



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“VISCOELASTICIDAD Y COMPORTAMIENTO AL
FLUJO DE EMULSIONES ELABORADAS CON
MEZCLAS DE CASEINATO DE SODIO Y
ALGINATO DE SODIO”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

IGNACIO EUSTAQUIO LOZANO ESQUIVEL

YAZMIN REBECA PONCE DE LEON RAMIREZ

ASESORAS: DRA. LAURA PATRICIA MARTINEZ PADILLA
M.C. MA. GUADALUPE SOSA HERRERA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

~~AGRADECIMIENTOS~~

A Dios por haberme guiado en todas las decisiones tomadas durante el trayecto de la realización de esta tesis.

A la Virgen de Guadalupe por haber estado conmigo en todos los momentos felices y sobre todo en los difíciles de este logro profesional.

A mis Padres a quienes la ilusión de su vida ha sido convertirme en persona de provecho. A quienes nunca podré pagar todos sus desvelos ni aún con las riquezas más grandes del mundo. Porque gracias a su apoyo y consejo, he llegado a realizar la más grande de mis metas. La cual constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir. Deseo de todo corazón que mi triunfo profesional lo sientan como suyo.

A mis Hermanos a quienes les agradezco infinitamente su valiosa contribución en forma de apoyo incondicional de todo tipo, confianza y buenos consejos llenos de amor y cariño los cuales me ayudaron a completar la terminación del proyecto más importante de mi vida.

A todos mis Grandes Amigos de la Generación 24 los cuales siempre estuvieron pendientes del desarrollo de este trabajo haciéndolo con esto suyo, mostrándome con lo anterior la amistad sincera y desinteresada que siempre me han ofrecido, por todo esto se los agradezco de todo corazón.

A todos mis Tíos y Abuelos quienes con sus palabras de aliento y buenos deseos, me ayudaron enormemente para alcanzar este logro profesional, el cual representa sin lugar a dudas el más importante para mi persona.

A las Doctoras Lupita Sosa y Patricia Martínez quienes dejaron a un lado el rango académico que poseen y se mostraron como unas verdaderas compañeras de trabajo, las cuales ayudaron infinitamente para la realización de esta tesis a través de la aportación de conocimientos en forma de asesoría académica. En verdad le doy gracias a Dios que existen personas tan preparadas y sencillas como ustedes, las cuales están dispuestas a poner el conocimiento a disposición de todo aquel que lo necesite, en verdad muchas gracias.

A mis Sinodales quienes mediante su valiosa aportación de ideas y conocimientos, permitieron que el desarrollo y conclusión de este trabajo se llevará a cabo de la mejor manera posible, con la única finalidad de ofrecer un trabajo de calidad a todo aquel que lo desee consultar.

Con toda mi Admiración y Respeto

Nacho

Gracias a Dios.

Dedico todos mis logros

A mi Familia,

A todos los que fueron,

A todos los que son y

A todos los que serán...

Con Cariño Yaz

ÍNDICE

Resumen	1
1. Introducción	2
2. Antecedentes	4
2.1 Hidrocoloides	4
2.2 Caseinato de sodio	6
2.2.1 La micela de caseína	8
2.2.2 Propiedades fisicoquímicas y funcionales	9
2.3 Alginato de sodio	10
2.3.1 Composición	11
2.3.2 Propiedades físicas	12
2.3.2.1 Solubilidad	12
2.3.2.2 Viscosidad	12
2.3.2.3 Gelificación	14
2.4 Emulsiones	15
2.4.1 Definición	16
2.4.2 Formación	18
2.4.3 Estabilidad	18
2.5 Reología	24
2.5.1 Conceptos básicos	25
2.5.1.1 Fuerza	25
2.5.1.2 Esfuerzo	25
Tensor de esfuerzos	25
2.5.1.3 Deformación	26
Tensor de deformación	26
2.5.1.4 Velocidad de cizalla	27
2.5.2 Comportamiento reológico de los materiales	27
2.5.2.1 Sólidos	29
Ideales	29
No ideales	29
2.5.2.2 Fluidos	30
Ideales	30
No ideales	32
2.5.2.3 Materiales Viscoelásticos	37
2.5.3 Caracterización reológica	37
2.5.3.1 Métodos de determinación de propiedades viscoelásticas ...	37

	Pruebas dinámicas	37
2.6	Potencial zeta	44
2.6.1	Modelo de la doble capa eléctrica	44
2.6.2	Factores que afectan el potencial zeta	47
3.	Desarrollo experimental	48
3.1	Objetivos	48
3.2	Justificación	49
3.3	Materiales y métodos	49
3.3.1	Preparación de muestras	49
3.3.2	Caracterización reológica	51
3.3.3	Potencial zeta	52
3.3.4	Tamaño y distribución de partícula	52
4.	Resultados y análisis de resultados	54
4.1	Sistemas acuosos	54
4.1.1	Comportamiento al flujo y viscoelasticidad	54
4.1.1.1	Componentes individuales	54
4.1.1.2	Mezclas	62
4.1.2	Potencial zeta	65
4.1.2.1	Componentes individuales	65
4.1.2.2	Mezclas	67
4.1.3	Tamaño y distribución de partícula	70
4.1.3.1	Componentes individuales	70
4.1.3.2	Mezclas	74
4.2	Emulsiones	78
4.2.1	Comportamiento al flujo y viscoelasticidad	78
4.2.1.1	Componentes individuales	78
4.2.1.2	Mezclas	82
4.2.2	Tamaños y distribución de partículas	89
4.2.2.1	Componentes individuales	89
4.2.2.2	Mezclas	93
4.2.3	Microscopía	97
4.2.3.1	Componentes individuales	97
4.2.3.2	Mezclas	100
5.	Conclusiones	105
6.	Referencias Bibliográficas	107

ÍNDICE DE FIGURAS

2.1	Modelo de la micela de caseína	9
2.2	Tipos de bloques en alginatos	13
2.3	Probable mecanismo de interacción entre el alginato y los iones calcio	14
2.4	Interacciones de iones Ca^{++} y grupos COO^-	15
2.5	Tipos de emulsiones	17
2.6	Mecanismos físicos de desestabilización en una emulsión	20
2.7	Esfuerzos típicos sobre un material	25
2.8	Clasificación del comportamiento reológico de los materiales	28
2.9	Fluido newtoniano	31
2.10	Gráficas en estado estacionario de diferentes modelos reológicos	33
2.11	Comportamiento de fluidos dependientes del tiempo	36
2.12	Respuesta de materiales sólidos, líquidos, y viscoelásticos en una prueba dinámica	38
2.13	Ejemplo de un espectro mecánico de una sustancia de bajo peso molecular	40
2.14	Espectro mecánico de sustancias de alto peso molecular	41
2.15	Espectro mecánico de sustancias con redes esterificadas	43
2.16	Modelo de la doble capa eléctrica	44
2.17	Variación en la concentración de iones positivos (contraiones) y negativos (coiones) con la distancia de un coloide negativo	45
2.18	Presencia de la doble capa eléctrica	46
2.19	Influencia del tipo y concentración de electrolitos (a) y del pH de proteína ácida sobre el potencial zeta (b)	47

4.1	Viscosidad de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1% (a) y 2% (b)	55
4.2	Viscosidad de sistemas acuosos de alginato de sodio al 0.1%	57
4.3	Espectros mecánicos de sistemas acuosos de alginato de sodio al 0.1 % (a) y valores respectivos de $\tan \delta$ (b)	61
4.4	Viscosidad de sistemas acuosos de mezclas de alginato de sodio al 0.1% con caseinato de sodio al 1% (a) y 2% (b)	63
4.5	Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1%. a) pH 5.4 sin CaCl_2 , b) pH 5.4 con CaCl_2 , c) pH 6.3 sin CaCl_2 y d) pH 6.3 con CaCl_2	71
4.6	Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 2%. a) pH 5.4 sin CaCl_2 , b) pH 5.4 con CaCl_2 , c) pH 6.3 sin CaCl_2 y d) pH 6.3 con CaCl_2	73
4.7	Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%. a) pH 5.4 sin CaCl_2 , b) pH 5.4 con CaCl_2 , c) pH 6.3 sin CaCl_2 y d) pH 6.3 con CaCl_2	75
4.8	Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1%. a) pH 5.4 sin CaCl_2 , b) pH 5.4 con CaCl_2 , c) pH 6.3 sin CaCl_2 y d) pH 6.3 con CaCl_2	77
4.9	Viscosidad de emulsiones de caseinato de sodio al 1%	80
4.10	Viscosidad de emulsiones de caseinato de sodio al 2%	81
4.11	Viscosidad de emulsiones de mezclas de alginato de sodio al 0.1% con caseinato de sodio al 1% (a) y 2 % (b)	83
4.12	Espectros mecánicos de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1% (a) y valores respectivos de $\tan \delta$ (b)	87
4.13	Espectros mecánicos de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1% (a) y valores respectivos de $\tan \delta$ (b)	88

4.14	Comportamiento del diámetro promedio de partícula con respecto al tiempo de emulsiones de caseinato de sodio al 1%	91
4.15	Comportamiento del diámetro promedio de partícula con respecto al tiempo de emulsiones de caseinato de sodio al 2%	93
4.16	Comportamiento del diámetro promedio de partícula con respecto al tiempo de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%	94
4.17	Comportamiento del diámetro promedio de partícula con respecto al tiempo de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1%	96
4.18	Micrografías de emulsiones de caseinato de sodio al 1%	98
4.19	Micrografías de emulsiones de caseinato de sodio al 2%	100
4.20	Micrografías de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%	102
4.21	Micrografías de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1%	104

ÍNDICE DE CUADROS

2.1	Clasificación de los hidrocoloides de acuerdo a su origen de extracción	5
2.2	Propiedades físicoquímicas de las caseínas	7
2.3	Fuentes de extracción de alginatos	11
2.4	Factores que afectan la estabilidad en una emulsión	19
2.5	Mecanismos de estabilización	21
2.6	Mecanismos de desestabilización	22
2.7	Fluidos no ideales	32
3.1	Resumen de los sistemas acuosos elaborados	50
4.1	Propiedades reológicas de sistemas acuosos de caseinato de sodio	56
4.2	Propiedades reológicas de sistemas acuosos de alginato de sodio al 0.1%	59
4.3	Propiedades reológicas de mezclas de alginato de sodio con caseinato de sodio en medio acuoso	64
4.4	Potencial zeta de sistemas acuosos de caseinato de sodio y alginato de sodio	66
4.5	Potencial zeta de mezclas de caseinato de sodio con alginato de sodio en medio acuoso	68
4.6	Diámetro promedio de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1%	71
4.7	Diámetro promedio de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 2%	73
4.8	Diámetro promedio de partícula de sistemas acuosos de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%	75
4.9	Diámetro promedio de partícula de sistemas acuosos de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1%	77
4.10	Propiedades reológicas de emulsiones de caseinato de sodio	81

4.11 Propiedades reológicas de emulsiones de mezclas de alginato de sodio al 0.1% con caseinato de sodio	84
---	----

NOMENCLATURA

F	=	Fuerza (N)
A	=	Área (m^2)
σ	=	Esfuerzo de cizalla (Pa)
σ_0	=	Esfuerzo inicial (Pa)
σ_e	=	Es el esfuerzo de cizalla de equilibrio (Pa)
η	=	Viscosidad dinámica, absoluta o newtoniana (Pa.s)
η_a	=	Viscosidad aparente (Pa.s)
η_p	=	Viscosidad plástica (Pa.s)
η_0	=	Viscosidad límite a cero velocidad de cizalla (Pa.s)
η_∞	=	Viscosidad límite a infinita velocidad de cizalla (Pa.s)
$\dot{\gamma}$	=	Velocidad de cizalla (s^{-1})
γ_0	=	Amplitud de la deformación
G'	=	Módulo de almacenamiento (Pa)
G''	=	Módulo de pérdida (Pa)
$\tan \delta$	=	Tangente del ángulo de desfaseamiento
G_1	=	Valor de la meseta (Pa)
t_R	=	Tiempo de relajación (s)
ω	=	Frecuencia angular (Hz)
K	=	Índice de consistencia ($Pa \cdot s^n$)
K_c	=	Constante de Casson
K_j	=	Constantes cinéticas de degradación estructural.
n	=	Índice del comportamiento al flujo (adimensional)
a, c	=	Factores de dimensiones (s^{-1}, s^{-3}, s^{-5})

RESUMEN

En el presente trabajo se analizó el comportamiento reológico (pruebas de flujo en cizalla estacionaria y viscoelásticas en cizalla oscilatoria) y fisicoquímico (potencial zeta y tamaño de partícula) de sistemas acuosos y emulsiones elaboradas con caseinato de sodio y alginato de sodio. Los sistemas coloidales fueron evaluados utilizando a los hidrocoloides por separado y en mezcla, a concentraciones de 1 y 2% el caseinato de sodio y 0.1% el alginato de sodio, con y sin la presencia de 5 mM de CaCl_2 , además de tener dos niveles de variación de pH, 5.4 y 6.3. Se determinó el tipo de fluido y se ajustó el modelo reológico de cada una de las muestras, tanto en sistema acuoso como en emulsión. Por otra parte, la determinación del espectro mecánico en medio acuoso se realizó en las muestras de alginato de sodio con Ca^{++} , presentándose la formación de un gel débil en un pH de 5.4 y de un gel fuerte cuando se manipula a pH de 6.3, mientras que en emulsiones, las mezclas fueron las únicas que presentaron características viscoelásticas, mostrándose espectros mecánicos típicos de un gel físico o intermedio en las muestras en las que se adicionó Ca^{++} y espectros característicos de un gel débil en las muestras que no contenían este catión. El potencial zeta de los sistemas acuosos individuales caseinato y alginato es menor cuando se adicionan iones Ca^{++} e iones Na^+ , estos últimos proporcionados por el amortiguador de pH 5.4, en comparación a las mismas muestras a pH 6.3; debido a que los iones tienden a neutralizar la carga negativa. Las mezclas de alginato de sodio con caseinato de sodio producen valores de potencial zeta intermedios en comparación con los componentes individuales, lo cual demuestra que existen cambios en la interacción electrostática entre las partículas de proteína-polisacárido. El efecto que tiene el pH y la adición de iones en la distribución y tamaño de partícula de los sistemas acuosos individuales de caseína es mayor cuando el sistema se encuentra al 1%, en comparación con 2% debido a una relación molar menor de caseinato/iones calcio. En las mezclas la distribución y tamaño de partícula sigue siendo dependiente de la adición de iones pero a diferencia de los sistemas individuales de caseinato de sodio existe mayor incremento en el diámetro promedio cuando se maneja a un pH de 6.3 en comparación a 5.4, lo cual se atribuye a la formación de redes cada vez más fuertes cuando el pH se encuentra cercano al neutro.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad en la industria de los alimentos cada vez es más frecuente el uso de polisacáridos y proteínas que ayudan a formar y estabilizar diversos sistemas coloidales. Dentro de estos sistemas se pueden mencionar algunos como espumas, geles, suspensiones y emulsiones, los cuales deben poseer características físicas, fisicoquímicas, termodinámicas y reológicas que les permitan tener un mejor equilibrio entre sus diferentes fases. La mejora de estas características por parte de las proteínas y los polisacáridos depende en gran medida de las interacciones de estos hidrocoloides con los otros constituyentes de los alimentos como lípidos, agua y sales. Además, influyen en ellas el pH, la temperatura, la fuerza iónica, la constante dieléctrica del medio en que se encuentran, así como el tipo y la concentración de proteína y/o polisacárido empleado (*Badui, 1993*).

En algunos sistemas como las emulsiones se presenta una inestabilidad termodinámica, la cual puede ocasionar que después de un intervalo de tiempo las moléculas de la fase dispersa tiendan a agregarse para formar una capa que pueda precipitar o subir a la superficie, según las densidades de las fases. Por lo tanto, la formación de emulsiones estables necesariamente requiere de agentes emulsificantes que ayuden al equilibrio y estabilización entre sus fases. Esta estabilidad puede ser favorecida por la adición de una proteína, la cual es un agente que reduce la tensión interfacial entre las dos fases impidiendo la reagrupación de la fase dispersa (coalescencia) y promoviendo que los glóbulos sean pequeños y de formación uniforme; o bien por la adición de un polisacárido que tiende a incrementar la viscosidad de la fase continua logrando así que la fase dispersa requiera de mayor esfuerzo para su desplazamiento. Cabe mencionar que es importante el tipo de polisacárido o proteína empleado, ya que es uno de los factores que se debe tomar en cuenta al considerar otro de los fenómenos no deseados en emulsiones, la floculación (*Fennema, 2000*).

En el caso de emulsiones estabilizadas con compuestos de bajo peso molecular, como electrolitos y sustancias tensoactivas, el grado de floculación está influenciado por las fuerzas de atracción de London-Van der Waals y por la repulsión electrostática entre las dobles capas de igual signo existentes en la superficie de los glóbulos de aceite. Sin embargo, en el caso de emulsiones estabilizadas con agentes macromoleculares como son las proteínas y los polisacáridos, que es el caso de las emulsiones alimenticias, el grado de floculación se ve

afectado por factores estéricos, los cuales ocasionan que estos polímeros no sean adsorbidos en su totalidad en la superficie de los glóbulos disminuyendo así la efectividad de cada uno de ellos (*Lynch y Griffin, 1984*).

Es evidente que existe un gran número de elementos que pueden afectar las propiedades de mezclas de polisacáridos y proteínas en medio acuoso, y también la estabilidad, comportamiento reológico, y consistencia de las emulsiones. En la actualidad se han realizado muchos estudios sobre sistemas acuosos y emulsiones de caseinato de sodio, así como su aplicación en alimentos (*Dickinson y Davies, 1999; Dickinson y Radford, 2003; Dickinson, 2003*). Sin embargo, poco se ha reportado del caseinato de sodio en combinación con el alginato de sodio. Entre los pocos estudios que se han realizado en estos sistemas, caseinato de sodio-alginato de sodio, se tiene reportado el diagrama de fases, propiedades de tensión superficial, equilibrio de fases y propiedades reológicas (*Guido y col., 2003; Capron y col., 2001*). Cabe mencionar que los trabajos antes descritos se han realizado para sistemas acuosos, y tomando en cuenta que existe un gran interés por la aplicación de emulsiones en alimentos, en el presente proyecto se tiene como prioridad estudiar, a través de medios fisicoquímicos y reológicos, las propiedades de caseinato de sodio y alginato de sodio solos y en mezcla, tanto en solución acuosa, como también en su combinación con aceite para formar una emulsión.

2. ANTECEDENTES

2.1 Hidrocoloides

En las últimas décadas se ha aumentado de forma considerable la producción de sustancias capaces de impartir características de estabilidad, apariencia y textura en productos alimenticios, las cuales son conocidas con el nombre de *hidrocoloides* (Phillips y Williams, 2002). El término *hidrocoloide* se define como una sustancia biopolimérica, hidrofílica, y de un alto peso molecular, que cuando se disuelve en una solución acuosa es capaz de producir espesamiento, gelificación, emulsificación, estabilización, y suspensión (Barbosa, 1993; Nishinari y Takahashi, 2003).

La clasificación de los hidrocoloides (polisacáridos y proteínas) puede estar basada en diferentes criterios como su uso o aplicación. Sin embargo, generalmente éstos son clasificados de acuerdo al origen de su extracción (Cuadro 2.1).

La gran variedad de hidrocoloides que existen difieren entre ellos en peso molecular, ramificación de la cadena, carga y presencia de grupos que forman enlaces de hidrógeno, lo cual ha originado que cada uno se caracterice por tener distintas propiedades funcionales cuando se es adicionado a un medio acuoso (Miller, 2001).

Hoy en día, muchas de estas funciones han sido aplicadas a productos alimenticios para incrementar la viscosidad (espesamiento), modificar la estructura del producto de líquido a semisólido o sólido (gelificación), mantener estables las condiciones originales iniciales del producto por un corto y mediano tiempo, impartir características tixotrópicas que mantienen a las partículas en flotación (suspensión de partículas), inhibir la cristalización de azúcar, clarificar, y para controlar sus propiedades reológicas, siendo las dos primeras sus dos más importantes funciones (Sánchez y col., 1995; Vélez y col., 2003).

La adición de hidrocoloides de forma individual no ha sido la única forma de aplicación en productos alimenticios; el uso de mezclas debido a la capacidad que tienen éstos para realizar asociaciones con otros ingredientes de tipo polisacárido-polisacárido y proteína-polisacárido, han sido ocupadas en los últimos años para la modificación de las propiedades del producto (Dickinson, 2003).

Cuadro 2.1. Clasificación de los hidrocoloides de acuerdo a su origen de extracción.

Polisacáridos			Proteínas
Naturales	Modificadas	Sintéticas	Naturales
<p><i>Exudados de Plantas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Arábiga • Tragacanto • Ghatti 	<p><i>Derivados de Celulosa</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • CMC • Metilcelulosa • Hidroxietilcelulosa • Hidroxipropilcelulosa 	<ul style="list-style-type: none"> • Polivinilpirrolidona (PVP) • Polímeros de carboxivinil (Carbopol) • Polímeros de óxido de polietileno (Poliox) 	<p><i>Derivados de Animales</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Gelatina • Albúmina • Caseinatos
<p><i>Extractos de algas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Agar • Alginatos • Carrageninas 	<p><i>Otros derivados Modificados</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Almidones • Pectinas bajas en grupos metoxil • Alginato de propilenglicol 		
<p><i>Extractos de semillas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Guar • Locust bean • Psyllium 			
<p><i>Extractos de Plantas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Pectina • Arabinogalactan 			
<p><i>Fermentación microbiana</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Dextrana • Xantana • Gelana 			

Fuente: Mitchel y Blanshard, 1979 .

Cuando se mezclan dos biopolímeros, como las proteínas y los polisacáridos, sus interacciones modifican la funcionalidad de cada uno de ellos alterando sus propiedades reológicas, de solubilidad y características gelificantes, sin embargo, estas interacciones no siempre provocan una mejora en estas propiedades, sino que en ocasiones ocurre lo contrario, lo cual está en función de la presencia o ausencia de cualquiera de los dos siguientes fenómenos (Phillips y Williams, 2002):

Antagonismo: se debe a la incompatibilidad polimérica que existe entre los hidrocoloides, disminuyendo las propiedades funcionales de cada uno de éstos y por obvias razones no es deseable en la industria alimenticia.

Sinergismo: ocurre cuando los polímeros pueden interactuar entre sí o permanecer separados, coexistiendo juntos, aumentando la funcionalidad de cada uno de ellos y es el fenómeno que precisamente se desea cuando se mezclan dos hidrocoloides.

No obstante, a pesar de que la mezcla de hidrocoloides no siempre produzca efectos sinérgicos, hoy en día en la industria de los alimentos la aplicación de mezclas de proteínas y/o polisacáridos ha ido en aumento.

2.2 Caseinato de sodio

Dentro de las proteínas con mayor aplicación en alimentos se encuentran los caseinatos que se definen como la mezcla soluble de las caseínas de la leche, la cual se obtiene mediante una precipitación ácida y posteriormente neutralizada con soluciones alcalinas de sodio, calcio o potasio, dependiendo del tipo de caseinato que se desee obtener (*Firouz y col., 2000*).

Al ser proteínas derivadas de la leche, la composición de los caseinatos se encuentra basada en caseínas, las cuales constituyen aproximadamente el 80% de las proteínas totales de la leche, siendo los constituyentes mayoritarios de los caseinatos las caseínas α_{s1} , α_{s2} , β , y κ . Éstas se definen como las fosfoproteínas de la leche cruda desnatada que precipitan a pH 4.6 a 20°C, las cuales a su vez se diferencian entre sí en pesos moleculares, cargas eléctricas y tamaños (*Cuadro 2.2*); características fisicoquímicas que hacen que cada una de ellas tenga distintas propiedades funcionales (*Charalambus, 1990*).

La composición en aminoácidos de las *caseínas* o también llamadas *proteínas ácidas*, debido a que son ricas en ácido glutámico y aspártico, les confiere una hidrofobicidad media, ligeramente superior a la de la mayoría de las proteínas globulares, la cual les permite asociarse muy fácilmente en complejos macromoleculares de elevada masa molecular (*Coulltate, 1998*).

Cuadro 2.2. Propiedades fisicoquímicas de las caseínas.

		Caseína			
		α_{s1}	α_{s2}	β	κ
<i>Porcentaje del total de las caseínas ubicadas en la leche</i>		40-55		25-35	10
<i>Diámetro (nm)</i>		30-300			
<i>Peso molecular (Daltons)</i>		23600		24000	18000 a 19000
<i>Estructura</i>	<i>Composición</i>	199 restos aminoácidos con 8 fosforesilos y 12 restos de carbono	Rica en residuos catiónicos, es la más hidrófila de todas las caseínas debido a su alto grado de fosforización, 10-13 residuos fosforesil/mol.	Constituida por una sola cadena polipeptídica de 209 restos aminoácidos.	Distribución asimétrica, alto contenido en ácidos aspártico y glutámico; ácida y muy soluble.
	<i>Hidrofobicidad</i>	Hidrofobicidad de 1172 calorías por residuo. alta carga y baja hidrofobicidad; baja tendencia a formar agregados.	Hidrofobicidad de 1111 calorías por residuo. Tienen baja tendencia a formar agregados.	Es la más hidrófoba de las caseínas, 1334 calorías por residuo	Hidrofobicidad 1310 calorías por residuo
	<i>Grupos fósforo</i>	Una parte muy fosforilada, residuos 41-80, representando la casi totalidad de la carga negativa		Sus cinco restos fosforesilo están agrupados en las proximidades del dominio N-Terminal (restos 1-43)	Sus monómeros tienen un solo resto fosfato y entre 0 y 5 cadenas de hidratos de carbono
	<i>Carga eléctrica</i>	Carga negativa de -21 a pH 6.8.	Carga negativa de -23 a pH 6.8.	Carga negativa de -12 a pH 6.7.	Carga negativa de -4 a pH 6.7.
<i>Comportamiento frente a iones calcio</i>		Tiende a precipitar en presencia de iones calcio	Gran solubilidad en presencia de iones calcio.	No precipita bajo la acción del calcio tan fácilmente como la α_{s1}	Es la menos sensible a la precipitación por iones calcio, ejerciendo una estabilización a las restantes caseínas.

Cuadro 2.2. Propiedades fisicoquímicas de las caseínas. (Continuación)

Otros	Fuerte asociación en la formación de micelas. Mejor distribución de los grupos hidrofílicos y fosforilados que la caseína β .	Sus interacciones electrostáticas son muy importantes y dependen del pH	En la interface agua-aceite compite con la $\alpha_{s4,1}$ por ser adsorbidas, siendo la caseína β la de mayor facilidad para lograrlo e incluso puede desplazar a la ya adsorbida.	
-------	---	---	---	--

Fuente: Charalambus, 1990; Coullate, 1998; Wong 1995; Srinivasan y col., 1999.

2.2.1 La micela de caseína

Aproximadamente en la leche normal el 95% de la caseína se encuentra unida a grupos de fosfato cálcico en forma de complejos esféricos muy hidratados, los cuales se les conoce con el nombre de micelas, que poseen diámetros que van desde los 30 a los 300 nm y pueden llegar a pesar 10^9 Daltons (Charalambus, 1990). La micela de caseína es aproximadamente esférica, aunque no posee una superficie lisa; está constituida de pequeñas unidades llamadas submicelas las cuales contienen principalmente una mezcla de las diferentes fracciones de caseína, predominando en gran medida las α_{s1} y β caseínas, seguidas de α_{s1} , α_{s2} y κ caseínas las cuales representan 93% de su peso. El 7% restante está constituido por calcio inorgánico (3%), fosfato (3%) y pequeñas cantidades de magnesio, sodio, potasio y citrato. El calcio, el fosfato de calcio coloidal y el citrato, son componentes integrales y colectivamente estabilizan a la micela. El calcio neutraliza la carga repulsiva electrostática negativa sobre la caseína fosforizada facilitando las interacciones hidrofóbicas, permitiendo así la agregación de submicelas hasta formar una micela, donde aquéllas con κ -caseína se encuentran hacia el exterior de la misma. La existencia de submicelas ha sido controversial en el pasado; sin embargo, existe ahora un consenso de que éstas existen (Walstra, 1999).

Cuando el calcio es removido de la micela (por ejemplo mediante proceso de obtención del caseinato), éstas se disocian, de tal forma que cuando se reconstituye en agua, el caseinato de sodio se presenta como pequeñas partículas de proteína asociadas, submicelas de caseína, de forma aproximadamente esférica (10-20 nm diámetro) en equilibrio con moléculas de caseína libre (Dickinson, 1999). Se ha sugerido la asociación de estas submicelas de caseinato

de sodio en disoluciones acuosas como efecto de la modificación del pH, acentuándose principalmente a 5.1. Sin embargo, se ha establecido también que la magnitud de las asociaciones de las caseinas y el tamaño de los agregados depende de la concentración de proteína, entre otros factores.

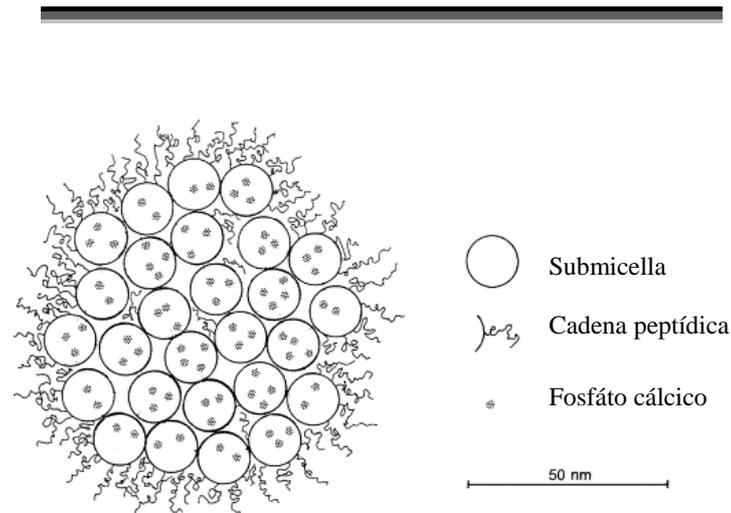


Figura 2.1. Modelo de la micela de caseína

Walstra, 1999

2.2.2 Propiedades fisicoquímicas y funcionales

Las propiedades funcionales de los caseinatos tales como, viscosidad, capacidad de gelificación, emulsificación y capacidad de espumado, están en función de la más importante propiedad funcional de las proteínas, la *solubilidad*, debido a que es la base para que se puedan dar las primeras. La solubilidad a su vez depende de factores fisicoquímicos tales como el pH, la presencia de iones divalentes, la fuerza iónica, la modificación de sus grupos funcionales, de su flexibilidad molecular y composición de aminoácidos de la proteína (*Firouz y col., 2000*).

La solubilidad del caseinato de sodio en agua, es mínima en el intervalo de pH de 3.8-4.0, debido a que se encuentra en el punto isoeléctrico de las proteínas que la conforman, pero

aumenta dramáticamente con el aumento del pH de 6.5 a 8. Por otro lado ésta puede incrementar con la adición de fosfato diácido de sodio (NaH_2PO_4), entre pH de 5.6 y 6.2 (*Firouz y col., 2000*).

La solubilidad del caseinato de sodio también está en función de la hidrofobicidad, la cual aumenta al disminuir el pH por debajo de 3.75, debido a los cambios que se dan en las estructuras conformacionales, es decir, la estructura β de la proteínas aumenta exponiendo a los grupos hidrófobos hacia la superficie.

Los caseinatos de sodio tienen excelentes propiedades surfactantes atribuidas a su estructura detergente. Cuando son usados en pH por encima de 6, pueden formar soluciones viscosas que exhiben propiedades espesantes, emulsificantes, espumantes, incluso características gelificantes. Estas propiedades funcionales derivan de la interacción de los agregados del caseinato de sodio y el calcio (*Charalambus, 1990*). Por otro lado la capacidad de estabilidad del caseinato de sodio, reflejada en el índice de actividad emulsificante, es independiente de la temperatura, pero dependiente del pH alcanzándose su máximo índice de actividad a pH de 7-8 (*Firouz y col., 2000*).

2.3 Alginato de sodio

Existen dos tipos de alginatos, los modificados (como el alginato de propilenglicol) y los extraídos de fuentes naturales. Estos últimos pueden ser extraídos de algas marinas y por fermentación microbiana (*Cuadro 2.3*).

El alginato empleado en este trabajo es extraído de algas marinas pardas de la familia de las *feofíceas*, y se encuentra como un componente estructural de la pared celular en forma de un gel que contiene iones sodio, calcio, magnesio, estroncio y bario, el cual le proporciona flexibilidad y fuerza a los tejidos (*Stephen, 1995*). Éste es un heteropolisacárido de alto peso molecular y lineal, constituido por bloques de ácido manurónico y gulurónico (*Honghe, 1997*).

2.3.1 Composición

Los alginatos son polisacáridos lineales que poseen residuos de ácido manurónico unidos por enlaces β -1,4 y residuos de ácido gulurónico unidos por enlaces α 1-4. Estas unidades monoméricas se pueden disponer en grupos de 20 restos llamados bloques, los cuales pueden ser de ácido manurónico (-M-M-M-M-), ácido gulurónico (-G-G-G-G-) o de residuos manurónicos y gulurónicos (-M-G-M-G-M-G-) (Figura 2.2).

En las interacciones M-M los grupos carboxilo son los responsables de unir a los enlaces glicosídicos en forma ecuatorial-ecuatorial, en forma axial-axial en las interacciones G-G- y en forma ecuatorial-axial en las interacciones M-G-. Los bloques M tienen una forma de cinta extendida que les ofrece flexibilidad, lo cual contribuye en la formación de geles débiles; por otro lado los bloques G, tienen una forma cerrada la cual les ofrece rigidez generando geles fuertes, y finalmente los bloques alternados tienen características de ambos, lo que les ayuda a la formación de geles intermedios.

Cuadro 2.3. Fuentes de extracción de alginatos.

<i>Naturales</i>		<i>Modificadas</i>
Extractos de algas		<ul style="list-style-type: none"> • Alginato de propilenglicol
Familia	Especie	
• <i>Fucáceas</i>	<i>Ascophyllum nodosum</i>	
• <i>Laminariáceas</i>	<i>Laminaria digitata</i> <i>Laminaria cloustoni</i> <i>Laminaria saccharina</i> <i>Laminaria hyperborea</i>	
• <i>Alariáceas</i>	<i>Eklonia máxima</i> <i>Eklonia cava</i>	
• <i>Lessoniáceas</i>	<i>Macrocistis periferia</i>	
• <i>Feofíceas</i>	<i>Flavicans</i>	
Fermentación microbiana		
	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Azotobacter vinelandii</i> • <i>Azotobacter crococcum</i> • <i>Pseudomonas putida</i> • <i>Pseudomonas fluorescens</i> • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 	

Fuente: Glicksman, 1990.

Por lo tanto la gelificación del alginato depende de la presencia de bloques gulurónicos y manurónicos y su relación (M/G) (*Nussinovitch, 1997*).

2.3.2 Propiedades físicas

2.3.2.1 Solubilidad

En general los alginatos son incapaces de disolverse en agua fría y sólo son solubles cuando el medio de dispersión se calienta a partir de 70°C. Por otro lado, cuando el pH se encuentra por debajo del pKa de los ácidos urónicos (3.4 y 3.65) se evita la solubilización de los alginatos debido a la formación de geles ácidos.

Cuando se encuentran o se adicionan al medio de dispersión metales alcalinos como el sodio, amonio y potasio, los alginatos y los iones se pueden solubilizar rápidamente, sin embargo, cuando se encuentran metales di y trivalentes, como el calcio por ejemplo, ambos se muestran insolubles en el medio de dispersión (*Stephen, 1995*).

Otro de los factores que condicionan la solubilidad de los alginatos es la geometría de sus bloques, ya que cuando éstos están conformados en su mayoría por cadenas de bloques gulurónicos, forman huecos entre ellos, los cuales son ocupados por iones calcio que a su vez incorporan moléculas de agua a su interior formando estructuras tridimensionales insolubles, (como los alginatos producidos por *Azetobacter*). Mientras que para los alginatos conformados principalmente por cadenas de bloques manurónicos ocurre lo contrario (ejemplo de ellos son los alginatos producido por la *Pseudomona*) (*Stephen, 1995*).

2.3.2.2 Viscosidad

La viscosidad de las soluciones de alginato está en función de la presencia de cationes metálicos mono o polivalentes. Cuando se encuentran los primeros la viscosidad es relativamente baja. Sin embargo, cuando se encuentran los segundos en forma divalente o trivalente, el aumento de ésta es considerable.

Otro de los factores a considerar en la viscosidad de las soluciones de alginato es el pH, dada la interconversión de aniones carboxilados a grupos carboxil libres que ocurre con el incremento de la concentración de iones hidrógeno. Cuando el pH se encuentra por debajo de 4, se observa un incremento de la viscosidad debido a que se logra la precipitación del polímero (ya que 50% de sus grupos carboxil son protonados).

Por otro lado, dentro del intervalo de 4-10 los cambios en su viscosidad son muy pequeños, ya que al estar sus grupos totalmente ionizados sus cadenas repelen a cualquier otra dando soluciones estables. Su viscosidad máxima se logra a un pH de 7 (Glücksman, 1990).

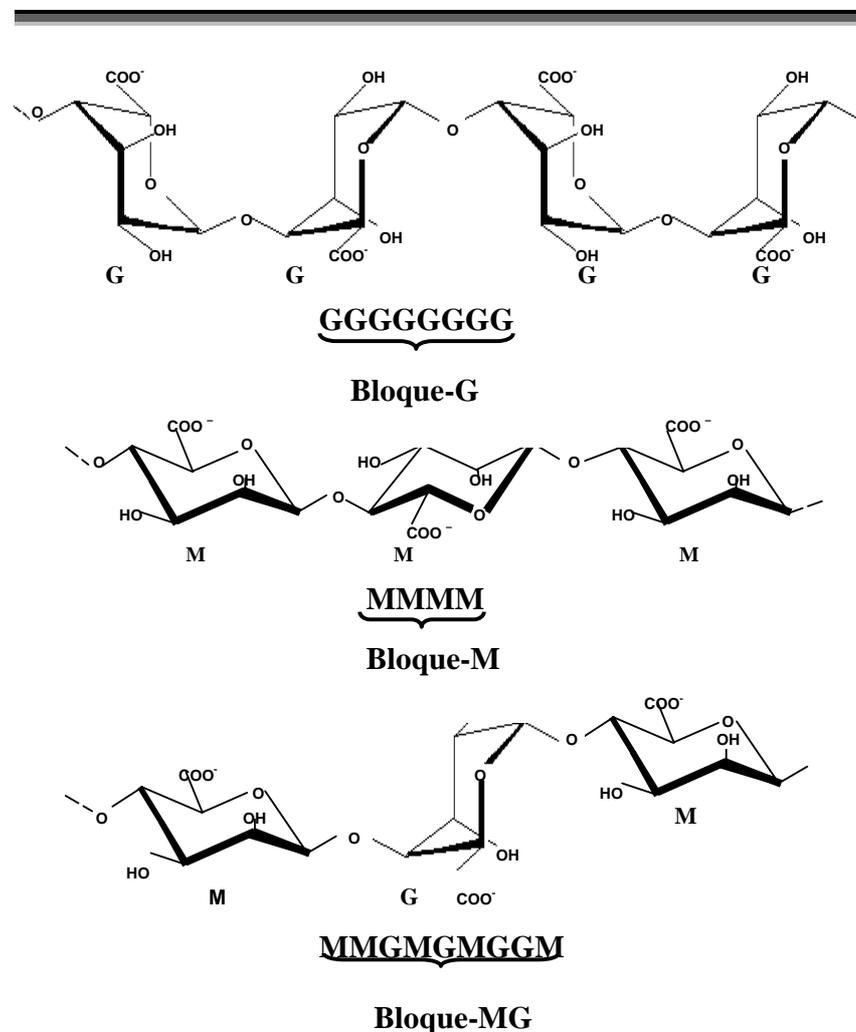


Figura 2.2 Tipos de bloques en alginatos

Fuente: Nussinovitch, 1997.

2.3.2.3 Gelificación

El mecanismo de gelificación del alginato se basa en la reacción de las moléculas de alginato con los iones calcio. La reacción se lleva a cabo de manera intramolecular y extramolecular, es decir, como es ilustrado en la *Figura 2.3*, el cruce toma lugar entre los grupos carboxil por valencias primarias y por grupos hidroxil por valencias secundarias.

El calcio por medio de estas valencias primarias, enlaza a los grupos carboxil, probablemente en unidades moleculares adyacentes. Enlaces coordinados extendidos a dos grupos hidroxilo cercanos, de una tercera unidad, pueden estar en una misma cadena molecular para retener la forma enrollada de las moléculas, o la unidad puede estar en otra cadena, la cual forma una molécula enorme con una estructura tridimensional (*Glicksman, 1990*).

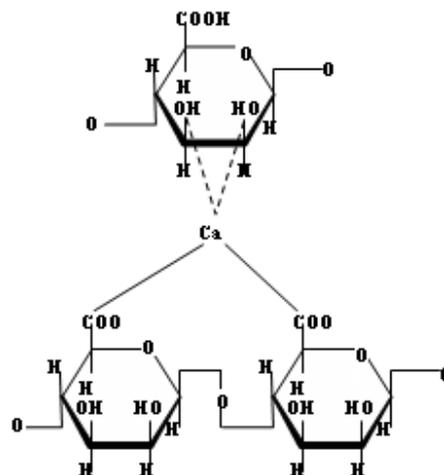


Figura 2.3. Probable mecanismo de interacción entre el alginato y los iones calcio.

Fuente: Glicksman, 1990.

La asociación entre el ácido poligulurónico y los iones calcio proporciona uniones que permiten el establecimiento de una red tridimensional de polímeros de alginato. A esta disposición se le ha denominado modelo “Caja de huevo” (Figura 2.4c).

El ácido polimanurónico se presenta como una cadena plana en forma de cinta con los restos del monosacárido en forma de silla C1 y con enlaces 1-4 ecuatoriales (Figura 2.4a). Sin embargo, los monosacáridos del ácido poligulurónico tienen una conformación en silla C1 y están ligados por enlaces 1,4 diaxiales, formando cadenas cilíndricas lo que resulta favorable a la fijación de iones calcio (Figura 2.4b).

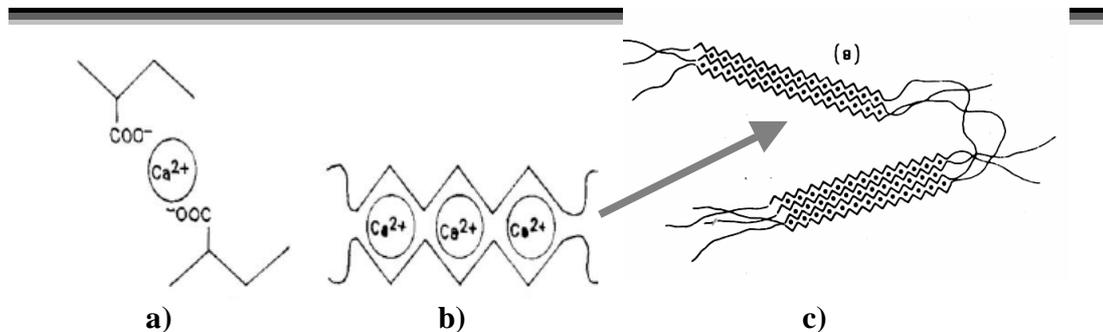


Figura 2.4. Interacciones de iones Ca^{2+} y grupos COO^- en blocks a) polimanuratos y b) poliguluronatos y c) modelo “Caja de huevo” de la gelificación de alginato.

Fuente: Bajpai y Sharma, 2004; Wong, 1995.

2.4 Emulsiones

La industria de los alimentos se encarga de producir una gran cantidad de dispersiones alimenticias, las cuales son sistemas multi-fases que poseen partículas finamente subdivididas (fase dispersa) y que se encuentran distribuidas en una fase líquida, sólida o gaseosa (fase continua), siendo precisamente el tamaño de las partículas de la fase dispersa, el criterio que se utiliza para clasificar a las dispersiones alimenticias en coloidales (1nm a 1 μm) y gruesas (mayores a 1 μm). Se encuentran dentro de las dispersiones coloidales y gruesas sistemas complejos como suspensiones, geles, espumas y sobre todo emulsiones; es decir, pueden existir cualquiera de los anteriores sistemas en forma gruesa o coloidal de acuerdo al tamaño de partícula de la fase dispersa (Fennema, 2000).

2.4.1 Definición

Una *emulsión* se puede definir como un sistema termodinámicamente inestable que consiste de dos sustancias parcial o totalmente inmiscibles, donde una de ellas se encuentra dispersa en la otra en forma de glóbulos de tamaño microscópico, los cuales poseen diámetros generalmente mayores a $0.1\mu\text{m}$ (Coia y Stauffer, 1987).

Debido a la gran variedad de emulsiones que existen hoy en día, se han tenido que realizar diversas clasificaciones de este sistema coloidal empleándose diversos criterios, siendo los más importantes para realizarlo, el tamaño de partícula de la fase dispersa, y la naturaleza de la fase continua. De acuerdo al primer criterio las emulsiones pueden clasificarse en (Mollet y Grubermann, 2001):

- *Macroemulsiones gruesas*. Las partículas de la fase dispersa poseen diámetros mayores de $3\mu\text{m}$, además de poseer una apariencia blanca lechosa.
- *Macroemulsiones finas*. Las partículas de la fase dispersa diámetros de 0.1 a $3\mu\text{m}$ y poseen una apariencia azul blanquecina.
- *Microemulsiones*. Los diámetros de las partículas de la fase dispersa se encuentran entre los 0.05 y $0.1\mu\text{m}$, y se caracterizan por poseer un color gris semitransparente.
- *Emulsiones micelares*. Los diámetros de las partículas de la fase dispersa son menores a $0.05\mu\text{m}$ y poseen apariencia transparente.

En lo que respecta al segundo criterio, el cual es el más utilizado, las emulsiones se pueden clasificar en tres tipos (Figura 2.5) (Larsson, 1997):

- *Emulsiones de aceite en agua (O/W)*. Los glóbulos de aceite, que realizan la función de la fase dispersa, se encuentran distribuidos en un medio acuoso, el cual conforma la fase continua.

- *Emulsiones de agua en aceite (W/O)*. Aquí la fase dispersa conformada por glóbulos de agua, se encuentra esparcida en un medio oleoso, el cual realiza la función de la fase continua.
- *Emulsiones Múltiples (W/O/W, O/W/O)*. Estas emulsiones difieren de las dos anteriores debido a que poseen una tercera fase, la cual puede conformar la fase dispersa o la fase continua dependiendo del tamaño de su volumen que ocupa en ese momento.

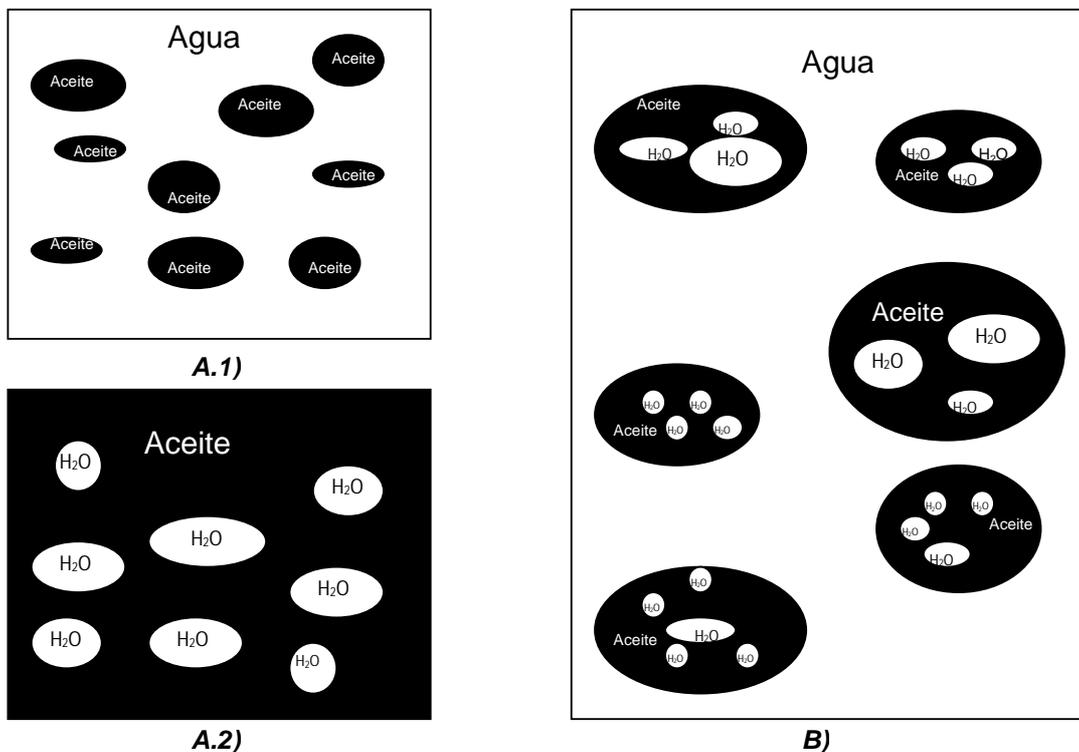


Figura 2.5. Tipos de emulsiones: A.1) arriba, aceite en agua (o/w), A.2) abajo, agua en aceite (w/o), y B) múltiple, agua, aceite, agua (w/o/w).

Fuente: Larsson 1997.

2.4.2 Formación

La formación de emulsiones depende de la reducción de la tensión interfacial, ya sea por principios mecánicos (agitación) o por métodos químicos (agentes de superficie activa o emulsificantes).

La formación de una película rígida interfacial y cargas eléctricas son importantes para la estabilidad de la emulsión. Las moléculas emulsificantes están acomodadas con la parte lipofílica orientada hacia el aceite y la parte hidrofílica extendida en el agua. La interacción entre las moléculas de aceite y la porción lipofílica del emulsificante y entre las moléculas de agua y la parte hidrofílica del emulsificante resulta en una disminución de la tensión interfacial. Esto permite que uno de los líquidos originalmente inmiscibles sea disperso en el otro con la formación de una emulsión.

El tipo de emulsión formada depende de la fuerza de la interacción entre la parte hidrofílica y el agua. Una interacción fuerte permite una gran reducción en la tensión superficial del agua. Conforme la tensión superficial se aproxima a cero, el agua se “relaja”, pierde su tendencia a formar gotas y de esta forma se convierte en la fase externa de la emulsión. El aceite está disperso en forma de finas gotas y constituye la fase interna o dispersa de una emulsión O/W. Si la interacción entre el agua y la parte hidrofílica es débil entonces la tensión superficial del agua no se reduce para extenderse y el agua se convierte en la fase interna y se forma una emulsión W/O. La fase en la cual el emulsificante es más soluble se convierte en la fase externa. Davies, 1957 (citado en *Setser, 1992*) sugirió que el tipo de emulsión formada depende de la velocidad de coalescencia de las fases (*Setser, 1992*).

2.4.3 Estabilidad

La estabilidad de una emulsión se encuentra dada por la capacidad que ésta posea para resistir cambios en sus propiedades físicoquímicas con respecto al tiempo. Esta capacidad a su vez depende de varios factores que se relacionan con el tamaño y la distribución de los glóbulos de la fase dispersa, la naturaleza de la capa interfacial, de la fase continua y de la dispersa (*Cuadro 2.4*) (*Dickinson, 2003*).

Cuadro 2.4. Factores que afectan la estabilidad en una emulsión.

Factor	Afectada por:
Distribución del tamaño del glóbulo	<ul style="list-style-type: none"> • Equipo para la emulsificación • Concentración de emulsificante • Tipo de emulsificante • Relación aceite/agua • Otros factores (temperatura, pH, viscosidad)
Naturaleza de la capa interfacial adsorbida	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración y tipo de emulsificante. • Interacción de especies adsorbidas. • Competición entre especies adsorbidas
Naturaleza de la fase continua acuosa	<ul style="list-style-type: none"> • Calidad del solvente • Concentración de iones • Polímeros no adsorbidos y anfífilicos
Naturaleza de la fase dispersa	<ul style="list-style-type: none"> • Relación sólido/ líquido • Solubilidad en la fase continua

Fuente: Dickinson, 2003.

Los fenómenos mediante los cuales se da la estabilización en una emulsión, son de fundamental importancia para evitar reacciones de agregación, las cuales posteriormente pudieran llevar a cabo el desequilibrio del sistema.

Dentro de estos fenómenos se encuentran la *estabilización electrostática*, la *estérica* y la *electrostérica*, los cuales se encuentran fuertemente influenciados por el balance de las interacciones que se dan en la superficie de los glóbulos, entre las fuerzas de atracción (debidas a las fuerzas de van der Waals) y las de repulsión (provocadas por la doble capa eléctrica) (Cuadro 2.5) (Piirma, 1992).

Al ser bastante compleja la estabilidad de una emulsión, debido al gran número de factores que intervienen en ella, estos sistemas pueden ser muy susceptibles a cambios fisicoquímicos en su estructura, que lo lleven a una posterior ruptura o separación de sus fases, provocando la desestabilización del sistema.

Esta pérdida de estabilidad involucra un número de procesos o mecanismos físicos, los cuales pueden ocurrir simultánea o consecutivamente dependiendo de las circunstancias, dentro de éstos se encuentran las separaciones gravitacionales (cremado y sedimentación), la coalescencia, floculación, maduración de Ostwald e inversión de fases (*Cuadro 2.6*), cuya representación esquemática se muestra en la *Figura 2.6*.

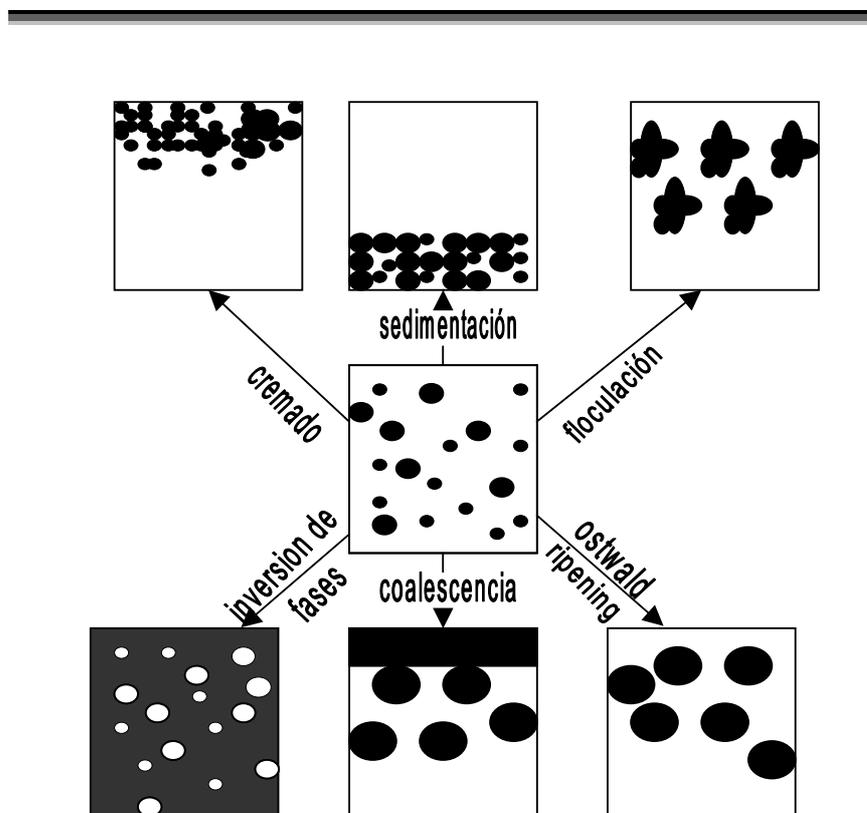
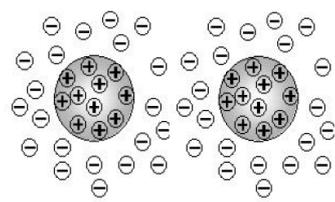
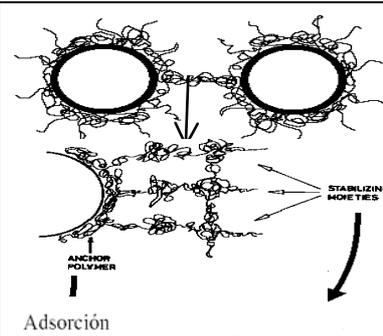
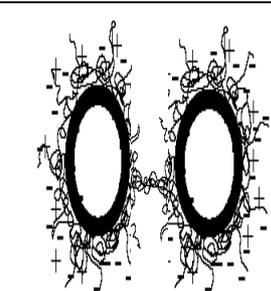


Figura 2.6. Mecanismos físicos de desestabilización en una emulsión.

Fuente: Tadros, 2004.

Cuadro 2.5. Mecanismos de estabilización.

	<i>Electrostática</i>	<i>Estérica</i>	<i>Electroestérica</i>
Definición	Segregación debida a la presencia de cargas opuestas entre las superficies de los glóbulos, provocando repulsión entre ellos. Decrece exponencialmente al aumentar la distancia de separación.	Segregación debida a presencia en la superficie de glóbulos de cantidades suficientes de biopolímeros, en forma de “ <i>tiras desordenadas</i> ”, los cuales impiden interacción entre capas a través de efectos osmóticos.	Mecanismo físico de segregación, producto de la combinación de efectos estéricos y electrostáticos que proveen de una repulsión efectiva a las superficies de los glóbulos.
Explicación del modelo	 <p>Una partícula con una superficie cargada, puede causar una distribución desigual de los iones de la solución, formando una doble capa eléctrica sobre su superficie. Los iones con carga opuesta a la de la partícula (contraiones) se acumulan cerca de su superficie. Esta distribución de contraiones se denomina atmósfera iónica. Cuando dos partículas se aproximan una a la otra, sus atmósferas de contraiones interfieren y originan la aparición de una fuerza repulsiva entre las partículas, que ayuda a la estabilización del sistema.</p>	 <p>Adsorción</p> <p>Impedimento estérico</p> <p>Está basada en un modelo en el cual se explica que cuando dos glóbulos se acercan entre sí, los biopolímeros que se encuentran en la superficie pueden alinearse en forma de tiras desordenadas, los cuales a través de efectos osmóticos impiden que el área de la región interpartícula de cada glóbulo sea ocupada por otra.</p>	 <p>IMPEDIMENTO ESTÉRICO IMPEDIMENTO ELECTROSTÁTICO</p> <p>Este fenómeno se da cuando existe una combinación de surfactantes iónicos y no iónicos (si no se encuentran en cantidades iguales y suficientes estos dos, puede que este mecanismo no se dé y predomine el electrostático o el estérico), y cuando existe la presencia de un polielectrolito.</p>
Factores que la afectan	<ul style="list-style-type: none"> • Balance de fuerzas atracción-repulsión en la superficie. • El grosor de la capa. • La densidad de carga de la superficie. • Condiciones y naturaleza de la fase continua (pH, temperatura, fuerza iónica, y contenido de iones). 	<ul style="list-style-type: none"> • Cantidad de polímero unida a la partícula. • Espesor y la configuración de la capa adsorbida. • Naturaleza de la adsorción y del polímero presente. 	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de surfactantes iónicos y no iónicos. • Presencia de polielectrolitos.

Fuente: Mitchell y Ledward, 1998; Wong, 1995; Piirma, 1992.

Cuadro 2.6. Mecanismos de desestabilización.

Proceso	Definición	Factores condicionantes
Sedimentación	Movimiento de los glóbulos dispersos hacia la parte inferior del sistema, sin que exista cambio alguno en el tamaño del glóbulo.	<ul style="list-style-type: none"> • Diferencia de densidades entre la fase continua y dispersa.
Cremado	Separación de las fases del sistema. La densidad de la fase acuosa es mayor que la de la fase oleosa, provocando que los glóbulos de la fase dispersa se concentren en la parte superior del mismo, y las moléculas de fase continua lo hagan en la inferior, sin que exista una unión o aglomeración entre ellos.	<ul style="list-style-type: none"> • Tamaño y distribución de glóbulos. • Concentración de la fase dispersa. • Viscosidad y densidad de la fase continua y dispersa.
Inversión de fases	Intercambio entre la fase dispersa y la fase continua en un sistema, Puede involucrar a fenómenos de coalescencia, floculación y cremado.	<ul style="list-style-type: none"> • Proporción en volumen de las fases. • Tamaño y distribución de los glóbulos de la fase dispersa. • Clase de tensoactivo utilizado. • Otros (fuerza iónica)
Maduración de Ostwald	Causado por la diferencia en la solubilidad entre los glóbulos de la fase dispersa, siendo los más pequeños los que tienen una mayor solubilidad, debido a que poseen una menor área superficial y energía potencial en la interfase entre sus glóbulos, permitiéndoles con esto, adentrarse y almacenarse en los más grandes, provocando el aumento o crecimiento de estos últimos.	<ul style="list-style-type: none"> • Solubilidad de los glóbulos de la fase dispersa, área superficial y energía potencial entre ellos.
Coalescencia	Proceso físico de agregación posterior a la floculación, implica la unión irreversible de dos o más glóbulos pequeños para dar otros mayores, el cual conduce a la separación de fases del sistema.	<ul style="list-style-type: none"> • Tamaño y distribución del glóbulo. • Concentración de iones • Resistencia a la ruptura de la capa de interfase del emulsionante. • Distorsión durante la agitación o congelación de la emulsión.

Cuadro 2.6. Mecanismos de desestabilización (Continuación).

Proceso		Definición	Factores condicionantes
Floculación	Por depleción	Fenómeno físico de agregación debido a un exceso de proteína o a la presencia de polisacáridos no adsorbidos en la fase continua de una emulsión, lo que ocasiona un incremento en la fuerza atractiva entre los glóbulos, debido a un efecto osmótico asociado con la exclusión de los biopolímeros de una región estrecha que rodea y separa a cada partícula.	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de biopolímeros no adsorbidos. • Exceso de proteína o de surfactantes en la fase continua. • Concentración de aceite.
	Por puenteo	Llamada así debido a que los biopolímeros pueden formar “puentes” entre dos partículas. Es un fenómeno físico que se da debido a la insuficiente cantidad de biopolímero para cubrir completamente los glóbulos de la fase dispersa, provocando que estos últimos queden libres para su aglomeración.	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración y naturaleza de la proteína, • Interacciones atractivas entre la proteína adsorbida y el hidrocoloide presente en cantidades suficientes. • Otros (pH, temperatura, fuerza iónica)

Fuente: Tadros, 2004; McClements 2004; Dickinson, 2003; Radford y Dickinson, 2004; Mollet y Grubermann, 2001; Dickinson, 2001; Wong, 1995; Rousseau, 2000; Phillips y Williams, 2000; Mitchell y Ledward, 1998; Golding y Dickinson 1997; Larsson, 1997; Dickinson y Walstra 1993; Fennema, 2000.

2.5 Reología

La reología es el estudio de los cambios en forma y el flujo de la materia abarcando elasticidad, viscosidad y plasticidad (*Steffe, 1996*).

Existen varias razones fundamentales para el estudio del comportamiento reológico de los materiales (*Núñez y col., 2001*):

- Contribuye al conocimiento de su estructura, por ejemplo: existe cierta relación entre el tamaño y forma molecular de las sustancias en disolución y su viscosidad, así como entre el grado de entrecruzamiento de los polímeros y su elasticidad.
- En la industria se efectúan con frecuencia medidas reológicas sobre las materias primas y los productos en elaboración que son de gran utilidad para el control de los procesos.
- Ayuda al diseño de equipos que son involucrados dentro de operaciones de transporte en tubería y agitación (mezcladores, homogenizadores, transferencia de calor).

En emulsiones (*McClements, 1999*):

- Muchos de los atributos sensoriales de emulsiones alimenticias están directamente relacionados con sus propiedades reológicas (consistencia, extensibilidad y dureza).
- La estabilidad de muchas emulsiones depende de las características reológicas de los componentes de las fases que lo constituyen (el cremado de las gotas de aceite dependen de la viscosidad de la fase acuosa).
- La viscosidad en función de la velocidad de corte provee información de la fuerza de las interacciones coloidales entre glóbulos.

2.5.1. Conceptos Básicos

2.5.1.1. Fuerza

La fuerza es una magnitud física que se define en términos de su capacidad de producir una aceleración, pero también es un agente capaz de deformar un cuerpo. Es un vector que para quedar perfectamente especificado en un sistema tridimensional requiere de tres cantidades (tensor de primer orden): magnitud, dirección y sentido.

2.5.1.2. Esfuerzo

El esfuerzo se define por la aplicación de una fuerza, cuya intensidad depende del área sobre la cual actúa dicha fuerza y se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$\sigma = F/A \dots \dots \dots (1)$$

Tensor de esfuerzos

A diferencia de un vector, el esfuerzo es un tensor de segundo grado que requiere ser especificado por la magnitud de la fuerza, la dirección de la fuerza y el plano de acción. De tal forma que, la dirección se fija en relación a un sistema de coordenadas y se caracteriza por la descomposición de la fuerza en tres componentes, uno normal y dos en el plano de la superficie del punto sobre el cual la fuerza actúa. El primero da como resultado los esfuerzos normales y los otros dos los esfuerzos cortantes o de cizalla. Esto puede ser explicado mediante un tensor de esfuerzos el cual describe el estado de esfuerzo de un cubo elemental en un punto imaginario de un cuerpo (*Figura 2.7*) (*Tscheuschner, 2001*).

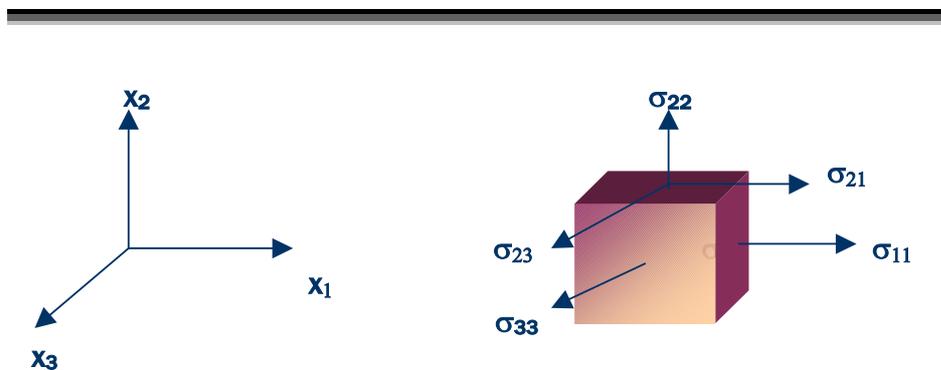


Figura 2.7. Esfuerzos típicos sobre un material.

Fuente: Steffe, 1996.

En el cubo elemental los esfuerzos actúan sobre las seis caras y en los tres ejes (x_1 , x_2 , x_3) de modo que el tensor presenta 18 componentes del esfuerzo, aunque por razones de simetría son suficientes 9 componentes para su descripción. El esfuerzo se indica como σ_{ij} , donde el primer subíndice se refiere a la orientación de la cara sobre la cual actúa la fuerza y el segundo subíndice se refiere a la dirección de la fuerza. De esta forma, σ_{11} es un esfuerzo normal actuando en el plano perpendicular a x_1 en la dirección de x_1 y σ_{21} es un esfuerzo de cizalla actuando en el plano perpendicular a x_2 , en la dirección de x_1 .

En un sistema tridimensional el esfuerzo debe estar constituido por nueve componentes para estar completamente definido, los cuales se pueden resumir como un tensor de esfuerzo escrito en forma de matriz de orden tres:

$$\sigma_{ij} = \begin{vmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{vmatrix}$$

Para el cual, σ_{11} , σ_{22} y σ_{33} son los esfuerzos normales.

2.5.1.3 Deformación

La deformación es el cambio de forma o de tamaño de un material debido a la aplicación de una fuerza. Su magnitud y clase dependen de las propiedades reológicas del cuerpo, de su forma y del tipo de esfuerzo que se aplica (*Tscheuschner, 2001*).

Tensor de deformación

El tensor de deformación describe el estado de deformación de un cubo elemental en el interior de un cuerpo elástico. Como en el tensor de esfuerzos, éste también tiene seis componentes de deformación independientes:

$$\varepsilon_{ij} = \begin{vmatrix} \varepsilon_{xx} & \frac{1}{2}\gamma_{xy} & \frac{1}{2}\gamma_{xz} \\ \frac{1}{2}\gamma_{yx} & \varepsilon_{yy} & \frac{1}{2}\gamma_{yz} \\ \frac{1}{2}\gamma_{zx} & \frac{1}{2}\gamma_{zy} & \varepsilon_{zz} \end{vmatrix}$$

ε_{ij} deformaciones lineales por dilatación o por compresión; γ_{ij} deformaciones relativa por desplazamiento (deformación cortante). La deformación lineal es el cambio por unidad de longitud en forma o tamaño de un cuerpo, debido a la aplicación de una fuerza de compresión, tensión o corte. La deformación angular o deformación cortante se debe a la aplicación de un esfuerzo de cizalla y se expresa matemáticamente como la tangente del cambio angular (Tscheuschner, 2001).

2.5.1.4 Velocidad de cizalla

La velocidad de cizalla se define como la magnitud de la deformación cortante dividida por el tiempo que ésta tarda en producirse, es decir es la velocidad de cambio de la deformación. Mientras que la deformación es una medida relativa del desplazamiento que no tiene dimensiones y es determinada por gradientes de desplazamiento, la velocidad de cizalla es determinada por los gradientes de velocidad (1/s).

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{dy}{dt} = \frac{dL}{dy} = \frac{dv}{dy} \dots\dots\dots (2)$$

$$\dot{\gamma} = \frac{m/s}{m} = \frac{1}{s} [=] s^{-1} \dots\dots\dots (3)$$

El punto sobre γ indica que la velocidad de cizalla es la derivada con respecto al tiempo de la deformación causada por el esfuerzo de cizalla actuando sobre un líquido. Al igual que los sólidos, los líquidos obedecen a una ecuación de estado, que establece la relación entre la tensión o esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla. A la constante de la ecuación de estado de los sólidos se le conoce como módulo de elasticidad, mientras que a la de los líquidos, se le conoce como coeficiente de viscosidad (Núñez y Solorza, 2001).

2.5.2 Comportamiento reológico de los materiales

El comportamiento de los materiales sólidos y viscosos es diferente ante la aplicación de un esfuerzo, debido a la relación de éste con la deformación en cada uno de ellos. Ya que mientras para un material elástico, el esfuerzo es una función de la deformación (γ) únicamente, para un fluido puramente viscoso, el esfuerzo depende de la velocidad de cizalla, y no de la magnitud de la misma. Estos diferentes comportamientos pueden ser definidos por

ecuaciones reológicas de estado que constituyen las relaciones matemáticas entre estas dos variables, los casos extremos son: para los sólidos la ecuación de la ley de Hooke y para los líquidos la ley Newton de la viscosidad.

Por otro lado existen otros materiales que pueden llegar a exhibir un comportamiento que es parcialmente elástico y parcialmente viscoso, es decir tienen los comportamientos del sólido de Hooke y el fluido de Newton, conocidos como viscoelásticos (Núñez y Solorza, 2001). Existe, a su vez, una subdivisión en los materiales viscosos, elástico y viscoelástico como se muestra en la *Figura 2.8*.

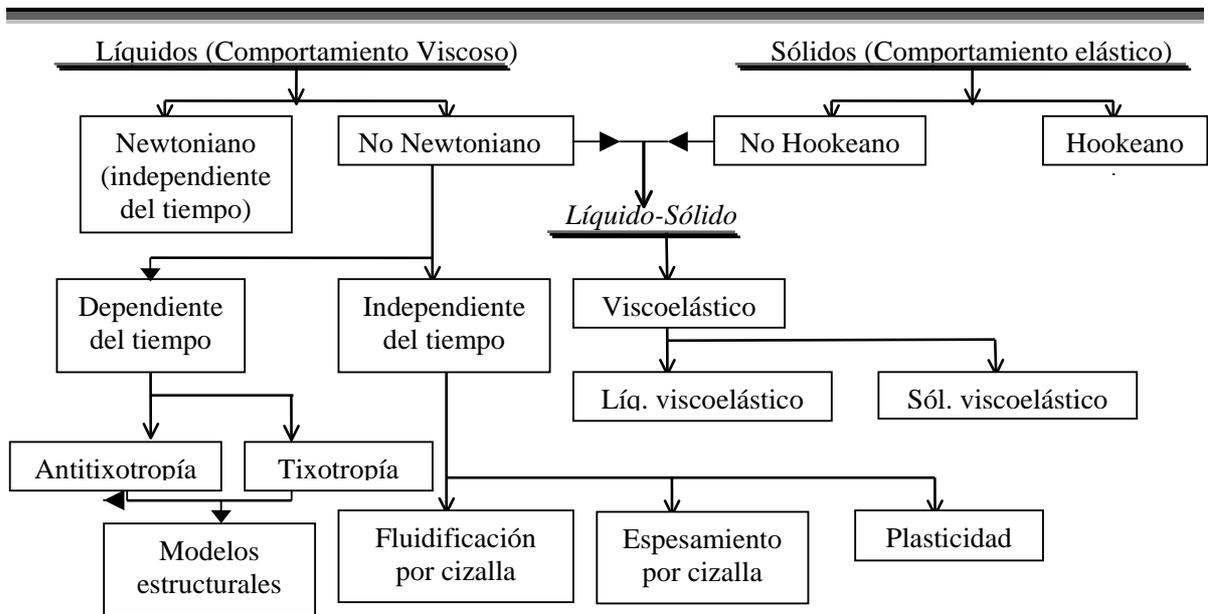


Figura 2.8. Clasificación del comportamiento reológico de los materiales.

Fuente: Steffe, 1996; Tanner, 1988; Windhab, 1995.

2.5.2.1 Sólidos

Ideales

Los sólidos elásticos ideales son cuerpos que presentan una deformación instantánea con la aplicación de una fuerza que desaparece completa e instantáneamente con la eliminación de la misma ([Martínez y Chiralt, 1998](#)).

El comportamiento elástico de un sólido está relacionado con las fuerzas intermoleculares que llevan a cabo la unión de las moléculas. Cuando el esfuerzo se aplica al material, los puentes formados entre las moléculas son comprimidos y expandidos y por consiguiente la energía es almacenada. Cuando el esfuerzo se remueve, los puentes formados entre las moléculas disipan la energía y el material regresa a su forma original. El módulo elástico de un sólido ideal es por consiguiente relacionado a la fuerza de las interacciones entre las moléculas internas ([McClements, 1999](#)).

El sólido de Hooke está reológicamente representado por un muelle y tiene una constante característica denominada módulo de elasticidad (E (Pa)) que se define como la relación que existe entre los niveles de esfuerzo y su deformación.

$$E = \sigma(t) / \gamma(t) \dots\dots\dots (4)$$

La ley de Hooke, que rige su comportamiento se escribe mediante la siguiente ecuación:

$$\gamma(t) = J\sigma(t) \dots\dots\dots (5)$$

No ideales

Los sólidos elásticos no ideales o inelásticos son aquellos que frente a la aplicación de un esfuerzo presentan una deformación no instantánea, dependiente del tiempo, que no desaparece instantáneamente con la eliminación del mismo. Se clasifican en completamente recuperables e incompletamente recuperables o viscoelásticos. Son completamente recuperables los sólidos inelásticos que presentan, frente a la aplicación de un esfuerzo, una deformación no instantánea que desaparece completamente con la eliminación del mismo. Los cuerpos incompletamente recuperables son aquellos sólidos inelásticos que, frente a la

aplicación de un esfuerzo, presentan una deformación no instantánea, que desaparece en forma incompleta con la eliminación del mismo (McClements, 1999).

2.5.2.2 Fluidos

Los líquidos al igual que los sólidos se clasifican en ideales y no ideales (o también llamados newtonianos y no newtonianos (McClements, 1999).

Fluidos Ideales

El líquido ideal o newtoniano se define como aquel en el que la representación del esfuerzo de cizalla (σ) en función de la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$), es una línea recta que empieza del origen (Figura 2.9a). En estos fluidos la viscosidad es constante para cualquier velocidad de cizalla aplicada (Figura 2.9b) (Bourne, 1982).

El coeficiente de viscosidad implica un rozamiento interno que actúa dentro de un fluido, esto es, su resistencia a fluir. La mayor o menor viscosidad de un fluido se traduce en la facilidad con que las partículas que lo constituyen resbalan unas con respecto de otras. (Lewis, 1993).

La viscosidad dinámica o absoluta o coeficiente de viscosidad se define como la relación entre el esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla, está definida por la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} \dots\dots\dots (6)$$

En cambio, la viscosidad “aparente” se define como el cociente entre el esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla. Este término es el que se utiliza al hablar de “viscosidad” para fluidos no newtonianos y suele denotarse como η_a .

$$\eta_a = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} \dots\dots\dots (7)$$

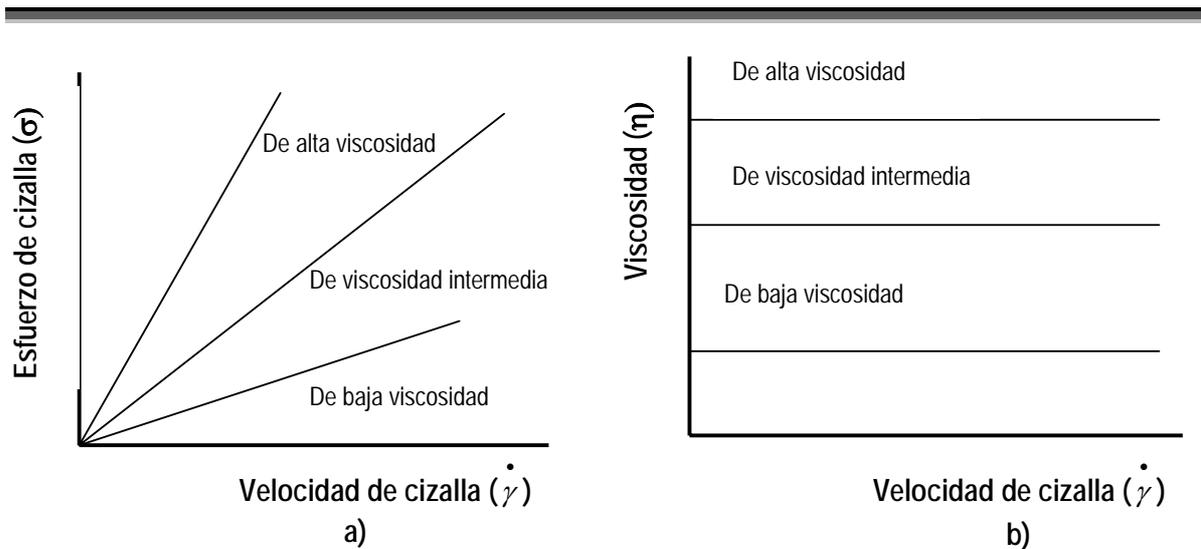


Figura 2.9. Fluido newtoniano.

Fuente: [Bourne, 1982.](#)

El fluido viscoso ideal difiere del sólido elástico ideal porque el esfuerzo es función de la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$) y no de la deformación de cizalla, o de compresión (γ) como en los sólidos. El líquido ideal carece de propiedades elásticas (una vez retirado el esfuerzo no es capaz de recobrar su forma original), es incompresible (su volumen no cambia cuando una fuerza es aplicada sobre él), es isotrópico (sus propiedades son las mismas en todas las direcciones), y es estructural (es homogéneo) (*Bourne, 1982*).

Sus propiedades reológicas son definidas por la ecuación siguiente:

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \dots\dots\dots (8)$$

Dentro de los alimentos típicos newtonianos se encuentran aquellos como el agua, y los que contienen grandes cantidades de agua como, la cerveza, refrescos, jugos, leche, entre otros (Bourne, 1982).

Fluidos no Ideales

Los fluidos no ideales son aquellos que no siguen la ley de Newton y en los cuales la viscosidad varía con la velocidad de cizalla, con el tiempo de aplicación del esfuerzo o con ambos simultáneamente. La magnitud física no newtoniana está constituida por un componente que refleja la alteración de la estructura.

El comportamiento al flujo de estos materiales puede depender sólo de la velocidad de cizalla (fluidos independientes del tiempo) o puede depender de la duración del cizallamiento (fluidos dependientes del tiempo) (Hermida, 2000).

Algunos modelos matemáticos, de los fluidos mencionados, se muestran a continuación, (Cuadro 2.7).

Cuadro 2.7. Fluidos no ideales.

Fluidos		Modelos	Ecuación matemática
Independientes del tiempo	Sin esfuerzo inicial	Reofluídificantes	$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (n < 1)$
		Reoespesantes	$\sigma = K\dot{\gamma}^n \quad (n > 1)$
	Con esfuerzo inicial	Plástico de Bingham	$\sigma - \sigma_0 = \eta_p \dot{\gamma}$
		Casson	$\sqrt{\sigma} = \sqrt{\sigma_0} + Kc \sqrt{\dot{\gamma}}$
		Herschel-Bulkley	$\sigma = \sigma_0 + K\dot{\gamma}^n$

Fuente: Hermida, 2000; Tscheuschner, 2001; Bourne, 1982; Núñez y Solorza, 2001; McClements, 1999; Steffe, 1996; Muller, 1973.

a) Independientes del tiempo

Son aquellos fluidos en los que el valor de la viscosidad no cambia con respecto al tiempo de observación, siempre y cuando la velocidad de cizalla sea constante.

Estos fluidos a su vez se clasifican dependiendo de si tienen o no esfuerzo inicial, es decir, si necesitan un mínimo valor de esfuerzo de cizalla para que el fluido se ponga en movimiento (Hermida, 2000) (Figura 2.10).

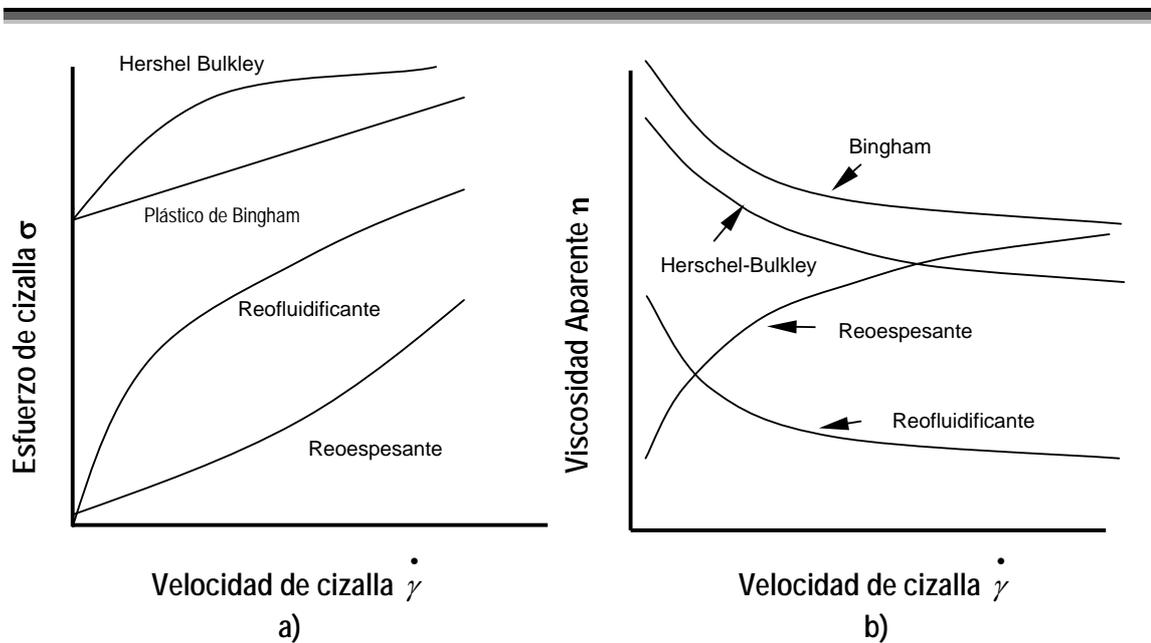


Figura 2.10. Graficas en estado estacionario de diferentes modelos reológicos.

Fuente: Bourne, 1982; Steffe, 1996.

- Fluidos sin esfuerzo inicial

Fluidificantes a la cizalla o reofluidificantes (shear thinning).

Este tipo de fluidos se caracterizan por una disminución de su viscosidad aparente, y de su esfuerzo de cizalla, con la velocidad de cizalla (destrucción de la estructura) (*Tscheuschner, 2001*).

Los líquidos pseudoplásticos o reofluidificantes son menos espesos cuando se someten a altas velocidades que cuando se cizallan lentamente. La viscosidad aparente depende en ellos de la velocidad de cizalla, pero no del tiempo durante el que están sometidos a esa velocidad. La velocidad de cizalla $\dot{\gamma}$, aumenta en proporciones más altas que el esfuerzo de cizalla σ , de manera que la viscosidad aparente, desciende a medida que aumenta la velocidad de cizalla $\dot{\gamma}$.

Por lo general se ajustan con el modelo de la potencia, donde el exponente o índice de comportamiento (n) es inferior a la unidad.

Reoespesantes o dilatantes: (Shear-Thickeninig)

El término “dilatante” es un fenómeno de espesamiento independiente del tiempo que se da a altas velocidades de cizalla; se trata del fenómeno opuesto a la reofluidificación. Con base en esto se puede definir a los fluidos dilatantes como aquellos materiales en los que la viscosidad efectiva o aparente aumenta con la velocidad de cizalla, es decir existe un espesamiento de la estructura. En estos fluidos la relación que existe entre los valores del esfuerzo de cizalla (σ) y la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$) no es lineal, sin embargo, estos valores están unívocamente relacionados (*Tscheuschner, 2001*).

También se ajustan al modelo de la potencia, pero el índice de comportamiento (n) es mayor a la unidad.

- Fluidos con esfuerzo inicial

Su característica principal de éstos es el hecho de presentar un valor de esfuerzo inicial σ_0 denominado también esfuerzo de cizalla umbral, esfuerzo de fluencia o esfuerzo de

cedencia, que debe ser superado para que el producto comience a fluir. Dentro del grupo plástico existen varios comportamientos, siendo los más usuales tres modelos: Plástico de Bingham, Casson y Herschel-Bulkley.

Plástico de Bingham

Estos fluidos se caracterizan porque para valores σ inferiores a σ_0 el material tiene suficiente rigidez como para soportar el esfuerzo sin fluir; al alcanzar el valor umbral se presenta flujo con proporcionalidad entre σ y $\dot{\gamma}$ como en los fluidos newtonianos.

Casson

Estos fluidos son aquellos en los que no existe una relación lineal entre el esfuerzo y la velocidad después de haber superado el esfuerzo inicial.

Herschel-Bulkley

Son aquellos en los que no existe una relación lineal entre el esfuerzo y la velocidad de cizalla después de haber superado el esfuerzo inicial y donde a diferencia de los fluidos que obedecen al modelo de Casson, en éstos el índice al comportamiento al flujo está comprendido entre 0 y 1 (*Hermida, 2000*).

b) Dependientes del tiempo

Estos fluidos son aquellos en los que el esfuerzo depende no sólo de la velocidad de cizalla sino también, y de forma simultánea, del tiempo que se mantiene el cizallamiento. Dentro de este tipo de fluidos se encuentran dos tipos fundamentales: tixotrópico y antitixotrópico (*Figura 2.11*) ([Hermida, 2000](#)).

Cuando la viscosidad aparente varíe con el tiempo (fluidos dependientes del tiempo), las dos curvas, la de ascenso y la de descenso, seguirán caminos distintos aunque completando un ciclo cerrado llamado ciclo de histéresis o índice de tixotropía o antitixotropía (*Muller, 1973*).

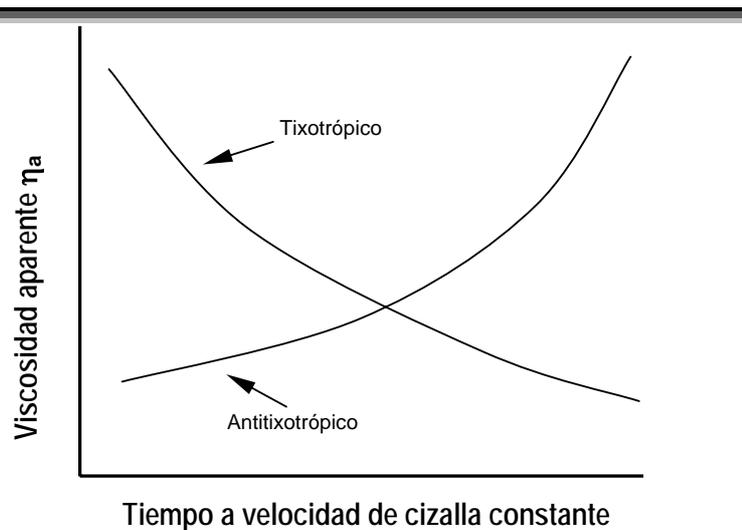


Figura 2.11. Comportamiento de fluidos dependientes del tiempo.

Fuente: Steffe, 1996.

- Tixotrópico

Su viscosidad aparente disminuye al aumentar el tiempo de aplicación del esfuerzo de cizalla o de la velocidad de cizalla, recuperando su estado inicial después de un reposo prolongado (Bourne, 1982).

- Antitixotrópico

Estos fluidos son aquellos en los cuales su viscosidad aparente aumenta con el tiempo de aplicación del esfuerzo de cizalla o de la velocidad de cizalla y vuelven a su estado anterior tras un tiempo de reposo (Bourne, 1982).

La estructura temporal de estos materiales se ordena con el esfuerzo de cizalla o la velocidad de cizalla, presentando mayor resistencia a medida que aumenta σ o $\dot{\gamma}$ y volviendo a desordenarse cuando se dejan en reposo (Hermida, 2000).

2.5.2.3 Materiales Viscoelásticos

Un fluido viscoelástico se define como un fluido que al estar sometido a un pequeño esfuerzo, ya sea cortante, compresional o extensional presenta propiedades intermedias entre un sólido perfectamente elástico y un fluido perfectamente viscoso. Estos materiales se caracterizan por la presencia de una estructura tridimensional incompleta que se destruye por aplicación de un esfuerzo y sólo se recupera parcialmente cuando ese esfuerzo es removido. Mientras más completa y resistente a la ruptura es la estructura, más pronunciada es su elasticidad, y mientras más fácil se rompa su estructura, mayor es su comportamiento viscoso (*Vernon y Torreblanca, 1990*).

2.5.3. Caracterización reológica

2.5.3.1 Métodos de determinación de propiedades viscoelásticas

La gran diversidad de los productos viscoelásticos determina la existencia de muy diversas técnicas de ensayo. En contraste con los productos plásticos en que los componentes viscoso y elástico quedan eficazmente distanciados por el valor del esfuerzo inicial, en los productos viscoelásticos ambos suelen expresarse conjuntamente. El comportamiento de muchos de estos materiales es extremadamente complejo. Sin embargo, existen algunos métodos que ayudan a describirlo, dentro de los que se pueden mencionar a las pruebas dinámicas (*Lewis, 1993*).

Pruebas dinámicas

Los métodos oscilatorios o dinámicos son aquellos en los cuales el material se somete a una deformación oscilatoria (en forma sinusoidal) causando algunos niveles de esfuerzos que son transmitidos a través del material (*Figura 2.12*) (*Lissant, 1984*).

En estas pruebas sólo se pueden aplicar deformaciones (o esfuerzos) consideradas bajas para no exceder el intervalo de viscoelasticidad lineal (intervalo donde las propiedades reológicas son independientes de la magnitud del esfuerzo o deformación aplicado) (*Núñez y Solorza, 2001*). Ordinariamente se aplica a la muestra una deformación (o esfuerzo) sinusoidal según el tipo de reómetro utilizado, ocasionando que cierto esfuerzo (o deformación) sea

transmitido a través de ésta, y cuya magnitud y desfase van a depender de la naturaleza viscoelástica del material.

En los materiales muy viscosos, gran parte del esfuerzo se disipa como pérdidas por fricción, mientras que en los sólidos, la transmisión del esfuerzo es acentuada. Análogamente, el desfaseamiento es alto para sustancias muy viscosas, y atenuada para materiales que muestran un alto grado de elasticidad.

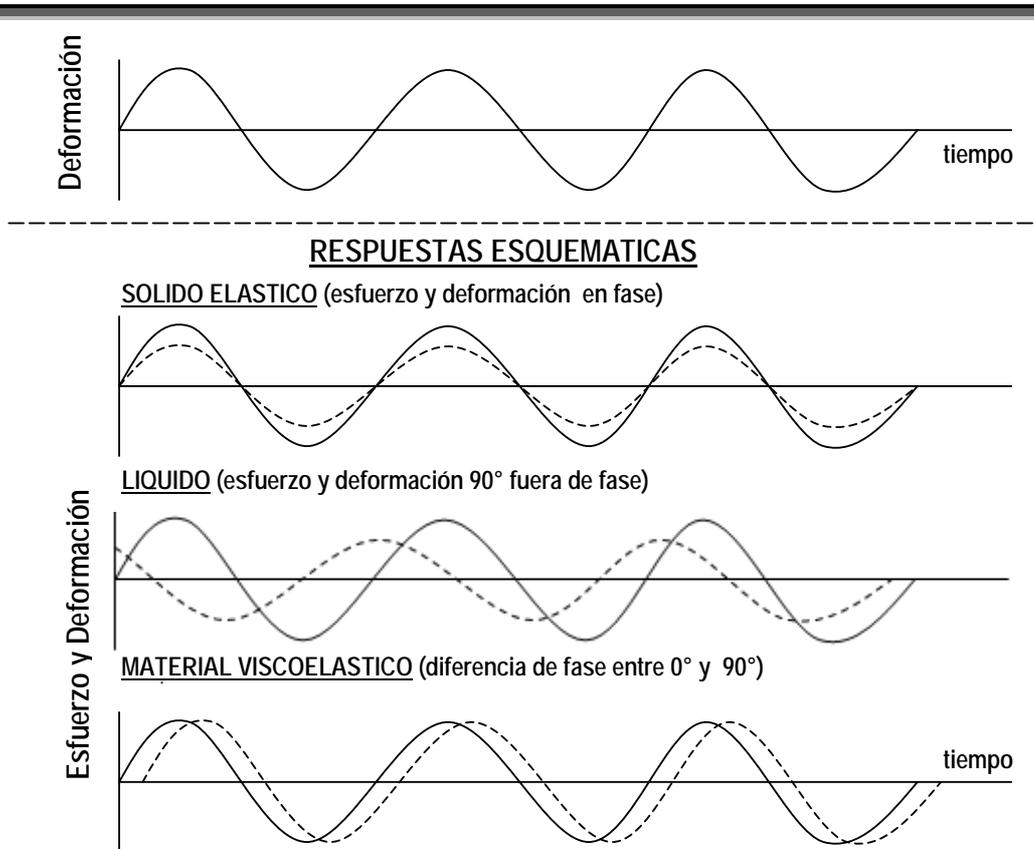


Figura 2.12. Respuesta de materiales sólidos, líquidos, y viscoelásticos en una prueba dinámica.

Fuente: Mitchell, 1980.

La deformación es una función del tiempo definida como:

$$\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t) \dots\dots\dots (9)$$

El esfuerzo correspondiente puede ser representado como la suma de los componentes que están en fase con la deformación, y 90° fuera de fase con la deformación:

$$\sigma = \gamma_0 (G'(\omega) \sin \omega t + G''(\omega) \cos \omega t) \dots\dots\dots (10)$$

El módulo de almacenamiento (G') se define como el esfuerzo en fase con la deformación, dividida por la deformación, y es una medida de la energía almacenada y recuperada por el material en un ciclo; es un indicador del componente elástico del material. Mientras que el módulo de pérdida (G'') se define como el esfuerzo desfasado 90° respecto a la deformación, dividida por la deformación, en una prueba de deformación sinusoidal y es una medida de la energía disipada como calor por el material en un ciclo; es un indicador del componente viscoso del material. Ambos módulos son funciones de la frecuencia y se pueden expresar en términos de la relación de amplitudes $(\sigma_0/\gamma_0) \cos(\delta)$ y el ángulo desfasamiento:

$$G'(\omega) = (\sigma_0/\gamma_0) \cos \delta \dots\dots\dots (11)$$

$$G''(\omega) = (\sigma_0/\gamma_0) \sin \delta \dots\dots\dots (12)$$

$$G''(\omega)/G'(\omega) = \tan \delta \dots\dots\dots (13)$$

Otra de las funciones de los materiales viscoelásticos, dependientes de la frecuencia, es el módulo complejo (G^*) que incluye a los módulos de almacenamiento y de pérdida y que se puede expresar mediante la siguiente expresión:

$$G^* = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2} \dots\dots\dots (14)$$

De la expresión anterior se puede inferir que G' es la parte real de la viscosidad compleja (η^*), mientras que G'' su parte imaginaria.

$$\eta^* = (G^* / \omega) = \sqrt{(\eta')^2 + (\eta'')^2} \dots\dots\dots (15)$$

$$\eta' = G' / \omega \dots\dots\dots (16)$$

$$\eta'' = G'' / \omega \dots\dots\dots (17)$$

Como consecuencia, la tangente del ángulo de desfasamiento, también se puede expresar como:

$$\tan(\delta) = \eta'' / \eta' \dots\dots\dots (18)$$

Si una muestra se comporta como una sustancia viscosa ideal (material newtoniano ideal), el esfuerzo y la deformación estarán desfasados 90° y $\delta = \pi/2$. Por consecuencia, $G' = 0$, porque el material no almacena energía ([Rao y Steffe, 1992](#)).

El cambio de G' y G'' en función de la frecuencia, a esfuerzo o deformación dentro de la zona de viscoelasticidad lineal, también conocido como espectro mecánico, permite identificar el tipo de material. A continuación se presentan varios casos:

1. Materiales viscoelásticos sin uniones químicas

- Sustancias con bajo peso molecular y distribución uniforme del peso molecular, y moléculas lineales de cadena corta con pocos entrecruzamientos físicos.

Para tales fluidos viscoelásticos, se recurre al modelo de Maxwell (el arreglo en serie del resorte y muelle), la siguiente interacción se aplica a:

$$G'(\omega) = G_1 \left(\frac{\omega^2 t_R^2}{1 + \omega^2 t_R^2} \right) \dots\dots\dots (19)$$

$$G''(\omega) = G_1 \left(\frac{\omega t_R}{1 + \omega^2 t_R^2} \right) \dots\dots\dots (20)$$

A frecuencias bajas $G'' > G'$, el comportamiento se invierte a frecuencias altas.

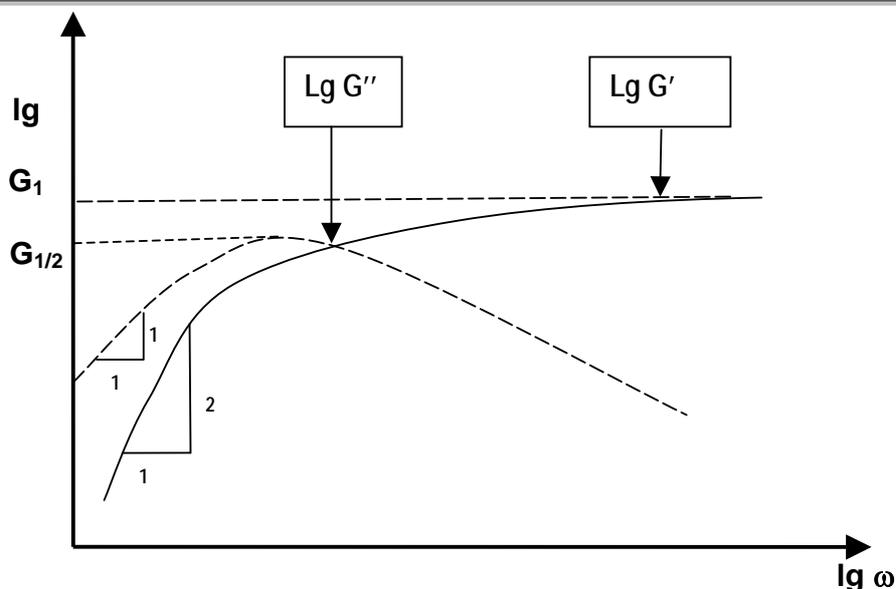


Figura 2.13. Ejemplo de un espectro mecánico de una sustancia de bajo peso molecular.

Fuente: Mezger, 1990

En el diagrama de doble logaritmo (*Figura 2.13*), para frecuencias pequeñas ($\omega \rightarrow 0 \text{ s}^{-1}$) la curva $G'(\omega)$ tiene una inclinación 2:1 porque $G' \sim \omega^1$ aplica.

Para frecuencias grandes la curva $G'(\omega \rightarrow 10 \text{ s}^{-1})$ alcanza un valor de meseta constante G_1 . En contraste la curva $G''(\omega)$ a frecuencias pequeñas ($\omega \rightarrow 0 \text{ s}^{-1}$) tiene una inclinación 1:1 porque $G'' \sim \omega^2$ aplica.

En el punto $\omega, t_R = 1$ la curva $G''(\omega)$ alcanza un valor máximo con $G''_{\text{max}} = G_{1/2}$, la mitad del valor de meseta en la curva G' . Para altas frecuencias ($\omega \rightarrow \infty$) la curva $G''(\omega)$ decrece con una pendiente de 1:1.

Los fluidos viscoelásticos sin enlaces cruzados pueden ser caracterizados en un intervalo de frecuencias bajas con el modelo de Maxwell.

- Sustancias con alto peso molecular y amplia distribución del peso molecular.

En la mayoría de los polímeros entrecruzados además de poseer moléculas de cadena corta se encuentran también cadenas largas lineales o ramificadas. Las grandes moléculas pueden lograr enredarse y engancharse y formar redes temporales. Estos enlaces pueden deberse a fuerzas de interacción física que dan lugar a entrecruzamientos (enlaces secundarios) y enlaces químicos fijos (valencias primarias). Con pequeños movimientos, estas moléculas tienen la posibilidad de deslizarse lentamente unas sobre otras y desenredarse (*Figura 2.14*).

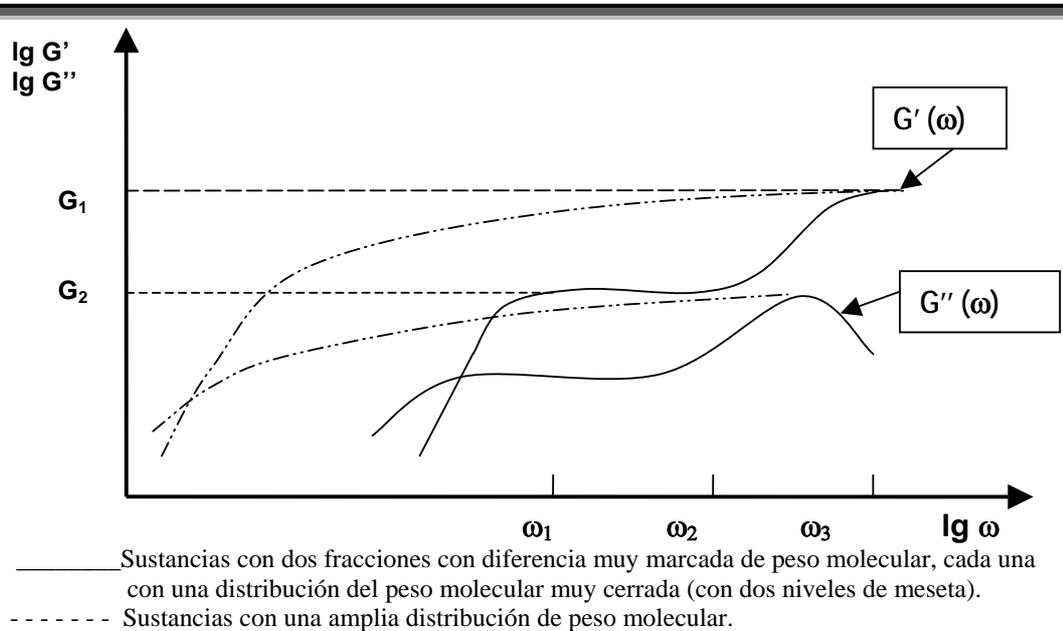


Figura 2.14. Espectro mecánico de sustancias de alto peso molecular.

G_1 Valor de la meseta (transición vítrea)

G_2 Valor de la meseta de elasticidad de hule o goma.

Se distinguen dos intervalos:

$\omega \leq \omega_1$ = intervalo inicial (zona de flujo 1)

ω_1 a ω_2 = intervalo de elasticidad de hule (meseta G_2)

ω_2 a ω_3 = intervalo de transición (zona de flujo 2)

$\geq \omega_3$ = intervalo vítreo (meseta G_1)

Generalmente, tiene las siguientes interpretaciones:

- Un alto valor en la meseta G_1 indica una estructura fuerte (ejemplo dos o más fuerzas que interaccionan entre largas macromoléculas).
- Una subida temprana a frecuencias pequeñas indica mayores tiempos de relajación de la muestra. Por eso un desplazamiento de la curva ascendente hacia la derecha indica macromoléculas pequeñas poco ramificadas.
- Una subida con pendiente pronunciada describe una distribución cerrada del peso molecular. Entre mayor sea la distribución de pesos moleculares largos y mayor la porción de pesos moleculares bajos mayor será la dispersión de tiempos de relajación. Esto se muestra en menor pendiente de la curva $G'(\omega)$ y en un punto máximo de la curva $G''(\omega)$ menos marcado.
- Con un incremento en el peso molecular promedio, la posición del punto de cruce de las dos curvas $G'(\omega)$ y $G''(\omega)$ se mueve a la izquierda en una línea paralela al eje de la frecuencia.

2. Sustancias viscoelásticas con entrecruzamientos químicos.

Aquí son consideradas sustancias que tienen cruce de enlaces químicos entre macromoléculas, estos puentes de redes son fijos con verdaderas uniones químicas (principalmente valencias primarias). Esto tiene la consecuencia de que no es posible que las cadenas se resbalen unas sobre otras sin destruir las redes, porque éstas están fijadas en los puntos de unión de la red. Dependiendo de la separación de las uniones de la red es posible una limitada deformación de la muestra, con una red separada, por ejemplo, en la masa ocurre una deformación mayor, y con una red apretada (geles con cadenas esterificadas) sólo son posibles deformaciones pequeñas (*Figura 2.15*).

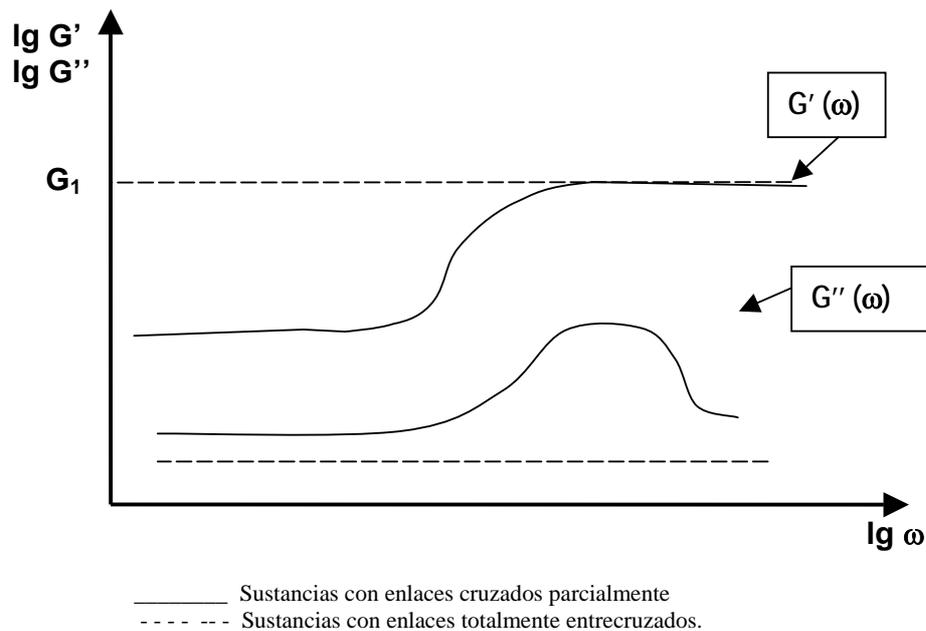


Figura 2.15. Espectro mecánico de sustancias con redes esterificadas.

Fuente: Mezger, 1990

Las sustancias con enlaces totalmente entrecruzados no pueden ser deformadas más, sin ser destruidas. El material muestra un módulo de almacenamiento G' independiente de la frecuencia, y el módulo de pérdida G'' tiene el valor de cero. En sustancias con enlaces total o parcialmente entrecruzados, $G''(\omega)$ no toma el valor cero a frecuencias pequeñas.

2.6 Potencial zeta

Se define como el potencial electrostático que existe entre la separación de las capas que rodean a una partícula. Es importante en la medición de estabilidad de un sistema, puesto que indica el potencial que se requiere para penetrar la capa de iones circundante en la partícula para desestabilizarla (Sandoval y Montellano, 2003). El potencial zeta puede ser una manera efectiva de controlar el comportamiento de coloides puesto que indica cambios en el potencial de la superficie y en las fuerzas de repulsión entre los mismos.

2.6.1 Modelo de la doble capa eléctrica

Se usa el modelo de la doble capa eléctrica para visualizar la atmósfera iónica en la proximidad de las partículas coloidales cargadas, y para explicar como actúan las fuerzas eléctricas de repulsión. Es posible entender este modelo, como una secuencia de etapas que ocurren alrededor de una partícula coloidal negativa, si los iones que neutralizan sus cargas son repentinamente separados (Figura 2.16).

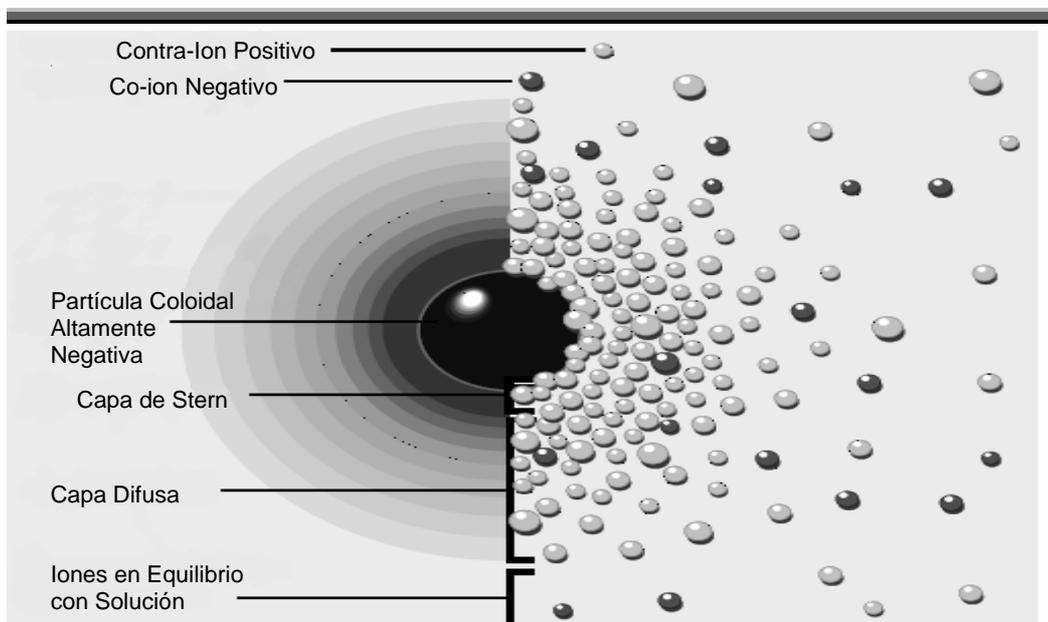


Figura 2.16. Modelo de la doble capa eléctrica.

Fuente: Sandoval y Montellano, 2003.

La vista izquierda muestra el cambio en la densidad de carga alrededor de la partícula coloidal. La derecha muestra la distribución de iones positivos y negativos alrededor de la partícula coloidal cargada.

La comprensión del modelo de la doble capa eléctrica comienza con la presencia de una partícula coloidal cargada negativamente, la cual atrae a iones cargados positivamente (llamados contraiones), los cuales forman una capa rígida adyacente alrededor de la superficie de la partícula coloidal, llamada capa de Stern.

Posteriormente otros iones positivos adicionales, son todavía atraídos por la partícula coloidal negativa, lo cual provoca que éstos intenten acercarse a su superficie. Sin embargo, éstos son rechazados por la capa de Stern, dando como consecuencia una capa que tiene una alta concentración de iones positivos cerca de la superficie, la cual disminuye gradualmente con la distancia.

En forma similar, aunque opuesta, la formación de la capa difusa se da debido a la presencia de iones negativos, llamados coiones pues tienen la misma carga que la partícula coloidal. Su concentración se incrementa gradualmente al alejarse de la partícula (Figura 2.17), y su espesor aumenta con el incremento de la temperatura, y disminuye cuando aumenta la concentración en los iones (Sánchez, 2004).

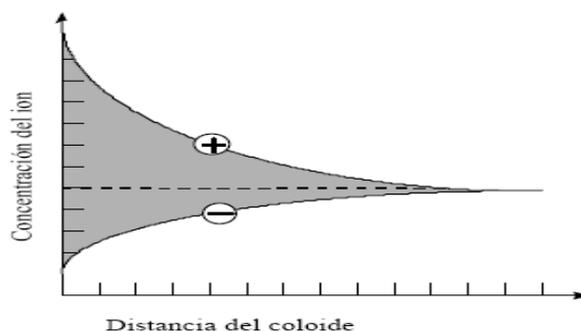


Figura 2.17. Variación en la concentración de iones positivos (contraiones) y negativos (coiones) con la distancia de un coloide negativo.

Fuente: Sánchez, 2004.

A cualquier distancia de la superficie, la densidad de carga del sistema es igual a la diferencia de concentración entre iones positivos y negativos. La densidad de carga es mucho mayor cerca de la partícula coloidal y gradualmente disminuye a cero cuando las concentraciones de iones positivos y negativos se asemejan.

De esta manera la partícula coloidal se encuentra rodeada de una capa interna (capa de Stern) y otra externa (capa Difusa), encontrándose entre ambas una mezcla de iones negativos y positivos, los cuales permiten que ambas capas se puedan encontrar en equilibrio dentro del sistema, llamándose esta zona entre ambas capas como potencial zeta.

La doble capa eléctrica (llamada así porque se encuentra conformada por la capa de Stern y la Difusa) al poseer una capa cargada positivamente y otra negativamente, las cuales no sólo no permiten la incorporación en ellas de iones de su misma carga, sino que además los repelen, es capaz de generar efectos de repulsión entre las superficies de las partículas coloidales evitando su aglomeración (*Figura 2.18*). El espesor de esta doble capa depende del tipo y de la concentración de los iones de la solución (*Sandoval y Montellano, 2003*). La presencia de la doble capa eléctrica alrededor de cada partícula coloidal provoca que éstas se repelan unas a otras.

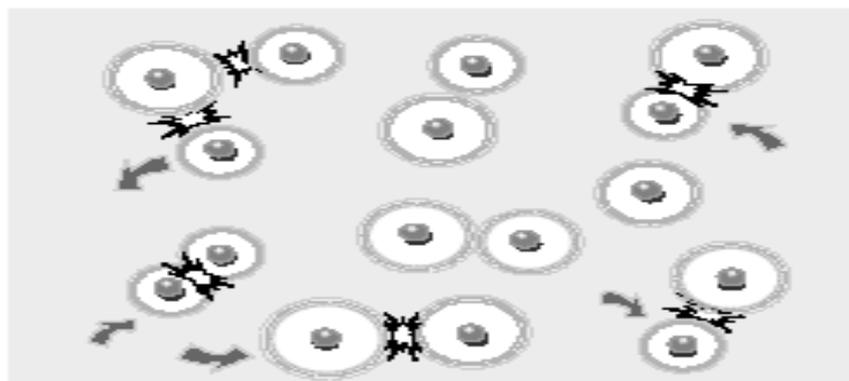


Figura 2.18. Presencia de la doble capa eléctrica.

Fuente: Sandoval y Montellano, 2003.

2.6.2 Factores que afectan el potencial zeta

El potencial zeta de las partículas coloidales depende de factores tales como: la temperatura, la presencia de compuestos activos o surfactantes, la concentración y tipo de iones y del pH, que a su vez se encuentra relacionado con el punto isoeléctrico de la partícula coloidal, encontrándose estable el sistema cuando se encuentra en un pH por encima de éste (Figura 2.19) (Yongan y Dongqing, 1998; Sandoval y Montellano, 2003).

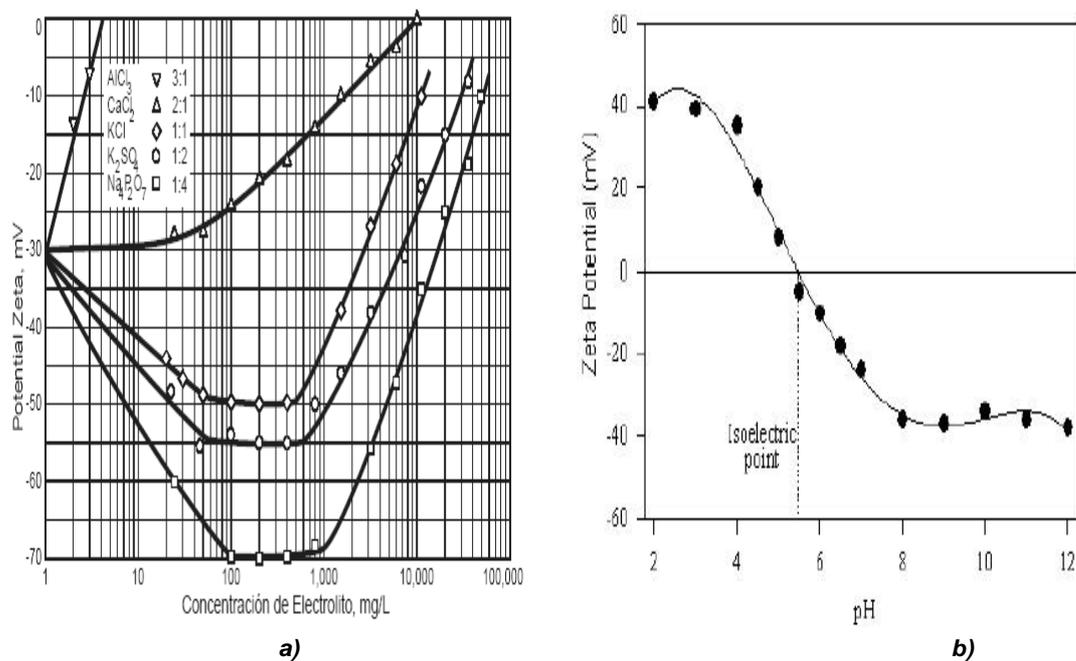


Figura 2.19. Influencia de tipo y concentración de electrolitos a), y del pH de proteína ácida sobre el potencial zeta b).

Fuente: Yongan y Dongqing, 1998; Sandoval y Montellano, 2003.

3. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1 Objetivos

General

- Evaluar las propiedades reológicas y fisicoquímicas de sistemas elaborados con mezclas de alginato de sodio–caseinato de sodio a dos diferentes valores de pH, dos concentraciones de proteína, con y sin y la adición de iones calcio para establecer su relación con la estabilidad de sus emulsiones aceite/agua

Particulares

- Caracterizar el comportamiento al flujo y viscoelástico de sistemas acuosos, así como el potencial zeta y tamaño de partícula de mezclas de alginato de sodio/caseinato de sodio a dos valores de pH, dos concentraciones de proteína (1 y 2 %), con y sin la adición de iones calcio, para observar su influencia sobre las propiedades de la emulsión.
- Caracterizar el comportamiento al flujo y viscoelástico de emulsiones aceite/agua a una fracción-volumen constante (30/70), de las mezclas de alginato de sodio/caseinato de sodio, para cuantificar el efecto de las variables sobre las propiedades reológicas.
- Establecer la relación que existe entre el tamaño y distribución de glóbulos de emulsiones aceite/agua con su comportamiento reológico, en dos diferentes valores de pH, con y sin adición de iones.
- Establecer el efecto de la presencia del polisacárido sobre las propiedades de estabilidad de emulsiones aceite/agua formadas con mezclas de caseinato de sodio/alginato de sodio con y sin la presencia de iones calcio, en dos diferentes valores de pH, mediante la medición de potencial zeta y su correlación con el tamaño de partícula.

3.2 Justificación

Bajo ciertas condiciones ambientales, como pH, concentración de iones calcio, concentración de biopolímero, se pueden inducir interacciones entre el caseinato de sodio y el alginato de sodio que promueven cambios sobre las propiedades electrostáticas y reológicas de emulsiones aceite en agua que son reflejo de las propiedades del alginato de sodio en el seno de la fase acuosa, y del caseinato de sodio en la fase dispersa de la emulsión y definen las características de estabilidad de las mismas.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Preparación de muestras

Los hidrocoloides que se utilizaron fueron: caseinato de sodio (Lactonat EN, lote No. 31023, Lactoprot, Alemania) con $6.98\% \pm 0.09$ de humedad y alginato de sodio (Keltone HV, lote No. 21405A, Kelco División de Merck & Co. Inc., San Diego, California) con $14.7\% \pm 0.09$ de humedad. Se utilizó cloruro de calcio, grado analítico (Merck) y solución amortiguadora de acetato para el control y la variación del pH. Todas las concentraciones de los hidrocoloides se expresan como porcentaje en peso en una base libre de agua. Los sistemas elaborados se resumen en el *Cuadro 3.1*:

Sistemas Acuosos

Las disoluciones acuosas de alginato de sodio se elaboraron dispersando el polisacárido en agua desionizada (pH 6.8 aprox.) o en solución amortiguadora (pH 5.4), según el caso, bajo agitación magnética y calentamiento hasta 65°C por espacio de 60 minutos, posteriormente se agregó 5 mM de cloruro de calcio, previamente disuelto en agua caliente, en los sistemas correspondientes. Para disoluciones acuosas de caseinato de sodio, la adición de la proteína se realizó lentamente para evitar la formación de grumos y se mantuvo bajo agitación magnética a temperatura ambiente (25°C) durante 35 minutos, aproximadamente. La adición de iones se realizó previo a la disolución de la proteína. Para disoluciones ternarias de

alginato de sodio-caseinato de sodio-agua los sistemas se prepararon al doble de concentración requerida y por separado para garantizar su completa disolución, incorporándose posteriormente por partes iguales, ya juntos la agitación magnética se llevó a cabo por 35 minutos, a temperatura ambiente. Habiendo dejado reposar a cada una de las soluciones por un tiempo de 35 a 40 min. a temperatura ambiente (25°C), las muestras se caracterizaron. El momento para la adición de cloruro de calcio previamente disuelto, se realizó al principio de la dispersión de la proteína con el polisacárido. En todos los sistemas se adicionó azida de sodio (0.03%) como antimicrobial.

Cuadro 3.1 Resumen de los sistemas acuosos elaborados

<i>Muestra</i>	<i>iones</i>	<i>disolvente</i>	<i>pH</i>
Caseinato de sodio 1%	Sin iones	Amortiguador acetato	5.5
		Agua desionizada	6.71
	5 mM CaCl ₂	Amortiguador acetato	5.43
		Agua desionizada	6.20
Caseinato de sodio 2%	Sin iones	Amortiguador acetato	5.55
		Agua desionizada	6.63
	5 mM CaCl ₂	Amortiguador acetato	5.42
		Agua desionizada	6.20
Alginato de sodio 0.1 %	Sin iones	Amortiguador acetato	5.42
		Agua desionizada	6.67
	5 mM CaCl ₂	Amortiguador acetato	5.5
		Agua desionizada	6.1
Caseinato de sodio 1% + alginato de sodio 0.1%	Sin iones	Amortiguador acetato	5.46
		Agua desionizada	6.79
	5 mM CaCl ₂	Amortiguador acetato	5.52
		Agua desionizada	6.53
Caseinato de sodio 2% + alginato de sodio 0.1 %	Sin iones	Amortiguador acetato	5.43
		Agua desionizada	6.60
	5 mM CaCl ₂	Amortiguador acetato	5.40
		Agua desionizada	6.29

Emulsiones

Habiendo preparado cada una de las disoluciones de alginato y caseinato de sodio, además de sus mezclas, se procedió a la formación de las emulsiones, para lo cual se empleó aceite puro de girasol (30% en peso) a una velocidad de incorporación de 3 mL por minuto

con una bureta a temperatura ambiente (25°C) bajo constante agitación (en una propela de hélices marca Heidolph a una velocidad de 1358 rpm). Posteriormente la muestra obtenida se sometió a homogeneización (en un homogeneizador marca Silverson modelo L4R) por espacio de 30 minutos a velocidad de 4640 rpm. Obtenida la emulsión se dejó reposar máximo 20 minutos o según el tiempo requerido antes de que la emulsión se desestabilizara, a temperatura ambiente, para poder realizar su caracterización.

3.3.2 Caracterización reológica

Pruebas rotacionales

Para la determinación del comportamiento al flujo se utilizó un reómetro Physica modelo LS 100, se empleó geometría de doble espacio anular (DG1) con una relación de radios 1.041. La muestra se sometió a un barrido de ascenso–descenso en modo estacionario, estableciendo un tiempo de 20 s en cada valor de esfuerzo, en el cual se controló el esfuerzo de cizalla (σ), midiéndose la velocidad de cizalla resultante ($\dot{\gamma}$). A cada una de las muestras se le realizaron 3 réplicas bajo las mismas condiciones. Los datos se linealizaron por medio de una regresión lineal o no lineal de σ vs $\dot{\gamma}$, según el caso.

Pruebas dinámicas

Barridos de esfuerzo para la determinación de la zona viscoelástica lineal

Al igual que en las pruebas rotacionales se empleó geometría de doble espacio anular (DG1, relación de radios 1.041). Se realizó un barrido de esfuerzo en el reómetro respectivo, para ello se fijó la frecuencia (1Hz). Posteriormente se obtuvieron los gráficos de los módulos G' y G'' en función del esfuerzo, y se llevó a cabo una selección de los valores de esfuerzo correspondientes a la zona de viscoelasticidad lineal, es decir, marcar el intervalo de esfuerzo donde G' y G'' son independientes del esfuerzo. En cada una de las muestras se realizó por triplicado bajo las mismas condiciones.

Barridos de frecuencia para la obtención de espectros mecánicos

Una vez establecido el intervalo de viscoelasticidad lineal para cada sistema por medio de un barrido de esfuerzo a frecuencia constante, se procedió a obtener el espectro mecánico a esfuerzo constante. La prueba se realizó estableciendo intervalos de frecuencia de 0.01 a 10 Hz. Con los datos de la prueba oscilatoria se obtuvieron los espectros mecánicos por triplicado.

3.3.3 Potencial zeta y conductividad eléctrica

Las mediciones se realizaron en un Nano Zeta-Sizer Green Bagde (modelo ZEN3600, Malvern, Inc, USA) con un intervalo en el tamaño de partícula para medición de potencial zeta de 3 nm a 10 μm . Para la medición de potencial zeta de cada muestra realizada a una temperatura de 25°C, se utilizó un índice de refracción para el medio dispersante de 1.330.

3.3.4 Tamaño y distribución de tamaño

Microscopía

Las mediciones de microscopía óptica se realizaron en un microscopio (marca Olympus modelo CX31), para posteriormente con los diferentes objetivos utilizados (4x/0.10, 10x/0.25 pH 7 ∞ /-, 40x/0.65 pH 2 ∞ /0.17 y 100x/1.25 oil pH 3 ∞ /-) y con ayuda de un software (Image Pro Discovery) se observó la forma, tamaño y distribución de las partículas dispersas.

Análisis de tamaño de partículas por dispersión de luz “Dynamic Light Scattering” (DLS)

La medición de tamaño de partícula se realizó en un Nano Zeta-Sizer (modelo ZEN3600, Malvern Inc, USA). Para la medición del tamaño de partícula de cada muestra realizada a una temperatura de 25°C, se utilizó un índice de refracción, para el medio dispersante de 1.330 (este valor corresponde al del agua y fue dado por el instrumento, y ya que el medio de dispersión es muy diluido se decidió usarlo) de la proteína de 1.450 y del

alginato de 1.333. A cada una de las muestras se le realizaron 3 réplicas bajo las mismas condiciones.

Todas las pruebas descritas anteriormente se realizaron por triplicado y se aplicó un tratamiento estadístico, en el entendido que éste se compone de medidas descriptivas y algunas de ellas nos indican el valor medio de una serie de observaciones conocida como media aritmética, algunas otras medidas de dispersión son la mediana, la moda, la varianza, desviación estándar y coeficiente de variación; las cuales indicarán la validez y confiabilidad de las mediciones realizadas para cada dispersión.

Para los resultados obtenidos de la caracterización reológica mediante pruebas rotacionales será necesario además, establecer el modelo matemático que permita la descripción de las curvas auxiliándonos de la aplicación de regresión lineal o no lineal, según sea el caso.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Sistemas acuosos

4.1.1 Comportamiento al flujo y viscoelasticidad

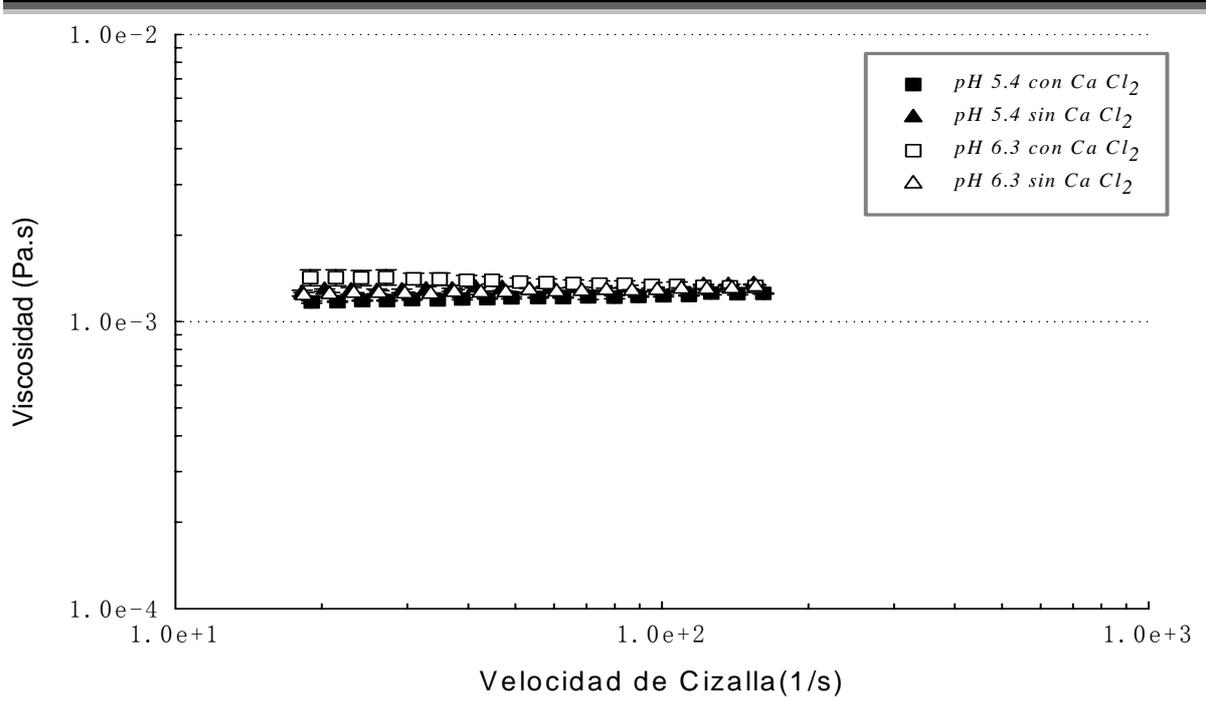
4.1.1.1 Componentes individuales

En las *Figuras 4.1a y 4.1b* se presenta el comportamiento al flujo de sistemas acuosos elaborados con caseinato de sodio al 1% y 2%, respectivamente, en pH 5.4 y 6.3, con y sin la adición de 5 mM de cloruro de calcio, a 25°C.

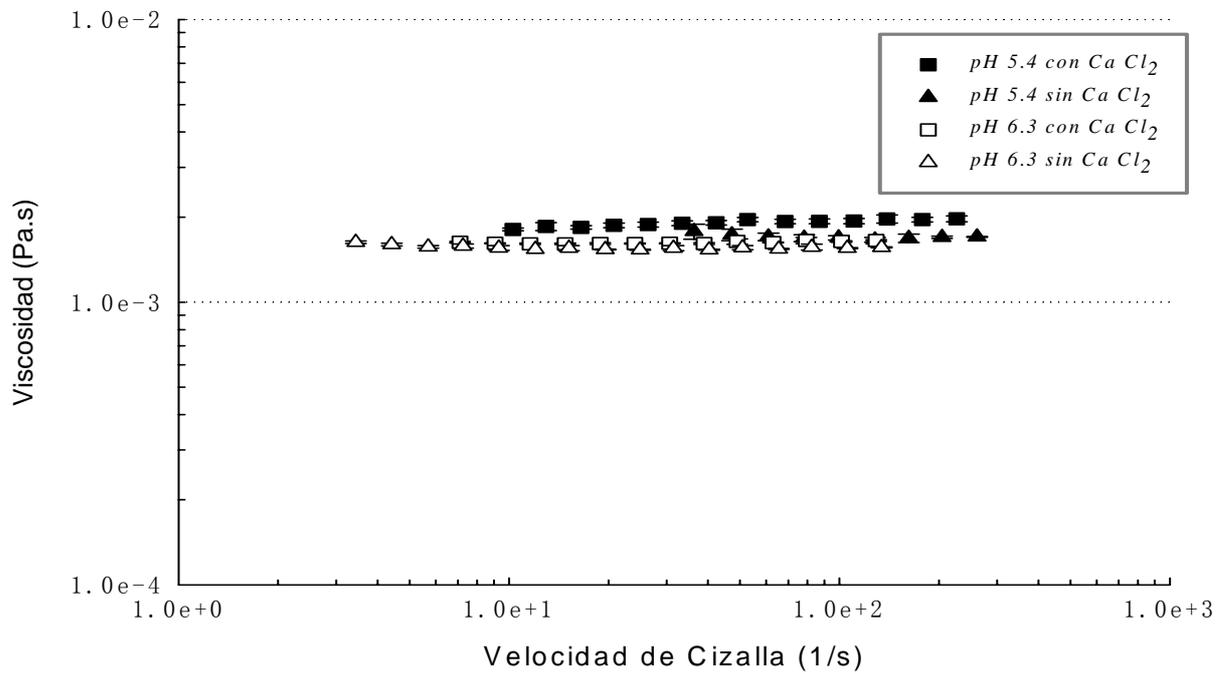
Todos los sistemas mostraron comportamiento newtoniano, es decir, una relación lineal entre la velocidad de cizalla y el esfuerzo de cizalla, además de que la viscosidad permanece constante en el intervalo de velocidades de cizalla estudiado.

Se puede observar como el cambio del pH y/o adición de iones calcio no tiene influencia sobre su comportamiento al flujo (*Cuadro 4.1*), para las condiciones estudiadas. Esto ha sido demostrado por algunos autores, los cuales han analizado el comportamiento al flujo de soluciones individuales de caseinato de sodio (*Fichtali y van de Voort, 1993*) a concentraciones de 1% en ausencia de iones divalentes, en donde reportan un carácter newtoniano.

Al analizar el efecto de la adición de iones calcio en diferentes concentraciones, en soluciones de caseinato de sodio al 1% y 2%, *Dickinson y col. (2001)* observaron que la asociación de submicelas de caseinato es más pronunciado para concentraciones de calcio entre 8 - 14 mM, además de que dicha asociación molecular está acompañada por cambios en el radio de giro y el radio hidrodinámico de las submicelas de caseinato. Destacan en su estudio que entre 4 - 6 mM de Ca^{++} existe un mínimo grado de asociación de caseína (como si la asociación de calcio ocurriera principalmente en el interior de la misma molécula de proteína más que entre las diferentes moléculas de proteína), lo que podría explicar que no se aprecie algún efecto importante de los iones adicionados (5 mM CaCl_2) sobre el comportamiento al flujo de las disoluciones de caseinato, además aunado a la existencia de caseína kappa, insensible al calcio, en la superficie de las submicelas de caseinato y consecuentemente a la preferencia en posición de las caseína alfa s1 y beta hacia el interior de los agregados de multicomponentes de caseinato (*Cheftel y col., 1989*).



a)



b)

Figura 4.1. Viscosidad de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1% (a) y 2% (b).

A su vez, se ha reportado (Carr y Munro, 2002) que la presencia de iones divalentes modifica las características generales del comportamiento al flujo de las disoluciones de caseinato de sodio, siempre y cuando se manejen concentraciones de proteína superiores a 4% (peso/peso), siendo entonces dependiente el comportamiento al flujo de estas soluciones de la concentración de la proteína y del catión adicionado.

Al comparar los sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1 y 2%, se observa claramente que las muestras al 2% son más viscosas, ya que se aumenta la concentración de proteína. De igual manera, al analizar las muestras individuales de caseinato de sodio al 2% (Cuadro 4.1) se puede apreciar como ésta incrementa en mayor medida en un pH de 5.4 que en uno de 6.3, debido a que una disminución en el pH hacia el punto isoelectrico de la proteína (4.5-5), modifica la conformación de la misma (Eliot y Dickinson, 2003). Este comportamiento no se observa al 1%, donde disminuye la viscosidad ligeramente con la reducción del pH.

Cuadro 4.1. Propiedades reológicas de sistemas acuosos de caseinato de sodio.

MUESTRA	TIPO DE FLUIDO	η (Pa.s) $\times 10^{-3}$	$\dot{\gamma} < \dot{\gamma} < \dot{\gamma}$ (s^{-1})	r^2
■ 1% en pH 5.4 con $CaCl_2$	Newtoniano	1.2	19 – 161	0.999
▲ 1% en pH 5.4 sin $CaCl_2$	Newtoniano	1.3	18 – 154	0.999
□ 1% en pH 6.3 con $CaCl_2$	Newtoniano	1.3	18 – 155	0.999
△ 1% en pH 6.3 sin $CaCl_2$	Newtoniano	1.3	18 – 156	0.999
■ 2% en pH 5.4 con $CaCl_2$	Newtoniano	1.9	10 – 226	0.999
▲ 2% en pH 5.4 sin $CaCl_2$	Newtoniano	1.6	36 – 260	0.999
□ 2% en pH 6.3 con $CaCl_2$	Newtoniano	1.6	7 – 129	0.999
△ 2% en pH 6.3 sin $CaCl_2$	Newtoniano	1.5	3.4 – 134	0.999

Las disoluciones de alginato de sodio al 0.1%, en ausencia de iones y a ambos valores de pH presentan un comportamiento al flujo con características newtonianas.

Sin embargo, la adición de iones calcio en la disolución del polisacárido a pH 5.4, cambió el comportamiento al flujo de la muestra, a un fluido de tipo potencia adelgazante a la cizalla (*Figura 4.2, Cuadro 4.2*), en donde la viscosidad aparente disminuye conforme la velocidad de cizalla aumenta, observándose además en este sistema un incremento considerable en la viscosidad a baja velocidad de cizalla por la adición de Ca^{++} (*Figura 4.2*).

Este comportamiento fluidificante puede interpretarse por la formación de redes temporales. Algunos estudios han mencionado (*Bajpai y Sharma, 2004*) que la viscosidad de las disoluciones de alginato es modificada por la temperatura, el pH, la concentración del polisacárido y el tipo de catión presente en la solución (la viscosidad es relativamente baja cuando se encuentran presentes cationes monovalentes como el Na^+ y K^+ , pero aumenta considerablemente en presencia de cationes di o trivalentes como el Ba^{++} y el Ca^{++}).

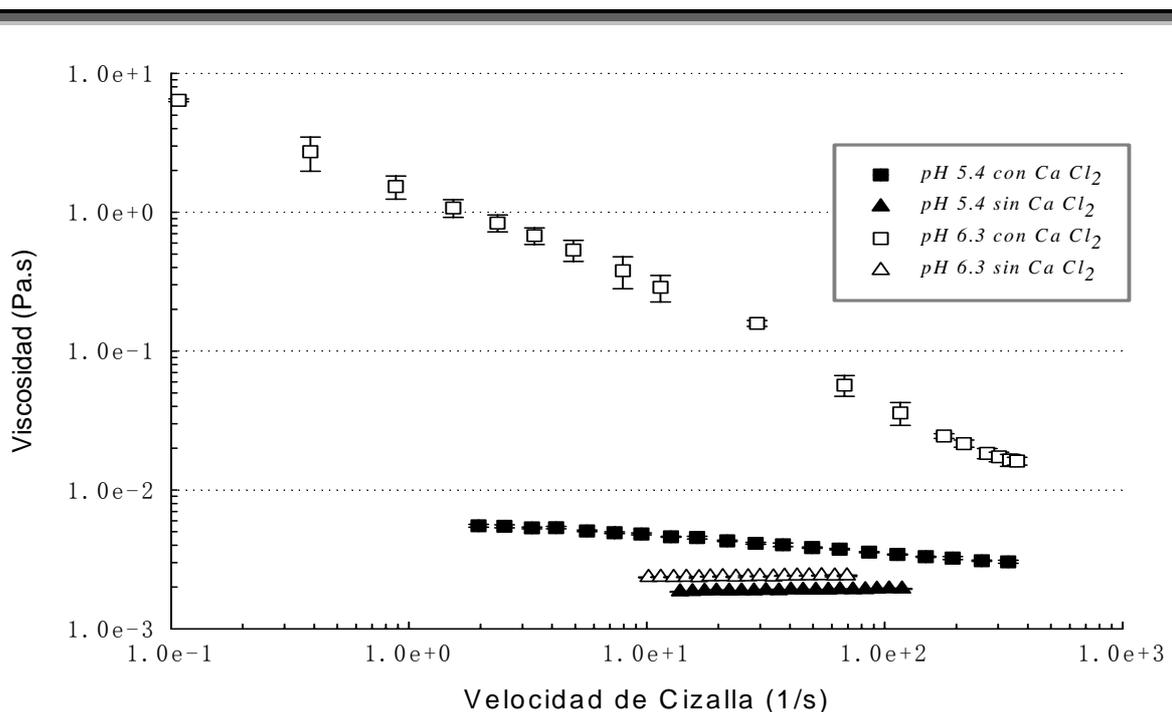


Figura 4.2. Viscosidad de sistemas acuosos de alginato de sodio al 0.1%.

Cuando no se adiciona calcio, no se modifica el comportamiento newtoniano de la disolución de alginato de sodio. Al compararla con la solución a pH 5.4, se observa una ligera disminución de la viscosidad de 2.4 a 1.9. Es importante mencionar que la solución de acetato con la que se modifica el pH contiene Na^+ (80 mM), sin embargo éste no modifica el comportamiento, sólo disminuye la viscosidad.

En presencia de Ca sin amortiguador (sin iones sodio), presenta un aumento de consistencia considerable ($k=1.462 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$) y una alta fluidificación a la cizalla ($n=0.23$), la presencia de un $\sigma_0=0.685 \text{ Pa}$ implica la formación de una red tridimensional. Esto puede ser debido a que los iones calcio interactúan recíprocamente con bloques de residuos de ácido gulurónico presentes en el alginato, dando como resultado la formación de una red tridimensional con propiedades viscoelásticas que es normalmente descrita como modelo de caja de huevo, la cual atrapa e inmoviliza el agua, siendo sin duda esta última, la principal responsable en el aumento en la viscosidad de las disoluciones de alginato que poseen iones Ca^{++} (Zheng, 1997).

Esta misma disolución, a pH 5.4, modificada con el acetato, disminuyó su consistencia ($k= 0.006 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$) aunque sigue presentando un comportamiento ligeramente no newtoniano ($n=0.87$) sin la presencia de un σ_0 (Cuadro 4.2).

Se ha reportado en sistemas de alginato de sodio que la formación de redes se hace más fuerte conforme el pH se acerca al neutro (Bajpai y Sharma, 2004), lo que confirma los resultados. Esta diferencia puede también atribuirse, a que el sodio presente en el amortiguador interfiere con la función del Ca^{++} .

Cuadro 4.2. Propiedades reológicas de sistemas acuosos de alginato de sodio al 0.1%.

MUESTRA	TIPO DE FLUIDO	PARÁMETROS REOLÓGICOS					$\dot{\gamma}$ $x < \dot{\gamma} < x$ (s^{-1})	r^2
		n	k (Pa.s ⁿ)	η (Pa.s) $\times 10^{-3}$	σ_0 (Pa)			
■ pH 5.4 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.87	0.006	–	–	1.9 – 330	0.999	
▲ pH 5.4 sin CaCl ₂	Newtoniano	1	–	1.9	–	13 – 118	0.999	
□ pH 6.3 con CaCl ₂	Hershel Bulkley	0.23	1.462	–	0.689	0.1 – 360	0.995	
△ pH 6.3 sin CaCl ₂	Newtoniano	1	–	2.4	–	10.2 – 69	0.999	

En el espectro mecánico de las disoluciones de alginato al 0.1% a pH 6.3 en presencia de 5mM de CaCl₂ (Figura 4.3a), se puede observar que el valor del módulo de almacenamiento G' es más grande que G'' , lo cual indica que el comportamiento predominante es el sólido más que el líquido, y que casi toda la energía elástica se recupera en cada ciclo de deformación en el intervalo de frecuencia empleado, además G' presenta poca dependencia con la frecuencia. Para esta misma muestra, en la Figura 4.3b el valor de tan δ fue bajo (0.2) en todo el intervalo de frecuencia, y permanece constante en un periodo corto de observación (es decir a altas frecuencias).

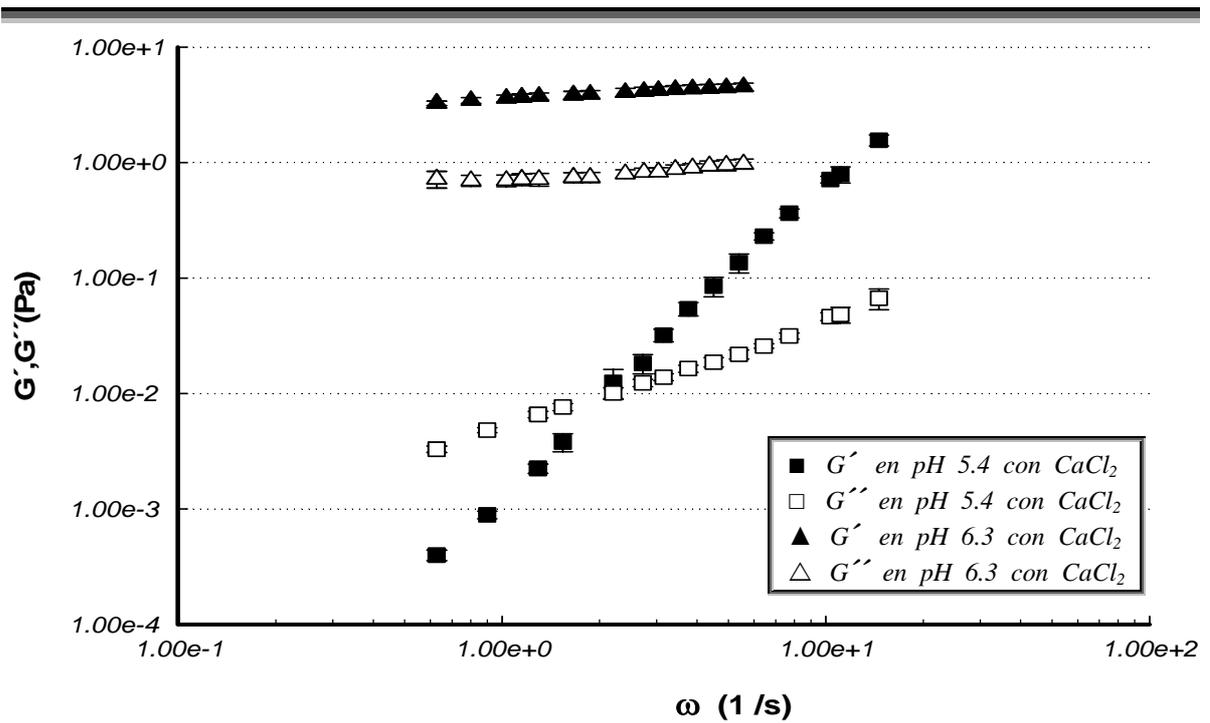
Según Clark y Ross Murphy (1987), algunos sistemas como los geles, pueden clasificarse de acuerdo al tipo de espectro mecánico resultante en: fuertes, débiles y físicos o intermedios. En los primeros $G' > G''$, ambos muestran una ligera dependencia de la frecuencia, la deformación viscoelástica lineal es pequeña (< 0.05), y la tangente del ángulo delta es independiente de la frecuencia. En los geles débiles o soluciones poliméricas diluidas, el módulo de G' muestra una fuerte dependencia con la frecuencia y constantemente G' y G'' se entrecruzan, y en los geles físicos o fluidos viscoelásticos, los cuales son intermedios entre fuertes y débiles, muestran dependencia de la frecuencia pero los módulos no se entrecruzan (Gunasekarana y Mehmet, 2000).

El espectro resultante de esta muestra, es por lo consiguiente característico de un gel fuerte, en donde la transición a la formación de redes por gelificación de polímeros, es

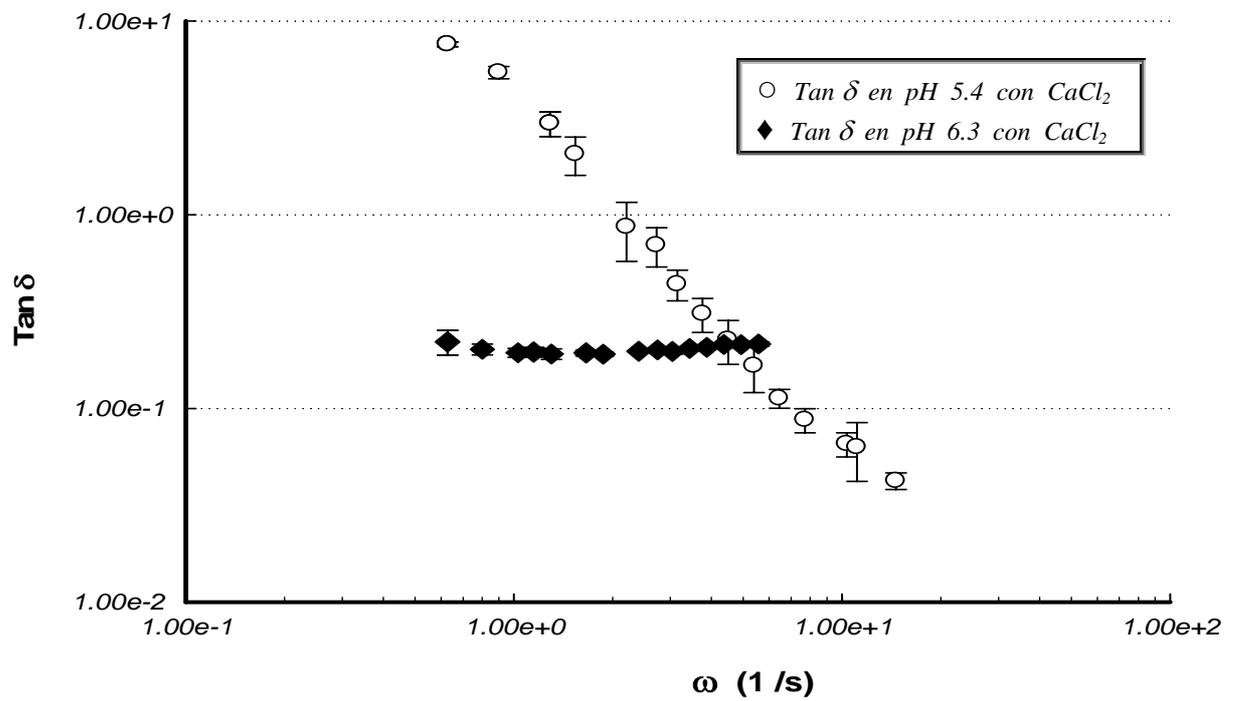
inducida por la adición de iones divalentes como el Ca^{++} y donde están estructurados por zonas de unión estabilizadas por series de puentes fuertes, tales como los enlaces covalentes (*Michon y Chapuis, 2004*). El espectro mecánico obtenido confirma que la disolución de alginato de sodio en presencia de iones Ca^{++} sin modificar el pH ni adicionar Na, interacciona recíprocamente con bloques de residuos de ácido gulurónico) formando redes tridimensionales, las cuales atrapan e inmovilizan las moléculas de la fase continua dentro de ésta (*Bajpai y Sharma, 2004*). Sin embargo, por la magnitud de los módulos y su apariencia fluida, puede considerarse como un gel fluido.

Por otra parte, en las muestras de polisacárido elaboradas en pH de 5.4, las curvas de los módulos de almacenamiento y de pérdida se interceptan en el intervalo de frecuencias entre 1 y 5 s^{-1} , mostrando una clara tendencia hacia el comportamiento de un sólido a altas frecuencias (30 s^{-1}), observándose la fuerte dependencia de estos módulos con la frecuencia, además los valores de la $\tan \delta$, disminuyen rápidamente conforme la frecuencia aumenta. De acuerdo con la clasificación mencionada anteriormente, el espectro mecánico de estas muestras se comporta como el de un gel débil o soluciones poliméricas diluidas, es decir, sistemas que forman redes temporales por gelificación de polímeros, debido a la presencia de iones divalentes y de los iones sodio, en los cuales los enlaces se deben a fuerzas de interacción física débiles que dan lugar a entrecruzamientos, tales como los enlaces de hidrógeno, de Van der Waals, e hidrofóbicos (*Zheng, 1997*). Con este resultado se puede reafirmar que el sodio presente en el amortiguador interviene en la formación de la red de alginato sin iones calcio.

Por lo tanto, podría decirse que los geles de alginato tienen un comportamiento de características viscoelásticas, siendo las responsables de dicho comportamiento, las redes que se forman en medio acuoso debido a la adición de iones divalentes, y que la fuerza y rigidez con que se forman estas redes está en función del pH en que se encuentra el medio de dispersión y la presencia de iones monovalentes.



a)



b)

Figura 4.3. Espectros mecánicos de sistemas acuosos de alginato de sodio al 0.1% (a) y valores respectivos de $\text{tan } \delta$ (b).

4.1.1.2 Mezclas

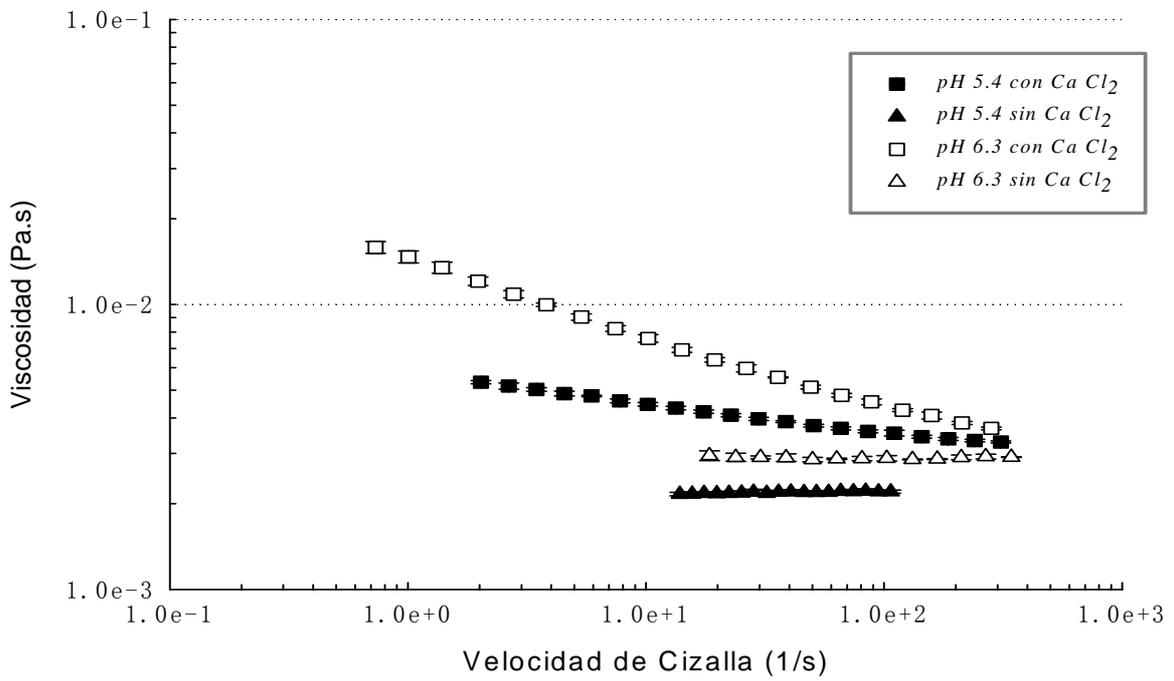
El comportamiento al flujo de las disoluciones elaboradas con mezclas de caseinato de sodio al 1% y alginato de sodio al 0.1% en pH de 5.4 y 6.3 en ausencia de iones calcio, presentan un comportamiento al flujo de tipo newtoniano, en el cual la viscosidad no cambia en un intervalo de velocidades entre 0.7 y 342 s⁻¹ (*Figura 4.4a*), al igual que las soluciones individuales de caseinato y alginato sin iones, caracterizadas previamente.

Así también, se observó una mayor viscosidad en la mezcla que se encontraba en un pH de 6.3 en comparación a la que se encontraba en un pH de 5.4, la cual contiene iones sodio, que de igual manera se atribuye a la interferencia en la actividad de los iones calcio (*Cuadro 4.3*).

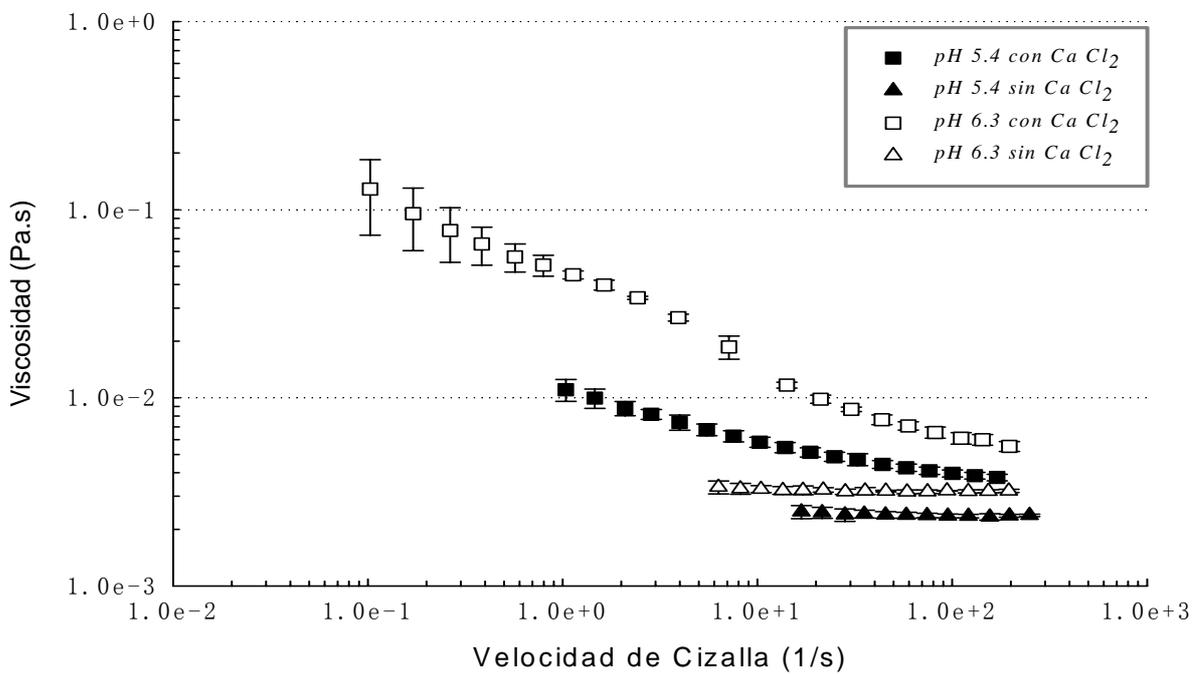
Comparando los *Cuadros 4.1, 4.2 y 4.3* se puede observar que la viscosidad de las mezclas sin iones al 1% de caseinato de sodio – 0.1% alginato de sodio, es mayor en comparación con la viscosidad de los componentes solos a la misma concentración, lo que se puede atribuir tanto a un aumento de concentración de macromoléculas como a una probable formación de coacervados entre el polisacárido y la proteína.

Por otro lado, las mezclas en las cuales se adicionó iones calcio, presentaron un comportamiento al flujo de tipo potencia, adelgazante a la cizalla (pH de 5.4 y presencia Na⁺). Este cambio en el comportamiento al flujo, de newtoniano (en las mezclas sin Ca⁺⁺) a potencia (las que poseían Ca⁺⁺) se atribuye a la formación de redes débiles de alginato, que involucra la unión temporal entre los iones calcio y los bloques de guluronato alineados de dos cadenas de alginato (*Blandino y Macías, 1999*), se consideran débiles debido a la interferencia de iones Na⁺ (*Cuadro 4.3*) y a que no presentó σ_0 .

El aumento de la viscosidad de las mezclas es más evidente al compararlas con los sistemas donde se utilizó caseinato de sodio solo, ya que comparándolas con los del alginato de sodio la viscosidad aparente disminuyó.



a)



b)

Figura 4.4. Viscosidad de sistemas acuosos de mezclas de alginato al 0.1 con caseinato de sodio al 1% (a) y 2% (b).

Cuadro 4.3. Propiedades reológicas de mezclas de alginato de sodio con caseinato de sodio en medio acuoso.

MUESTRA	TIPO DE FLUIDO	PARÁMETROS REOLÓGICOS			$\dot{\gamma} < \dot{\gamma} < x$ (s^{-1})	r^2
		n	k (Pa.s ⁿ)	η (Pa.s) $\times 10^{-3}$		
■ Alginato 0.1%, Caseinato 1% en pH 5.4 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.90	0.006	—	2 – 309	0.999
▲ Alginato 0.1%, Caseinato 1% en pH 5.4 sin CaCl ₂	Newtoniano	1	—	2.2	13 – 106	0.999
□ Alginato 0.1%, Caseinato 1% en pH 6.3 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.79	0.014	—	0.7 – 281	0.999
△ Alginato 0.1%, Caseinato 1% en pH 6.3 sin CaCl ₂	Newtoniano	1	—	2.9	18 – 342	0.999
■ Alginato 0.1%, Caseinato en pH 5.4 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.79	0.010	—	1 – 170	0.998
▲ Alginato 0.1%, Caseinato 2% en pH 5.4 sin CaCl ₂	Newtoniano	1	—	2.3	16 – 249	0.999
□ Alginato 0.1%, Caseinato 2% en pH 6.3 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.57	0.043	—	0.1 – 196	0.993
△ Alginato 0.1%, Caseinato 2% en pH 6.3 sin CaCl ₂	Newtoniano	1	—	3.1	6 – 195	0.999

Por lo que se puede decir que en presencia de iones calcio el alginato de sodio domina el comportamiento reológico del sistema, pero se esperaba un comportamiento sinérgico, ya que, algunos autores (Bailey y col., 1997) encontraron que los puentes iónicos de los grupos negativos del alginato en presencia de grupos positivos pertenecientes a una proteína (como puede ser los del caseinato) ayudan a reforzar el proceso de gelificación del alginato. Sin embargo, en estas muestras no se observa la presencia de un σ_0 como en las muestras de alginato sodio solo, pudiendo implicar solamente la formación de una red tridimensional débil por la interferencia del caseinato de sodio aunado a la presencia de sodio. Es importante mencionar que no se obtuvieron los espectros mecánicos de estas muestras ya que no se pudo acceder a la zona de viscoelasticidad lineal.

Al comparar las mezclas del 1% con las del 2% se observa también el mismo comportamiento que el caseinato de sodio solo, pero una mayor consistencia, ya sea como un aumento de viscosidades en los fluidos newtonianos o un aumento en el índice de consistencia en los fluidos de la potencia, además de un carácter más fluidificante a la cizalla. Esto puede atribuirse de igual manera al aumento de concentración de macromoléculas.

Con base en lo anterior, es evidente que en estas mezclas, la viscosidad depende de la formación de redes asociadas más que de la formación de complejos proteicos.

4.1.2 Potencial zeta

4.1.2.1 Componentes individuales

Las muestras en medio acuoso de caseinato de sodio tanto al 1% como al 2% y pH de 5.4, presentan un menor potencial zeta (siendo de -13.2 mV. para las muestras manejadas en ausencia de Ca^{++} , y de -11.5 mV para las que se les incorporó este catión) que a pH 6.3 (*Cuadro 4.4*), esto puede deberse al efecto de los iones sodio del amortiguador sobre la carga negativa de la proteína confirmándose la influencia del Na^+ sobre el caseinato.

Las muestras de proteína manipuladas en un pH de 6.3 presentaron valores de potencial zeta de -25.8 mV, para las muestras en ausencia de Ca^{++} , y de -15.5 mV para la muestra que se le adicionó Ca^{++} . Observándose con estos últimos valores, que el aumento en el pH de 5.4 a 6.3 genera un mayor equilibrio de la proteína en medio acuoso, lo cual puede verse retribuido en una mayor estabilización por parte del caseinato en sistemas más complejos como las emulsiones.

Es importante mencionar que el potencial zeta de todas las disoluciones donde se ve involucrado el caseinato de sodio (ver *Cuadros 4.4 y 4.5*) se ve influenciado directamente por la adición de iones Ca^{++} , observándose una disminución de esta propiedad con la adición del catión. *Dickinson y Radford (2003)*, han establecido que los iones calcio específicamente unen a los residuos de fosfoserina en las caseínas modificando la distribución de la carga molecular, el comportamiento del grupo y las propiedades de adsorción.

Cuadro 4.4. Potencial zeta de sistemas acuosos de caseinato de sodio y alginato de sodio.

<i>Muestra</i>	<i>Potencial Zeta (mV)</i>		
	<i>caseinato de sodio al 1%.</i>	<i>caseinato de sodio al 2%.</i>	<i>alginato de sodio al 0.1%.</i>
<i>En pH 5.4 sin CaCl₂</i>	<i>-13.2</i>	<i>-15.2</i>	<i>-43.6</i>
<i>En pH 5.4 con CaCl₂</i>	<i>-11.5</i>	<i>-11.5</i>	<i>-29.5</i>
<i>En pH 6.3 sin CaCl₂</i>	<i>-25.8</i>	<i>-27</i>	<i>-54.9</i>
<i>En pH 6.3 con CaCl₂</i>	<i>-15.5</i>	<i>-18.7</i>	<i>-28.9</i>

En términos coloidales, la adición de contraiones divalentes tales como el Ca^{++} tiene un gran potencial que influye sobre la estructura de la doble-capa eléctrica. Como los iones calcio ligan a los residuos de fosfoserina en la proteína, las caseínas adsorbidas sufren cambios conformacionales los cuales tienen un efecto que reduce el espesor de la capa adsorbida y así disminuye la efectividad del mecanismo de estabilización estérica. De esta manera las cargas repulsivas se ven disminuidas, mostrándose con esto un valor de potencial zeta negativo menor (*Dickinson y Golding, 1998*).

Los valores menores a 25 en valor absoluto de potencial zeta (*Cuadro 4.4*) presentados en las muestras de caseinato de sodio al 1 y 2% manipuladas en un pH de 5.4, son un indicativo que este polímero en medios ligeramente ácidos presentan poca resistencia a la agregación, ya que la repulsión entre proteína-proteína es más pequeña que su atracción. Lo anterior ha sido confirmado por *Malhotra y Coupland (2004)*, los cuales han mencionado que cuando el potencial zeta se encuentra en un intervalo entre 25 y -25 mV la repulsión electrostática entre partículas cargadas será menor a su atracción, provocando una asociación de las moléculas de la fase dispersa. La disminución del pH hacia el punto isoeléctrico de la proteína (4.5-5), acentúa las propiedades catiónicas de las mismas puesto que favorece la protonación del grupo amino a $\epsilon\text{-NH}_3^+$, provocándose con esto que la carga neta del sistema

sea ligeramente positiva, en cambio el aumento del pH hacia una región neutra desplaza el equilibrio hacia la formación de especies aniónicas como los grupos $\epsilon\text{-NH}_2^-$, lo que genera que la carga total sea negativa (Dickinson, 1998).

Las muestras de alginato de sodio al 0.1% en ausencia de iones Ca^{++} presentan los valores absolutos mayores (Cuadro 4.4) de potencial zeta, observándose con estas medidas, que existe una gran capacidad de repulsión entre las moléculas del alginato de sodio en ambos valores de pH, manteniéndose de esta manera un equilibrio en el sistema acuoso. Estos resultados confirman el comportamiento newtoniano del alginato de sodio en ausencia de iones, ya que las macromoléculas de polisacárido se encuentran muy alejadas entre ellas. Por otra parte se puede observar que la adición de iones Ca^{++} en soluciones de alginato provocan una disminución del potencial zeta (mostrando valores de -29.5 mV para las ubicadas en un pH de 5.4, y de -28.9 mV para las encontradas en uno de 6.3). Algunos estudios han reportado (Dickinson y Davies, 1999) que la adición de iones Ca^{++} limitan a algunos de los grupos negativamente cargados en la superficie de las entidades (como pueden ser los grupos $-\text{COOH}$), causando un aumento en la carga positiva en las mismas. Esto obviamente hace que el potencial zeta se vea influenciado más por las cargas positivas que las negativas, dando como consecuencia la disminución del mismo. Además de que el Ca^{++} interacciona recíprocamente con bloques de residuos de ácido gulurónico, formando redes tridimensionales como se mencionó anteriormente (Bajpai y Sharma, 2004).

4.1.2.2 Mezclas

Las muestras de mezclas de alginato de sodio al 0.1% y caseinato de sodio al 1% presentan bajos valores de potencial zeta en comparación con alginato de sodio solo, pero superiores a los de caseinato (Cuadro 4.5), es decir, valores intermedios a los de los componentes solos. Demostrándose con las medidas anteriores, que estas mezclas de hidrocoloides manejadas en un pH ligeramente ácido, presenta una carga neta negativa baja entre sus grupos ionizables, lo cual provoca que entre las interacciones coloidales el balance de fuerzas de atracción sea mayor que las de repulsión provocando un desequilibrio del sistema, esto debido probablemente al Na^+ presente en el alginato y en el amortiguador.

Cuadro 4.5. Potencial zeta de mezclas de caseinato de sodio con alginato de sodio en medio acuoso.

<i>Muestra</i>	<i>Potencial Zeta (mV)</i>	
	<i>caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%.</i>	<i>caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1%.</i>
<i>En pH 5.4 sin CaCl₂</i>	<i>-19.3</i>	<i>-20.2</i>
<i>En pH 5.4 con CaCl₂</i>	<i>-15.9</i>	<i>-16.2</i>
<i>En pH 6.3 sin CaCl₂</i>	<i>-33.9</i>	<i>-34.5</i>
<i>En pH 6.3 con CaCl₂</i>	<i>-22.7</i>	<i>-24.2</i>

En pH 6.3 con la adición de CaCl₂, donde se mostraron mayores valores de potencial zeta, se demuestra que el aumento en el pH de 5.4 a 6.3 causa que las partículas ganen una carga negativa neta, la cual incrementa debido a que el número de grupos cargados negativamente aumenta y el número de grupos cargados positivamente decrece. Lo anterior ha sido confirmado por *Malhotra y Coupland (2004)*, los cuales reportan que la carga efectiva o neta en una partícula de proteína o polisacárido, es afectada por el pH, fuerza iónica y la acumulación de ligandos o surfactantes en la interfase. La carga acumulada de las partículas coloidales se muestra más negativa en las mezclas de caseinato de sodio al 2% y alginato de sodio al 0.1% en medio acuoso manipuladas en un pH de 5.4 debido a la contribución del alginato, por lo que se obtienen valores bajos de potencial zeta.

El efecto de las diferentes condiciones del caseinato de sodio al 1 y 2% es el mismo; sin embargo la diferencia radica en que a mayor cantidad de caseinato, más cantidad de moléculas para neutralizar. De acuerdo con algunos trabajos (*Dickinson y Semenova, 1998*) cuando el pH se ve reducido de 6.0 a 5.5 para la α_{s1} -caseína y de 6.0 a 5.0 para la β -caseína se puede provocar la precipitación de ambas proteínas, induciéndose con esto que el valor de potencial zeta empieza a ser ligeramente positivo. Por lo cual es claro que la disminución en el

potencial zeta de la mezcla, se debe en gran parte a la sensibilidad que existe por parte de algunas caseínas que conllevan al caseinato a la floculación por adición de cloruro de sodio o ajuste del pH hacia el punto isoelectrico de la proteína. Se ha visto (*Kulmyrzaev y McClements, 2000*) que un aumento grande en el pH causa que las partículas ganen una carga negativa neta, la cual incrementa debido a que el número de grupos cargados negativamente incrementa ($-\text{COO}^-$) y el número de grupos cargados positivamente decrece ($-\text{NH}_3^+$), ocurriendo lo contrario cuando el pH disminuye.

Por consiguiente, es claro que el aumento en el pH de 5.4 a 6.3 produce que los sistemas acuosos de mezclas con estos hidrocoloides manipulados en este último pH, tengan altos valores de potencial (siendo de -34.5 mV en ausencia de Ca^{++} , y de -24.2 mV con la adición de este catión), lo cual demuestra la existencia de una repulsión electrostática entre partículas proteína-proteína y proteína-polisacárido provocada por el aumento en la carga neta negativa evitando con esto su asociación en medio acuoso.

4.1.3 Tamaño y distribución de partícula

4.1.3.1 Componentes individuales

La distribución del tamaño de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1% en solución amortiguadora (pH 5.4) y agua desionizada se muestra en la *Figura 4.5*. De acuerdo con los datos del *Cuadro 4.6* se observa que ambos sistemas son sensibles a la adición de cloruro de calcio, registrándose un aumento en tamaño promedio.

Para las muestras en pH 5.4 existe una mayor dispersión de tamaño de partícula en comparación con las muestras en pH 6.3 con Ca^{++} , lo cual se atribuye al efecto del Na^+ y confirma su interferencia con los iones calcio, observado en la reología de los sistemas.

La adición de iones calcio presente en ambos sistemas promueve un aumento en el diámetro promedio de partícula, además de disminuir la dispersión de tamaños. De acuerdo con *Dickinson y Golding (1998)*, los iones calcio se unen en los residuos fosfoserinos de la α_{s1} y la β -caseína, lo que conduce al entrecruzamiento y agregación de la caseína en forma de micelas de tamaños mayores (300 nm). Dicho fenómeno se observa en el diámetro promedio de partícula debido a la adición de Ca^{++} .

Además, el potencial zeta de los sistemas con iones, al ser inferior a 25 en valor absoluto, implicaba facilidad de agregación, por lo que concuerda con el aumento de tamaño de partícula determinado.

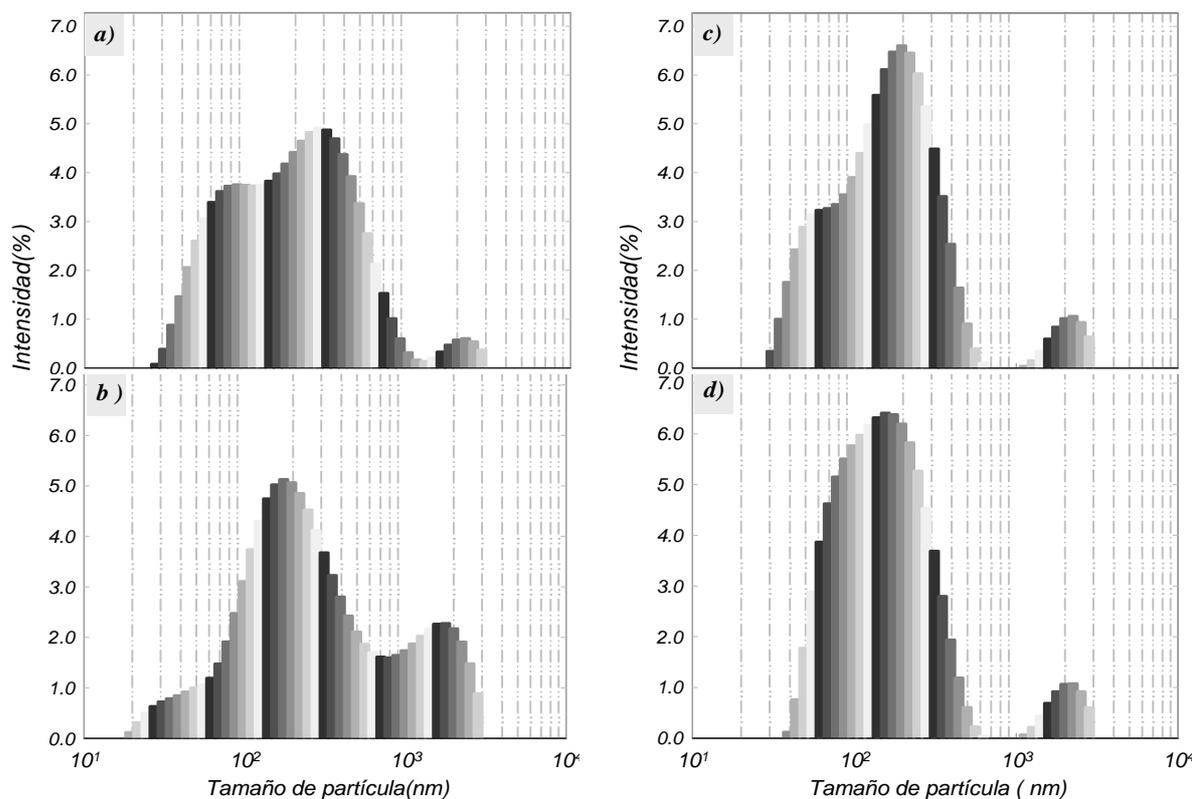


Figura 4.5. Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1%. a) pH 5.4 sin CaCl_2 , b) pH 5.4 con CaCl_2 , c) pH 6.3 sin CaCl_2 y d) pH 6.3 con CaCl_2 .

Cuadro 4.6. Diámetro promedio de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1%.

<i>Muestra</i>	<i>Diámetro promedio_{2,3} (nm)</i>	<i>Pico 1 (nm)</i>	<i>Área 1 (%)</i>	<i>Pico 2 (nm)</i>	<i>Área 2 (%)</i>	<i>Pico 3 (nm)</i>	<i>Área 3 (%)</i>
En pH 5.4 sin CaCl_2	129	67.8	31	297	65	1966	3
En pH 5.4 con CaCl_2	170	38.1	9	221	66	1465.7	24
En pH 6.3 sin CaCl_2	118	60	30	166	64	1970	5
En pH 6.3 con CaCl_2	124	—	—	157	94	1932	5

Por otro lado se puede observar que la adición del Ca^{++} al caseinato de sodio en 1%, influyó en la distribución de partículas en el pH 5.4, disminuyendo en tamaño y en proporción las partículas pequeñas (primer pico), además de disminuir el tamaño y aumentar el % de las partículas más grandes (tercer pico).

En el caseinato de sodio al 2%, se observa también un aumento en el tamaño de partícula promedio, en las muestras a pH 5.4, con y sin adición de Ca^{++} , aunque la adición de calcio, genera mayor dispersión en el tamaño de partícula (*Figura 4.6, Cuadro 4.7*).

En el caso de pH 6.3, la adición de Ca^{++} , no modificó el tamaño promedio de las micelas de caseína al 2%, lo que probablemente se deba a la relación molar de caseinato/iones calcio, además de que presentó un potencial zeta de -18.7, superior en valor absoluto, a las muestras de pH 5.6.

Con base en lo anterior se puede decir que es indudable la influencia que tiene el pH y la adición de iones Ca^{++} en la distribución y tamaño de partícula promedio, lo cual es más evidente cuando el caseinato de sodio se encuentra en medio acuoso al 1% que al 2%, debido a la mayor relación molar de caseinato/iones calcio.

Por consiguiente, es lógico pensar que el aumento en el diámetro promedio en las muestras que fueron dispersadas en un pH de 5.4 se debe a la formación de agregados proteicos.

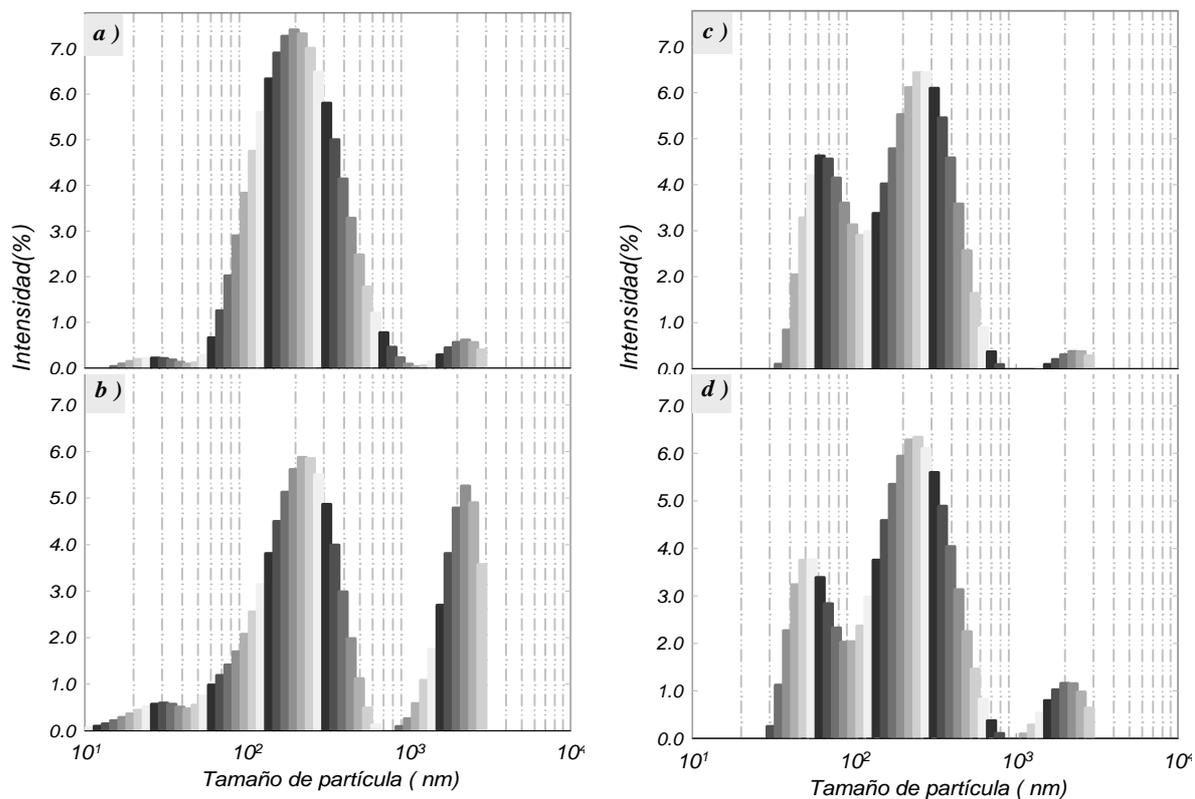


Figura 4.6. Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 2%. a) pH 5.4 sin CaCl_2 , b) pH 5.4 con CaCl_2 , c) pH 6.3 sin CaCl_2 y d) pH 6.3 con CaCl_2 .

Cuadro 4.7. Diámetro promedio de partícula de sistemas acuosos de caseinato de sodio al 2%.

<i>Muestra</i>	<i>Diámetro promedio_{2,3} (nm)</i>	<i>Pico 1 (nm)</i>	<i>Área 1 (%)</i>	<i>Pico 2 (nm)</i>	<i>Área 2 (%)</i>	<i>Pico 3 (nm)</i>	<i>Área 3 (%)</i>
<i>En pH 5.4 sin CaCl_2</i>	<i>160</i>	<i>27</i>	<i>4</i>	<i>225</i>	<i>90</i>	<i>2022</i>	<i>5</i>
<i>En pH 5.4 con CaCl_2</i>	<i>171</i>	<i>49</i>	<i>12</i>	<i>230</i>	<i>58</i>	<i>1972</i>	<i>29</i>
<i>En pH 6.3 sin CaCl_2</i>	<i>125</i>	<i>67</i>	<i>32</i>	<i>260</i>	<i>65</i>	<i>2128</i>	<i>2</i>
<i>En pH 6.3 con CaCl_2</i>	<i>125</i>	<i>54</i>	<i>24</i>	<i>244</i>	<i>69</i>	<i>1910</i>	<i>6</i>

4.1.3.2 Mezclas

Las mezclas alginato de sodio al 0.1% y caseinato de sodio al 1% disueltas en una solución de pH 5.4 con y sin la adición de Ca^{++} , muestran un porcentaje mayor de cantidad de partículas (del 67 y 91% respectivamente) en el pico 2 (Figura 4.7a), lo que reafirma la postura de que existe la formación de coacervados, en comparación con la muestra de caseinato solo, y aunque el diámetro promedio no cambie, la distribución de tamaños a este pH si lo hace, (Cuadro 4.8), explicándose así el aumento de viscosidad. Dándose con lo anterior, diámetros promedios de 160 nm para la mezcla en ausencia de Ca^{++} , y de 170 nm para la mezcla en la cual se incorporó este catión (Cuadro 4.8).

La fuerza y rigidez con que se da la formación de redes debido a la interacción que existe entre el alginato de sodio y los iones Ca^{++} , depende en gran parte del pH, generándose redes cada vez más fuertes cuando el pH se encuentra cercano al neutro. Por lo cual, es claro que un aumento en el pH de 5.4 a 6.3, permite que las muestras manejadas en este último pH posean un diámetro de partícula promedio más grande.

La distribución del tamaño de partícula de las mezclas en medio acuoso de alginato de sodio al 0.1% y caseinato de sodio al 2% manejadas en un pH de 5.4 en ausencia de cloruro de calcio, presenta un porcentaje mayor de sus tamaños (siendo de 83%) en el pico 2 con un tamaño promedio de partícula de 366 nm (Figura 4.7a), al igual que en presencia del ión divalente donde el pico 2 tiene un 85% del área con un tamaño de partícula de 395 nm (Figura 4.7b), mostrando ambas mezclas una distribución pequeña de sus tamaños (de 13 y 14% y tamaños promedios de 1889 y 1718 nm respectivamente) en el pico 3.

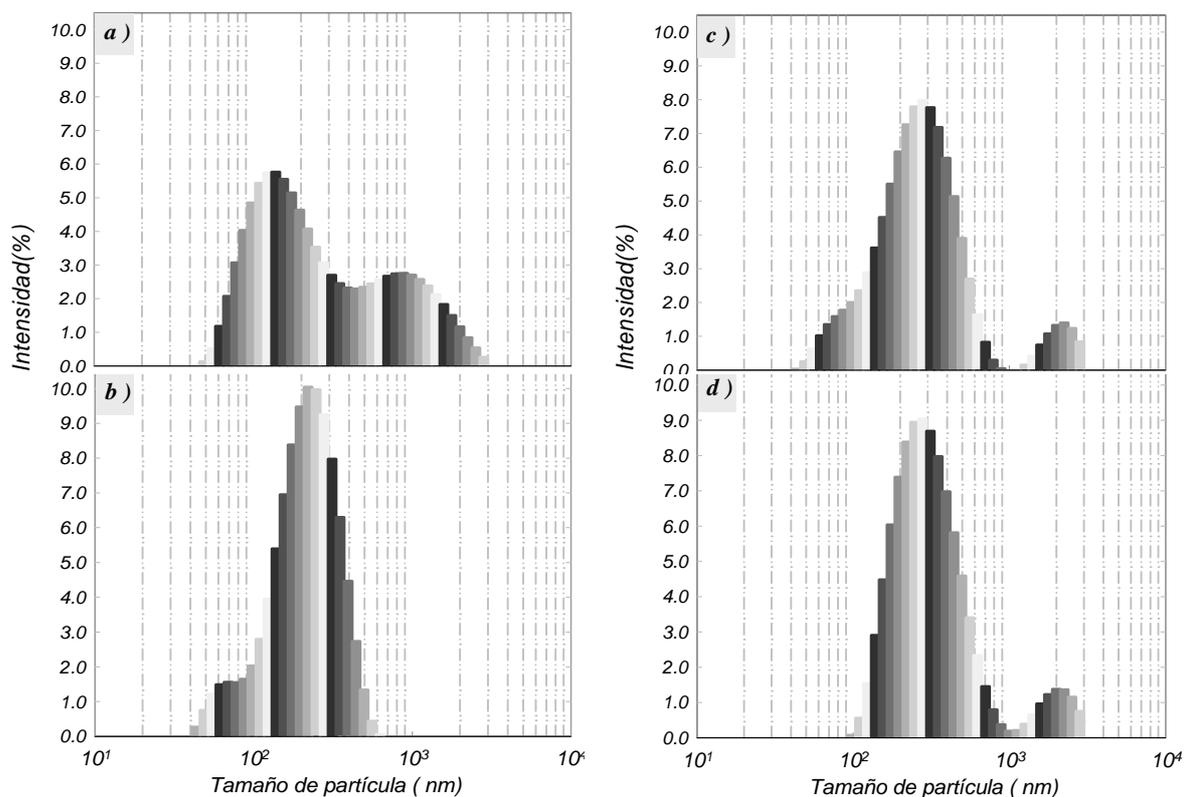


Figura 4.7. Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%. a) pH 5.4 sin CaCl_2 , b) pH 5.4 con CaCl_2 , c) pH 6.3 sin CaCl_2 y d) pH 6.3 con CaCl_2 .

Cuadro 4.8. Diámetro promedio de partícula de sistemas acuosos de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%.

Muestra	Diámetro promedio _{3,4} (nm)	Pico 1 (nm)	Área 1 (%)	Pico 2 (nm)	Área 2 (%)	Pico 3 (nm)	Área 3 (%)
En pH 5.4 sin CaCl_2	160	—	—	170	67	982	32
En pH 5.4 con CaCl_2	170	63	8	221	91	—	—
En pH 6.3 sin CaCl_2	210	—	—	259	92	1988	7
En pH 6.3 con CaCl_2	242	—	—	298	91	1869	8

Estas distribuciones generan diámetros promedios de 257 nm para la mezcla sin Ca^{++} , y de 328 nm para la que presenta este ión en su composición (*Cuadro 4.9*), observándose con lo anterior, un incremento considerable en el diámetro promedio de las partículas debido a la adición de este catión al desaparecer las partículas de menor tamaño.

Es importante mencionar que este incremento fue considerablemente mayor en comparación al que provocó el Ca^{++} en las mezclas donde se manipuló el caseinato de sodio a una concentración de 1%, ya que al existir mayor cantidad de caseinato se da la probabilidad de formar agregados de mayor tamaño. Cabe decir que para ambas formulaciones domina el caseinato de sodio ya que no se aprecia la red del alginato, sin embargo si se puede reafirmar que aún en ausencia de iones Ca^{++} se da la formación de coacervados promovidos por la presencia de Na^+ en la estructura del alginato.

Por otra parte, la mezcla disuelta en un pH de 6.3 en ausencia de iones Ca^{++} presentó un porcentaje mayor de sus tamaños de partículas (67%). El incremento en la concentración de caseinato de sodio en la mezcla (de 1 a 2%) no sólo genera un incremento en el diámetro promedio de las partículas, sino que además provoca una mayor dependencia de este último en relación a la variación del pH y de la concentración de iones divalentes (comparar *Cuadros 4.8* y *4.9*).

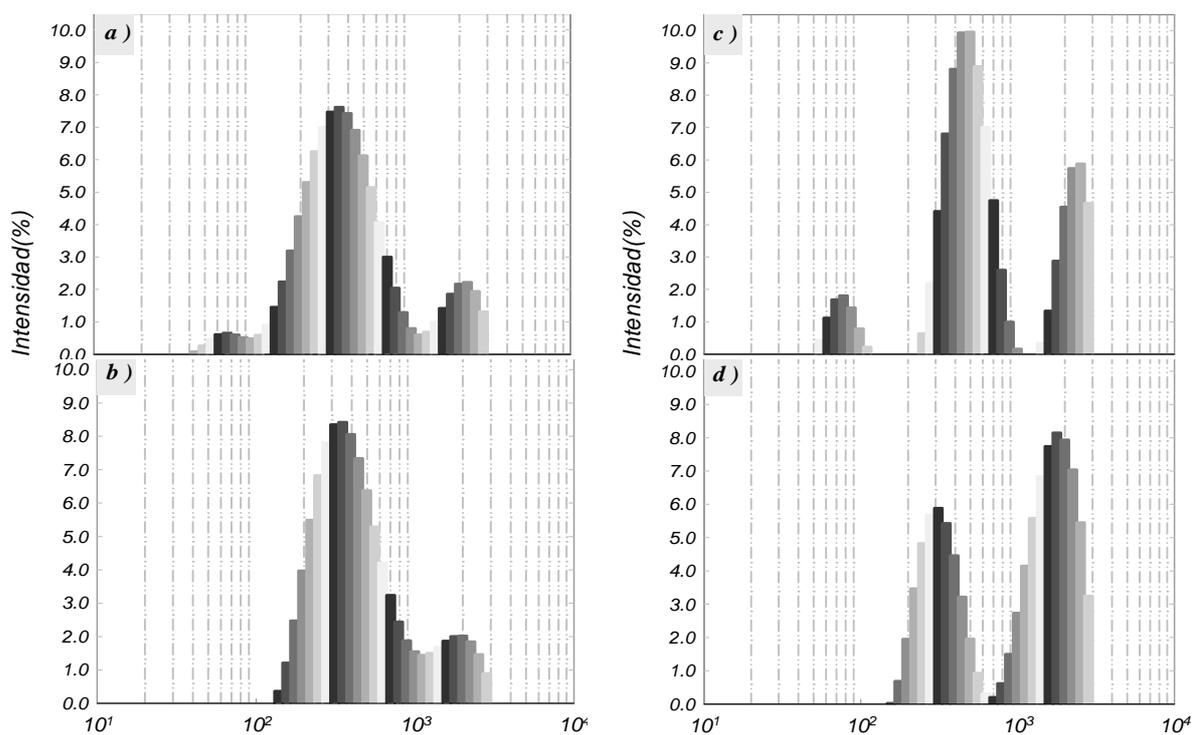


Figura 4.8. Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1%. a) pH 5.4 sin CaCl_2 , b) pH 5.4 con CaCl_2 , c) pH 6.3 sin CaCl_2 y d) pH 6.3 con CaCl_2 .

Cuadro 4.9. Diámetro promedio de partícula de sistemas acuosos de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1%.

Muestra	Diámetro promedio _{3,4} (nm)	Pico 1 (nm)	Área 1 (%)	Pico 2 (nm)	Área 2 (%)	Pico 3 (nm)	Área 3 (%)
En pH 5.4 sin CaCl_2	257	68	3	366	83	1889	13
En pH 5.4 con CaCl_2	328	—	—	395	85	1718	14
En pH 6.3 sin CaCl_2	411	73	7	466	67	2146	25
En pH 6.3 con CaCl_2	494	—	—	309	38	1656	61

4.2 Emulsiones

4.2.1 Comportamiento al flujo y viscoelasticidad

4.2.1.1 Componentes individuales

El comportamiento al flujo en estado estacionario de emulsiones elaboradas con caseinato de sodio al 1% en un pH de 5.4 y 6.3 con y sin la adición de 5 mM de cloruro de calcio (*Figura 4.9*), fue de tipo newtoniano en el intervalo de velocidad de cizalla ($2-417 \text{ s}^{-1}$). *Dickinson y Golding (1998)* han reportado que en emulsiones de caseinato de sodio al 1% a fracciones volumen de la fase dispersa (ϕ) menores a 0.5 (en este estudio la fracción volumen de aceite es ≈ 0.3), las emulsiones se comportan como fluidos newtonianos.

A diferencia de los sistemas acuosos, en las emulsiones la viscosidad se ve incrementada por la adición de iones Ca^{++} (*Cuadro 4.9*). De acuerdo con algunos autores (*Carr y Munro, 2002*) la adición de cualquier catión monovalente (K^+ , Na^+ , NH_4^+) o divalente (Ca^{++} , Mg^{++} , Zn^{++}) tiene un efecto considerable sobre la viscosidad de las emulsiones de caseinato de sodio.

Así también *Dickinson y Golding (1998)*, han reportado que la agregación de micelas de caseinato a su vez disminuye el número de moléculas de caseína disponibles para la adsorción, restringiendo las moléculas de proteína extendidas y rearregladas efectivamente. Como consecuencia, el caseinato puede no estar disponible para cubrir inmediatamente toda la nueva área de la superficie de la gota de aceite creada durante la homogenización y alcanzar un estado de mínima energía libre. Consecuentemente la coalescencia de pequeñas gotas durante la homogenización puede ocurrir, resultando en un incremento en el tamaño de la gota de la emulsión, y por lo tanto también de su viscosidad (*Ye y Singh, 2001*).

En ausencia de iones, se observa un ligero aumento en la viscosidad de la emulsión de caseinato de sodio a pH 5.4 con respecto a la de 6.3, lo cual según *Eliot y Dickinson (2003)* se atribuye a la formación de un complejo soluble, el cual se da debido a una reducción en la carga total de la proteína generada por la cercanía del pH hacia los valores cercanos al punto isoeléctrico de la proteína (4.5-5). A su vez *Dickinson y Semenova (1998)* han reportado que bajo condiciones de fuerza iónica moderada y alrededor del pH neutro, la caseína puede ser adsorbida en la interfase aceite-agua durante la emulsificación, proveyéndole a las gotas finas

de la emulsión de una estabilidad, mediante una combinación de mecanismos electrostáticos y estéricos, frente a fenómenos de floculación y coalescencia, los cuales afectarían el tamaño de los flóculos y consecuentemente a la viscosidad.

Así también el comportamiento al flujo de emulsiones de caseinato de sodio al 2% en pH de 5.4 y de 6.3 con y sin la adición de 5mM de cloruro de calcio, presentan un carácter newtoniano, en el cual la viscosidad permanece constante conforme la velocidad de cizalla se ve incrementada en un intervalo de 1.9 a 569 s⁻¹ (*Figura 4.9*). Al igual que en las emulsiones con 1%, se puede observar un incremento en la viscosidad con la adición de iones Ca⁺⁺ en las muestras, el cual va de 0.0035 a 0.0060 Pa.s para un pH de 5.4 y de 0.0024 a 0.0054 Pa.s para las que se encontraban en un pH de 6.3 (*Cuadro 4.10*).

De esta manera, la influencia que tiene el pH y contenido de iones sobre la viscosidad de sistemas elaborados con caseinato de sodio al 1 y 2% es más evidente cuando la proteína se encuentra en un sistema más complejo como una emulsión (*Cuadro 4.10*), que cuando se encuentra en medio acuoso (*Cuadro 4.1*), siendo pues la presencia de la fracción aceite que es adicionada durante la homogenización un factor importante que afecta a esta propiedad.

Por otro lado se puede observar que la poca variación en la concentración de la proteína de 1% a 2% y el cambio en la naturaleza de la fase continua, no afectaron el comportamiento al flujo de los sistemas estudiados, puesto que permaneció un carácter newtoniano.

Se ha establecido que las propiedades reológicas del caseinato de sodio son dependientes de la naturaleza de la proteína, la temperatura, el pH, la fuerza iónica (*Fichtali y Van de Voort, 1993*), pero sobre todo dependen de la concentración y de la relación proteína/aceite (en el caso de emulsiones) y puede ser clasificado en tres tipos (*Dickinson y Golding, 1997*):

- ❖ Las emulsiones que contienen insuficiente proteína para la cobertura total de la superficie de los glóbulos desarrollan una dependencia con el tiempo incrementándose a bajas velocidades de cizalla y viscosidades aparentes y asociadas con el comportamiento de adelgazamiento a la cizalla, esto puede ser atribuido a la floculación por puenteo.

- ❖ Las emulsiones que tienen totalmente cubierta la superficie del glóbulo de grasa por proteínas, y que no presentan un exceso de proteína no adsorbida en la fase continua son newtonianos (el cual es el caso estudiado en este proyecto).
- ❖ Las emulsiones que contienen un exceso substancial de caseinato de sodio no adsorbido exhiben considerable pseudoplasticidad que puede atribuirse a la floculación por depleción, es decir existencia de proteínas no adsorbidas en forma de submicelas esféricas de caseinato.

Esto también ha sido confirmado en varios trabajos (*Hermansson, 1975; Hermansson y Akesson, 1975; Korolczuk, 1981; Towler, Creamer y Southward, 1981; Roeper y Winter, 1982; Konstance y Strange, 1991*), los cuales han considerado las propiedades reológicas de las emulsiones de caseinato de sodio, estando de acuerdo todos los informes en las siguientes características: (1) Es newtoniano en concentraciones bajas (menores a 4%), (2) reofluidificante a concentraciones más altas, (3) la viscosidad aparente aumenta muy rápidamente (normalmente potencial) con concentración de sólidos, (4) no presentan punto de fluidez, (5) la viscosidad aparente disminuye con la temperatura, (6) la viscosidad aparente aumenta a $\text{pH} > 6$, (7) la viscosidad aparente aumenta con la concentración de sal.

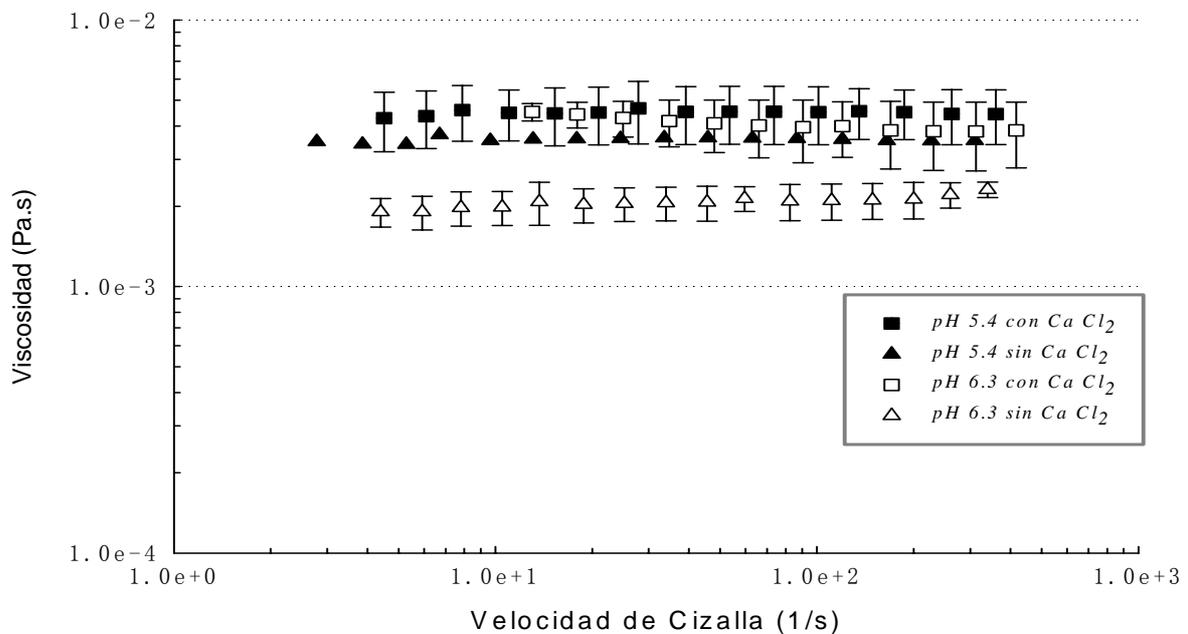


Figura 4.9. Viscosidad de emulsiones de caseinato de sodio al 1%.

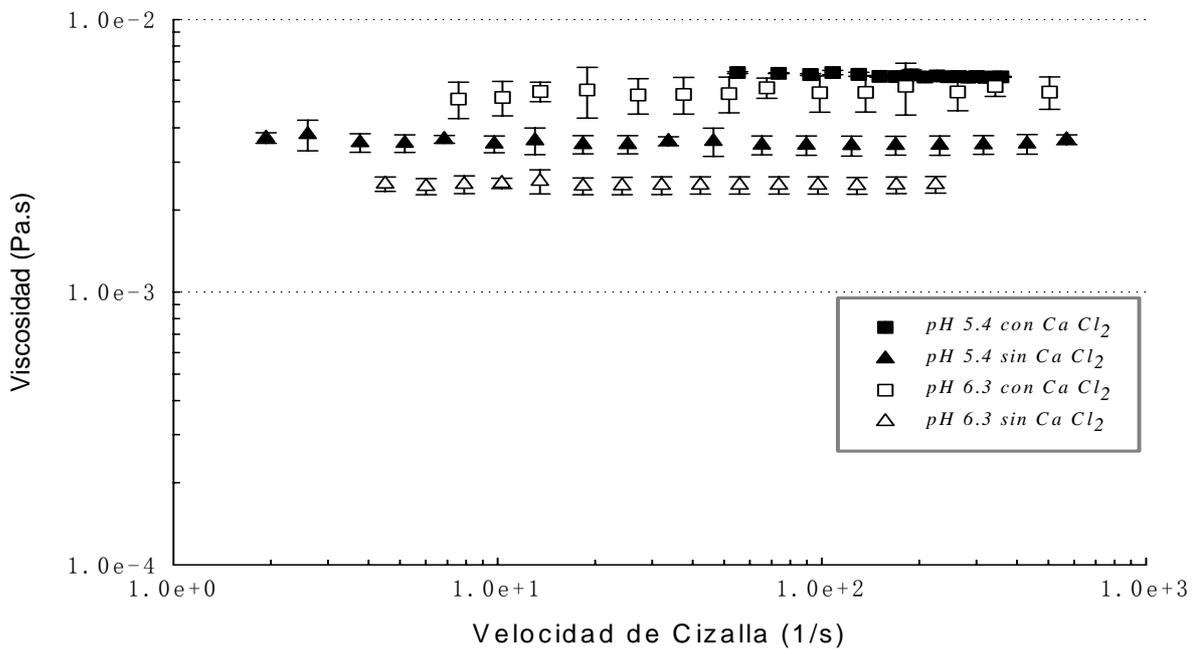


Figura 4.10. Viscosidad de emulsiones de caseinato de sodio al 2%.

Cuadro 4.10. Propiedades reológicas de emulsiones de caseinato de sodio.

MUESTRA	TIPO DE FLUIDO	η (Pa.s) $\times 10^{-3}$	$\dot{\gamma}$ (1/s)	r^2
■ 1% en pH 5.4 con CaCl_2	Newtoniano	4.2	4.5 – 360	0.999
▲ 1% en pH 5.4 sin CaCl_2	Newtoniano	3.5	2.7 – 310	0.999
□ 1% en pH 6.3 con CaCl_2	Newtoniano	3.6	13 – 417	0.999
△ 1% en pH 6.3 sin CaCl_2	Newtoniano	2.2	4 – 339	0.997
■ 2% en pH 5.4 con CaCl_2	Newtoniano	6.0	55 – 357	0.999
▲ 2% en pH 5.4 sin CaCl_2	Newtoniano	3.5	1.9 – 569	0.999
□ 2% en pH 6.3 con CaCl_2	Newtoniano	5.4	7 – 504	0.998
■ 1% en pH 5.4 con CaCl_2	Newtoniano	2.4	4 – 224	0.999

4.2.1.2 Mezclas

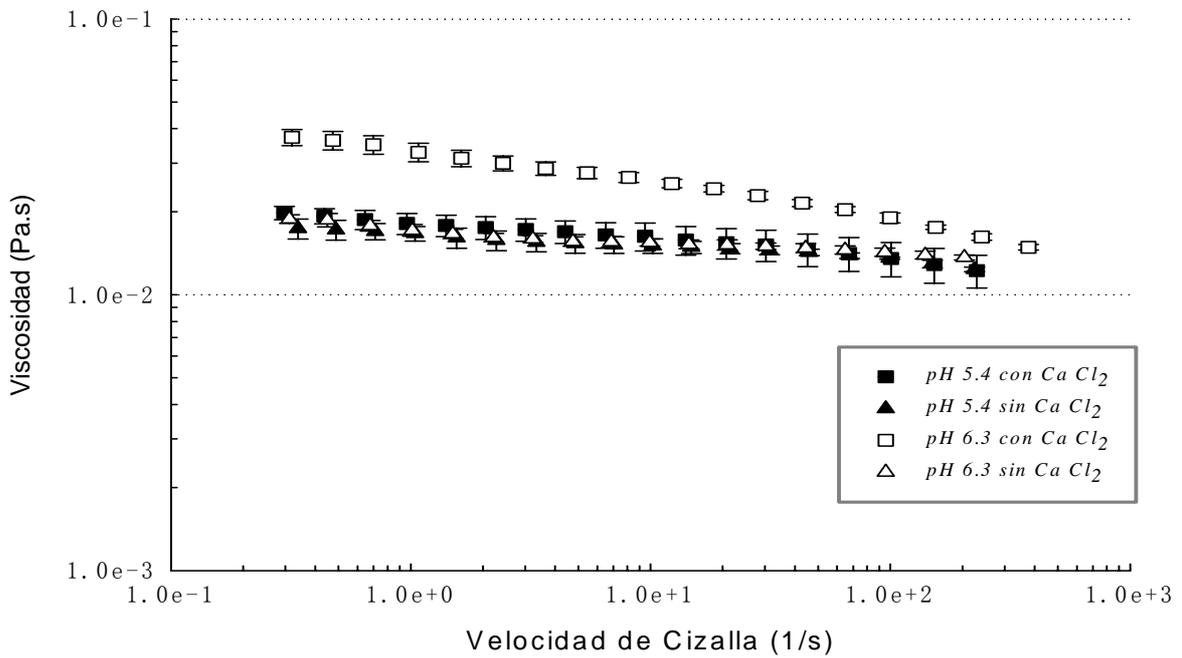
El comportamiento al flujo de emulsiones elaboradas con mezclas de caseinato de sodio al 1% y alginato de sodio al 0.1% en pH de 5.4 y de 6.3 en presencia y ausencia de 5mM de cloruro de calcio, presentaron un carácter perteneciente al de los fluidos adelgazantes a la cizalla que pueden ser descritos por el modelo de la potencia (*Cuadro 4.11*), en donde la viscosidad aparente disminuye ligeramente conforme la velocidad de cizalla incrementó en un intervalo de velocidad entre 0.2 y 377 s⁻¹ (*Figura 4.11a*), ya que el índice de comportamiento es cercano a 0.9.

No obstante que la influencia de iones calcio no se observa en la modificación del comportamiento al flujo de ninguna de las mezclas, el índice de consistencia si se ve afectado con la adición de este catión, ya que las emulsiones en las cuales se adicionó Ca⁺⁺ incrementaron su valor.

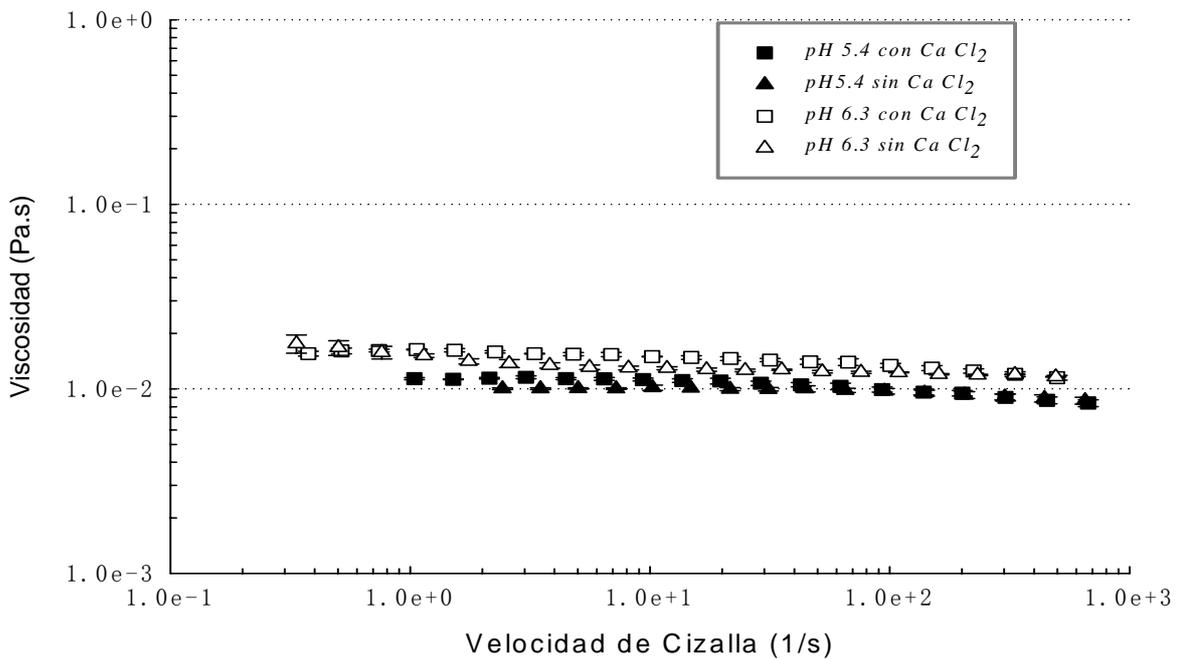
El aumento en la viscosidad aparente de las mezclas por la adición de iones Ca⁺⁺ se debe a la interacción específica que ocurre entre estos iones divalentes y los grupos carboxilo de los residuos de ácido gulurónico y ácido manurónico del alginato y el caseinato de sodio. Por otra parte, se puede observar que la modificación de la viscosidad aparente debida al cambio del pH de 5.4 a 6.3, influye realmente sólo en las muestras en las cuales se adicionaron iones.

La *Figura 4.11b* muestra el comportamiento al flujo de emulsiones elaboradas con mezclas de caseinato de sodio al 2% y alginato de sodio al 0.1 % en presencia y ausencia de iones calcio (5mM), en un pH de 5.4 y 6.3, todas tienen también un carácter de tipo potencia adelgazante a la cizalla, en donde la viscosidad aparente disminuye ligeramente conforme la velocidad de cizalla aumenta en un intervalo de entre 0.3 y 672 s⁻¹. En este caso el índice de comportamiento al flujo, es muy cercano a la unidad.

El índice de consistencia se vio poco modificado con la adición de iones calcio puesto que en las mezclas las cuales se encontraban en un pH de 5.4 varió de 0.010 a 0.012 Pa.sⁿ y de 0.015 a 0.016 Pa.sⁿ en un pH de 6.3. No obstante, en comparación a los iones calcio, la influencia del pH en la consistencia de las emulsiones es más notable, ya que cuando el pH cambió de 5.4 a 6.3 el índice de consistencia cambio de 0.010 a 0.015 Pa.sⁿ en las muestras en ausencia de iones Ca⁺⁺, y de 0.012 a 0.0162 Pa.sⁿ para las muestras que poseían iones.



a)



b)

Figura 4.11. Viscosidad de emulsiones de mezclas de alginato de sodio al 0.1% con caseinato de sodio al 1% (a) y 2 % (b)

Cuadro 4.11. Propiedades reológicas de emulsiones de mezclas de alginato de sodio al 0.1% con caseinato de sodio.

MUESTRA	TIPO DE FLUIDO	PARÁMETROS REOLÓGICOS		$\dot{\gamma} < \gamma < \dot{\gamma}$ (s^{-1})	r^2
		n	k (Pa.s ⁿ)		
■ 1% en pH 5.4 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.93	0.018	0.2 – 229	0.999
▲ 1% en pH 5.4 sin CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.95	0.016	0.33 – 224	0.999
□ 1% en pH 6.3 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.87	0.033	0.31 – 377	0.999
△ 1% en pH 6.3 sin CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.95	0.017	0.31 – 203	0.999
■ 2% en pH 5.4 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.95	0.012	1 – 672	0.999
▲ 2% en pH 5.4 sin CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.97	0.010	2 – 652	0.999
□ 2% en pH 6.3 con CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.95	0.016	0.3 – 499	0.999
△ 2% en pH 6.3 sin CaCl ₂	Potencia (Fluidificante)	0.95	0.015	0.3 – 492	0.999

Por tanto, puede decirse que en mezclas, la viscosidad de la emulsión es mayor que la de las emulsiones con caseinato solo, y a 1% de caseinato en mezcla, los valores de viscosidad son todavía más grandes.

En los espectros mecánicos resultantes de las emulsiones elaboradas con mezclas de alginato de sodio al 0.1% y caseinato de sodio tanto al 1% como al 2 % en presencia de 5 mM de cloruro de sodio en pH de 5.4 (Figuras 4.12a y 4.13a, simbología círculo), se observa que los valores de G' (que se encuentran entre 0.9 y 9 Pa para las muestras al 1% y entre 2 y 18 Pa para las de 2%) son superiores a los de G'' (oscilan entre 0.3 y 2 Pa para 1% y entre 0.6 y 5 Pa para 2%) en todo el intervalo de frecuencia (que se encuentra entre 0.2 y 24 s⁻¹ para 1% y

entre 0.2 y 39 s⁻¹ para 2%), por lo cual, ambas muestras poseen características más elásticas que viscosas.

Es importante mencionar que los módulos de G' y G'' de cada una de estas emulsiones no se entrecruzan a lo largo de los intervalos de frecuencia establecidos, y presentan a su vez, dependencia con esta última.

Por otro lado, los valores de la tan δ de la muestra con caseinato de sodio al 1% (*Figura 4.12b*, pH 5.4 con CaCl₂) son bajos (0.2 y 0.5) en todo el intervalo de frecuencia, al igual que los valores de la tan δ de la muestra con caseinato de sodio al 2% (*Figura 4.13b*) que oscilan entre 0.2 y 0.4 y disminuyen ligeramente conforme la frecuencia angular aumenta.

En las *Figuras 4.13a y 4.13b* se observa el espectro mecánico de las mismas emulsiones elaboradas con mezclas polisacárido-proteína en pH 5.4, pero sin la presencia de iones Ca⁺⁺. A bajas frecuencias (entre 0.1 y 1s⁻¹ para 1 y 2%) los valores del módulo de pérdida (que oscilan entre 2.7 y 6.6 Pa para 1% y entre 0.6 y 3 Pa para 2%) son ligeramente superiores a los de almacenamiento (oscilan entre 1 y 5 Pa para 1% y entre 0.4 y 2 Pa para 2%), sin embargo esta tendencia se ve invertida a altas frecuencias (entre 12 y 20 s⁻¹ para 1% y entre 10 y 50 s⁻¹ para 2%), ya que se da un entrecruzamiento entre los módulos G' y G''.

Por otro lado en las *Figuras 4.13b y 4.14b* los valores de tan δ son relativamente altos (oscilan entre 1 y 1.4 para 1% y entre 0.9 y 1.4 para 2%) y disminuyen conforme la frecuencia angular se ve aumentada. Por lo consiguiente, el comportamiento de esta muestra es característico de los geles débiles o soluciones poliméricas diluidas.

En presencia de cloruro de calcio en concentraciones de 5mM la estructura de la mezcla se ve reforzada debido a un incremento en la viscosidad ya que se produce un entrecruzamiento entre las cadenas del polisacárido y el catión para formar una red tridimensional continua, la cual atrapa e inmoviliza el agua dentro de ésta para formar una estructura más firme y rígida (gel físico o intermedio) (*Bajpai y Sharma, 2004*).

Por otro lado en las *Figuras 4.12a y 4.13a* también se muestran los espectros mecánicos de la mezclas en emulsión de alginato de sodio al 0.1% y caseinato de sodio al 1 y 2% en pH de 6.3 en presencia de 5mM de cloruro de calcio.

En esta muestra el módulo G' es superior al de G'' en todo el intervalo de frecuencia establecido (0.2 a 24 s⁻¹ para 1% y de 0.1 a 40 s⁻¹ para 2%), ya que mientras los valores para el módulo de almacenamiento se encuentran en un intervalo entre 0.8 y 7 Pa para 1%, y de entre

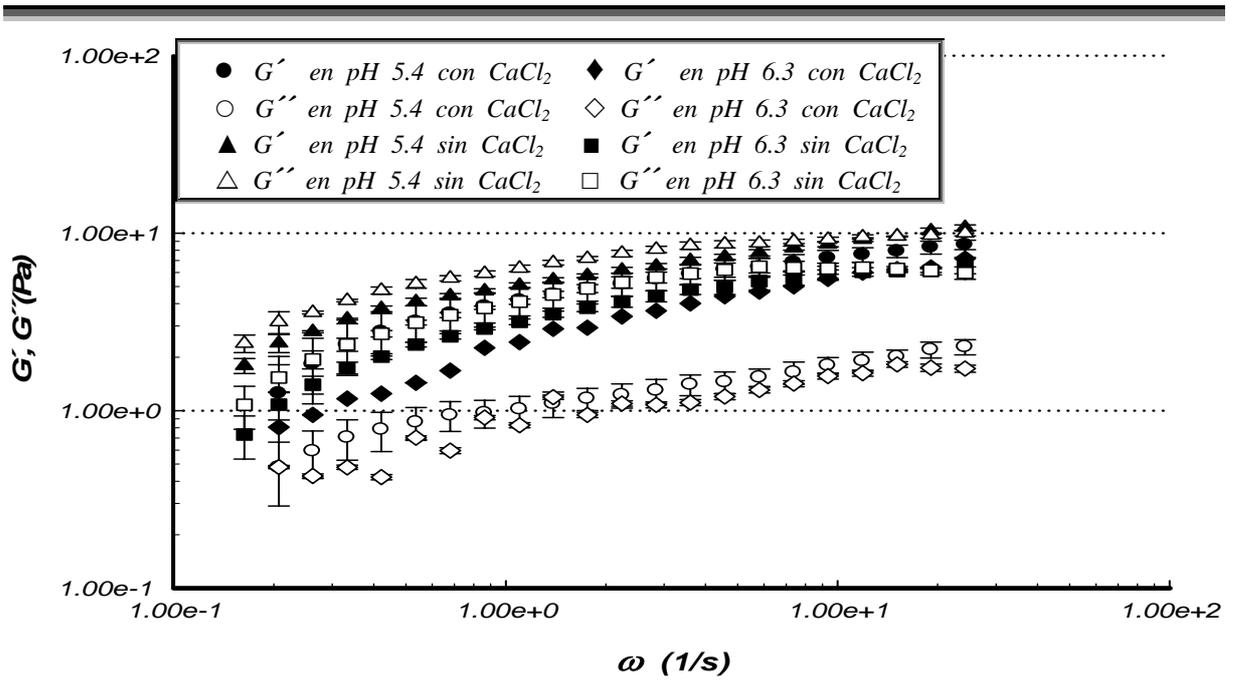
0.03 y 20 Pa para 2%, los correspondientes al de pérdida son entre 0.4 y 1.6 para 1%, y de entre 0.05 y 3.7 para 2%, mostrando ambos dependencia en relación a la frecuencia angular y no se observan entrecruzamientos ni a cortos y ni a altos periodos de observación.

Los valores de la $\tan \delta$, para estas muestras (*Figuras 4.12b* y *4.13b*), son relativamente bajos (oscilan entre 0.2 y 0.5 para 1%, y entre 0.17 a 1.3 para 2%) y muestran una dependencia notable en función de la frecuencia, puesto que los valores disminuyen conforme la velocidad angular aumenta. Con base en este comportamiento el sistema pertenece a un gel físico.

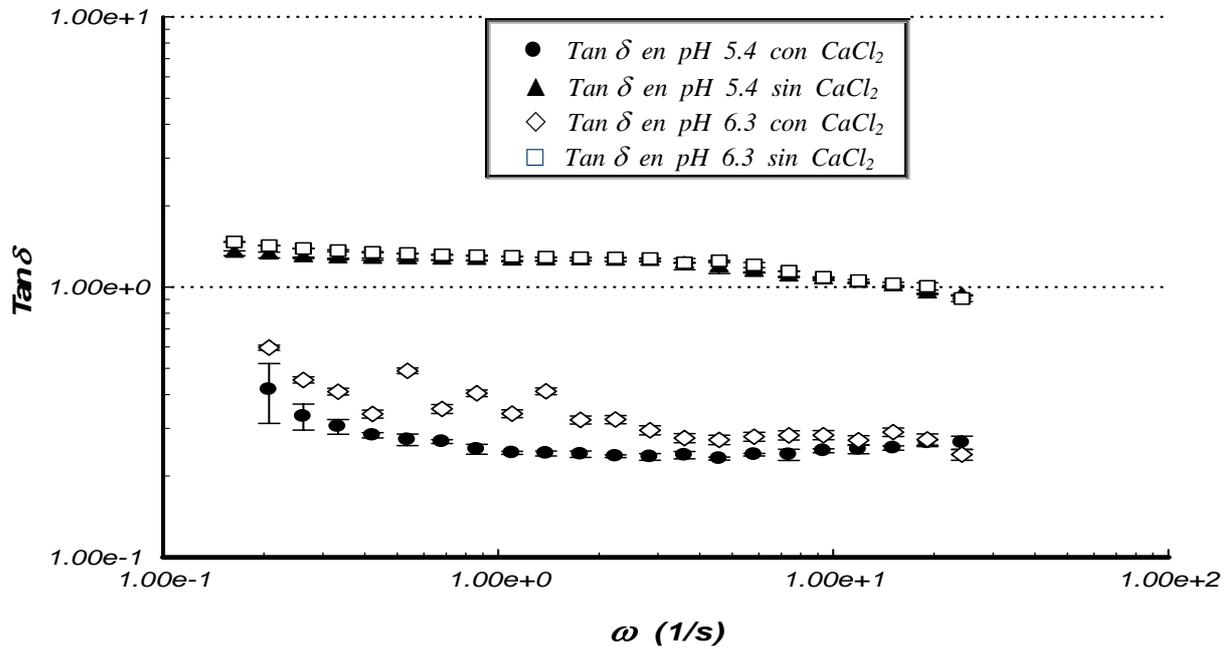
Finalmente, en el espectro mecánico correspondiente a estas mismas emulsiones elaboradas de mezclas polisacárido-proteína en pH de 6.3 pero sin la adición de 5mM de cloruro de calcio, mostrado en la *Figuras 4.12a* y *4.13a* (simbología cuadrado), los valores del módulo de pérdida (oscilan entre 1 y 4 Pa para 1%, y entre 0.3 y 2.6 Pa para 2%) son superiores a los de almacenamiento (se encuentran entre 0.8 y 3 para 1%, y entre 0.02 y 1.9 para 2%) a bajas frecuencias (0.1 y 1 s^{-1} para 1%, y entre 0.1 y 5 s^{-1} para 2%), no obstante a altas frecuencias (entre 10 y 24 s^{-1} para 1% y entre 10 y 50 s^{-1} para 2%) se observa un entrecruzamiento entre ambos módulos, mostrando una dependencia de éstos con la frecuencia angular.

Los valores de la $\tan \delta$ de la muestra con 1% de caseinato de calcio (*Figuras 4.12b* y *4.13b*) son altos (entre 1 y 1.4) y dependientes de la frecuencia en el intervalo establecido, al igual que los valores para las muestras con 2% de caseinato de sodio ya que oscilan entre (1.3 y 0.7) y son dependientes de la frecuencia angular en todo el intervalo establecido, consecuentemente, ambas muestras se comportan como geles débiles.

Los diferentes espectros mecánicos en las *Figuras 4.12* y *4.13* demuestran que el cambio en el pH de la fase continua (de 5.4 a 6.3) de emulsiones de alginato de sodio al 0.1% y caseinato de sodio al 1 y 2% no es suficiente reforzar a la estructura del sistema mediante un aumento en viscosidad.

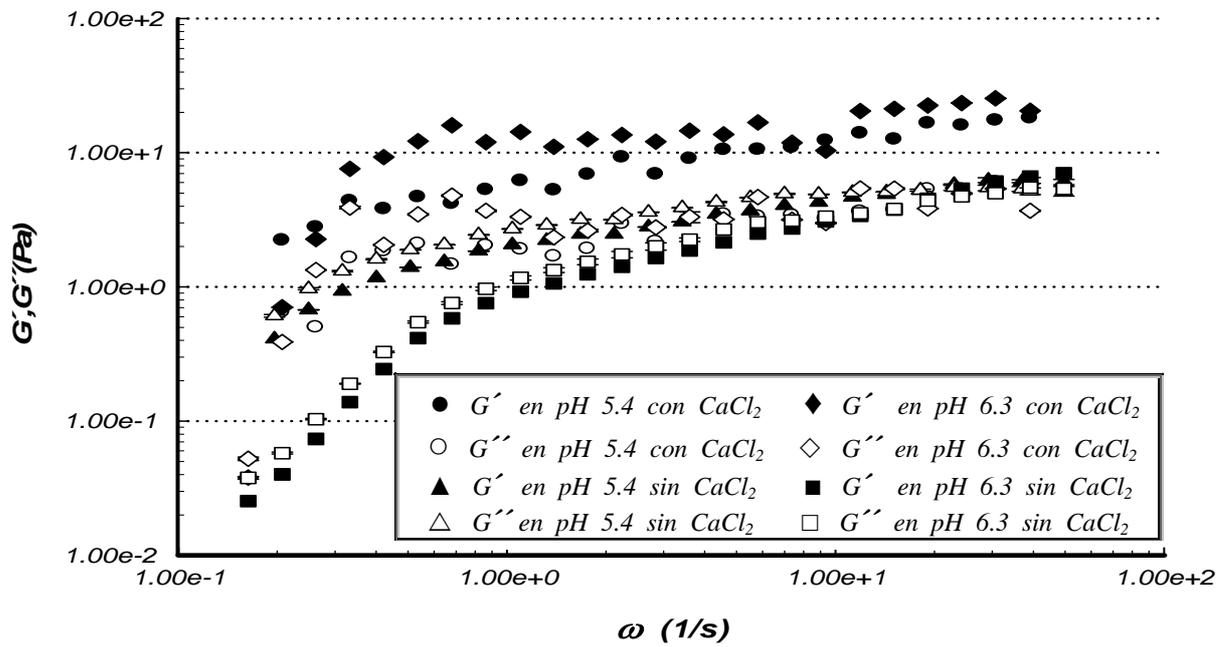


a)

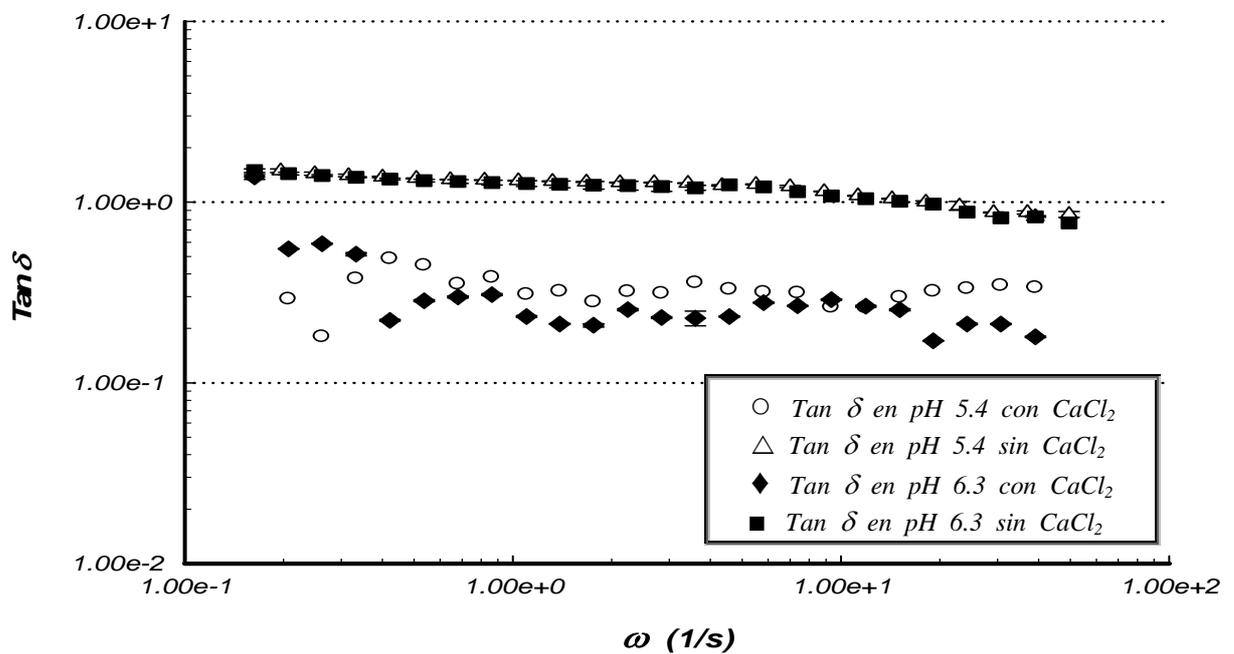


b)

Figura 4.12. Espectros mecánicos de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%% (a) y valores respectivos de $\tan \delta$ (b).



a)



b)

Figura 4.13. Espectros mecánicos de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1% (a) y valores respectivos de $\text{tan } \delta$ (b).

4.2.2 Tamaño y distribución de partícula

4.2.2.1 Componentes individuales

El comportamiento del diámetro promedio de las partículas de aceite, en un intervalo de tiempo, de emulsiones elaboradas con caseinato de sodio al 1%, se ve influenciado directamente por el pH y ligeramente por la adición de cloruro de calcio (5 mM). Lo mencionado anteriormente, se debe a que se puede observar (*Figura 4.14*) un incremento en el diámetro promedio de partícula para las muestras que se encontraban en un pH de 5.4, de 300 nm (que era el tamaño de partícula inicial de la emulsión) a 2100 nm (que fue el tamaño de partícula final que tenía el sistema) para las que poseían iones, y de 300 a 2400 nm para las que no se adicionó Ca^{++} en su composición, llevándose ambos incrementos en un intervalo de tiempo de 60 minutos.

Por otro lado, las muestras que se encontraban en un pH de 6.3 presentaron una menor agregación de sus glóbulos de la fase dispersa (cremado), lo cual se vio reflejada en un menor aumento en el diámetro promedio de sus partículas, siendo de 300 a 1100 nm para la muestra sin adición de Ca^{++} en su formulación, y de 300 a 950 nm para la muestra la cual se le adicionó el catión. Demostrándose con esto que las emulsiones estabilizadas con caseinato de sodio al 1% son más susceptibles a la floculación y posterior coalescencia cuando se encuentran en un pH de 5.4 que en uno de 6.3.

Algunos estudios (*Radford y Dickinson, 2004; Ye y Singh, 2001; Dickinson y Davies, 1999*) establecen que a concentraciones relativamente bajas de calcio iónico adicionado previo a la emulsificación, existe un pronunciado efecto sobre el cremado de las emulsiones aceite/agua estabilizadas tanto a bajas concentraciones de caseinato, como por una cantidad en exceso del mismo, encontrando que la adición de 4-8 mM de cloruro de calcio aumenta en gran medida la estabilidad de estas emulsiones con respecto a la floculación, en comparación con emulsiones sin adición de iones calcio o emulsiones con adición de Ca^{++} en concentraciones por debajo o por arriba del intervalo indicado.

Lo anterior se puede observar en la influencia que presentó la adición de 5 mM de cloruro de calcio sobre la estabilidad de emulsiones con caseinato al 1% (fue de menor importancia en comparación a la que presentó con la variación del pH), en la cual puede verse que las muestras a las que se les adicionó calcio presentaron un diámetro promedio de partícula más pequeño al final del intervalo de tiempo establecido (y por lo tanto una mayor

estabilidad), siendo de 2100 nm para un pH de 5.4 y de 950 nm para un pH de 6.3, en comparación al que presentaron las muestras sin Ca^{++} , que fue de 2400 nm para las encontradas en un pH de 5.4 y de 1100 para las manipuladas en un pH de 6.3.

Algunos autores han reportado (*Dickinson y Golding, 1997*) que la adición de bajos contenidos proteicos (menores a 2%) para la saturación de la monocapa en emulsiones elaboradas con caseinato de sodio, puede provocar una desestabilización del sistema a través de la floculación por puenteo (acompañada por una posterior coalescencia).

A nivel molecular podría decirse que la ausencia de suficiente caseinato para cubrir la superficie de los glóbulos de aceite, genera que cada molécula (tanto de la fase dispersa como continua) ubicada en la interfase sea atraída mediante fuerzas de dispersión de London y de puentes de hidrógeno (estas fuerzas se presentan como consecuencia del desbalance de fuerzas de interacción de las moléculas superficiales, al no estar rodeadas de forma simétrica por moléculas similares) hacia el interior de la fase en que se encuentra, provocándose con esto que se reduzca al mínimo la superficie o área, generando una floculación entre las fases (*Dickinson y Radford, 2004*).

Por consiguiente, es claro pues que la desestabilización de la emulsión de caseinato de sodio al 1% (ya que mostró un aumento en el diámetro promedio de la partícula en poco tiempo, como es observado en la *Figura 4.14* y es confirmado en las micrografías de la *Figura 4.18*) no sólo se vio influenciada por la variación en el pH y el contenido de iones Ca^{++} , sino también por la baja concentración empleada de caseinato.

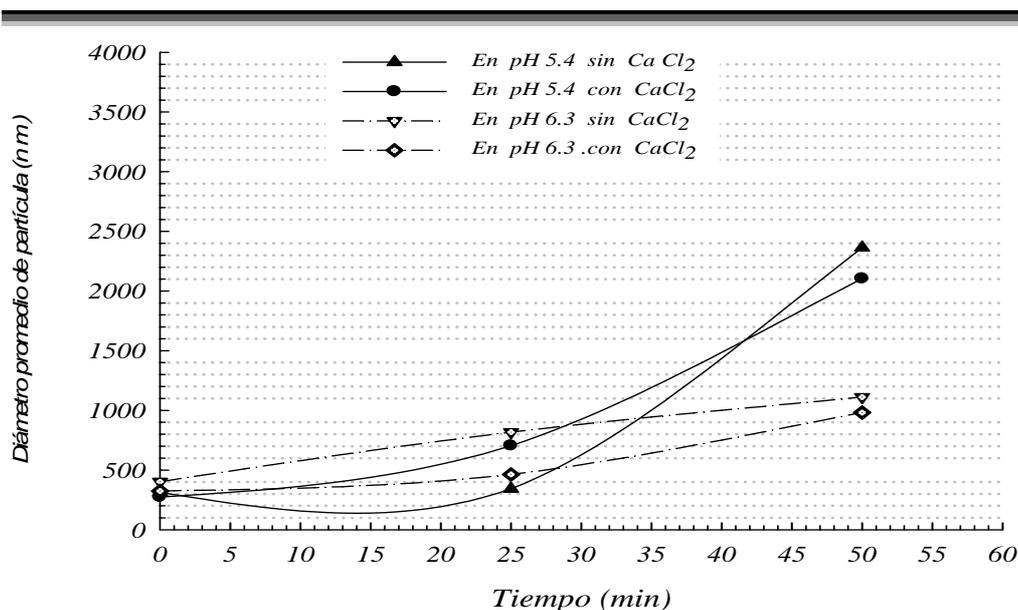


Figura 4.14. Comportamiento del diámetro promedio de partícula con respecto al tiempo de emulsiones de caseinato de sodio al 1%.

Las emulsiones elaboradas con caseinato de sodio al 2% (Figura 4.15), presentaron una menor variación en el diámetro promedio de partícula en comparación con las manejadas a una concentración de 1% (ver Figura 4.14) en un intervalo de 60 minutos, siendo esta variación para las muestras manipuladas en un pH de 5.4, de 2500 a 2900 nm en ausencia de iones Ca^{++} y de 800 a 1300 nm para la muestra que se adicionó el catión, mientras que para las manejadas en un pH de 6.3 el incremento fue de 300 a 700 nm para la emulsión sin Ca^{++} y de 300 a 600 nm para la que contenía a este ión. La probable floculación en las muestras que se encuentran en un pH de 5.4 (debido a la variación en el diámetro promedio con respecto al tiempo y al gran tamaño promedio presentado), se debe a que una disminución del pH hacia el punto isoeléctrico de la proteína (4.5-5), provoca una reducción en la carga repulsiva entre las moléculas de la fase dispersa, permitiéndose con esto, una libre aglomeración entre los glóbulos (Dickinson y Casanova, 1999). Por otro lado, el que las muestras manipuladas en un pH de 6.3 hayan manifestado un cambio poco relativo del diámetro promedio en el intervalo de tiempo establecido (ya que el cambio no fue de manera rápida y drástica) y tengan un tamaño promedio de sus partículas bajo, hace suponer que las muestras son relativamente estables. Esto último fue confirmado por la presencia nula de aglomerados de la fase dispersa, observados en las micrografías de la Figura 4.16 (incisos c y d) y además por algunos trabajos

(*Dickinson y Golding, 1997*) que han reportado que el caseinato de sodio en concentraciones de 2% es capaz de estabilizar emulsiones por un periodo considerable de tiempo. Esta estabilización se da debido a la fuerte tendencia que tienen las caseínas mayoritarias del caseinato (la α_{s1} y la β), bajo condiciones moderadas de fuerza iónica y alrededor del pH neutro, a ser adsorbidas alrededor de las gotas finas de la emulsión (en la interfase aceite-agua), lo cual provee de excelente estabilidad frente a la floculación y coalescencia debido a la combinación de mecanismos electrostáticos y estéricos (*Dickinson y Semenova, 1998; Eliot y Dickinson, 2003*).

Cuando se utilizan concentraciones de cloruro de calcio de 5 mM, los iones calcio se unen en los residuos fosfoserinos en las submicelas de caseinato y causan una producción y agregación de submicelas. La adición de Ca produce un incremento en el promedio del tamaño micelar y en el peso molecular, el cual reduce el cambio de energía libre asociado con la floculación por depleción. En otras palabras, la adición de este catión a las emulsiones de caseinato de sodio previo a la formación de la emulsión, implica la adsorción de grandes agregados proteicos en la nueva interfase aceite-agua formada durante la homogenización, esto implica que exista menos proteína no adsorbida y por lo tanto menos proteína disponible alrededor de los glóbulos de grasa provocando que puedan flocular por agotamiento o depleción (*Dickinson y Golding, 1998*). Por otro lado algunos trabajos han establecido (*Kulmyrzaev y McClements, 2000*) que la estabilidad a la floculación de emulsiones elaboradas con caseinato de sodio es mayor con la adición de iones multivalentes (Ca^{++}), puesto que son mucho más efectivos en las interacciones electrostáticas y en la unión de cargas opuestas superficiales que los iones monovalentes, siempre que el pH del medio se encuentre encima del punto isoeléctrico. Por consiguiente, es evidente que las muestras en las cuales se adicionaron 5 mM de cloruro de calcio, mostraron una mayor estabilidad en comparación a las que no presentaron estos iones en su composición, puesto que su diámetro promedio de partícula inicial fue menor en el intervalo de tiempo establecido.

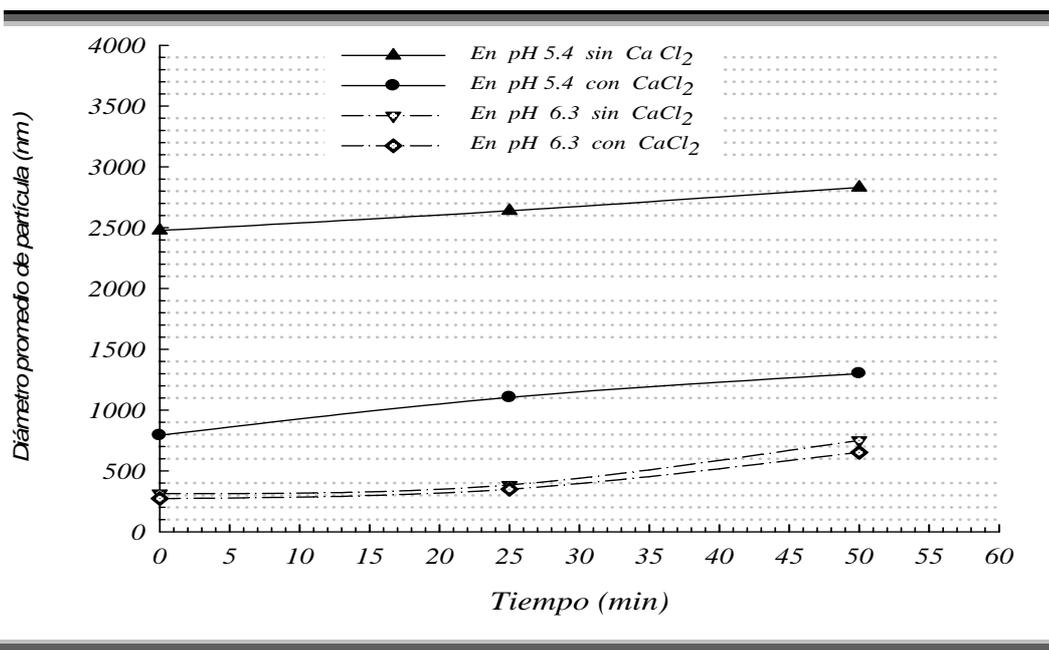


Figura 4.15. Comportamiento del diámetro promedio de partícula con respecto al tiempo de emulsiones de caseinato de sodio al 2%.

4.2.2.2 Mezclas

Las emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 1% y alginato de sodio al 0.1% manejadas en un pH de 5.4 mostraron una evidente floculación, ya que el diámetro promedio de partícula inicial no sólo fue alto, sino que fue incrementando de 4000 a 8200 nm para la que se le incorporó el Ca^{++} en su formulación y de 5500 a 8800 nm para la muestra a la cual no se adicionó al catión, llevándose ambos incrementos en un intervalo de 60 minutos (*Figura 4.16*). Estos aumentos en el diámetro promedio de partícula se deben a la cercanía del pH manipulado con el del punto isoeléctrico del caseinato (4.5-5), y a la presencia de insuficiente proteína para saturar totalmente la interfase aceite –agua lo cual puede provocar una aglomeración de la fase dispersa mediante la floculación por puentes (*Dickinson y Radford, 2003*). No obstante que el alginato es capaz de formar redes en presencia de iones, al estar ubicada la solución en un pH de 5.4, la formación de estas redes tiene un carácter débil (ver *Figura 4.16*) generando un aumento muy ligero en la viscosidad, la cual no evita del todo el movimiento de las moléculas de la fase dispersa, permitiéndoles con esto que se puedan asociar libremente.

Por otro lado, el aumento del pH de 5.4 a 6.3, les permitió a las emulsiones que fueron elaboradas en este último pH, una menor variación de su diámetro promedio de partícula, siendo de 300 a 850 nm para la muestra que se incorporó Ca^{++} , y de 300 a 900 nm para la cual no se incorporó este ión. A pesar de que con el aumento en el pH se disminuyó el diámetro promedio de la partícula y la variación de éste con respecto al tiempo, esto no fue suficiente para la estabilización de las emulsiones manipuladas en un pH de 6.3 ya que presentaron un ligero cremado al final del intervalo establecido de tiempo (lo cual puede ser confirmado en las micrografías de las (Figuras 4.20c y 4.20d). Por lo cual podría decirse que las propiedades estabilizantes que ofrecen el caseinato y el alginato de sodio dependen en gran parte del pH, sin embargo, el contenido de iones y concentración de los polímeros son factores igual de importantes en la estabilización del sistema.

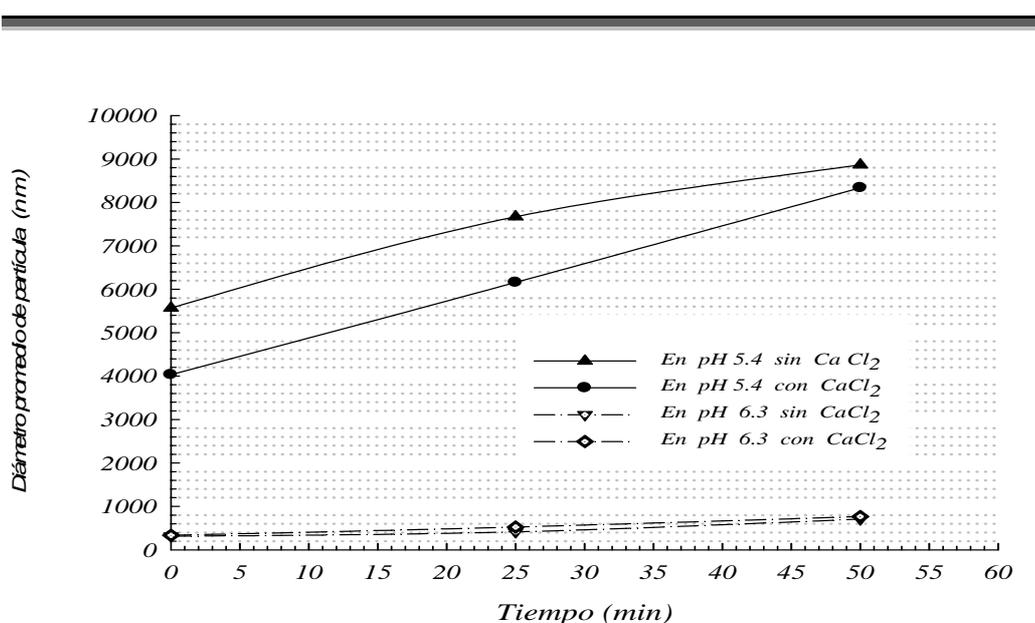


Figura 4.16. Comportamiento del diámetro promedio de partícula con respecto al tiempo de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1%.

Las emulsiones elaboradas con caseinato de sodio al 2% y alginato de sodio al 0.1% manipuladas en un pH de 5.4 presentaron aglomeración de las partículas de la fase dispersa, debido a la precipitación de la caseína que se produce cuando el pH del medio se acerca al punto isoeléctrico de la proteína, lo cual conduce a una eminente desestabilización del sistema.

Lo mencionado anteriormente, se debe a que en la *Figura 4.17* se puede observar que las muestras manejadas en este pH en presencia de Ca^{++} presentan un aumento en el diámetro promedio de partícula de 1600 a 2200 nm, y de 4400 a 5200 nm para la muestra que se le adicionó a este ión divalente, lo cual es indicio de que existe cierta asociación de las partículas (esto es confirmado en las micrografías de las *Figuras 4.21a* y *4.21b* las cuales muestran floculación de la fase discontinua). Por otro lado las muestras manejadas en un pH de 6.3 presentaron un aumento casi nulo en el diámetro promedio de la partícula de la fase dispersa, mostrándose una variación de este último para la muestra en ausencia de Ca^{++} de 1200 a 1400 nm y para la emulsión en presencia de este catión el incremento fue de 1200 a 1250 nm, siendo este último, un cambio muy poco significativo. Por lo cual, es indudable que la mezcla manejada a una concentración de 2% de proteína y de 0.1% de polisacárido en un pH de 6.3 y en presencia de 5 mM de cloruro de calcio es la más estable, lo cual es confirmado en las micrografías de las *Figuras 4.21c* y *4.21d*, y en algunos trabajos los cuales han reportado (*Dickinson y Radford, 2003*) que la adición de moderadas cantidades de cloruro de calcio (5-8 mM) pueden inhibir por completo la floculación en emulsiones estabilizadas por caseinato de sodio, además de los altos contenidos de proteína (2%) los glóbulos individuales son protegidos totalmente con proteína en contra de la floculación y la coalescencia (*Dickinson y Golding, 1997*), sin olvidar que el alginato de sodio en presencia de iones divalentes, cuando se encuentra en un pH cercano al neutro es capaz de formar redes rígidas y fuertes, las cuales generan un aumento en la viscosidad de la fase continua, evitando con esto que los glóbulos de aceite puedan interactuar entre sí, disminuyéndose la velocidad de cremado.

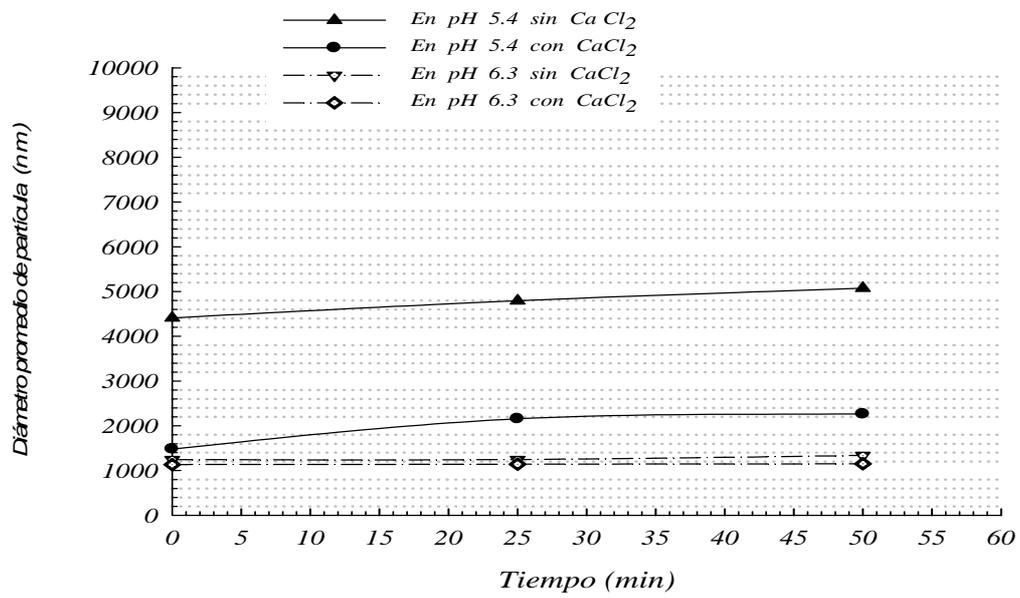


Figura 4.17. Comportamiento del diámetro promedio de partícula con respecto al tiempo de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1 %

4.2.3 Microscopía

4.2.3.1 Componentes individuales

Se ha reportado que la distribución inicial de tamaños está relacionada en un principio con la estabilidad de un sistema, la cual al verse alterada se manifiesta en la agregación de gotas (floculación y coalescencia) (Martínez y Chiralt, 1998). Con base en lo anterior, las micrografías mostradas en la *Figura 4.18*, demuestran la influencia que tiene el pH y la adición de 5 mM de cloruro de calcio en la disposición estructural del sistema (se refiere a la distribución de tamaños y nivel de agregación), y por lo tanto en la estabilidad de emulsiones de caseinato de sodio al 1%. Es indudable que las muestras que se manejaron en un pH de 5.4 presentaron una agregación y una posterior coalescencia total (*Figuras 4.18a y 4.18b*), ya que se puede observar la presencia de grandes aglomerados de la fase dispersa. Algunos autores (Eliot y Dickinson, 2003) han reportado que la disminución del pH hacia el punto isoeléctrico del caseinato (4.5-5), convierte la repulsión estérica interpartícula en una atracción neta, induciendo a la floculación o aglomeración de los glóbulos de la fase dispersa. Por consiguiente, es lógico pensar que el incremento en el pH de 5.4 a 6.3, se ve reflejado en el cambio de emulsiones con agregados (como son las que se encuentran en pH de 5.4) a sistemas parcialmente floculados (como son las que se encuentran en pH de 6.3 y son mostrados en las *Figuras 4.18c y 4.18d*). Por otro lado, la influencia que presenta la adición de iones Ca^{++} en la distribución inicial de tamaños de glóbulos de grasa de las emulsiones no es muy evidente, ya que al comparar las micrografías de las muestras que se encuentran en un pH de 5.4 con y sin adición de iones, podrá observarse la semejanza que existe entre éstas, ocurriendo lo mismo para las muestras que se encuentran en un pH de 6.3. Es posible pensar que la agregación de moléculas de la fase dispersa en emulsiones estabilizadas con caseinato de sodio al 1%, no sólo esté en función de factores tales como la temperatura y el pH (Eliot y Dickinson, 2003), sino también de la concentración de la proteína presente, ya que el empleo de bajos contenidos proteicos (1%) para saturar totalmente la interfase aceite-agua, puede provocar que la emulsión sea desestabilizada por floculación por puenteo (acompañada por una posterior coalescencia), esto ha sido confirmado en algunos trabajos (Dickinson y Golding, 1997). La presencia de cantidades mayores de caseinato de sodio (2%) en emulsiones, evita una asociación de las partículas de la fase dispersa en las muestras que se

encontraban en un pH de 6.3 en presencia y ausencia de iones Ca^{++} (Figuras 4.19c y 4.19d), no así de las muestras que se manejaron en un pH de 5.4, las cuales mostraron una floculación parcial (Figuras 4.19a y 4.19b). No obstante, el grado de floculación de estas últimas fue menor en comparación a las mismas emulsiones manipuladas a un pH de 5.4, pero a una concentración de 1% en donde mostraron una floculación total (ver Figuras 4.18a y 4.18b).

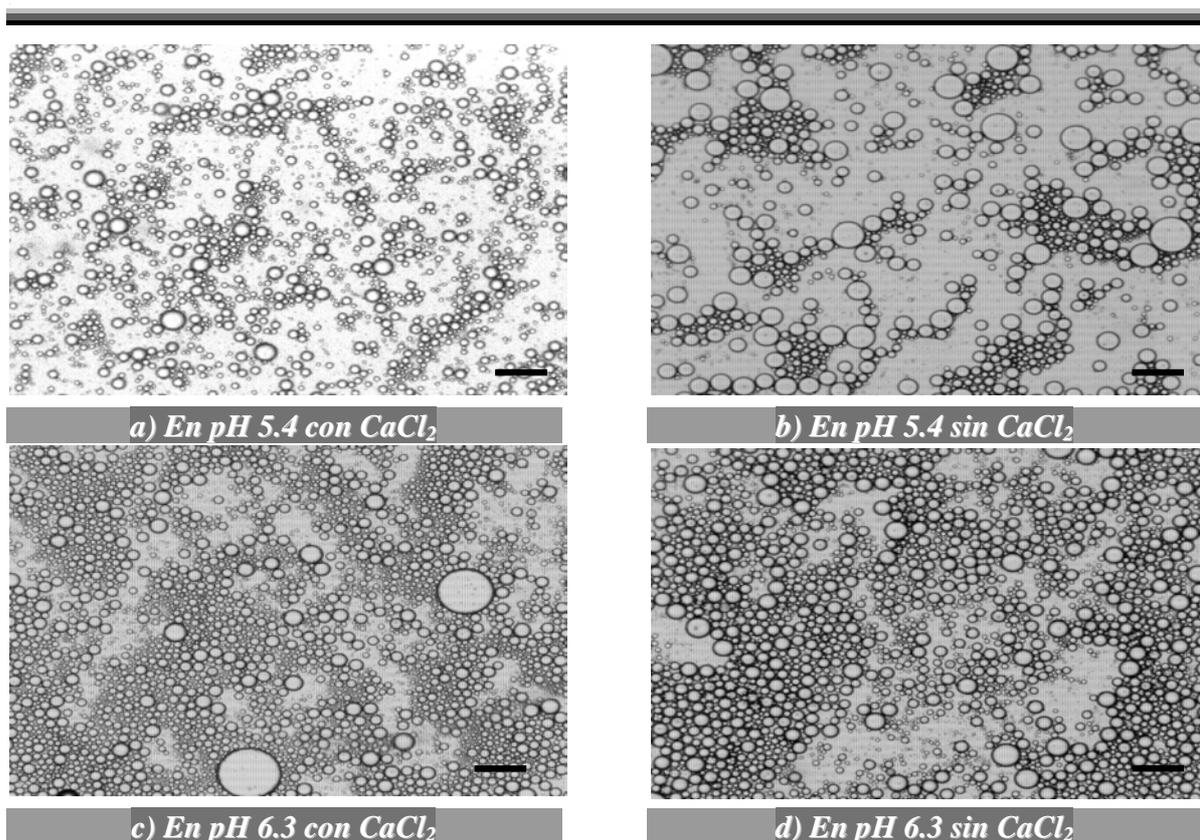


Figura 4.18. Micrografías de emulsiones elaboradas con caseinato de sodio al 1% (objetivo 10x, barra= 50 μm).

Es evidente, que el aumento en la concentración de proteína a 2% en emulsiones que se encuentran en un pH alejado del punto isoeléctrico de la proteína, permite que los glóbulos de aceite sean protegidos en su totalidad evitando así la floculación por puenteo y su posterior coalescencia. Esto último ha sido confirmado por algunos autores (*Dickinson y Golding, 1997*), los cuales han reportado que a bajos contenidos de proteína (1%), correspondiendo a la mitad de la que se requiere para la saturación de la monocapa, la emulsión es desestabilizada por floculación por puenteo (acompañada por una posterior coalescencia). A altos contenidos de proteína (2%), donde los glóbulos individuales son protegidos totalmente con proteína en contra de la floculación y la coalescencia, la emulsión preparada con esta concentración tiene una estabilidad aceptable durante un período de varias semanas. Con un incremento mayor en la concentración de la proteína (mayor o igual a 3%), la estabilidad al cremado se ve reducida, esto se atribuye a la floculación por depleción el cual se da debido a la presencia de un exceso (no adsorbido) de proteína en forma de pequeños agregados en la interfase aceite-agua. Para una emulsión preparada con caseinato de sodio alrededor de un pH neutro, los polímeros que son adsorbidos principalmente y que contribuyen a la estabilidad del coloide son la α_{s1} y la β -caseína (*Eliot y Dickinson, 2003*). Estas dos caseínas tienen la capacidad de conferir bajas tensiones interfaciales (lo cual es debido a la orientación de los fragmentos de las moléculas según su máxima afinidad; los grupos polares son dirigidos hacia la fase acuosa y las cadenas hidrocarbonadas hacia la fase oleosa (no acuosa)), provocando una reducción de la energía libre de la interfase del sistema (*Martínez y Chiralt, 1998*) y de proteger los nuevos glóbulos de aceite formados contra la floculación y coalescencia por una combinación de repulsiones electrostáticas y estéricas (*Dickinson y Davies, 1999*). Por lo cual es indudable que la efectividad del caseinato de sodio para conferir una gran estabilidad en emulsiones aceite-agua en pH de 6.3, se puede atribuir a las propiedades interfaciales que otorgan sus dos caseínas individuales mayoritarias. Por otra parte, es importante mencionar que la influencia de iones Ca^{++} en la distribución de la fase dispersa de las emulsiones elaboradas con caseinato al 2% no es muy notable, puesto que las micrográficas de las emulsiones en un pH de 5.4 con y sin la presencia de iones son muy semejantes, ocurriendo lo mismo para las muestras elaboradas con un pH de 6.3.

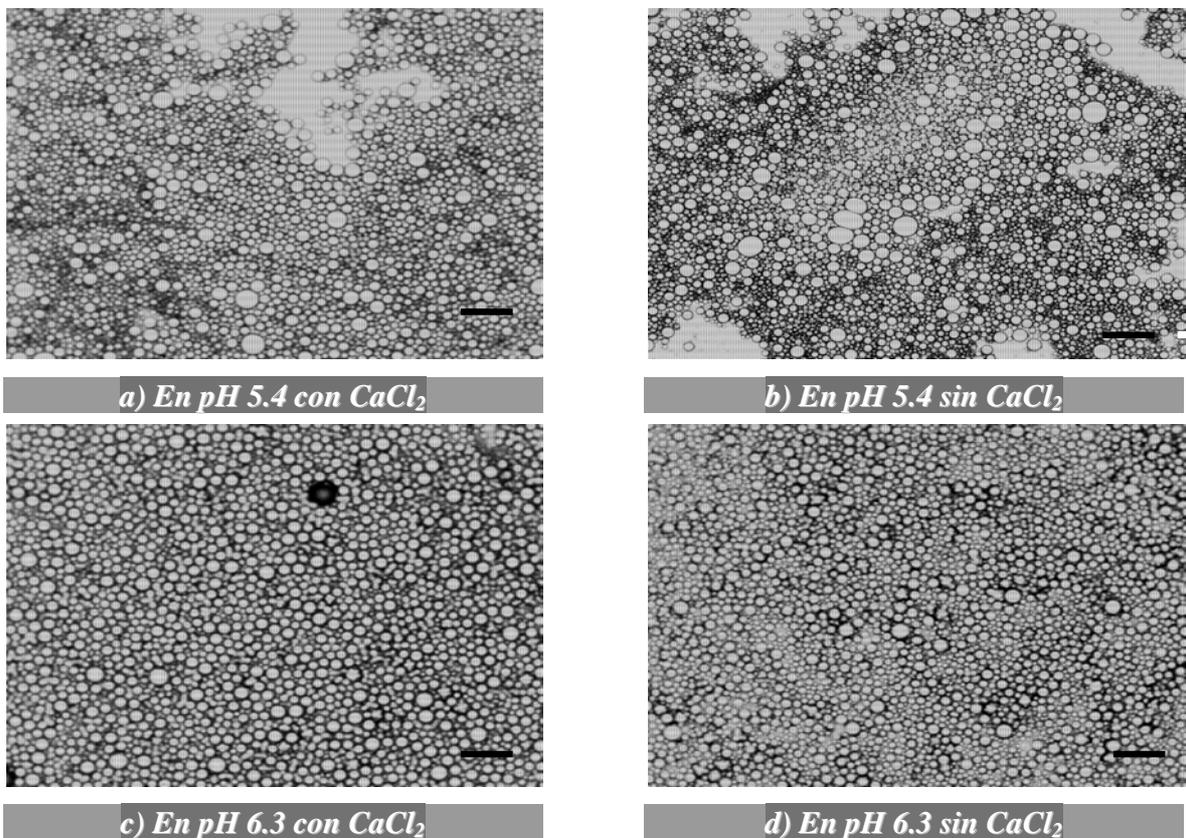


Figura 4.19. Micrografías de emulsiones de caseinato de sodio al 2% (objetivo 10x, barra= 50 μm).

4.2.3.2 Mezclas

Las emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 1% y alginato de sodio al 0.1% en pH 5.4 en presencia y ausencia de iones Ca^{++} (5 mM), muestran una floculación total debido a los grandes aglomerados presentes de partículas de la fase dispersa (Figuras 4.20a y 4.20b). Esto debido a la cercanía que existe entre el pH del medio (5.4) y el del punto isoeléctrico de la proteína (4.5-5), y por tanto a la disminución en la estabilización estérica y electrostática que origina la presencia de proteína en la interfase aceite-agua, con lo cual la

aglomeración de los glóbulos se lleva a cabo de una manera más fácil y rápida (*Fennema, 2000*).

No obstante, es importante mencionar que estas emulsiones no presentan una floculación de los glóbulos tan marcada como las que mostraban las emulsiones donde se manejaba sólo caseinato de sodio al 1% (ver *Figuras 4.18a y 4.18b*). Esto puede ser debido a que el alginato de sodio puede formar redes en presencia de iones Ca^{++} , las cuales atrapan e inmovilizan el agua dentro de esta para formar estructuras firmes y rígidas llamadas geles (*Bajpai y Sharma, 2004*).

El aumento en la viscosidad debido a la formación de estas redes, es posible que disminuya el movimiento libre de los glóbulos de la fase dispersa (movimiento Browniano), permitiendo con esto, una menor interacción entre las partículas de aceite y como consecuencia una disminución en la velocidad de floculación.

La fuerza y rigidez con que el alginato de sodio en presencia de iones Ca^{++} forma estructuras tridimensionales, se encuentra en función a su cercanía a un pH neutro, por lo cual las muestras elaboradas en un pH de 6.3 son capaces de formar geles verdaderos o fuertes, mientras que cuando se encuentra en un pH de 5.4 establecen geles débiles o soluciones poliméricas diluidas. Por consiguiente, es claro que las muestras dispersadas en un pH de 6.3 (*Figuras 4.20c y 4.20d*) presentaron una menor asociación de los glóbulos de la fase dispersa (floculación parcial), en comparación a las manejadas en un pH de 5.4 (sin llegar a ser estables), ya que la formación de redes fuertes, evita aún más el movimiento de la fase dispersa.

Las emulsiones de caseinato de sodio al 2% y alginato de sodio al 0.1 en pH de 5.4 con y sin adición de iones Ca^{++} (*Figuras 4.21a y 4.21b*), presentan una asociación de los glóbulos relativa (floculación parcial). Esto debido a que la disminución en el pH hacia el punto isoeléctrico, lleva a cabo una reducción de la carga repulsiva que genera la presencia de la proteína alrededor del glóbulo de aceite, permitiendo que las partículas de la fase dispersa puedan aglomerarse con mayor facilidad (*Dickinson y Casanova, 1999*).

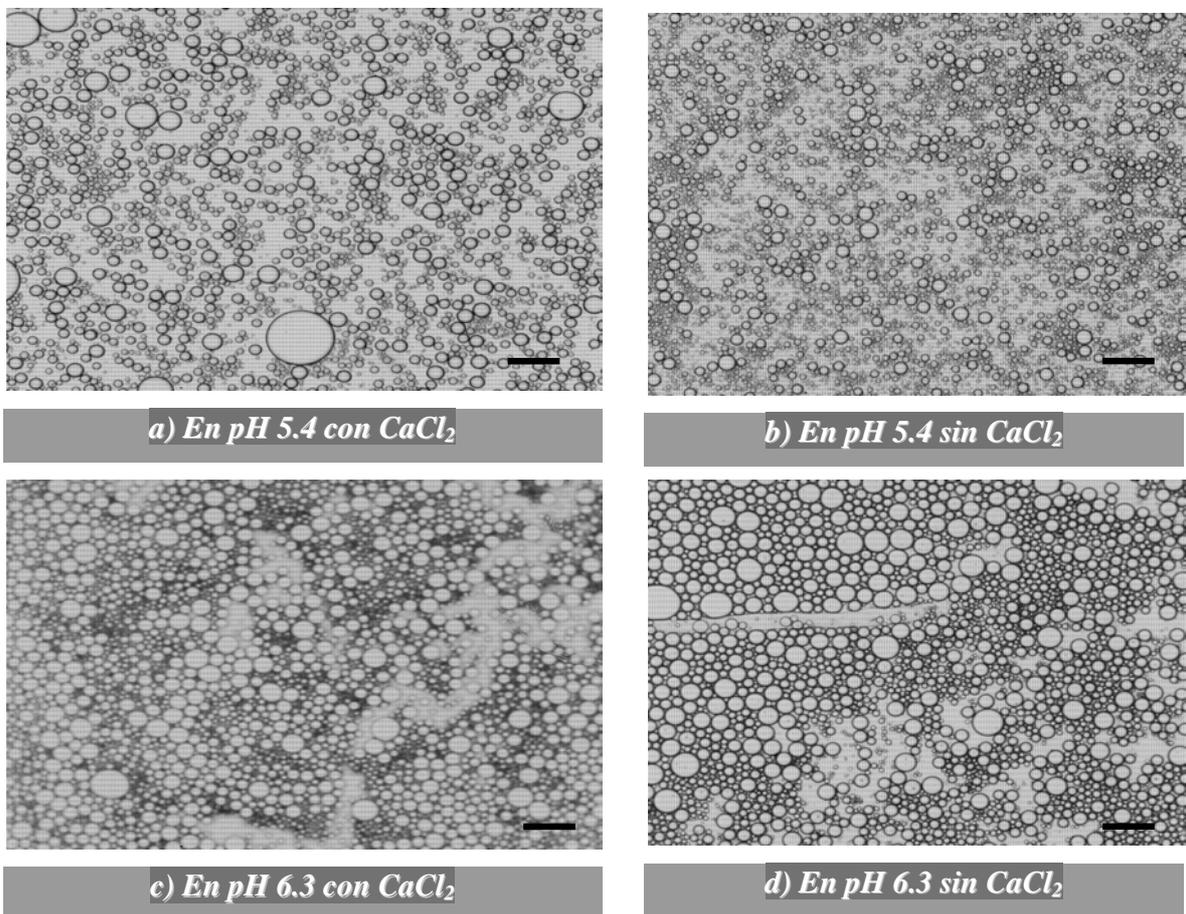


Figura 4.20. Micrografías de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 1% con alginato de sodio al 0.1% (objetivo 10x, barra= 50 μ m).

Por otra parte, el aumento en la viscosidad que se da debido a la formación de geles débiles que forma el alginato con los iones Ca^{++} en este pH, no es capaz de impedir en su totalidad el movimiento libre de las partículas, permitiendo su asociación. No obstante al comparar estas emulsiones (*Figuras 4.21* y *4.21b*) con las mezclas manejadas con un contenido proteico de 1% en pH de 5.4 (ver *Figuras 4.20a* y *4.20b*), se puede observar una menor floculación en las manipuladas a una concentración de 2% de proteína en mezcla, por lo cual es claro que el aumento en el contenido de caseinato de sodio en la mezcla (de 1 a 2%),

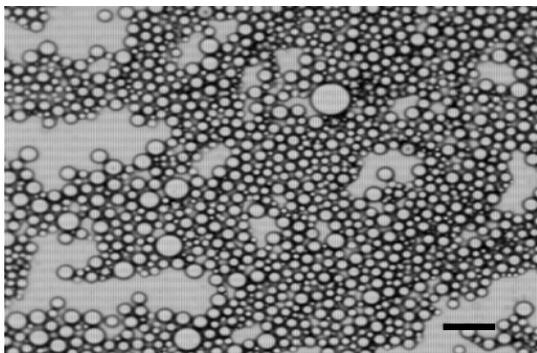
en estas condiciones (pH y contenido de iones), es el principal responsable de disminuir la asociación de los glóbulos de aceite.

De acuerdo con algunos trabajos (*Dickinson y Stainsby, 1982*) una proporción substancial de la proteína en las emulsiones alimenticias, se localiza en la superficie de las partículas dispersas, burbujas o gotas de aceite. Las interacciones interfaciales polisacárido-proteína en la superficie de estas entidades dispersas, pueden tener una profunda influencia sobre las propiedades de estabilidad coloidal.

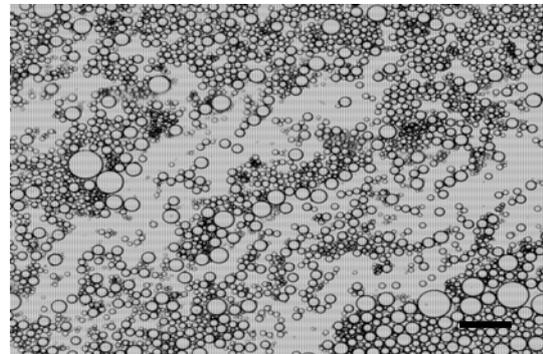
En sistemas conteniendo gotas de aceite cubiertas con proteína, una interacción atractiva proteína-polisacárido puede incrementar la estabilidad de la emulsión por formación de una espesa y fuerte capa estérica estabilizante, o puede desestabilizar la emulsión al formar enlaces poliméricos entre las gotas floculadas. Mientras que una interacción repulsiva proteína-polisacárido puede estabilizar la emulsión al inmovilizar las gotas cubiertas de proteína en una red de gel de polisacárido, o puede desestabilizar la emulsión induciendo una incipiente separación de fases entre el componente de la proteína adsorbida y el polisacárido solubilizado. Lo que actualmente sucede en algún sistema coloidal en particular depende de las concentraciones de los dos biopolímeros y de la naturaleza detallada de las interacciones intermoleculares o interpartícula, las cuales están influenciadas por las condiciones del medio cuyas variaciones (pH, iones) pueden inducir cambios drásticos en el comportamiento de las partículas coloidales, principalmente en su asociación (*Antipova y col., 2002*).

Por consiguiente, es claro que la estabilización de las emulsiones, que fueron manipuladas en un pH de 6.3 con y sin adición de iones, se dio a través de interacciones repulsivas, mostrándose una inmovilización de las gotas cubiertas de proteína a través de la modificación de su viscosidad o gelificación en la fase acuosa por parte del alginato, mientras que el caseinato tiene una fuerte tendencia a ser adsorbido en la interfase aceite-agua para formar capas o películas estabilizantes alrededor del glóbulo de aceite, las cuales a través de una repulsión electrostática entre ellas, evitan la asociación entre glóbulos (esto se puede ver en las *Figuras 4.21c* y *4.21d* en las cuales se puede observar la nula unión entre las partículas de la fase dispersa, generando un equilibrio en el sistema). Algunos estudios han establecido (*Dickinson, 2003*) que la formación de complejos solubles entre polisacáridos aniónicos (como

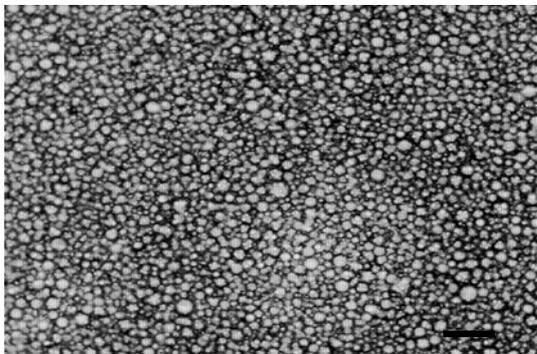
puede ser el alginato) y proteínas (como puede ser el caso del caseinato), son generalmente producidos cuando ambos polímeros llevan cargas negativas netas (el $\text{pH} > \text{pI}$), las cuales pueden generar dos efectos: 1) produce una repulsión electrostática entre proteína-proteína y 2) se reduce la atracción de proteína-polisacárido por la protección de las interacciones de los grupos cargados positivamente. La formación de estos complejos incrementan las propiedades funcionales del polisacárido y de la proteína, en relación a sí actuaran solos o por separado. De esta manera el aumento en el pH de 5.4 a 6.3 en las emulsiones, produce efectos sinérgicos debido a que existe una mayor compatibilidad entre el polisacárido y la proteína, lo cual se ve reflejada en una mejor estabilidad del sistema. Por otra parte, es importante mencionar que estas emulsiones manejadas a una concentración de 2% en pH de 6.3, presentaron una nula agrupación de partículas de la fase dispersa en comparación a las que fueron manipuladas a un concentración de 1% de contenido de caseinato (ver Figuras 4.21c y 4.21d), las cuales presentaron una floculación parcial, por lo cual, el aumento en la concentración de proteína (de 1 a 2%) ayudó a una mayor estabilización del sistema, esto ha sido confirmado por algunos autores (Dickinson y Golding, 1997).



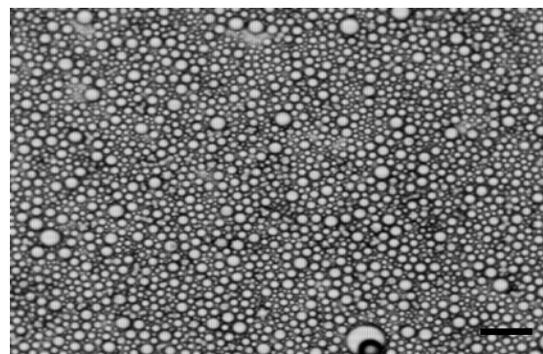
a) En pH 5.4 con CaCl_2



b) En pH 5.4 sin CaCl_2



c) En pH 6.3 con CaCl_2



d) En pH 6.3 sin CaCl₂

Figura 4.21. Micrografías de emulsiones de mezclas de caseinato de sodio al 2% con alginato de sodio al 0.1% (objetivo 10x, barra= 50µm).

5. CONCLUSIONES

El análisis de la estructura coloidal de proteínas, polisacáridos e interacciones entre ambos polímeros, estudiado mediante diferentes técnicas experimentales entre las que se encuentran la microscopía óptica, métodos de análisis de tamaños de partícula, y de potencial zeta (dispersión de luz- Light scattering), así como la caracterización de propiedades reológicas de flujo y viscoelásticas, puede servir como un control sensible de estabilidad de sistemas alimenticios de estructura compleja. En el presente estudio, este análisis fue realizado en la manipulación de alginato de sodio al 0.1%, caseinato de sodio al 1 y 2%, y mezclas de ambos para la estabilización de emulsiones, pudiéndose concluir: 1) El comportamiento al flujo de muestras de caseinato de sodio manejado a bajas concentraciones (1 y 2%) es independiente de la fuerza iónica y del pH en medio acuoso y en emulsión, presentándose en ambos casos características newtonianas, 2) Las características reológicas del alginato de sodio al 0.1% en medio acuoso, se encuentran en función de la concentración de iones divalentes como el Ca^{++} y de la variación en el pH, siendo la interacción entre ambos factores la que provoca que el sistema posea propiedades newtonianas, adelgazantes a la cizalla o características de Hershel-Bulkley 3) Las propiedades al flujo de las interacciones entre el alginato de sodio al 0.1% y el caseinato de sodio al 1 y 2% no sólo dependen de la adición de iones divalentes y del cambio en el pH, sino también de la incorporación de la fracción de aceite el cual le otorga propiedades adelgazantes a la cizalla al sistema, 4) El alginato de sodio al 0.1% en medio acuoso, con la adición de iones Ca^{++} presenta la formación de redes tridimensionales (geles), siendo el pH el responsable de la fuerza con que se forman esas estructuras, 5) Las características viscoelásticas de las mezclas alginato de sodio-caseinato de sodio en emulsión son dependientes de la fuerza iónica, mostrándose con la adición de Ca^{++} espectros mecánicos típicos de un gel físico o intermedio y en ausencia de este, las muestras se comportan como el de un gel débil, 6) Las emulsiones elaboradas con alginato de sodio al 0.1% presentan una separación instantánea de sus fases, lo cual se debe a que el polisacárido es un polímero que no posee propiedades emulsificantes, puesto que es un polímero hidrofílico y no presenta superficie activa, lo cual le impide estabilizar emulsiones aceite-agua, 7) Las emulsiones hechas con caseinato de sodio y mezclas de caseinato de sodio y alginato de sodio son estables a la floculación, siempre y cuando se asegure que el pH se encuentra suficientemente lejos del punto isoeléctrico del caseinato de sodio (4.5-5), que la

concentración de la proteína sea la suficiente para saturar la interfase aceite-agua (2%), que el contenido de iones calcio sea menor que la requerida para promover la floculación ($< 6\text{mM}$) y que el potencial zeta se encuentre fuera de los rangos ubicados entre -25 y 25mV . Por lo tanto, es evidente que las propiedades de flujo y la estabilidad de las emulsiones formadas con proteínas lácteas, polisacáridos aniónicos y sus mezclas, se encuentra fuertemente influenciada por la fuerza iónica, pH, concentración y naturaleza de cada uno de los polímeros, compatibilidad termodinámica en medio acuoso entre el polisacárido y la proteína, y la capacidad de adsorción en la interfase de cada uno de los hidrocoloides.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antipova, A.S., Dickinson, E., Murray, B.S., y Semenova, M.G. 2002. *On the effect of calcium ions on the sticking behaviour of casein-coated particles in shear flow*. Colloids and Surfaces, 27, 123-131.
- Badui, D.S. 1993. *Química de los alimentos*. 3^{ra} edición. Alhambra Mexicana, México.
- Bailey, M.E., Hedrick, H.B. Rourke, T.J. y Clarke, A.D. 1997. *Ionic interaction in algín/calcium/my fibrillar protein gels*. Journal of Muscle Foods, 8, 33-46.
- Bajpai, S. y Sharma, S. 2004. *Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca⁺⁺ and Ba⁺⁺ ions*. Reactive & Functional Polymers, 59, 129–140.
- Barbosa, G.V. 1993. *Review: Rheological properties of gums and food gum mixtures*. Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos, 33, 133-163.
- Blandino, A. y Macías, M. 1999. *Formation of Calcium Alginate Gel Capsules: Influence of Sodium Alginate and CaCl₂ Concentration on Gelation Kinetics*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 88, 686-689.
- Bourne M.C. 1982 *Food Texture and Viscosity* Editorial Academic Press, New York.
- Carr, A. y Munro, P. 2002. *Effect of added monovalent or divalent cations on the rheology of sodium caseinate solutions*. International Dairy Journal, 12, 487–492.
- Capron, I., Casteux, S., y Djabourov, M. 2001. *Water in water emulsions: phase separation and rheology of biopolymer solutions*. Rheological Acta, 40, 441- 456.
- Charalambus, G. 1990. *Food Emulsifiers*. Elsevier Science, New York.
- Cheftel, J.C., Cuq, J.L., Lorient, D. 1989. *Proteínas alimentarias*. Acribia. Zaragoza, España.
- Clark, A.H. y Ross-Murphy, S.B. 1987. *Structural and Mechanical Properties of Biopolymer Gels*. Advances in Polymer Sci. 83, 57-192.
- Coia, K. y Stauffer, K. 1987. *Shelf life study of oil/water emulsions using various commercial hydrocolloids*. Journal of Food Science, 52, 166-172.
- Coulltate, T.P. 1998. *Manual de química y bioquímica de los alimentos*. Acribia, Zaragoza España.
- Dickinson, E. 1998. *Stability and rheological implications of electrostatic milk protein-polysaccharide interactions*. Trends in Food Science & Technology, 9, 347-354.

- Dickinson, E. 2001. *Food Colloids: Fundamentals of Formulation*. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Dickinson, E. 2003. *Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems*. Food Hydrocolloids, 17, 25-39.
- Dickinson, E. y Casanova, H. 1999. *A thermoreversible emulsion gel based on sodium caseinate*. Food Hydrocolloids, 13, 285–289.
- Dickinson, E. y Davies, E. 1999. *Influence of ionic calcium on stability of sodium caseinate emulsions*. Colloids and Surfaces, 12, 203-212.
- Dickinson, E. y Golding, M. 1997. *Creaming and Flocculation of Oil-in-Water Emulsions Containing Sodium Caseinate*. Journal of Colloid and Interface Science, 185, 515–529.
- Dickinson, E. y Golding, M. 1998. *Influence of calcium ions on creaming and rheology of emulsions containing sodium caseinate*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 144, 167–177.
- Dickinson, E. y Radford, S. 2003. *Stability and rheology of emulsions containing sodium caseinate: combined effects of ionic calcium and non-ionic surfactant*. Food Hydrocolloids, 17, 211-220.
- Dickinson, E. y Radford, S.J. 2004. *Depletion flocculation of caseinate-stabilised emulsions: what is the optimum size of the non-adsorbed protein nano-particles?*. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, 238, 71–81.
- Dickinson, E. y Semenova, M. 1998. *Salt stability of casein emulsions*. Food Hydrocolloids, 12, 227-235.
- Dickinson, E., Semenova, M.G., Belyakova, L.E., Antipova, A.S., Il'in, M.M., Tsapkina, E.N., Ritzoulis, C. 2001. *Analysis of light scattering data on the calcium ion sensitivity of caseinate solution thermodynamics: relationship to emulsion flocculation*. Journal of colloid and Interface Science, 239, 87-97.
- Dickinson, E., y Stainsby, G. 1982. *Colloids in Food*. Applied Science Publishers. Gran Bretaña.
- Dickinson, E. y Walstra, P. 1993. *Food Colloids and Polymers: Stability and Mechanical properties*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Eliot, C. y Dickinson, E. 2003. *Thermoreversible gelation of caseinate-stabilized emulsions at around body temperatura*. International Dairy Journal, 13, 679–684.
- Fennema, O. 2000. *Introducción a la ciencia de los alimentos*. 2^{da} edición. Acribia, España.

- Fichtali, J., y van de Voort, F. R. 1993. *A rheological model for sodium caseinate*. Journal of Food Engineering, 19, 203–211.
- Firouz, J., Yukio, K., Varghese, A., Massimo, F. M. 2000. *Soluble protein fractions from pH and heat treated sodium caseinate: physicochemical and functional properties*. Food Research International 33, 637-647.
- Glicksman, M. 1990. *Gum Technology in the Food Industry*. Academia Press, London.
- Guido, S., Simeone, M. y Alfani, A. 2003. *Phase diagram, rheology and interfacial tension of aqueous mixtures of Na- caseinate and Na-alginate*. Food Hydrocolloids, 18, 463-470.
- Gunasekarana, S. y Mehmet, M. 2000. *Dynamic oscillatory shear testing of foods - selected applications*. Trends in Food Science & Technology, 11, 115-127.
- Hermansson, A. M. 1975. *Functional properties of proteins for food. Flow properties*. Journal of Texture Studies, 5, 425–439.
- Hermansson, A. M., y Akesson, C. 1975. *Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems*. Journal of Food Science, 40, 595–610.
- Hermida J.R. 2000. *Fundamentos de Ingeniería de Procesos Agroalimentarios*. Editorial Mundi-Prensa, Madrid.
- Golding, M. y Dickinson E. 1997. *Rheology of Sodium Caseinate Stabilized Oil-in-Water Emulsions*. Journal of Colloid and Interface Science, 191, 166-176.
- Honghe, Z. 1997. *Interaction mechanism in sol-gel transition of alginate solutions by addition of divalent cations*. Carbohydrate Research, 302, 97-101.
- Konstance, R. P., y Strange, E. D. 1991. *Solubility and viscous properties of casein and caseinates*. Journal of Food Science, 56, 556–559.
- Korolczuk, J. 1981. *Voluminosity and viscosity of casein solution. I. The correlation between the voluminosity, protein concentration and viscosity*. Milchwissenschaft, 36, 414–416.
- Kulmyrzaev, A. y McClements, D. 2000. *Influence of pH and CaCl₂ on the stability of dilute whey protein stabilized emulsions*. Food Research International 33, 15-20.
- Larsson, K. 1997. *Food Emulsions*. Marcel Dekker, New York.
- Lewis M.J. 1993. *Propiedades Físicas de los Alimentos y de los Sistemas de Procesado*. Editorial Acribia Zaragoza (España).
- Lissant K.J. 1984. *Emulsions and Emulsions Technology*. Editorial Marcel Dekker, New York.

- Lynch, M.J. y Griffin, W.C. 1984. *Emulsion and Emulsion Technology. Food Emulsions*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Mano, J. P., Fillery-Travis, A. J., Hibberd, D. J., Watson, A. D., y Robins, M.M. 2000. Rheological investigations of transient gel in a depletion-flocculated polydisperse emulsion. En *Gums and Stabilisers for the Food Industry 10*. Eds. Phillips, G.O. y Williams, P.A. Editorial Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Malhotra, A. y Coupland, J. 2004. *The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates*. Food Hydrocolloids, 18, 101–108.
- Martínez M. N. y Chiralt C.A. 1998 *Laboratorio de Coloides en Alimentos*. Servicio de publicaciones, Valencia.
- McClements, D.J. 1999. *Food Emulsions: Principles, Practice, and Techniques*. Editorial Press, New York.
- McClements, D.J. 2004. *Protein-stabilized emulsions*. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 9, 305–313.
- Mezger.T. 1990. *A little course in Rheology Part 2: Oscillation Rheometry*. Paar Physica USA. Inc.
- Michon, C. y Chapuis, C. 2004. *Strain-hardening properties of physical weak gels of biopolymers*. Food Hydrocolloids, 18, 999–1005.
- Miller, D. 2001. *Química de los Alimentos editorial*. Limusa, México.
- Mitchell J.R. 1980. *The Rheology of gels*. Journal Texture Stud.11, 315-337.
- Mitchell, J.R. y Blanshard, J.M. 1979. *Polysaccharides in Food*. British Library in Publication Data, London.
- Mitchell, J. y Ledward, D. 1998. *Functional Properties of Food Macromolecules*. Aspen, Maryland.
- Mollet, H. y Grubermann, A. 2001. *Formulation Technology*. Wiley, Alemania.
- Muller, H.G. 1973. *Introducción a la Reología de los Alimentos*. Acribia, Zaragoza España.
- Nishinari, K. y Takahashi, R. 2003. *Interaction in polysaccharide solutions and gels*. Current Opinion in Colloid and Interface Science, 8, 396–400.
- Norton, I.T. y Foster, T. J. 2002. Hydrocolloids in Real Food Systems. En *Gums and Stabilisers for the Food Industry 11*. Eds. Phillips, G.O. y Williams, P.A. Editorial Royal Society of Chemistry, Cambridge.

- Núñez-Santiago, M.C., y Mendez-Montecalvo, M.G.C. y Solorza-Feria, J. 2001. *Introducción a la Reología*, Editorial Instituto Politécnico Nacional, México.
- Nussinovitch, A. 1997. *Hydrocolloid Applications*. Blackie Academic and Professional, New York.
- Piirma, I. 1992. *Polymeric Surfactants*. Marcel Decker, New York.
- Radford, S.J. y Dickinson, E. 2004. *Stability and rheology of emulsions containing sodium caseinate: combined effects of ionic calcium and alcohol*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 274, 673–686.
- Radford, S.J. y Dickinson, E. 2004. *Depletion flocculation of caseinate-stabilised emulsions: what is the optimum size of the non-adsorbed protein nano-particles?*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 238, 71–81.
- Rao A. and Steffe J.F. 1992. *Viscoelastic Properties of Foods*. Elsevier Applied Science, London.
- Roeper, J., y Winter, G. J. 1982. *Viscosity of sodium caseinate solutions at high concentrations*. XXI International Dairy Congress, 1(2), 97–98, Moscow: Mir.
- Rousseau, D. 2000. *Fat crystals and emulsion stability*. *Food Research Internacional*, 33, 3-14.
- Sánchez, V.E., Bartholomai, G.B. y Pilosof, A.M.R. 1995. *Rheological properties of food gums as related to their water binding capacity and soy to Interaction*. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 380-385.
- Sánchez, O. 2004. *Fundamentos de la interfase y la ciencia coloidal*. Laboratorio de Física de Sistemas Dispersos. Departamento de Física, CUJAE.
- Sandoval, L. y Montellano, L. 2003. *Potencial zeta como una herramienta para determinar la aglomeración de las partículas en la reducción del volumen del lodo a disponer*. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. Jiutepec, Morelos.
- Setser, C.S. 1992. *Water and Food Dispersions, in Food Theory and Applications*. (Ed. Bowers, J.) 2a. edición, Macmillan Publishing Company, EUA, 7-68.
- Srinivasan, M., Singh H. y Munro, P. 1999. *Adsorption behaviour of sodium and calcium caseinates in oil-in-water emulsions*. *International Dairy Journal*, 9, 337-341.
- Steffe, J.F. 1996. *Rheological Methods in Food Process Engineering*. 2a. Ed. Freeman Press, USA.

- Stephen, A.M. 1995. *Food Polysaccharides and their Applications*. Marcel Dekker, New York.
- Tadros, T. 2004. *Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions*. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108-109, 227–258.
- Tanner, R.I. 1988. *Engineering rheology*. Clarendon Press, Oxford.
- Towler, C. 1974. *Rheology of casein solutions*. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 9, 155–160.
- Towler, C., Creamer, L. K., y Southward, C. R. 1981. *The effect of disulphide bond reducing agents on the viscosity of casein solutions*. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 16, 155–165.
- Tscheuschner H.D. 2001. *Fundamentos de Tecnología de los Alimentos*. Editorial Acribia, España.
- Velev, O. y Campbell, B. 1998. *Effect of Calcium Ions and Environmental Conditions on the Properties of α -Casein Stabilized Films and Emulsions*. *Langmuir*, 14, 4122-4130.
- Vélez, G., Fernández, M.A., Muñoz, J. 2003. *Role of hydrocolloids in the creaming of oil in water emulsions*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 265-269.
- Vernon, E.J. y Torreblanca C.A. 1990. *Estudio de las propiedades viscoelásticas de productos alimenticios*. *Tecnología de Alimentos*, 18, 2. 11-17.
- Walstra, P. 1999. *Casein sub-micelles: do they exist?*. *International Dairy Journal*. 9, 189-192.
- Windhab, E.J. 1995. *Rheology in food processing*. En *Physico-chemical aspects of food processing* (Beckett, S.T. ed.), Chapman and Hall, Londres, 80-116.
- Wong, Dominic. 1995. *Química de alimentos: Mecanismo y Teoría*. Acribia, España.
- Ye, A., Singh, H. 2001. *Interfacial composition and stability of sodium caseinate emulsions as influenced by calcium ions*. *Food hydrocolloids*, 15, 195-207.
- Yongan, G. y Dongqing, L. 1998. *The ζ -Potential of Silicone Oil Droplets Dispersed in Aqueous Solutions*. *Journal of colloid and interface science*, 206, 346 –349.
- Zheng, H. 1997. *Interaction mechanism in sol-gel transition of alginate solutions by addition of divalent cations*. *Carbohydrate Research*, 302, 97-101.