores han propuestos algunas relaciones empíricas para acotar el límite superior de la sumatoria, para las cuales nos podemos remitir a la bibliografía especializada (Bird, R.B., Armstrong, R.C., Hassager, O., 1987).

Si comparamos las diversas formas que adquiere el modelo de Maxwell A.19 y A.20 y si, además, analizamos otros modelos viscoelásticos lineales propuestos, es notorio que todos adquieren una forma en común: *Una integral sobre todos los tiempos pasados de un módulo de relajación, o en su defecto de una función memoria, multiplicado por el tensor velocidad de deformación relativa para el caso de tener el modelo en función del módulo de relajación, o por el tensor de deformación relativa cuando este presente la función memoria. De esta forma, se supuso que podría ser más conveniente crear un modelo viscoelástico lineal general que incluya a todos los modelos lineales.*

Este modelo se puede escribir de las siguientes formas:

$$\tau(t) = - \int_{-\infty}^t G(t-t') \gamma(t') dt' \quad \text{A.21}$$

$$\tau(t) = + \int_{-\infty}^t M(t-t') \dot{\gamma}(t,t') dt' \quad \text{A.22}$$

donde $M(t-t')$ de la ecuación, representa la derivada con respecto al tiempo de $G(t-t')$. Estas dos últimas ecuaciones son equivalentes únicamente cuando la rapidez de deformación relativa es finita en $t=-\alpha$. Para gradientes de desplazamientos infinitesimales, las funciones G y M contienen funciones materiales como η y λ mientras que el segundo término del integrando depende de la cinemática que se proporcione al material.

En muchas determinaciones reológicas de fluidos viscoelásticos incompresibles sometidos a pequeños desplazamientos han sido aplicadas con los inconvenientes de sus restricciones pero también han servido de respaldo para el análisis de eventos viscoelásticos no lineales.

A.1.3 ESPECTROS MECANICOS DINAMICOS A PARTIR DE LA TEORIA DE VISCOELASTICIDAD LINEAL

En esta sección se van a presentar expresiones de G' y G'' a partir de las cuales se obtiene el espectro de módulos de rigidez (G) y de tiempos de relajación de esfuerzos (λ). Partiendo de un experimento de cizalla oscilatoria

de pequeña amplitud en una geometría de placas paralelas, y utilizando el modelo de Maxwell Ecuación A.12, los únicos componentes del tensor de esfuerzos y del tensor de deformación no nulos para este sistema son los componentes en la dirección θ, z , por lo tanto el modelo de Maxwell se puede escribir como:

$$T_{\theta,z} + \lambda_1 \frac{\partial T_{\theta,z}}{\partial t} = -\eta_0 \gamma_{\theta,z} \quad \text{A.23}$$

El modelo anterior combina las dos ecuaciones clásicas constitutivas que describen el comportamiento ideal de un sólido elástico y de un fluido viscoso: La ley de Hooke y la Ley de Newton. Analizando el modelo se aprecia que, para el caso en estado estacionario se convierte en la ecuación de Newton de viscosidad, mientras que para el caso en que los cambios del esfuerzo con respecto al tiempo son de importancia, el término que contiene la derivada predomina en el primer miembro de la ecuación. Integrando este término con respecto al tiempo, se transforma en la ley de Hooke. Esta ecuación describe de manera simple a un fluido con características tanto elásticas como viscosas. Un análisis detallado se encuentra reportado en la literatura (Bird, R.B., Armstrong, R.C., Hassager, O., 1987).

Una forma de resolver esta ecuación es utilizando la transformada de Fourier para $u=\omega$, sin embargo, sí: $f(t)=0$ para $t<0$, la transformada de Fourier se convierte en la de Laplace en el dominio de las frecuencias.

Por lo tanto, usando la transformada de Laplace en el modelo de Maxwell, Ecuación A.23. donde, $\tau_{\theta z}=0$ para $t<0$, se obtiene la siguiente ecuación:

$$T_{\theta,z}(s) + \lambda_1 [s T_{\theta,z}(s) - T_{\theta,z}(0)] = \eta_0 \gamma_{\theta,z}(s) \quad \text{A.24}$$

Despejando de la ecuación anterior el esfuerzo de cizalla, y evaluando $\tau_{\theta\zeta}(0)$:

$$\tau_{\theta,z}(s) = \frac{\eta_0 \gamma_{\theta,z}(s)}{1 + s \lambda_1} \quad \text{A.25}$$

En consecuencia, el modelo de Maxwell en el dominio de frecuencias ($s=i\omega$) será:

$$\tau_{\theta,z}(i\omega) = \frac{\eta_0 \gamma_{\theta,z}(i\omega)}{1 + i\omega \lambda_1} \quad \text{A.26}$$

Por otra parte, sustituyendo: $\gamma_{\theta,\zeta} = i\omega \gamma_{\theta\zeta}$ en la ecuación A.26, se obtiene una expresión para el esfuerzo de cizalla en el dominio de frecuencias:

$$\tau_{\theta,z}(i\omega) = \frac{\eta_0 i\omega \gamma_{\theta,z}(i\omega)}{1 + i\omega \lambda_1} \quad \text{A.27}$$

A partir del análisis de las ecuaciones de cizalla oscilatoria de pequeña amplitud (Bird, R.B., Armstrong, R.C., Hassager, O., 1987), el módulo complejo G^* se define como la relación entre el esfuerzo de cizalla y la deformación relativa, por lo que empleando la ecuación anterior en la definición de G^* :

Sustituyendo en la ecuación anterior, η_0 por λG , y multiplicando y dividiendo el lado derecho de la ecuación anterior, por el conjugado del denominador, se obtiene la expresión:

$$G^*(i\omega) = \frac{i\omega \lambda_1 G + \omega^2 \lambda_1^2 G}{1 + \omega^2 \lambda_1^2} \quad \text{A.28}$$

Por otro lado, la componente elástica y viscosa del modulo complejo (G^*), se representan por la expresión:

$$G^*(i \omega) = G' + i G'' \quad \text{A.29}$$

Sustituyendo, la parte real e imaginaria de esta ecuación en la expresión anterior se obtienen los módulos dinámicos:

$$G''(\omega) = \frac{\omega \lambda_l G_l}{1 + \omega^2 \lambda_l^2} \quad \text{A.30}$$

$$G'(\omega) = \frac{\omega^2 \lambda_l^2 G_l}{1 + \omega^2 \lambda_l^2} \quad \text{A.31}$$

Empleando en las ecuaciones anteriores el principio de superposición de Boltzman, se obtienen las expresiones de los modelos dinámicos:

$$G'(\omega) = \sum_{k=1}^n \frac{\omega^2 \lambda_k^2 G_k}{1 + \omega^2 \lambda_k^2} \quad \text{A.32}$$

$$G''(\omega) = \sum_{k=1}^n \frac{\omega \lambda_k G_k}{1 + \omega^2 \lambda_k^2} \quad \text{A.33}$$

Las Ecuaciones A.32 y A.33 representan matemáticamente los datos experimentales de G' y G'' al modelo viscoelástico generalizado de Maxwell. Fijando un número finito de tiempos de relajación de acuerdo al intervalo de frecuencia experimental, y calculando los valores respectivos de G_k por medio de algoritmos de regresión no lineal, se obtiene un espectro de tiempos de relajación y módulos de rigidez. Existen otros modelos que se

han propuesto también en el régimen de viscoelasticidad lineal pero en este trabajo solo nos basaremos en el de Maxwell.

APÉNDICE B

REOMETRIA DE CIZALLA OSCILATORIA DE PEQUEÑA AMPLITUD

B.1 FLUJO DE CIZALLA SIMPLE NO ESTACIONARIO REOLOGICAMENTE, OSCILATORIO DE PEQUEÑA AMPLITUD

Este tipo de experimentos de pequeña amplitud nos proporciona información del material a tiempos muy cortos de observación, (0.1 a 100 s), aunque usualmente durante la experimentación, sólo se puede cubrir 2 o 3 décadas logarítmicas. El material se somete a un esfuerzo (o deformación) oscilatorio sinusoidal a un a frecuencia ω (Hz, rad/s), si el comportamiento viscoelástico es lineal, la respuesta del material (deformación o esfuerzo) oscilará también sinusoidalmente pero estará fuera de fase con la perturbación aplicada, tal como se muestra en la Figura B.1. La diferencia de fase entre el esfuerzo y la deformación así como la amplitud de la deformación (o esfuerzo) resultante, se miden y se utilizan para determinar las funciones materiales.

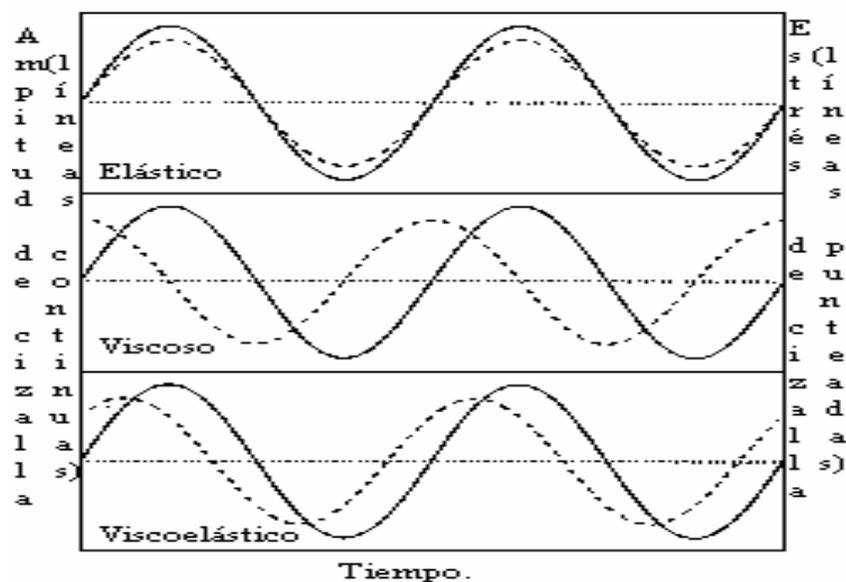


Figura B.1 Perfil de tiempo de un experimento de cizalla simple oscilatoria.

El desarrollo matemático para la obtención de las funciones materiales (G'' , G' , G^* , $\tan \delta$, η'' , η' , η^*) este tipo de pruebas implica las siguientes suposiciones:

1. Efectos de inercia despreciables
2. Deformación relativa homogénea
3. Oscilación armónica simple
4. La amplitud del esfuerzo es proporcional a la amplitud de la deformación
5. El desfaseamiento (δ) es independiente de la amplitud del esfuerzo o deformación aplicada
6. La deformación relativa es lineal.

En este ultimo punto es importante resaltar que previ6 al estudio reométrico se debe de verificar que la deformación relativa sea lineal, para que las funciones materiales obtenidas sean únicamente función del tiempo y no de la magnitud del esfuerzo o deformación impuesta al material; lo cual se puede observar con la evolución que tienen los módulos o la tangente de delta al incrementar la amplitud de oscilación manteniendo la frecuencia constante.

Así, partiendo de una deformación impuesta al material:

$$\gamma = \gamma_0 \text{ sen } (\omega t) \quad \text{B.1}$$

La respuesta del material a esta perturbación es:

$$\tau = \tau_0 \text{ COS } (\omega t + \delta) \quad \text{B.2}$$

Por lo que, usando la identidad trigonométrica:

$$\cos (a \pm \beta) = \cos a \cos \beta \pm \operatorname{sen} a \operatorname{sen} \beta \quad \text{B.3}$$

y adaptándola a la ecuación B.2:

$$\tau = \tau_0 \cos \delta \cos \omega t - \tau_0 \operatorname{sen} \delta \operatorname{sen} \omega t \quad \text{B.4}$$

dividiendo la ecuación anterior entre γ_0 :

$$\frac{\tau}{\gamma_0} = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \cos \omega t - \frac{\tau_0}{\gamma_0} \operatorname{sen} \delta \operatorname{sen} \omega t \quad \text{B.5}$$

De la ecuación anterior, tomamos los términos independientes de la amplitud de deformación aplicada que se consideren propiedades sólo del material (τ_0 / γ_0 y δ) y definimos a partir de ellos a los módulos dinámicos (G' y G''), tenemos:

$$G' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad \text{B.6}$$

$$G'' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad \text{B.7}$$

En donde G' y G'' son los módulos de almacenamiento y de pérdida, respectivamente; el primero indica la cantidad de energía que se almacena en el material en cada ciclo de deformación y el último es un indicativo de la cantidad de energía disipada durante cada ciclo de deformación y G'' es un indicativo de la cantidad de energía disipada durante cada ciclo de deformación. De esta manera, para un sólido perfectamente elástico, donde toda la energía se almacena y se recupera en cada ciclo, G'' tendrá un valor de cero y el esfuerzo y deformación estarán en fase ($\delta=0$); contrariamente, para un líquido perfectamente viscoso, donde toda la energía se disipa en forma de calor, G' tendrá un valor de cero y el esfuerzo y la deformación estarán desfasados 90° .

Por lo tanto, para un material viscoelástico donde tanto la componente elástica como la viscosa están presentes, el ángulo de desfase (δ) tendrá un valor intermedio entre 0° y 90° .

Por lo que, si se sustituye en la Ecuación B.5 las Ecuaciones B.6 y B.7, tenemos:

$$\tau = \gamma_0 (G' \cos \omega t - G'' \sin \omega t) \quad \text{B.8}$$

Si se comparan las Ecuaciones B.8 y B.1, es evidente que el término que contiene $\cos \omega t$ está en fase con la deformación impuesta y que el término que contiene $\sin \omega t$ está desfasado 90° con respecto a la deformación impuesta, por lo tanto G' y G'' también se pueden definir como:

$$G' = \frac{\text{amplitud del esfuerzo en fase con la deformación relativa}}{\text{Amplitud de la deformación relativa}}$$

$$G'' = \frac{\text{amplitud del esfuerzo fuera de fase } 90^\circ \text{ con la deformación relativa}}{\text{Amplitud de la deformación relativa}}$$

Dividiendo las Ecuaciones B.7 entre B.6, tenemos:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad \text{B.9}$$

Este parámetro adimensional es una relación entre la energía almacenada y disipada en cada ciclo de deformación. El valor de delta indica la tendencia del comportamiento del material, para un comportamiento completamente elástico el valor de delta será cero y para un comportamiento viscoso, delta valdrá 90° , por lo tanto materiales con tangentes de delta con tendencia a cero tendrán un comportamiento reológico donde predomine la componente elástica y viceversa.

Es común expresar los módulos en notación compleja y definir un módulo dinámico complejo, para tal efecto detallaremos la deducción haciendo uso de la ecuación de Euler:

$$e^{i\omega t} = \cos \omega t + i \operatorname{sen} \omega t \quad \text{B.10}$$

utilizando notación compleja, la Ecuación B.1 la podemos reescribir como:

$$\gamma = \gamma_0 \Re (e^{i\omega t}) \quad \text{B.11}$$

La respuesta del material a esta perturbación es:

$$\tau = \tau_0 \Re (e^{i(\omega t + \delta)}) \quad \text{B.12}$$

desarrollando la ecuación B.12 utilizando la ecuación de Euler y dividiendo entre γ_0 tenemos:

$$\frac{\tau}{\gamma_0} = \frac{\tau_0}{\gamma_0} (\cos \delta \cos \omega t - \operatorname{sen} \delta \operatorname{sen} \omega t) \quad \text{B.13}$$

Definiendo a G' y G'' como el componente en fase y desfasado 90° con la deformación, respectivamente, obtenemos nuevamente las funciones de los módulos dinámicos:

$$G' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \cos \delta \quad \text{B.14}$$

$$G'' = \frac{\tau_0}{\gamma_0} \sin \delta \quad \text{B.15}$$

Para definir el módulo complejo G^* , ubicamos al módulo G' y G'' en el plano complejo de tal forma que G' corresponda a la relación esfuerzo/deformación en fase con la deformación ($\delta=0$) y G'' al módulo o relación esfuerzo/deformación fuera de fase 90° con la deformación; sumando vectorialmente las dos componentes (elástica y viscosa) del comportamiento viscoelástico obtenemos:

$$G^* = G' + iG'' \quad \text{B.16}$$

y la magnitud del módulo complejo estará dada por la Ecuación B.17, de acuerdo a lo representado en el plano complejo:

$$|G^*|^2 = (G' + iG'')^2 \quad \text{B.17}$$

Para obtener la representación compleja del módulo complejo G^* , se sustituyen las Ecuaciones B.14 y B.15 en la ecuación B.16, que define G^* :

$$G^* = \frac{\tau_0}{\gamma_0} e^{i\delta} \quad \text{B.18}$$

Las expresiones anteriores son útiles para caracterizar materiales viscoelásticos. Donde, para el caso concreto de líquidos viscoelásticos es más práctico utilizar viscosidades, las cuales se han definido como las relaciones esfuerzo/ velocidad de deformación en fase con la rapidez de deformación (η') o desfasado 90° con respecto a la rapidez de deformación (η''). Por lo que para la deducción de estas expresiones se parte de un análisis similar al anterior pero la perturbación que se le aplica al material será una rapidez de deformación en lugar de una deformación relativa, por lo que derivando la Ecuación B.1 con respecto al tiempo para obtener la rapidez de deformación relativa, obtenemos:

$$\frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma} = -\gamma_0 \omega \text{ sen}(\omega t) \quad \text{B.18}$$

si definimos la amplitud de la rapidez de deformación como:

$$\dot{\gamma}_0 = \gamma_0 \omega \quad \text{B.19}$$

Combinando las ecuaciones anteriores se obtiene la perturbación que se le impone al material en función de la amplitud de la rapidez de deformación:

$$\frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma}_0 = -\gamma_0 \omega \sin(\omega t) \quad \text{B.20}$$

Donde la respuesta del material a esta perturbación será entonces:

$$\tau = \tau_0 \cos(\omega t + \delta) \quad \text{B.21}$$

y utilizando nuevamente la ecuación B.2 y dividiendo entre $\dot{\gamma}_0$, tenemos:

$$\frac{\tau}{\dot{\gamma}_0} = \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}_0} (\cos \delta \cos \omega t - \sin \delta \sin \omega t) \quad \text{B.22}$$

Relacionando la ecuación anterior junto con la Ecuación B.20, es claro que en este caso el componente en fase con la rapidez de deformación es el término que contiene la función seno, mientras que el término que involucra a la función coseno está fuera de fase en 90° con $\dot{\gamma}$; por lo tanto definiendo ahora dos nuevas funciones materiales, η' , y η'' , viscosidad en fase con la rapidez de deformación, o viscosidad dinámica, y viscosidad fuera de fase en 90° con la rapidez de deformación:

$$\eta' = \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}_0} \sin \delta \quad \text{B.23}$$

$$\eta'' = \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}_0} \cos \delta$$
B.24

Sustituyendo las ecuaciones anteriores en la Ecuación B.22, tenemos:

$$\tau = \dot{\gamma}_0 (\eta'' \cos \omega t - \eta' \sin \omega t)$$
B.25

la ecuación anterior expresa la respuesta de un material sometido a una rapidez de deformación oscilatoria, en función de las componentes en fase y fuera de fase con la rapidez de deformación.

Si se combina la ecuación anterior con la Ecuación B.20, tenemos:

$$\tau = \eta' \dot{\gamma} + \eta'' \dot{\gamma}_0 \cos \omega t$$
B.26

De lo anterior, para un material puramente viscoso, donde $\eta''=0$,

$$\eta' \rightarrow \eta(\dot{\gamma}) \text{ cuando } \omega \rightarrow 0$$

De igual manera que para el caso de los módulos dinámicos, se puede definir una viscosidad compleja, para lo cual partiremos de la definición de deformación y esfuerzo complejo:

$$\gamma^* = \gamma_0 (e^{i\omega t}) \quad \text{B.27}$$

$$\tau = \tau_0 (e^{i(\omega t + \delta)}) \quad \text{B.28}$$

derivando la ecuación de γ^* con respecto al tiempo obtenemos una expresión compleja de la rapidez de deformación:

$$\dot{\gamma}^* = \gamma_0 i\omega (e^{i\omega t}) \quad \text{B.29}$$

a partir de estas tres últimas expresiones se definirá η^*

$$\eta^* = \frac{\tau^*}{\dot{\gamma}^*} \quad \text{B.30}$$

sustituyendo B.28 y B.29 en la expresión anterior, tenemos:

$$\eta^* = \frac{\tau_0}{\gamma_0 i\omega} e^{i\delta} \quad \text{(B.31)}$$

y utilizando la fórmula de Euler y desarrollando el producto:

$$\eta^* = -i \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}_0} \cos \delta + \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}_0} \operatorname{sen} \delta \quad \text{B.32}$$

sustituyendo las expresiones que definen η' y η'' en la expresión anterior se llega a la ecuación que define a la viscosidad compleja en función de sus componentes, componente viscosa (η') y elástica (η'').

$$\eta^* = \eta' - i\eta'' \quad \text{B.33}$$

Resulta muy práctico tener ecuaciones que relacionen las viscosidades y los módulos dinámicos, las expresiones más sencilla se obtiene relacionando G' con η'' , G'' con η' y G^* con η^*

$$\omega = \frac{G'}{\eta''} \quad \text{B.34}$$

$$\omega = \frac{G''}{\eta'} \quad \text{B.35}$$

$$\omega = \frac{G^*}{\eta^*}$$

B.36

En base a lo anterior, es posible determinar las propiedades viscoelásticas lineales para los sistemas gelificantes para cada geometría en particular.

APÉNDICE C

PRUEBAS DE TEXTURA

C.1 GENERALIDADES SOBRE PRUEBAS DE TEXTURA

Las interacciones entre los ingredientes de un sistema alimenticio, casi siempre se reflejan en propiedades físicas como: resistencia al untado, estabilidad frente a la separación de fases, comportamiento al fluir o agitarse, cubierta y adhesión a superficies, respuesta al masticado y deglución y resistencia a la aplicación de fuerzas como las aplicadas al comprimir. Estas características físicas son conocidas como propiedades de textura (Tung y Paulson, 1995).

Las propiedades de textura de un alimento son definidas por Bourne (1982), como: "aquel grupo de características físicas que surgen de los elementos estructurales de los alimentos. Estas son percibidas por medio del sentido del tacto, se relacionan a la deformación-desintegración y flujo del alimento bajo una fuerza aplicada y son medidas objetivamente en función de la masa, el tiempo y la distancia". Debido a que la textura consiste de un número diferente de sensaciones físicas es preferible hablar de propiedades de textura, lo cual sugiere un grupo de propiedades relacionadas, más que la palabra "textura", la cual sugiere un sólo parámetro (Tung y Paulson, 1995).

El sabor, la apariencia y la textura son los tres principales atributos para la aceptación de un alimento (Bourne, 1982). En este contexto la textura de los alimentos es uno de los atributos primarios que conforman su calidad sensorial. La textura, es definida como el conjunto de propiedades reológicas y de estructura (geométricas y de superficie) de un producto perceptible por

los mecano-receptores, los receptores táctiles y en ciertos casos por los visuales y los auditivos (Bourne, 1982; Costell *et al.*, 1992). Los alimentos exhiben una amplia variedad de texturas y propiedades reológicas, por lo que se emplean diversos métodos para estimar estas propiedades. Es necesario clasificarlos en grupos para establecer el sistema de medición adecuado. Los métodos de medición de textura han sido divididos en tres clases (Szczesniak *et al.*, 1963):

MÉTODOS FUNDAMENTALES. En estos métodos se estiman las propiedades que son útiles para cálculos en ingeniería, por ejemplo; elasticidad, relación de Poisson y varios módulos tales como: Young, rigidez y compresión.

MÉTODOS EMPÍRICOS. En estos métodos se estiman las variables generalmente no muy bien definidas, pero que están bien relacionadas con algunos de los atributos mecánicos, tales como: punción, rigidez y extrusión. En el pasado, la mayoría de los atributos de textura de alimentos fueron estimados por este tipo de métodos.

MÉTODOS IMITATIVOS. En estos métodos, se intenta imitar con instrumentos mecánicos las condiciones de masticación del alimento en la boca. El principal de estos métodos es el conocido como análisis de perfil de textura, TPA (por sus siglas en inglés).

En el caso de la textura, las variables físicas son sólo estímulos parcialmente responsables de la sensación. Además, aún considerando sólo la parte de la sensación directa relacionada con las propiedades mecánicas, ésta se puede modificar por efecto de interacción con otros atributos sensoriales (sabor, color) y por determinadas connotaciones hedónicas que son difíciles de eliminar totalmente. En las medidas de textura uno de los principales puntos

es determinar cuando y como se fractura el alimento (Bourne, 1978, 1982). Las siguientes definiciones fueron desarrolladas por la Organización Internacional de Estandarización (Jowit, 1974; 1979):

1. Consistencia. "Todas las sensaciones resultantes de la simulación de los receptores mecánicos y táctiles, especialmente en la región de la boca, y que van variando con la textura del producto".

2. Duro. "Como una característica de textura describe un producto que muestra sustancial resistencia a la deformación o al rompimiento.

3. Suave. "Como una característica de textura describe un producto, el cual muestra poca resistencia a la deformación.

4. Blando. "Como una característica de textura describe un producto, el cual, durante la masticación, muestra una pequeña resistencia al rompimiento.

5. Firme. "Como una característica de textura describe un producto, el cual, durante la masticación, muestra resistencia moderada al rompimiento.

C.2 EVALUACIÓN DE PRUEBAS DE TEXTURA POR DIVERSOS MÉTODOS

Para evaluar los atributos de textura existen diversos métodos, los cuales pueden ser clasificados sobre la base del material que se prueba, o bien sobre la base de la geometría del instrumento de medición. En el Cuadro C.1, se muestran los tipos de pruebas que son utilizadas actualmente para medir la textura.

Cuadro C.1 Tipos de pruebas empleadas para medir las propiedades de textura (Bourne, 1982; Costell *et al.*, 1992)

OBJETIVAS		SUBJETIVAS	
<u>DIRECTAS</u>	<u>INDIRECTAS</u>	<u>ORALES</u>	<u>NO ORALES</u>
Fundamentales	Ópticas	Mecánicas	Dedos
Empíricas	Químicas	Geométricas	Mano
Imitativas	Acústicas y otras	Químicas	Otros

- Las pruebas objetivas pueden dividirse en directas e indirectas: Las directas son aquellas en las que se mide una propiedad real de los materiales y en las indirectas se miden propiedades físicas que se encuentran bien correlacionadas con una o más propiedades de textura.
- Las pruebas subjetivas pueden clasificarse como orales (se llevan a cabo en la boca) y como no-orales (se utiliza cualquier otra parte del cuerpo que no es la boca para medir las propiedades de textura). Las pruebas subjetivas se encuentran dentro del campo de estudio de análisis sensorial.

C.3 ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA

Un grupo de la compañía General Foods Corporation fue el primero en proponer una prueba que consistía en la compresión de un pedazo de alimento dos veces, en un movimiento recíproco que imita la acción de la boca. Lo anterior resulta en una curva fuerza-tiempo que proporciona algunos parámetros de textura que se han correlacionado con evaluaciones

sensoriales. El instrumento diseñado especialmente para este propósito es el texturómetro General Foods. En la Figura C.1, se muestra una curva típica de fuerza contra deformación obtenida con un texturómetro (Bourne, 1982; Costel *et al.*, 1992).

La altura del pico de fuerza en el primer ciclo de compresión (que corresponde a la primera mordida) fue definida como "dureza". En la Figura C.1, se aprecia el inicio de la primera compresión y el inicio de la segunda compresión. La "fracturabilidad" (originalmente conocido como la susceptibilidad a ser quebradizo) fue definida como la fuerza en que ocurre un rompimiento significativo en la curva de la primera mordida (mostrado como una línea punteada en la Figura C.1).

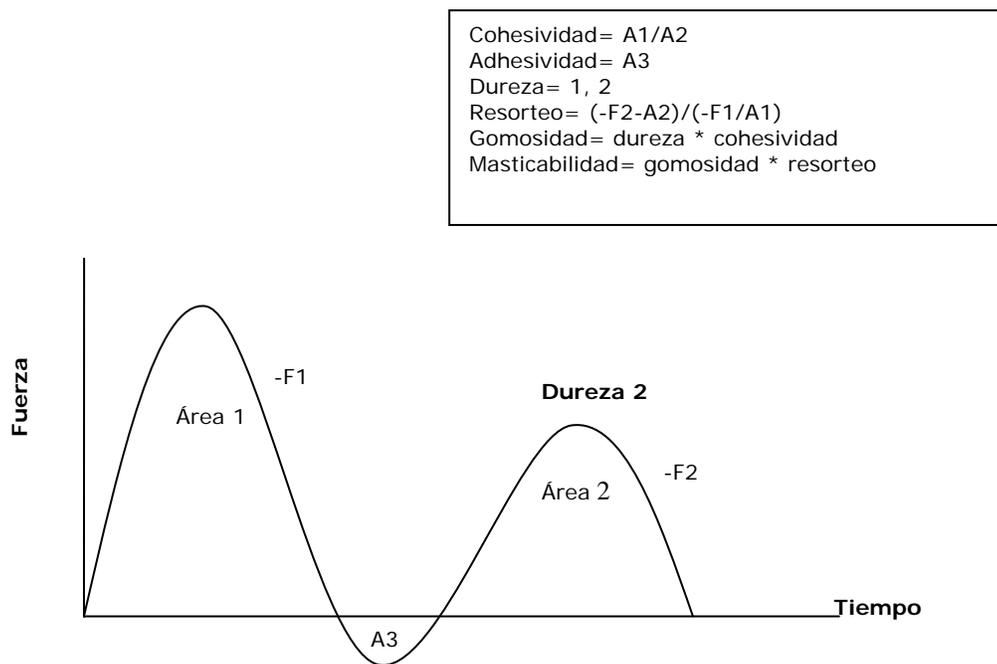


Figura C.1 Curva típica de análisis de perfil de textura obtenida por medio de un texturómetro.

Por otro lado, la relación de la fuerza en las áreas positivas bajo la primera y segunda compresiones (A_2/A_1) fue definida como "cohesividad". El área de fuerza negativa de la primera mordida (A_3) representa el trabajo necesario para jalar la pieza compresora fuera de la muestra y fue definida como "adhesividad". La distancia que el alimento recupera en altura durante el tiempo entre el final de la primera y el inicio de la segunda (BC) fue definida como "resorteo" (originalmente llamada "elasticidad"). Finalmente, otros dos parámetros se derivaron de cálculos a partir de los parámetros medidos: la "gomosidad" que fue definida como el producto de dureza * cohesividad; la "masticabilidad" que fue definida como el producto de gomosidad * resorteo (es decir, dureza * cohesividad * resorteo). Los parámetros de textura identificados por el grupo de General Foods dieron excelentes correlaciones con mediciones sensoriales (Szczesniak *et al.*, 1963). La Figura C.1 muestra la correlación para la escala de dureza. Se obtuvieron también altas correlaciones entre mediciones sensoriales e instrumentales para los otros parámetros de textura.

Los instrumentos para estimar los atributos de textura se pueden clasificar en dos grupos (Bourne *et al.*, 1982):

1) LOS QUE SON CAPACES DE MEDIR UNA VARIABLE

La mayoría de los métodos instrumentales desarrollados para medir características mecánicas de los alimentos se basan en la aplicación de una fuerza sobre ellos y el registro de su resistencia a la misma.

2) LOS QUE PERMITEN OBTENER EN UN SOLO ENSAYO DOS O MÁS VARIABLES

Actualmente existe un número de instrumentos desarrollados o adaptados para medir el comportamiento mecánico de los alimentos sólidos que, aunque difieren entre ellos en determinados aspectos, coinciden en dos puntos importantes:

- a) Pueden realizar diferentes tipos de ensayo con un mismo equipo básico adaptándole celdas de una medida y de distinta geometría.
- b) Registran la variación de la resistencia que opone el alimento a la fuerza aplicada y obtienen de este registro una información más amplia sobre el comportamiento mecánico del alimento durante los procesos de deformación y de ruptura, que la obtenida con un solo dato puntual.

Todos los instrumentos de este tipo suelen denominarse generalmente texturómetros universales (Instron, Sintech 1/S, MTS), y constan de tres partes esenciales:

- 1) La celda de carga, en la que se coloca el alimento y con la que se aplica la fuerza.
- 2) El sistema motriz que produce el desplazamiento de la celda de carga.
- 3) El sistema que mide y registra la respuesta mecánica de la muestra.

Henry *et al.*, (1971), proporcionaron un análisis más detallado de la porción de adhesividad de la curva del análisis de perfil de textura para alimentos semisólidos como postres, flanes, pudines y cubiertas batidas. Además del área de medición de adhesividad, ellos consideraron la máxima fuerza (simbolizada como F_a para denotar la firmeza bajo tensión) de recuperación

en la sección de adhesión entre la primera y segunda compresión (E_a para denotar recuperación elástica clásica bajo tensión), y la relación de las dos áreas de adhesión (C_a para denotar cohesividad bajo tensión). La gomosidad bajo tensión se calcula, $Ch_a = F_a * C_a * E_a$. También se estimaron la propiedad de “alargamiento” (o de manera inversa, compresibilidad) como la distancia a que el producto pudo ser extendido durante la descompresión antes de romperse. Sus experimentos mostraron que ocho de esos parámetros contribuyeron para más del 90 % de variación de cuatro factores sensoriales.

C.4 ANÁLISIS DE PRUEBAS DE COMPRESIÓN

El principio básico en las pruebas de textura es la ley de Hooke, que define el sólido ideal como aquel que se deforma instantáneamente y de forma proporcional a la magnitud de la fuerza aplicada y se recupera también instantáneamente al retirar la fuerza. El sólido elástico ideal es isotrópico y homogéneo, la tensión o esfuerzo aplicado se reparte uniformemente entre los enlaces interatómicos y la relación entre ésta y la deformación producida se mide según la ley de Hooke, por el valor del módulo de elasticidad, E .

Por otro lado, la ecuación de deformación de Hencky y el esfuerzo corregido fueron empleadas a partir de los datos de deformación y esfuerzo ingenieril, por medio de las ecuaciones (Tang *et al.*, 1996):

$$\varepsilon_h = -\ln(1 - \varepsilon_{eng}) \quad C-1$$

$$\sigma_c = \sigma_{eng} (1 - \varepsilon_{eng}) \quad C-2$$

Donde, la deformación al punto de fractura $[\varepsilon_f]$ y el esfuerzo $[\sigma_f]$ fueron determinados a partir de las curvas de compresión, tal como se ilustra en la

Figura C.2. Se sabe que, a un mayor porcentaje de deformación implica tener geles bastante deformables, y a un mayor esfuerzo de fractura contar con geles más rígidos. Por lo que, la firmeza del gel fue caracterizada a través del modulo de Young estimado éste en la porción lineal de la curva corregida de esfuerzo y deformación de Hencky.

Un análisis más detallado de pruebas de compresión reportado en la literatura para sistemas de mezclas de algunos hidrocoloides (por ejemplo; las carrageninas) se muestra en el Cuadro C.2. Los geles de carrageninas, por ejemplo, tienden a ser quebradizos lo cual puede verse como una desventaja. La respuesta de los geles mixtos depende, en cada caso, no sólo de su propia composición y estructura, sino también de las características y condiciones del ensayo de textura realizado.

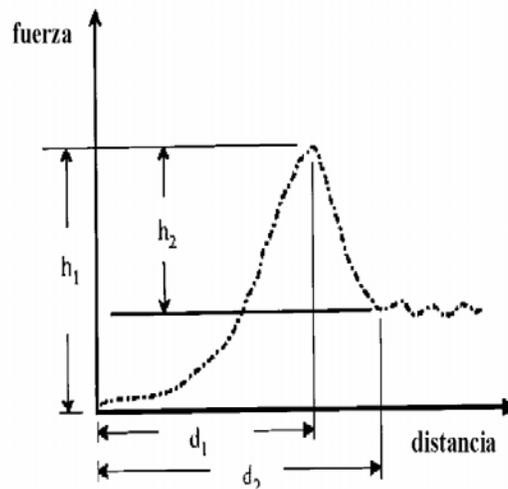


Figura C.2 Respuesta mecánica de fuerza – deformación en pruebas de compresión con sensores cilíndricos (Fuerza de fractura = h_1 ; Cohesividad = d_1 ; Rigidez = h_1/d_1) (Damasio *et al.*, 1990)

Existe poca información sobre el efecto que tienen las propiedades mecánicas a la compresión en hidrocoloides, ver Cuadro C.2, y en la

formación de geles mixtos (Damasio *et al.*, 1990). Lo anterior, debido en gran parte a las diferentes formas no uniformes de punzones cilíndricos empleados y a las condiciones en las que se registra la distancia a la compresión en sistemas gelificantes. La respuesta del producto depende, en cada caso, no sólo de su propia composición y estructura, sino también de las características y condiciones del ensayo.

La respuesta de un tipo de ensayo de compresión se aprecia en la Figura C.2, donde se relaciona la respuesta dinámica (esfuerzo) y las condiciones cinemáticas (deformación) y se obtienen atributos de textura, tales como, fuerza máxima de ruptura, cohesividad y rigidez. Utilizando distintos tipos de ensayos se puede obtener información diferente y complementaria cuya consideración conjunta permite analizar de forma más completa las propiedades mecánicas de un producto (Daget y Collyer, 1984).

En gran parte de los trabajos en los que se mide la resistencia a la compresión en productos gelificados, sólo se suele considerar un valor de la fuerza, que coincide con la ruptura cuando se utilizan punzones cilíndricos (Gerdes *et al.*, 1987) o que se registra la distancia a una compresión fija (Daget y Collyer, 1984). La posibilidad de realizar estos ensayos con texturómetros universales, permite el registro de las curvas de fuerza versus distancia y extraer de ellas más información de atributos de textura.

De esta manera, cuando se realizan ensayos con punzones cilíndricos se pueden obtener de las curvas, además de la fuerza de ruptura otros parámetros como la rigidez, la cohesividad y la resortividad definidos con estas palabras por su relación con los atributos sensoriales correspondientes. No siempre hay coincidencia respecto al cálculo de los mismos a partir de las curvas fuerza-distancia. Por ejemplo, Daget y Collyer, (1984) y Damasio *et*

al., (1990) definen la rigidez como la relación entre la fuerza de fractura y la distancia a que ésta se produce.

A su vez, Christensen y Trudsoe (1980), en un estudio realizado con diferentes geles de hidrocoloides, definen la rigidez como la fuerza necesaria para deformar el gel cuatro milímetros. Boyar *et al.*, (1983), la definen como la pendiente de la recta que une los puntos que correspondan al 10 y al 90 % de la fuerza de ruptura así como Daget y Collyer (1984), aunque también caben modificaciones como la introducida por Tanaka *et al.*, (1971), quienes definen la relación entre la fuerza a una distancia de compresión determinada y esta distancia como un índice de la dureza del producto.

Algunos ejemplos de datos experimentales con pruebas de penetración se muestran en la Figura C.3. Los resultados presentan el efecto de la composición en la resistencia a la compresión de sistemas de κ -carragenina con algarrobo y goma guar a dos concentraciones de la mezcla resultante de 0.5 % y 0.75 % y la proporción de las gomas varió de 0 a 70 %, siendo significativos a estas relaciones en la fuerza de ruptura, sobre todo a una concentración de 0.75 % de la mezcla total de κ -carragenina con algarrobo (Damasio *et al.*, 1990).

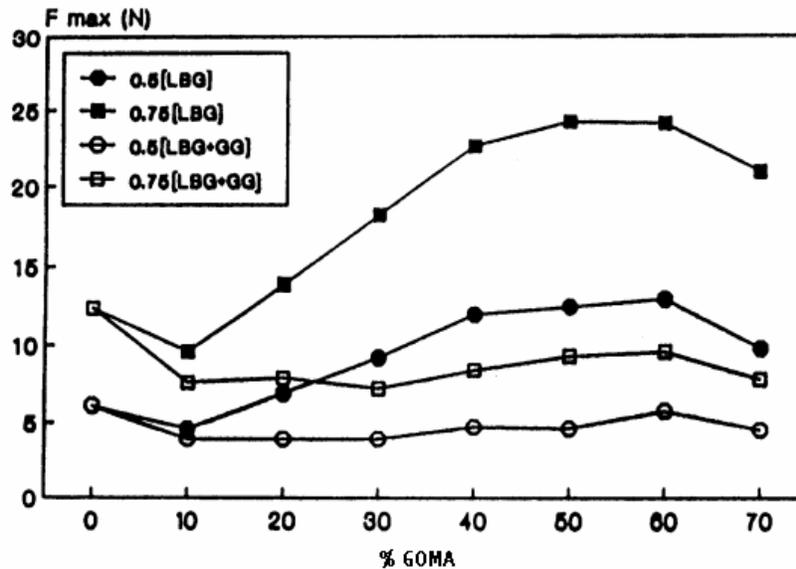


Figura C.3 Evolución de la máxima fuerza de ruptura (F_{max}) para κ -carragenina + algarrobo y κ -carragenina + algarrobo (LBG) + goma guar a una concentración total de la mezcla de 0.5 % y 0.75 % como función del porcentaje de sustitución de los hidrocoloides (Damasio *et al.*, 1990).

Otro ejemplo de pruebas de compresión en mezclas de κ -carragenina y algarrobo, es el estudio reportado por Chen *et al.*, (2001), donde se aprecia como en este tipo de sistemas de mezclas además de la adición de cada uno de los hidrocoloides en la mezcla, también juega un papel importante el efecto que tiene la fuerza iónica en la respuesta final, tal como se aprecia en la Figura C.4.

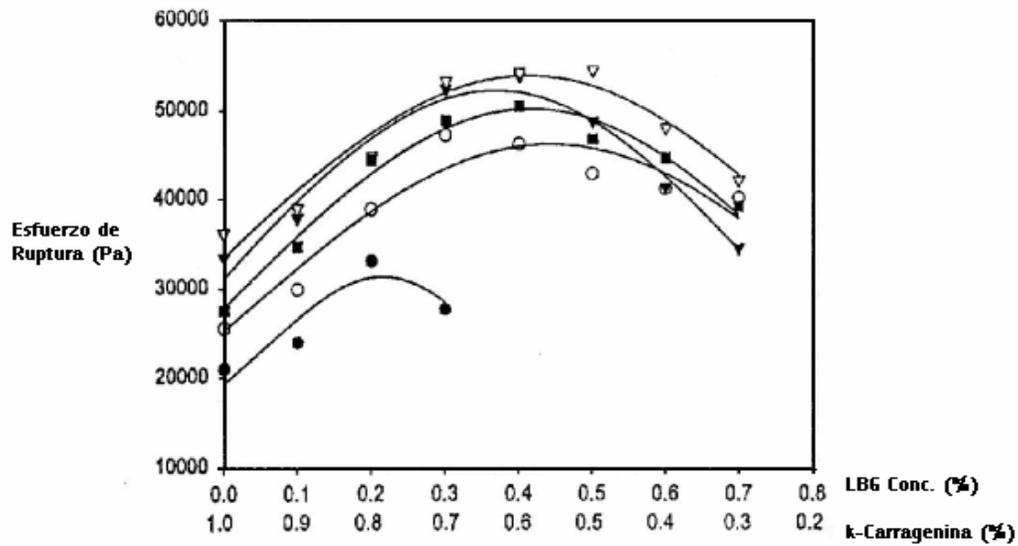


Figura C.4 Evolución de la fuerza de ruptura para κ -carragenina + algarrobo (LBG) de la mezcla como función de la cantidad de KCl adicionada (0.0, 0.01 M, 0.05 M, 0.1 M, 0.2 M) (Chen *et al.*, 2001).

Cuadro C.1 Parámetros reportados en los ensayos a la compresión

MATERIALES	PRUEBAS DE COMPRESIÓN	RELACIÓN DE LOS COMPONENTES	Fuerza de ruptura	Cohesión	Rigidez	Resor-tividad	Referencia
* κ-carragenina (Genugel, UPC) *Algarrobo (Cesagum No1.) *Goma guar (THI/25 Ceratonina S.A.)	- Al 65 %, 30 mm/min. - Concentración total del 0.5 y del 0.75 % (p/p). -Recipientes cilíndricos de 65 mm de diámetro y 35 mm de altura. - Punzón cilíndrico de 12.74 mm de diámetro (TA-10).	CONCENTRACIÓN: κ C (0.5%) κ C (0.35)/GAR(0.15) κ C (0.25)/GAR(0.25) κ C (0.15)/GAR(0.35) κ-C (0.75%) κ-C (0.525)/GAR(0.225) κ-C (0.375)/GAR(0.375) κ-C (0.225)/GAR(0.525) -Envejecimiento del gel: 24 h a 25 °C.	<u>(N)</u> 2.62 3.58 4.44 3.28 4.27 6.39 7.26 5.37	<u>(cm)</u> 1.72 1.77 2.02 2.26 1.76 1.76 2.06 2.28	<u>(N/cm)</u> 1.52 2.01 2.20 1.45 2.43 3.63 3.53 2.36	<u>(N/cm)</u> 62.3 25.0 5.3 2.7 43.4 13.7 4.1 4.2	Damasio <i>et al.</i> , 1990.
*κ-carragenina (CS-47, Sanei Kagaku Kogyo) *Algarrobo *Goma Tara *Goma guar (Unipectin, Co.)	-Al 80 %, 300 mm/min. -Concentración total 1 %.(p/p) -Recipientes cilíndricos de 50 mm de diámetro y 18 mm de altura. -Punzón cilíndrico de 12.00 mm de diámetro.	κ-C (1.0%) κ-C (0.70)/L(0.30) κ-C (0.50)/L(0.50) κ-C (1.0%) κ-C (0.70)/T(0.30) κ-C (0.50)/T(0.50) κ-C (1.0%) κ-C (0.70)/G(0.30) κ-C (0.50)/G(0.50) -Envejecimiento del gel: 20 h a 5 °C.	11.78 84.43 62.83 11.78 29.45 21.59 11.78 3.92 -	0.22 0.53 0.11 0.22 0.35 0.43 0.22 0.22 -	- - - - - - - -	- - - - - - - -	Murayama <i>et al.</i> , 1995.
* κ -carragenina Satiagel-MR 150, Satia, CECA) *Alarrobo (Certonia Siliqua, Satiagel, CACA)	-Al 5%, 50 mm/min (Instron, celda carga: 20 N) -Concentración total 3 % (p/p) -Cilindros de 2.5 cm de diámetro y 2.5cm de altura. -Punzón cilíndrico.	κ-C (3.0%) κ-C(2.7)/Algarrobo(0.30) κ-C(2.4)/Algarrobo (0.60) κ-C(2.1)/Algarrobo (0.90) -Envejecimiento del gel: 24 h a 4 °C.	9.82 19.64 14.91 3.928	-			Arnaud <i>et al.</i> , 1989