



Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán  
Ingeniería en Alimentos

---

“Efecto de la fracción volumen de aceite sobre las propiedades de emulsiones aceite-agua con mezclas de caseinato de sodio-gelana”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A N :  
MARÍA MERCEDES BARRIENTOS GARCÍA  
MARITZA ROCANDIO PINEDA

ASESORAS:

Dra. LAURA PATRICIA MARTÍNEZ PADILLA  
M. en C. MARÍA 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.

## ÍNDICE

---

ÍNDICE DE CUADROS	4
ÍNDICE DE FIGURAS	5
NOMENCLATURA	7
RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	9
CAPÍTULO I	
1 Antecedentes	
1.1 Generalidades de hidrocoloides	12
1.2 Caseinato de Sodio	13
1.2.1 Obtención	13
1.2.2 Estructura de las caseínas	14
1.2.3 Propiedades	16
1.2.4 Usos y aplicaciones	17
1.3 Goma gelana	18
1.3.1 Obtención	18
1.3.2 Estructura de la gelana	18
1.3.3 Propiedades	19
1.3.4 Usos y aplicaciones	20
1.4 Emulsiones	21
1.4.1 Formación de la emulsión	22
1.4.2 Estabilidad	25
1.5 Reología	28
1.5.1 Generalidades sobre reología	28
1.5.2 Comportamiento reológico de disoluciones de caseinato de sodio	32
1.5.3 Comportamiento reológico de disoluciones de goma gelana	32
1.5.4 Comportamiento reológico de emulsiones	33
CAPÍTULO II	
2 Materiales y métodos	
2.1 Materiales	36
2.2 Métodos	36
2.2.1 Preparación de amortiguador acetato pH 5.4	36
2.2.2 Preparación de la fase continua de caseinato de sodio	36

2.2.3	Preparación de la disolución de gelana	37
2.2.4	Preparación de la fase continua de mezcla de caseinato de sodio-gelana	37
2.2.5	Preparación de la emulsión	37
2.2.6	Pruebas de cizalla estacionaria	37
2.2.7	Pruebas de cizalla oscilatoria	38
2.2.8	Micrografías	39

### CAPÍTULO III

3	Resultados y discusión	
3.1	Pruebas bajo cizalla estacionaria de emulsiones elaboradas con caseinato de sodio	41
3.2	Emulsiones elaboradas con gelana	49
3.3	Pruebas bajo cizalla estacionaria de emulsiones elaboradas con mezcla de caseinato de sodio-gelana	49
3.4	Pruebas bajo cizalla oscilatoria de emulsiones elaboradas con caseinato de sodio	58
3.5	Pruebas bajo cizalla oscilatoria de emulsiones con mezcla de caseinato de sodio-gelana	65
4	Conclusiones	71
5	Referencias	73

## ÍNDICE DE CUADROS

---

Cuadro	Página
1.1 Aplicación de mezclas proteína-polisacárido para uso en la industria alimentaria	14
3.1 Modelo reológico de emulsiones de caseinato de sodio	43
3.2 Modelo reológico de emulsiones de caseinato de sodio con 5 mM CaCl <sub>2</sub>	48
3.3 Modelo reológico de emulsiones con mezcla de caseinato de sodio-gelana	52
3.4 Modelo reológico de emulsiones con mezcla de caseinato de sodio-gelana y 5 mM CaCl <sub>2</sub>	56

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1.1 Modelo de la micela y submicela de la caseína	16
1.2 Representación esquemática de la estructura de la goma gelana de bajo acilo	19
1.3 Representación esquemática de los procesos importantes durante la formación de la emulsión	23
1.4 Representación esquemática del efecto Gibbs-Marangoni	24
1.5 Representación esquemática de los mecanismos de inestabilización de emulsiones aceite en agua	25
1.6 Interacción por depleción que surge entre los glóbulos de la emulsión cuando están rodeadas por pequeñas partículas coloidales no adsorbidas	27
1.7 Material sometido a diferentes esfuerzos	29
1.8 Clasificación del comportamiento reológico de los materiales	30
1.9 Perfil de velocidad a través de una capa de fluido situada entre dos placas paralelas: inferior estático, superior en movimiento	31
3.1 Micrografía de la emulsión con 20% de aceite puro de girasol, 1% de caseinato de sodio en agua desionizada	41
3.2 Viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de emulsiones con 40% y 60% de aceite de girasol, (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio	42
3.3 Micrografía de la emulsión con 40% de aceite puro de girasol, 1% caseinato de sodio en agua desionizada	44
3.4 Micrografía de la emulsión con 40% de aceite puro de girasol, 2% caseinato de sodio en agua desionizada	45
3.5 Viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de emulsiones con 40% y 60% de aceite de girasol y 5 mM de $\text{CaCl}_2$ , (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio	47
3.6 Micrografía de la emulsión con 40% de aceite, 1% de caseinato de sodio, amortiguador acetato y 5 mM de $\text{CaCl}_2$	48
3.7 Emulsiones elaboradas a partir de gelana 0.05%, aceite puro de girasol (40% p/p), amortiguador acetato pH 5.4, con y sin la adición de $\text{CaCl}_2$	49
3.8 Viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de emulsiones con 20%, 40% y 60% de aceite de girasol, (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio y 0.05% de gelana	50
3.9 Micrografía de las emulsiones con 40% de aceite, 1% de caseinato de sodio,	

	0.05% de gelana en agua desionizada y amortiguador acetato	53
3.10	Viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de emulsiones con 20%, 40% y 60% de aceite de girasol, (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, 0.05% de gelana y 5 mM CaCl <sub>2</sub>	55
3.11	Micrografía de emulsiones con 60% de aceite, 2% de caseinato de sodio, 0.05% de gelana, 5 mM CaCl <sub>2</sub> en agua desionizada y amortiguador acetato (Objetivo 40x)	57
3.12	Barrido de esfuerzo	58
3.13	Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s) de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, en agua desionizada con 40% y 60% de aceite de girasol	60
3.14	Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s) de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, en amortiguador con 40% y 60% de aceite de girasol	61
3.15	Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s) de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, en agua desionizada con 40% y 60% de aceite de girasol con la adición de CaCl <sub>2</sub>	63
3.16	Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s) de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, en amortiguador con 40% y 60% de aceite de girasol con la adición de CaCl <sub>2</sub>	64
3.17	Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s) de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, gelana 0.05%, en agua desionizada con 20%, 40% y 60% de aceite de girasol	66
3.18	Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s) de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, gelana 0.05%, en amortiguador con 20%, 40% y 60% de aceite de girasol	67
3.19	Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s) de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, gelana 0.05%, en agua desionizada con 20%, 40% y 60% de aceite de girasol con la adición de CaCl <sub>2</sub>	69
3.20	Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s) de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, gelana 0.05%, en amortiguador con 20%, 40% y 60% de aceite de girasol con la adición de CaCl <sub>2</sub>	70

## NOMENCLATURA

---

A	Área (m <sup>2</sup> )
C	Constante de proporcionalidad (Pa)
C.V.	Coefficiente de variación (%)
D.S.	Desviación estándar
E	Módulo de Young (Pa)
F	Fuerza (N)
G	Módulo de rigidez (Pa)
G'	Módulo de almacenamiento (Pa)
G''	Módulo de pérdida (Pa)
h	Distancia (m)
K <sub>v</sub>	Módulo de carga (Pa)
k	Índice de consistencia (Pa.s <sup>n</sup> )
n	Índice de comportamiento al flujo (adimensional)
t	Tiempo (s)
v	Velocidad (m/s)
$\sigma_{11}, \sigma_{22}, \sigma_{33}$	Esfuerzo normal (Pa)
$\gamma$	Tensión interfacial (mN/m)
$\gamma$	Deformación (Adimensional)
$\dot{\gamma}$	Velocidad de corte (1/s)
$\eta$	Viscosidad newtoniana (Pa.s)
$\sigma_{21}, \sigma_{12}$	Esfuerzo de corte (Pa)
$\sigma_0$	Esfuerzo en el tiempo cero (Pa)
$\omega$	Frecuencia (Hz)
$\bar{X}$	Media aritmética

## RESUMEN

---

A pesar de que se han realizado estudios de mezclas de proteínas lácteas con polisacáridos para la estabilización de emulsiones, muy poco se ha estudiado en relación con estos sistemas modificando la fracción volumen de la fase dispersa, siendo que en la actualidad, algunos alimentos procesados existen ya sea como emulsiones de bajo o muy alto contenido de aceite.

En este trabajo se estudió el efecto de la fracción volumen de aceite en la fase dispersa en el comportamiento reológico bajo pruebas de cizalla estacionaria y oscilatoria de emulsiones con caseinato de sodio, gelana y sus mezclas. Se manejaron tres concentraciones de aceite puro de girasol (20%, 40% y 60%), dos concentraciones de proteína (1% y 2%), una de polisacárido (0.05%), en dos medios de dispersión (amortiguador acetato pH 5.4 y agua desionizada pH 6.5-7.0), con y sin la adición de 5 mM  $\text{CaCl}_2$ .

Por medio de pruebas de cizalla estacionaria y oscilatoria se obtuvieron las viscosidades y los parámetros reológicos, así como las funciones materiales ( $G'$ ,  $G''$ ) para cada emulsión, además de imágenes en microscopio óptico para observar los fenómenos involucrados en los sistemas en estudio.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la viscosidad aparente y el índice de consistencia aumentan en función de la concentración de aceite y de proteína, a diferencia del índice de comportamiento al flujo, el cual disminuye. Para las emulsiones con 20% y 40% de aceite con caseinato de sodio solo, domina el carácter viscoso y para la de 60%, el carácter elástico. Los iones sodio presentes en el amortiguador y los iones calcio interactúan con el caseinato formando aglomerados que modifican el sistema, cambiando de un fluido newtoniano a uno de la potencia en 40% de aceite. Por otra parte, la adición de goma gelana a las emulsiones de 20% y 40%, provoca que el comportamiento reológico sea más parecido al de la gelana sola con la adición de  $\text{CaCl}_2$ . De acuerdo con las micrografías, se observa que las emulsiones son sistemas heterogéneos en los que los glóbulos de aceite tienden a unirse, dando paso a la formación de flóculos en el sistema.

## INTRODUCCIÓN

---

La interacción de biopolímeros tiene un importante efecto sobre las propiedades microscópicas y macroscópicas de productos alimenticios tales como flujo, estabilidad y textura (*de Kruif y Tuinier, 2001*). Las proteínas, los polisacáridos y sus combinaciones son ejemplos de biopolímeros naturales y se consideran como macromoléculas que juegan un papel esencial en la estabilización de alimentos manufacturados, por lo que el control o manipulación de las interacciones proteína-polisacárido es un factor clave en el desarrollo de procesos y productos alimenticios novedosos, así como en la formulación de productos fabricados, dentro de los cuales se encuentran las emulsiones.

Para las emulsiones alimenticias aceite-agua suelen elegirse como emulsionantes a las proteínas, porque son comestibles, tensoactivas y proporcionan una gran resistencia a la coalescencia, favoreciendo así la estabilidad (*Fennema, 2000*). Las proteínas de la leche son excelentes emulsificantes y se emplean para desarrollar esta función en una gran variedad de productos lácteos y otros alimentos procesados. Éstas se clasifican en dos grupos generales: las caseínas y las proteínas del suero. En la leche, las caseínas se encuentran en forma de micelas, que son estructuras supramoleculares altamente ordenadas de agregados de moléculas individuales de caseína. En esta forma agregada, las caseínas poseen poca capacidad emulsificante, por lo que una de las formas más conveniente de comercializarlas es el caseinato de sodio.

Los polisacáridos o gomas no son verdaderos emulsificantes y no actúan por el mecanismo de enlaces hidrofílicos-lipofílicos como los emulsionantes clásicos. Estos actúan estabilizando la emulsión de muchas maneras, principalmente por espesamiento e incremento de la viscosidad de la fase acuosa, por lo que inhibe o minimiza la tendencia de los glóbulos de aceite a coalescer. Otra forma de actuar de los polisacáridos es gelificando la fase continua, para que los glóbulos de aceite queden inmovilizados por una red tridimensional de polisacárido evitando así la separación de fases en la emulsión (*Glicksman, 1982*). Algunos hidrocoloides pueden funcionar también como surfactantes y reducir la tensión superficial o interfacial como la goma tragacanto y goma fenugreek (*Huang y col., 2001*).

En las emulsiones alimenticias, otro aspecto importante que determina características y propiedades específicas como apariencia, textura, sabor, estabilidad, comportamiento

reológico e inclusive costo, es la fracción volumen de la fase dispersa (*McClements, 1999*). Se ha reportado que la relación proteína/aceite en emulsiones de caseinato de sodio repercute sobre el fenómeno de floculación en las mismas, reflejándose en cambios sobre las propiedades de flujo y viscoelásticas de dichos sistemas (*Dickinson y Golding, 1997*). A pesar de que se han realizado estudios de mezclas de proteínas lácteas con polisacáridos para la estabilización de emulsiones, por ejemplo, goma xantana, acacia y alginato (*Sánchez y Renard, 2002*) por mencionar algunos, muy poco se ha estudiado en relación con estos sistemas modificando la fracción volumen de la fase dispersa, siendo que en la actualidad, algunos alimentos procesados existen ya sea como emulsiones de bajo contenido en aceite (20%) o muy alto (>60%).

Este estudio es parte de un proyecto de investigación que se realiza en el Laboratorio de Propiedades Reológicas y Funcionales de Alimentos (LAPRYFAL), en el que se utilizan mezclas de caseinato con polisacáridos gelificantes (gelana y alginato de sodio) y no gelificantes (tragacanto, guar, carboximetilcelulosa de sodio), con la finalidad de proporcionar alternativas de estabilización de emulsiones y cuantificación de las propiedades físicas y fisicoquímicas de las mismas.

Por lo que, el objetivo de este trabajo es: Determinar el efecto de la fracción volumen de aceite sobre las propiedades reológicas de emulsiones aceite-agua elaboradas a partir de caseinato de sodio, gelana y sus mezclas. Considerando que el caseinato de sodio y la goma gelana, presentan gran afinidad por los iones calcio, en este estudio se adicionará cloruro de calcio para observar su efecto y se comparará con una emulsión en agua desionizada. También se estudiará la modificación del pH del medio con un amortiguador acetato (pH 5.4), ya que en éste se pueden mejorar las propiedades emulsificantes del caseinato.

La caracterización reológica consistirá en la realización de pruebas de cizalla oscilatoria y estacionaria, además, se verificará el tamaño del glóbulo de aceite de la emulsión a través del microscopio óptico.

# CAPÍTULO I

## Antecedentes

Generalidades sobre hidrocoloides

Caseinato de sodio

Goma gelana

Emulsiones

Reología

# 1. ANTECEDENTES

---

## 1.1 GENERALIDADES DE HIDROCOLOIDES

Los hidrocoloides son macromoléculas que se disuelven o dispersan fácilmente en agua para producir un aumento de viscosidad y en ciertos casos, un efecto gelificante. Se caracterizan por poseer propiedades coloidales como el movimiento Browniano y la dispersión de la luz y por su alta capacidad de absorción de agua. Este término es aplicado a polisacáridos extraídos de plantas (pectina), algas marinas (carragenina, alginato) o por fermentación microbiana (gelana, xantana), así como a los derivados de exudados de plantas (tragacanto, arábica) o modificación de biopolímeros por tratamientos químicos o enzimáticos (derivados de la celulosa o almidones). Algunas proteínas, como las caseínas y el gluten, no son clasificadas dentro de este grupo, sin embargo por sus propiedades funcionales tales como estabilizantes o gelificantes y su uso común en la industria de alimentos, farmacéutica o de cosméticos, también se les llama hidrocoloides (*Dickinson, 2003*). Por otra parte, tanto las proteínas como los polisacáridos son utilizados en emulsiones alimenticias debido a que dentro de sus propiedades tienen la habilidad de modificar la apariencia, textura, estabilidad y palatabilidad de las mismas (*McClements, 1999*).

Debido a que la combinación de polisacáridos y proteínas desarrollan diferentes propiedades funcionales (hidratación, estabilización, agregación, gelatinización, entre otros) de manera que proveen nuevas texturas y características al producto final, se han estudiado con especial atención y principalmente por su capacidad de emulsificación. Bajo condiciones específicas, tales como la relación proteína-polisacárido, pH, fuerza iónica o temperatura, puede generarse una nueva forma macromolecular anfifílica en la interfase aceite-agua, además de aumentar la estabilidad térmica e incrementar la resistencia a tratamientos externos (alta presión) involucrados en el procesamiento de alimentos (*Benichou y col., 2002*).

Si hablamos de la interacción de polisacárido-proteína en medio acuoso, pueden observarse dos comportamientos: puede ser segregativa, es decir, los biopolímeros se repelen uno del otro; o asociativa, donde los polímeros se atraen. Para soluciones diluidas el sistema es entrópicamente estable y las proteínas y polisacáridos son co-solubles pero, si se incrementa la

concentración de los polímeros el sistema puede llegar a ser inestable dependiendo del tipo de interacción (*de Kruif y Tuinier, 2001, Benichou y col., 2002*).

Dentro de los factores que afectan la interacción entre dos biopolímeros cargados están, la fuerza iónica y el pH, ya que a fuerzas iónicas altas y a pH cercano al punto isoeléctrico de la proteína, el complejo formado entre polisacárido-proteína se disocia. Con adición de iones  $\text{Ca}^{++}$  puede ocurrir la interacción electrostática entre el polisacárido y la proteína; por ejemplo, polisacáridos sulfatados como la carragenina, se pueden unir a la proteína debido a que tanto el grupo carboxilo ( $\text{COO}^-$ ) de la proteína como el grupo sulfato ( $\text{SO}_4^-$ ) de la carragenina, se unen al calcio. Si al sistema se modifica únicamente el pH, y el resultado es una carga neta positiva de la proteína, la interacción entre los biopolímeros se debe a las fuerzas atractivas entre la carga positiva de la proteína y la negativa del polisacárido, si el resultado es una carga neta negativa se obtendrán fuerzas repulsivas (*Benichou y col., 2002*).

Respecto a la interacción entre estos polímeros en emulsiones, Dickinson (2003) afirma que los polisacáridos sólo pueden ser distribuidos en la interfase de la emulsión si interactúan con las proteínas, aunque también pueden actuar como espesantes en la fase acuosa provocando que el tamaño del glóbulo de aceite pueda ser reducido si el polisacárido está presente durante la homogenización, y por lo tanto reducir la velocidad de cremado, así como la floculación. Algunas aplicaciones en alimentos de estas mezclas se plantean en el Cuadro 1.1.

Dentro de las proteínas más utilizadas en estudios de emulsiones está el caseinato de sodio debido a su capacidad emulsificante (*Casanova, 2004; Dickinson y Golding, 1997; McClements, 2004*), aunque poco se ha estudiado en combinación con polisacáridos y más aún con goma gelana (*Sosa-Herrera y col., 2007*).

## **1.2 CASEINATO DE SODIO**

### **1.2.1 Obtención**

Industrialmente las proteínas existen en una variedad de formas, siendo la caseína uno de los subproductos más importante de los derivados de la leche. Puede ser ácida o enzimática, pero esta última no se utiliza como ingrediente en la formulación de alimentos porque es muy insoluble. La caseína ácida, también llamada caseína isoeléctrica, se obtiene por acidificación

de la leche descremada hasta pH 4.6 con ácidos minerales u orgánicos, siendo los más utilizados los ácidos: clorhídrico, sulfúrico y láctico.

Aunque la caseína ácida como tal tiene poca aplicación, algunas de sus sales son más solubles y muy funcionales, además de tener muchas aplicaciones en los alimentos formulados, tal es el caso de los caseinatos de sodio y potasio que se obtienen por disolución de la caseína ácida en soluciones de hidróxido de sodio e hidróxido de potasio, respectivamente. Posteriormente los caseinatos formados se desecan por atomización (o en rodillos). También se fabrica caseinato de calcio con hidróxido de calcio, pero es un producto menos soluble y con menores propiedades funcionales (*Caric, 1994*). Aunque los diferentes tipos de caseínas están presentes en los caseinatos redisueltos, su separación en componentes individuales no es fácil debido a su fuerte tendencia a asociarse por sí mismas.

**Cuadro 1.1** Aplicación de mezclas proteína-polisacárido para uso en la industria alimentaria (*Benichou y col., 2002*).

PROTEÍNA	POLISACÁRIDO	APLICACIÓN
Caseína, proteína de soya y leche en polvo	Pectina, alginatos	Sustituto de carne
Proteína de soya, huevo, caseínas	CMC	Sustituto de aceite
Aislado de proteína de soya	Goma xantana	Sustituto de carne
Proteína de soya	Goma xantana	Sustituto de grasa
Clara de huevo	Goma xantana	Sustituto de grasa
Gelatina	Goma acacia	Sustituto de grasa
Proteína de leche desnatada	Goma xantana, guar, carrageninas	Sustituto de grasa
Proteína de leche	carrageninas	Sustituto de grasa
Proteína de soya, caseína, albúmina	Alginatos, pectina, gelana	Sustituto de crema

### 1.2.2 Estructura de las caseínas

Las caseínas son proteínas ácidas, por ser ricas en ácido glutámico y aspártico. La composición en aminoácidos les confiere una hidrofobicidad media, ligeramente superior a la

de las proteínas globulares. Dentro de las caseínas se encuentran cuatro grupos principales:  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  y  $\kappa$ , asimismo los caseinatos son una mezcla de estas cuatro caseínas y se encuentran en una proporción aproximada de 4:1:4:1 ó 3:0.8:3:1 (*Srinivasan y col., 2002; Jahaniaval y col., 2000*), respectivamente.

Para las caseínas, la localización de las cargas y de las cadenas laterales hidrófobas es muy irregular, además presentan una estructura poco ordenada, porque son pobres en hélice  $\alpha$ . Para el caso de la caseína  $\alpha_{s1}$  se piensa que posee una parte de su molécula en estructura  $\beta$  y otra en curvatura  $\beta$  ( $\beta$  giros). Sin embargo, la estructura secundaria es lo suficientemente abierta para permitir una entrada más fácil de proteasas en la molécula. Además, algunas determinaciones físicas (como la difracción de rayos X), en presencia o no de agentes desnaturalizantes o disociantes, indican claramente que la caseína  $\alpha_{s1}$ , no se comporta como una proteína globular; esto se debe sin duda, a la importancia de los grupos ácidos, fuertemente solvatados, que confieren a la molécula su comportamiento de proteína “naturalmente desnaturalizada” (*Cheftel y col., 1989*).

La caseína  $\alpha_{s2}$ , es la más hidrófila de las caseínas porque es la más fosforilada (10 a 13 residuos fosfoseril/mol) y la más rica en residuos catiónicos. Esta estructura sugiere que las interacciones electrostáticas son muy importantes y dependen del pH, resultando así, una gran sensibilidad a los iones  $\text{Ca}^{++}$ .

La caseína  $\beta$  es la más hidrófoba de las caseínas, las partes fuertemente cargadas están separadas por un trozo muy largo hidrófobo. La molécula presenta un carácter anfipolar muy marcado, debido a que una tercera parte de la molécula es muy polar y las otras dos terceras partes muy hidrófobas. El alto contenido en residuos prolil, regularmente repartidos, presupone una estructura poco ordenada.

La caseína  $\kappa$ , que no contenga más de un residuo fosforilado, fija sólo algunos iones  $\text{Ca}^{++}$  y su solubilidad no resulta afectada por su presencia. Al igual que la caseína  $\beta$ , posee un carácter anfifílico.

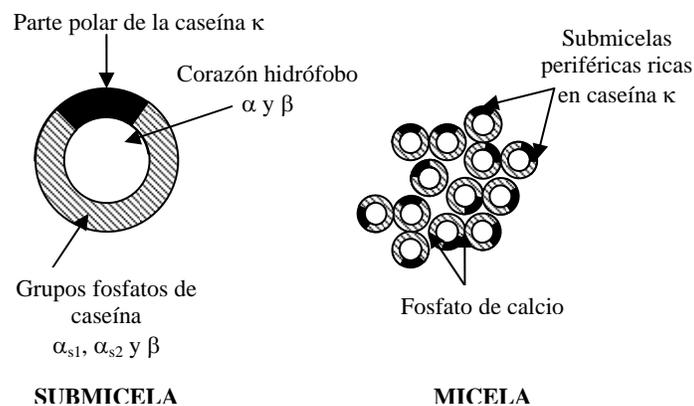
En la leche, las caseínas reaccionan entre sí y con los iones o sales para formar complejos micelares, cuyo diámetro puede variar de 20 a 300 nm, en función de diversos factores como especie, raza, estado de lactancia (*Cheftel y col., 1989*).

Las micelas naturales contienen un 8% principalmente de calcio y fósforo y los diferentes constituyentes proteicos: caseína  $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  y  $\kappa$  en proporciones variables (3:1:3:1, respectivamente). Las micelas están formadas de submicelas esféricas de 15 a 20 nm de diámetro, cuya disposición les da el aspecto de una frambuesa. Cada submicela es el resultado de interacciones hidrófobas entre los constituyentes; se presenta desprovista de minerales, salvo en la superficie, donde los iones  $\text{Ca}^{++}$  se fijan sobre los residuos fosfoseril. Las submicelas se asocian entre sí gracias al fosfato de calcio y de magnesio coloidal (Figura 1.1). Cada submicela contiene sobre una decena de constituyentes caseínicos con lo que se alcanza una masa molar media de 250000 Daltons (Cheftel y col., 1989).

Se considera que la caseína  $\kappa$  está localizada principalmente en la superficie de las micelas. Las caseína  $\alpha$  y  $\beta$  están situadas en el centro de la micela en asociación con el fosfato de calcio coloidal; sin embargo, la superficie de la micela es extremadamente permeable ya que mínimas modificaciones del medio que le rodea permiten el intercambio de minerales o de proteínas entre el centro de la micela y ese medio.

### 1.2.3 Propiedades

Las caseínas tienen un nivel de asociación muy elevado, superior al de las proteínas globulares. Esta propiedad está ligada a la desigual repartición de cargas y las cadenas laterales apolares a lo largo de las cadenas peptídicas.



**Figura 1.1** Modelo de la micela y submicela de la caseína (Cheftel y col., 1989)

Las caseínas principales ( $\alpha_{s1}$  y  $\beta$ -caseína) no contienen cisteína, consecuencia de ello es la falta de formar vínculos inter o intramoleculares, su efectividad para conferir gran estabilidad en emulsiones aceite-agua se puede atribuir a la fuerte tendencia de estas dos caseínas mayoritarias presentes, para ser adsorbidas en la superficie hidrofóbica grasa.

Sin embargo, ambas proteínas son considerablemente sensibles al calcio, debido a la presencia de residuos aniónicos de fosfoserina (*Antipova y col., 2002; Dickinson y col., 2001*), por lo que al fijarse los iones  $\text{Ca}^{++}$  se reduce la carga negativa y en consecuencia las repulsiones electrostáticas; la caseína  $\kappa$  reduce estas reacciones, porque a bajas concentraciones de calcio, se puede asociar a las caseínas  $\alpha_s$  y  $\beta$  formando micelas sintéticas análogas a las micelas naturales pero menos estables.

Las proteínas también tienen muy buenas propiedades emulsionantes por sus estructuras anfífilas. La funcionalidad de estos productos depende del tipo de alimento a producir, por lo que es precisa una cuidadosa consideración de los prerrequisitos del ingrediente a seleccionar.

En cuanto al pH, el caseinato de sodio presenta baja solubilidad cerca del punto isoeléctrico, no obstante se ha reportado que cerca de un pH 5.4, las fracciones mayoritarias del caseinato presentan una mejora en las propiedades funcionales (*Dickinson, 1999; Dickinson y col., 1998; Jahaniaval y col., 2000*). Por ejemplo, la capacidad emulsificante que parece estar relacionada a los cambios de la conformación de la proteína, en esta condición de pH, se exponen los dominios hidrofóbicos hacia la superficie de la proteína, mejorando esta propiedad.

#### **1.2.4 Usos y aplicaciones**

Las proteínas de la leche son generalmente usadas para la estabilización de emulsiones aplicándose en una gran variedad de alimentos, tal es el caso del caseinato de sodio debido a sus propiedades funcionales de emulsificación, éste es usado en helados, aderezos, mayonesas e incluso en productos de bajo pH como el yogurt y quesos análogos (*Carr y col., 2003, Sirnisivan y col., 2001*).

## 1.3 GOMA GELANA

### 1.3.1 Obtención

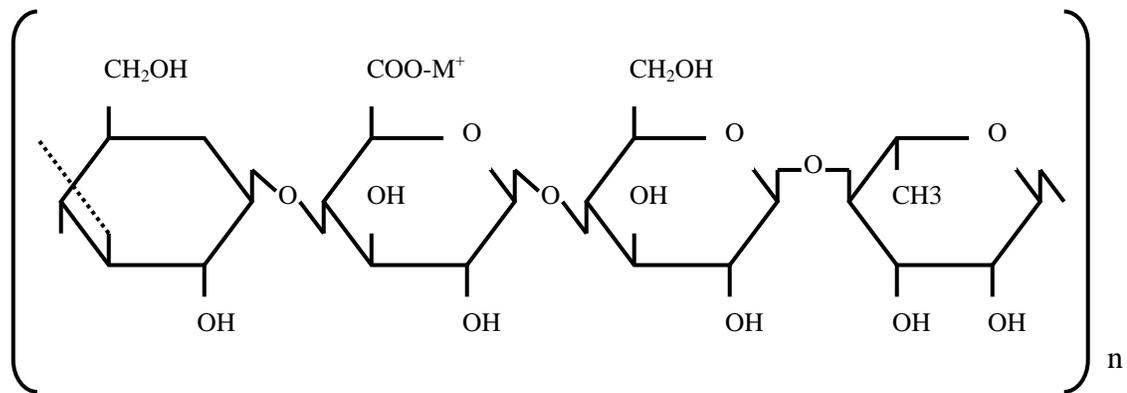
La goma gelana es un heteropolisacárido aniónico natural obtenido por fermentación microbiana del microorganismo *Pseudomonas elodea*, cuando crece sobre materiales azucarados. Es de alto peso molecular, estimado entre 0.5 a 1.0 x10<sup>6</sup> Daltons (*Baird y col., 1991*).

El microorganismo es inoculado en un medio de fermentación que contiene una fuente de carbono, de nitrógeno y sales minerales, una vez inoculado se coloca en tanques de fermentación manteniendo un control de aireación, temperatura y pH, una vez completado el proceso, el caldo obtenido se pasteuriza y se recupera el polisacárido en cualquiera de sus dos formas: nativa (completamente acilada) o desacilada (*Sanderson, 1990*).

La forma nativa se precipita directamente del caldo de fermentación por adición de isopropanol al 99%. La forma desacilada se obtiene al calentar la forma nativa a 90-95°C y después se enfría a 80°C. El pH se ajusta a 10 con hidróxido de sodio (NaOH) y se mantiene a estas condiciones de 10 a 15 minutos, posteriormente se neutraliza hasta pH 7 con ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Finalmente se precipita con isopropanol obteniéndose la gelana desacilada (*Sanderson, 1990*).

### 1.3.2 Estructura de la gelana

La estructura primaria es una secuencia lineal repetitiva de un tetrasacárido en el cual hay un grupo carboxílico presente por cada dos unidades de tetrasacárido, y los sustituyentes acilo en la gelana nativa según se muestra en la Figura 1.2 (*Sanderson, 1990*). La unidad repetitiva contiene una relación molar de 2:1:1 de D-glucosa, L-ranamosa y ácido D-glucurónico. En el estado sólido la gelana desacilada tiene un arreglo que involucra dos hélices izquierdas de tres espirales organizadas de manera paralela con doble entrelazamiento, con una repetición axial de 2.82 nm (*Moritaka y col., 1994, Sutherland, 1994*). La presentación de la goma gelana en la cual el sustituto acilo es removido se comercializa por Kelco como KELCOGEL, que es gelana grado alimenticio y está disponible en varios grados (bajo o alto acilo, tamaño de partícula estándar o fino) de acuerdo al tipo de alimento en el cual se aplica.



**Figura 1.2** Representación esquemática de la estructura de la goma gelana de bajo acilo  
(Sanderson y Ortega, 1994).

### 1.3.3 Propiedades

La gelana es parcialmente soluble en agua fría (25 °C) y completamente soluble en agua desionizada a temperatura ambiente, se hidrata por calentamiento de la dispersión acuosa a una temperatura mínima de 70 °C. En agua potable, la temperatura de hidratación depende de la concentración y del tipo de iones presentes en solución, de tal forma que los iones de calcio suelen inhibir más la hidratación que los de sodio.

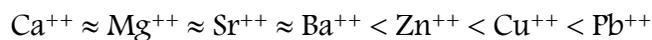
Una vez hidratada la gelana, el siguiente paso es la formación de la red tridimensional. El gel de la gelana desacilada se obtiene generalmente por el enfriamiento de la solución caliente y con la presencia de ciertos cationes, los cuales afectan sus propiedades físicas. En agua desionizada y a concentraciones normalmente menores a 0.5% la gelana no gelifica, aún después de sufrir un calentamiento y un enfriamiento. El mismo efecto se presenta cuando se utiliza agua potable. La goma gelana se considerada como un buen agente gelificante. La gelificación es el fenómeno que involucra la asociación o entrecruzamiento de las cadenas de polisacáridos para formar una red tridimensional continua, la cual atrapa e inmoviliza el agua dentro de ésta para formar una estructura firme y rígida que es resistente al flujo bajo presión.

El mecanismo exacto de como la gelana estabiliza suspensiones aún no se conoce, sin embargo, se cree que la formación del gel ocurre debido a la asociación inducida por iones, de las dobles hélices que la molécula presenta en el estado sólido (Nishinari y col., 2000).

Los cationes monovalentes que más influyen en la fuerza del gel son (*Papageorgiou y col., 1994*):



Dentro de los cationes divalentes destacan los siguientes:



Los cationes más empleados en la elaboración de geles de gelana desacilada son:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  (*Sanderson y Ortega, 1994*). Éstos, según su concentración alteran las propiedades del gel.

En presencia de  $\text{CaCl}_2$  se establece un enlace intramolecular entre el ion  $\text{Ca}^{++}$  y los átomos de oxígeno del grupo carboxil de los residuos D-Glucosil de la molécula de gelana. Los enlaces intermoleculares de los iones calcio, así como los puentes de hidrógeno intra e intermoleculares y las fuerzas de van der Waals, propician la gelificación de las disoluciones de gelana.

#### 1.3.4 Usos y aplicaciones

La goma gelana comúnmente se utiliza en la industria alimentaria y biotecnológica porque forma geles transparentes, fuertes y resistentes, a diferencia de otros polisacáridos; proporciona altas viscosidades en solución acuosa.

La goma gelana se comercializa como un agente gelificante de amplio espectro. La gelana acilada nativa produce geles elásticos suaves, mientras que los productos desacilados forman geles duros y quebradizos. Puede ser usada para preparar geles en frío, en caliente, termoreversibles o termoirreversibles. Por otro lado, al incrementar la fuerza iónica también incrementa la turbidez del gel, pero la claridad puede ser afectada por la adición de sacarosa. También la gelana puede ser usada en combinación con otros hidrocoloides (*Sanderson y Ortega, 1994; Vendrusculo y col., 1994*).

## 1.4 EMULSIONES

Una emulsión es una mezcla de dos fases inmiscibles, una dispersa o discontinua, en forma de gotitas o cristales líquidos, y otra no dispersa o continua. Las emulsiones pueden ser clasificadas en dos tipos: emulsiones aceite en agua (o/w), en las cuales el aceite está disperso en forma de gotitas diminutas en agua, que es la fase continua, y emulsiones agua en aceite (w/o), donde es el agua la que se encuentra dispersa en el aceite (*Fennema, 2000; Wong, 1995*).

Las emulsiones son sistemas coloidales termodinámicamente inestables que tienden a alcanzar una situación de mínima energía libre, lo que conduce a la separación de las fases que lo componen (*Chiralt, y col., 1998*). En consecuencia, la producción de emulsiones estables requiere necesariamente de agentes emulsionantes que reduzcan la tensión interfacial entre ambas fases (*Badui, 1981*), los cuales, al estar constituidos por sustancias anfifílicas cuya estructura molecular contiene funciones hidrófilas e hidrófobas, pueden situarse en la interfase aceite-agua reduciendo así dicha tensión y mejorar la emulsificación (*Chiralt y col., 1998*).

Las variables más importantes que determinan las propiedades de una emulsión son las siguientes (*Fennema, 2000*):

1. TIPO. Es decir, aceite en agua (o/w) o agua en aceite (w/o). El tipo determina, entre otras cosas, con qué líquido puede diluirse una emulsión. Las emulsiones o/w son muy frecuentes; como ejemplo pueden citarse la leche y diversos productos lácteos, las salsas, los aderezos y las sopas. La mantequilla y la margarina son emulsiones w/o, pero contienen otros elementos estructurales.
2. DISTRIBUCIÓN DEL TAMAÑO DE LOS GLOBULOS. Repercute de un modo importante en la estabilidad física; generalmente los glóbulos más pequeños constituyen emulsiones más estables. La energía y la cantidad emulsificante necesaria para producir la emulsión depende del tamaño de partícula deseado. Un diámetro típico de los glóbulos dispersos es el de 1  $\mu\text{m}$ , pero puede oscilar entre 0.2 y varios micrómetros. La amplitud de la distribución de tamaño es igualmente importante, por la gran dependencia de la estabilidad con respecto al tamaño de partícula.
3. FRACCIÓN VOLUMEN DE LA FASE DISPERSA ( $\phi$ ). En la mayor parte de los alimentos,  $\phi$  oscila entre 0.01 y 0.4. En la mayonesa, puede ser de 0.8, que es un valor superior al máximo de 0.7 para el empaquetamiento de esferas rígidas; esto significa que los

glóbulos de aceite tienen que estar algo distorsionados.

4. COMPOSICIÓN Y GROSOR DE LA PELÍCULA SUPERFICIAL EN TORNO A LOS GLOBULOS DE ACEITE. Determinan la tensión interfacial y las fuerzas de interacción coloidales.
5. LA COMPOSICIÓN DE LA FASE CONTINUA. Determina la relación entre el disolvente y el surfactante y, por tanto, las interacciones coloidales. La viscosidad de la fase continua afecta considerablemente al “desnatado o cremado”.

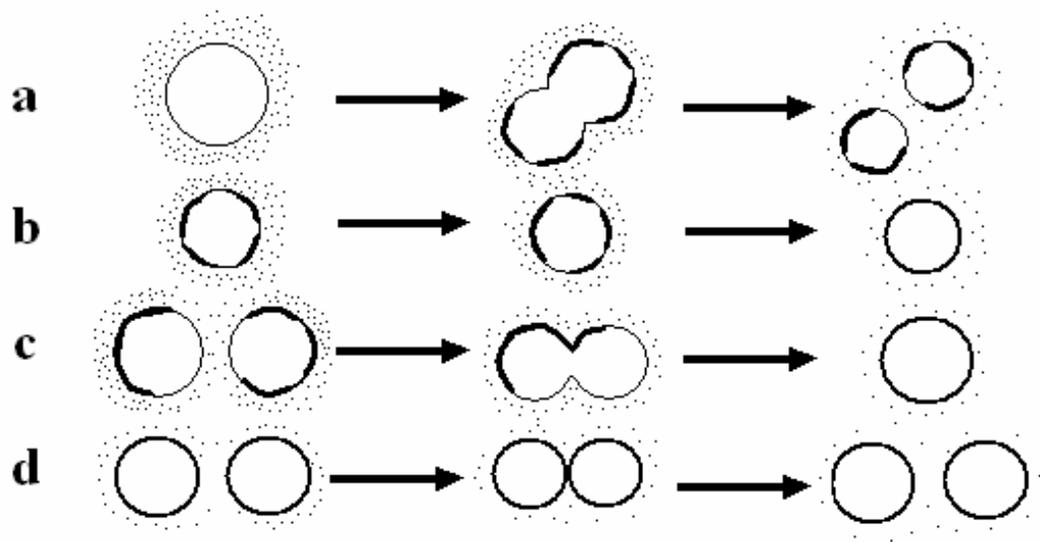
#### 1.4.1 Formación de la emulsión

Para obtener una emulsión se necesita aceite, agua, un emulsificante (es decir, un surfactante) y energía (generalmente energía mecánica). Fabricar los glóbulos de aceite es fácil; romperlas en otras pequeñas es difícil. Los glóbulos resisten la deformación y la ruptura porque a ello se opone la presión de Laplace, que es tanto mayor cuanto menor sea el diámetro del glóbulo de aceite. Se necesita por ello un considerable consumo de energía. La energía necesaria se puede producir si se reduce la tensión interfacial. Dicha tensión es una consecuencia del desequilibrio de fuerzas sobre las moléculas situadas en una superficie, en donde las moléculas tienden a moverse hacia el interior de la masa acuosa puesto que una molécula de agua en esta posición tiene una energía potencial menor que en la interfase. Esta fuerza impulsa a la molécula de agua situada en la superficie a moverse hacia el interior (*Wong, 1995*).

La energía necesaria para formar y romper los glóbulos de aceite se suministra generalmente mediante una agitación intensa. La agitación puede generar fuerza de cizalla suficientemente intensa si la fase continua es muy viscosa, como suele suceder al fabricar emulsiones w/o, lo que resulta en glóbulos con diámetros de hasta unos pocos micrómetros (que no es un diámetro muy pequeño). En una emulsión o/w, la viscosidad de la fase continua tiende a ser baja; para romper los glóbulos se requiere fuerza de inercia producida por las rápidas e intensas fluctuaciones de presión debidas al flujo turbulento. El instrumento de elección es un homogenizador de alta presión, que puede producir glóbulos de hasta 0.2  $\mu\text{m}$ . Cuando se utilizan agitadores de alta velocidad, agitaciones rápidas y prolongadas, o agitaciones en volúmenes reducidos, los glóbulos son menores; sin embargo, generalmente no se pueden obtener diámetros medios inferiores a 1 ó 2  $\mu\text{m}$ .

En la Figura 1.3 se muestran los procesos que tienen lugar durante la formación de una emulsión. Además de la ruptura de los glóbulos (Figura 1.3a), el emulsificante tiene que ser transportado a las nuevas interfases creadas (Figura 1.3b). El emulsificante no es

transportado por difusión sino por convección; el transporte es muy rápido. La intensa turbulencia (o el elevado gradiente de velocidad) determina frecuentes colisiones entre los glóbulos (Figura 1.3c y 1.3d). Si los glóbulos no están en ese momento suficientemente recubiertas por el surfactante, pueden coalescer de nuevo, (Figura 1.3c). Estos procesos tienen sus propias escalas de tiempo que dependen de diversas circunstancias, pero un microsegundo es característico. Esto quiere decir que todos los procesos ocurren numerosas veces, incluso durante un solo paso a través de una válvula homogenizadora, y que se alcanza más o menos un estado estacionario en el que la rotura y la coalescencia acaban equilibrándose.

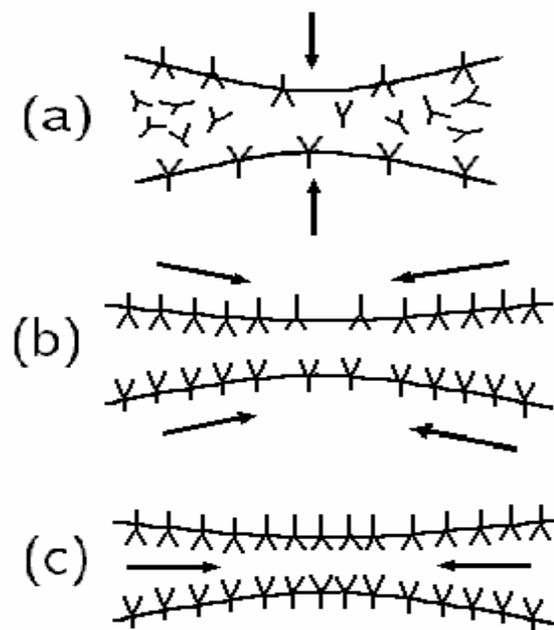


**FIGURA 1.3** Representación esquemática de los procesos importantes durante la formación de la emulsión. Los límites del glóbulo se indican con líneas delgadas y el emulsificante con trazos gruesos y puntos (*Fennema, 2000*).

En la Figura 1.4 se representa esquemáticamente la propuesta de Fennema (2000) al efecto Gibbs-Marangoni sobre dos glóbulos de una emulsión que se aproximan durante su fabricación. El papel del emulsificante no está aún suficientemente claro, pero es cierto que es crucial en este efecto. Si se desplazan dos glóbulos aproximándose (Figura 1.4a), lo que frecuentemente hacen a gran velocidad durante la emulsificación, y si no están suficientemente recubiertas por el emulsificante, durante su mutua aproximación se recubrirán de más emulsificante, pero la concentración de emulsificante será menor donde la película entre los glóbulos sea más fina. Esto producirá un gradiente de tensión interfacial; la tensión interfacial ( $\gamma$ ) mayor, se alcanzará donde la película sea más delgada (Figura 1.4b). El

gradiente creado hará que el emulsificante, y por tanto las superficies del glóbulo, se desplacen hacia las zonas en las que la tensión interfacial alcance el valor más alto, arrastrando líquido con él (Figura 1.4b). Este es el efecto Marangoni. La corriente del líquido así creada alejará los glóbulos (Figura 1.4c); aparece así un mecanismo de autoestabilización. La magnitud del efecto depende de la elasticidad de Gibbs de la película, que es dos veces el módulo de dilatación superficial. La elasticidad de Gibbs aumenta generalmente con la concentración molar del surfactante en la fase continua. Por lo tanto, decrece durante la emulsificación, porque aumenta el área interfacial y, por ende, la cantidad de surfactante adsorbido (*Fennema, 2000*).

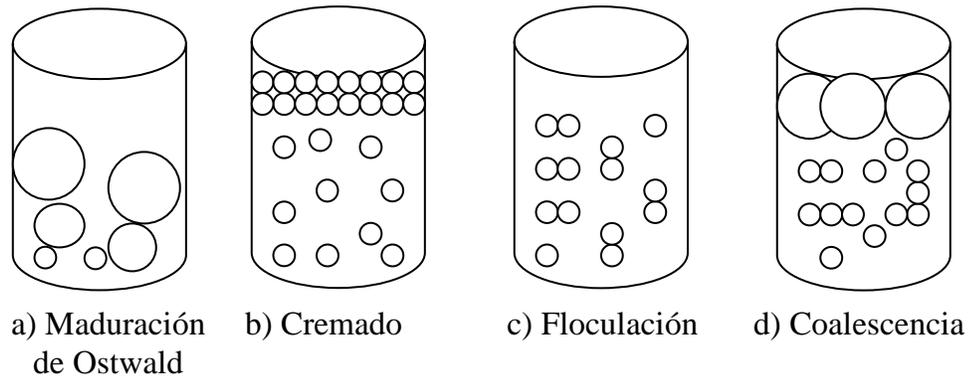
Para las emulsiones alimenticias o/w son de elección como emulsificante las proteínas, porque son comestibles, además de tensoactivas y porque proporcionan una gran resistencia a la coalescencia. Los glóbulos obtenidos no son muy pequeños para determinadas condiciones de trabajo. Sin embargo, se puede conseguir que los glóbulos sean de menor tamaño, aplicando una presión de homogenización más alta. No pueden usarse para emulsiones w/o por su insolubilidad en la fase oleosa.



**FIGURA 1.4** Representación esquemática del efecto Gibbs-Marangoni. Las moléculas del emulsificante vienen indicadas por el signo Y (*Fennema, 2000*).

### 1.4.2 Estabilidad

El término estabilidad de una emulsión generalmente se usa para describir la capacidad de una emulsión para resistir cambios en sus propiedades con el tiempo. Sin embargo hay varios mecanismos fisicoquímicos (Figura 1.5) los cuales pueden ser responsables de las alteraciones en las propiedades de la emulsión (*McClements, 1999*).



**Figura 1.5** Representación esquemática de los mecanismos de inestabilización de emulsiones aceite en agua (*Fennema, 2000*).

La maduración de Oswald (Figura 1.5a) es el proceso que ocurre por un transporte de masa de la fase dispersa en el que los glóbulos de aceite más grandes crecen por la atracción de los glóbulos de aceite más pequeños, transportados a través de la fase continua, no se suele producir en las emulsiones aceite/agua, porque las grasas constituidas por triglicéridos, que son las habitualmente usadas, son insolubles en agua. Las emulsiones agua/aceite pueden sufrir este tipo de inestabilidad (*McClements, 1999*).

El cremado (Figura 1.5b) describe un movimiento de los glóbulos de aceite hacia la pared superior del sistema debido a que tienen una menor densidad que la del líquido de la fase continua. En las etapas de cremado hay simplemente un gradiente de concentración vertical de glóbulos de aceite. La cinética de cremado puede ser monitoreada por los cambios en el espesor de la capa de crema o por las capas de suero como un estimado por observación visual o determinando ultrasónicamente la fracción volumen de aceite. Algunos de los factores que afectan el comportamiento del cremado son la distribución del tamaño del glóbulo, el comportamiento reológico de la fase continua y el estado de floculación de los glóbulos. En emulsiones alimenticias estos factores están influenciados por interacciones de proteínas adsorbidas, por moléculas surfactantes y los polisacáridos.

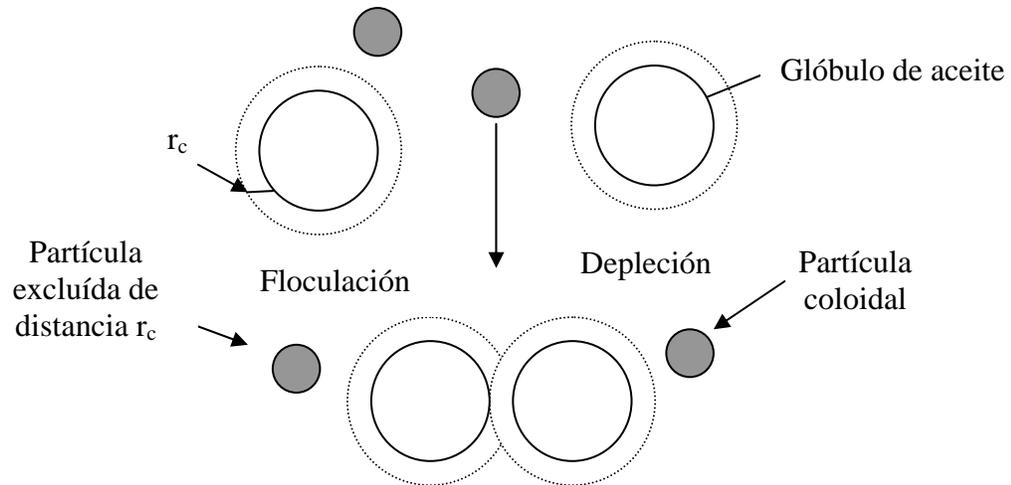
La floculación (Figura 1.5c) ocurre cuando dos o más glóbulos llegan a juntarse en forma de agregados en los cuales éstos retienen su integridad individual. Este mecanismo facilita considerablemente el cremado y, si ocurre, el cremado incrementa la velocidad de agregación y así sucesivamente.

La floculación toma lugar cuando la energía libre entre la interacción de un par de glóbulos rodeados de proteína no permite la separación entre ellos. Algunos de los factores por los que puede ocurrir este mecanismo son (*Dickinson, 1994*):

- *La disminución de la carga neta de la proteína.* Esto produce una reducción en la densidad de carga superficial asociada con la capa adsorbida y por lo tanto una posible pérdida de estabilización. Generalmente esta desestabilización ocurre cuando el pH es cercano al punto isoeléctrico de la proteína o en presencia de iones (por ejemplo  $\text{Ca}^{++}$ ).
- *La disminución de la calidad del solvente del medio acuoso.* En un solvente pobre las moléculas de proteína tienden a formar agregados en solución por lo que las moléculas no se extienden en el medio acuoso y la estabilización entrópica por “repulsión estérica” se convierte en una desestabilización entálpica por “atracción estérica”.
- *Emulsificación con proteína.* Cuando el emulsificante es insuficiente durante la emulsificación se forma nuevamente la interfase, debido a que las moléculas de proteína adsorbida o agregados (micelas de caseína) están situadas entre el par de glóbulos. Este es un tipo de floculación por puenteo.
- *Adsorción competitiva durante la emulsificación.* En una emulsión hecha por mezcla de emulsificantes de diferente actividad superficial la adsorción competitiva provoca floculación por puenteo. Este fenómeno puede ocurrir en sistemas que contienen proteína-proteína, proteína-polisacárido y proteína-agua con surfactante.
- *Adición de polisacárido.* La floculación es inducida por bajos niveles de polisacáridos iónicos o neutros. El tipo y grado de floculación depende de la naturaleza, fuerza e interacción polisacárido-proteína en la superficie de los glóbulos de la emulsión.

Mientras la atracción de partículas produce floculación por puenteo (“bridging flocculation”), la repulsión provoca floculación por depleción (“depletion flocculation”). En esta última, la presencia de partículas coloidales causa una interacción atractiva entre los glóbulos los cuales generalmente promueven la inestabilidad de la emulsión (Figura 1.6). El origen de

estas interacciones es la eliminación de partículas coloidales de regiones limitadas rodeando cada glóbulo. Esta región se extiende a una distancia aproximadamente igual al radio ( $r_c$ ) de una partícula coloidal fuera de la superficie del glóbulo.



**Figura 1.6** Interacción por depleción que surge entre los glóbulos de la emulsión cuando están rodeados por pequeñas partículas coloidales no adsorbidas (*McClements, 1999*).

La presencia de polisacáridos de alto peso molecular puede tener efectos positivos o negativos sobre el cremado dependiendo de la concentración de biopolímero, de la naturaleza e interacción con la proteína y de las condiciones del medio de dispersión. Cuando la interacción no es atractiva el cremado aumenta a bajas concentraciones de polímero provocando la floculación por depleción, pero esto se inhibe aumentando la concentración pues se produce espesamiento y/o gelificación (*Dickinson, 1994*).

La coalescencia (Figura 1.5d) ocurre con la colisión entre partículas. Este proceso es irreversible. La probabilidad del incremento de la coalescencia es alta con el choque entre partícula en emulsiones altamente concentradas. Se induce por la ruptura de la película fina (laminilla) que separa los glóbulos próximos. Si en la película se forma un pequeño orificio, los glóbulos se unirán. La coalescencia es menos probable cuando los glóbulos son más pequeños, cuanto más gruesa sea la película que los separa o cuanto mayor es la tensión interfacial. Estos principios sugieren que las proteínas son muy idóneas para evitar la coalescencia, pues aunque no rebajan mucho el valor de la tensión interfacial, con frecuencia generan repulsiones considerables, tanto eléctricas como estéricas (*Fennema, 2000*).

## 1.5 REOLOGÍA

### 1.5.1 Generalidades sobre reología

Las propiedades reológicas de los alimentos resultan fundamentales tanto en el diseño de operaciones de tratamiento de alimentos como en medidas de control de calidad de los mismos, además contribuye al entendimiento de su estructura microscópica. El término reología fue inventado por el profesor Bingham Lafayette y significa “el estudio de la deformación y el comportamiento de flujo de la materia; es la ciencia que estudia la relación entre el esfuerzo ( $\sigma$ ) y la deformación ( $\gamma$ ) a través de relaciones matemáticas constitutivas reológicas de estado”. La utilización de la reología en el análisis y caracterización del comportamiento de productos alimenticios cuando se les aplica una fuerza o esfuerzo es relativamente reciente; para alimentos líquidos se inicia en 1960 y los primeros estudios sobre reología de sólidos son posteriores a 1970 (*Méndez y col., 2001*).

La deformación es un concepto difícil de explicar como un fenómeno físico y además determinar sus características genéricas y particulares, es consecuencia de un esfuerzo aplicado, por lo que es necesario considerar que para una masa, la deformación de un cuerpo sólo puede lograrse a través de la aplicación de una fuerza por unidad de área. Es pertinente mencionar que si bien el flujo es una forma de deformación, también es el término más comúnmente utilizado para referirse al movimiento de fluidos, mientras que la deformación es generalmente utilizada para referirse al de sólidos. En el caso de fluidos, la deformación es muy rápida, por lo que se prefiere utilizar el término de velocidad de deformación ( $d\gamma/dt$ ).

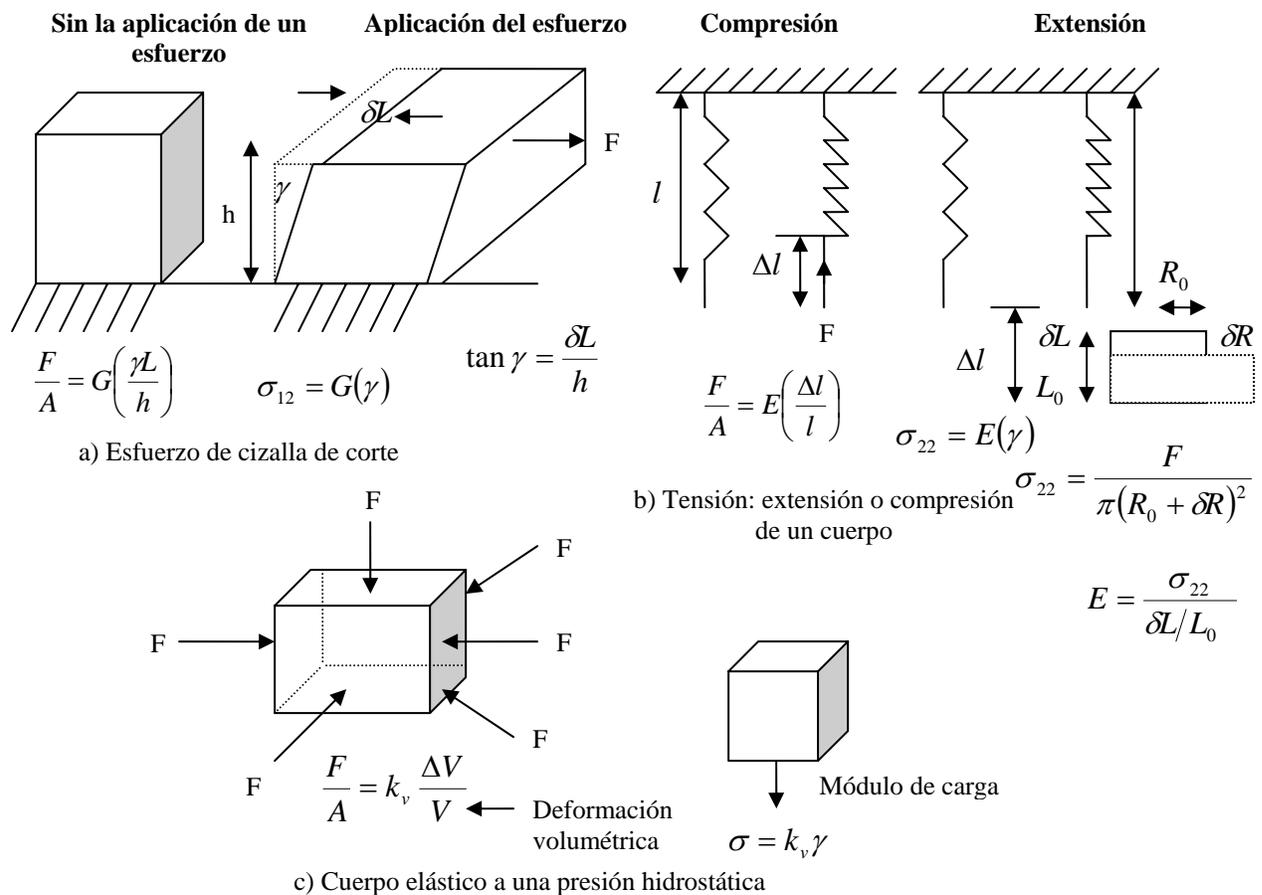
En la Figura 1.7 se ejemplifica el término de esfuerzo. Si se considera una superficie sobre la que se aplica una fuerza. Se denomina esfuerzo al cociente entre la fuerza aplicada y el área de dicha superficie. Tanto la fuerza como el esfuerzo son magnitudes vectoriales, siendo necesario especificar su magnitud, dirección y sentido. Lógicamente, la dirección y el sentido de ambas magnitudes son coincidentes. El esfuerzo se puede desglosar en dos componentes, una perpendicular a la superficie que se denomina esfuerzo normal ( $\sigma_{11}, \sigma_{22}, \sigma_{33}$ ) y otra comprendida en el plano que pasa por esa superficie y que recibe el nombre de esfuerzo tangencial, de cizalla o de corte ( $\sigma_{21}, \sigma_{12}$ ).

Al aplicar un esfuerzo a un material, que puede ser de tres tipos: a) cizalla, b) tensión (compresión y extensión) y c) volumétrico; el material se deformará continuamente o fluirá (Figura 1.7), dependiendo de la magnitud del esfuerzo.

Ciertos cuerpos para deformaciones pequeñas, bajo esfuerzos, presentan elasticidad ideal y el esfuerzo aplicado es directamente proporcional a la deformación relativa provocada.

$$\sigma = C\gamma \quad (1.1)$$

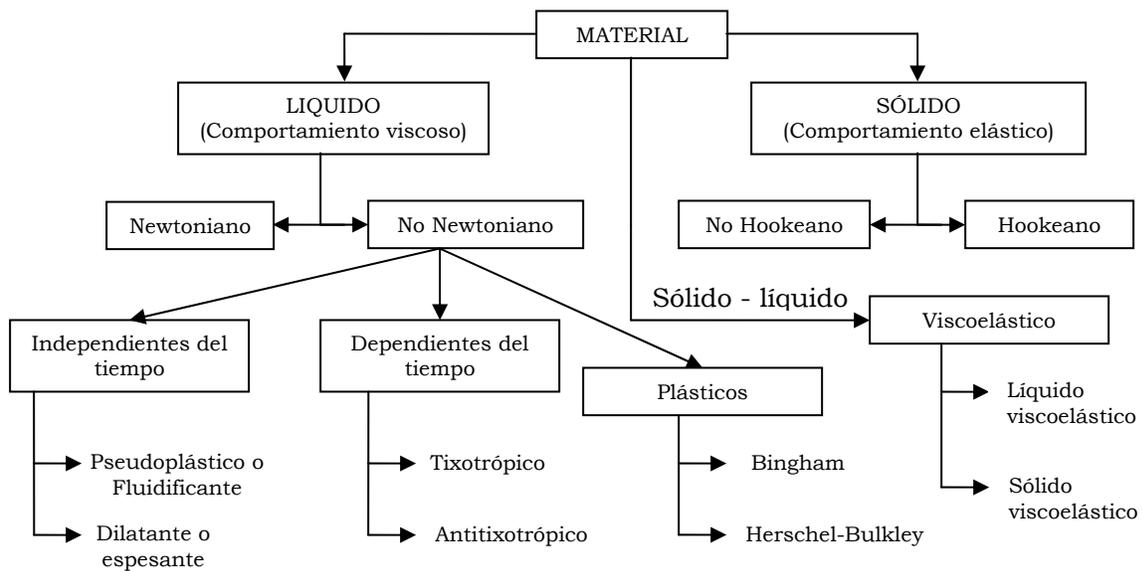
A la constante de proporcionalidad (C) se le llama módulo de elasticidad y presenta diferentes formas en función de la deformación aplicada, como el módulo de Young (E), el cual describe la distorsión de un cuerpo bajo simple tensión o compresión. El módulo de corte y rigidez (G), que describe la deformación de un cuerpo bajo esfuerzo de corte, y el módulo de carga ( $K_v$ ) que es una medida relativa del desplazamiento volumétrico que no tiene dimensiones y es determinada por gradientes de desplazamiento.



**Figura 1.7** Material sometido a diferentes esfuerzos (Martínez-Padilla, 2001).

Por ello, la deformación de un material puede ser clasificada en dos tipos generales (Figura 1.8): deformación espontánea reversible o comportamiento elástico correspondiente a los materiales sólidos y deformación irreversible o comportamiento viscoso, a los materiales líquidos, a partir de los cuales se pueden derivar los siguientes:

**Comportamiento elástico:** La aplicación de fuerzas externas provoca una deformación y un cambio de volumen en la materia, realizándose un trabajo, y se acumula como energía interna de deformación. Estas transformaciones son reversibles, puesto que cuando las fuerzas externas dejan de actuar, el sistema recupera instantáneamente la forma y dimensiones originales, mientras que la energía acumulada se retorna en forma de trabajo.



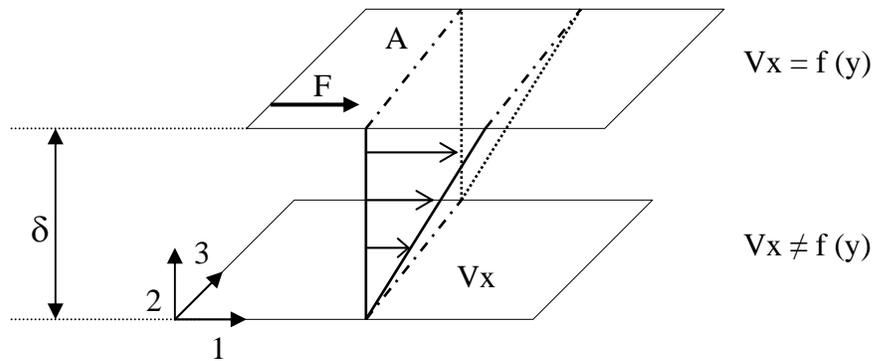
**Figura 1.8** Clasificación del comportamiento reológico de los materiales (Rao y Steffe, 1992; Rao, 1999)

Un cuerpo sólido ideal que tiene elasticidad es referido como sólido de Hooke o hookeano; cuando no la presenta se dice que es no hookeano, es decir, es un cuerpo elástico no ideal. Los cuerpos elásticos no ideales son aquellos que frente a la aplicación de un esfuerzo (que puede ser de cualquiera de los tres tipos definidos anteriormente) presentan una deformación no instantánea, que no desaparece instantáneamente con la eliminación

del mismo. Se clasifican en sólidos elásticos completamente recuperables y sólidos elásticos incompletamente recuperables o viscoelásticos.

**Comportamiento viscoso:** En este caso también se deforma la materia bajo la acción de las fuerzas aplicadas, pero el trabajo realizado se disipa completamente en forma de calor. Por ello, cuando la acción de dichas fuerzas cesa, el estado de deformación permanece.

Se explica a continuación el sistema representado en la Figura 1.9, el cual está constituido por un fluido situado entre dos placas paralelas. La placa inferior permanece estacionaria, mientras que la superior se desplaza en la dirección x con una velocidad constante (v) debido a la aplicación de una fuerza de corte (F). El rozamiento entre el fluido y dicha superficie provoca un desplazamiento del mismo en la dirección x, generándose un perfil de velocidad en el seno del mismo: la capa longitudinal de fluido en contacto con la placa inferior (y=0) no se desplaza, mientras que la lámina de fluido en las proximidades de la placa superior (y=δ) se mueve con velocidad v. En el espacio comprendido entre ambas placas, la velocidad de cada elemento de fluido (velocidad local) tendrá un valor intermedio entre 0 y v. Si el espacio entre las placas (δ) es suficientemente pequeño, el perfil de velocidad se puede considerar lineal.



**Figura 1.9** Perfil de velocidad a través de una capa de fluido situado entre dos placas paralelas: inferior estática, superior en movimiento (Aguado y col., 1999).

El esfuerzo tangencial o esfuerzo de corte o cizalla se puede calcular como:

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (1.2)$$

La velocidad de deformación bajo corte ( $\dot{\gamma}$ ) corresponde al gradiente de velocidad o variación de la velocidad local del fluido con la coordenada espacial. Considerando que el esfuerzo aplicado es tangencial o de corte, a esta velocidad de deformación bajo corte, se le denomina generalmente velocidad de corte o cizalla.

Dado que el esfuerzo de corte aplicado provoca la formación del gradiente de velocidad, ambas variables han de estar relacionadas:

$$\sigma = \phi \frac{dV_x}{dy} \quad (1.3)$$

Expresión que representa la ecuación reológica del fluido. Según cual sea la función matemática  $\phi$  se dará un tipo u otro de comportamiento reológico. El gradiente de velocidad con respecto al espesor es representado por  $\dot{\gamma}$ , lo que permite expresar la ecuación reológica independientemente de la geometría del sistema de flujo considerado como:

$$\sigma = \phi(\dot{\gamma}) \quad (1.4)$$

Para fluidos en los que la relación entre el esfuerzo de corte y el gradiente de velocidad de corte es directamente proporcional, se aplica la ley de Newton de la viscosidad:

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \quad (1.5)$$

Cuando un fluido no sigue el comportamiento descrito por la ecuación de la ley de Newton de la viscosidad, se trata de un fluido que presenta un comportamiento no newtoniano.

### 1.5.2 Comportamiento reológico de disoluciones de caseinato de sodio

El comportamiento de las disoluciones de caseinato de sodio en medio acuoso dependen básicamente de la concentración de proteína y de las condiciones del medio, así como del catión adicionado, de acuerdo con Fichtali y van de Voort, (1993) a concentraciones de 1% y 2% de caseinato de sodio se obtienen fluidos newtonianos con viscosidades bajas (1 a 2 mPa.s); además se ha estudiado el efecto que tiene en presencia de cloruro de calcio encontrado resultados similares (Lozano-Esquivel y Ponce de León-Ramírez, 2006; Sosa-Herrera y col., 2007). Sobre esto se ha reportado que a concentraciones de proteína mayores a 4% se pueden modificar sus características reológicas de comportamiento newtoniano a no newtoniano, debido al aumento en la concentración (*Carr y col., 2002*).

### 1.5.3 Comportamiento reológico de disoluciones de gelana

El comportamiento reológico de la goma gelana depende de la concentración, de la temperatura y de la presencia de sales en el medio. Jampen y col. (2000), reportaron que a 45°C y a una concentración de 1.5% de gelana un comportamiento newtoniano y con 2% de gelana, un comportamiento de la potencia. Además, en estudios realizados por Martínez-Padilla y col. (2004), se observó que con la adición de 5mM de cloruro de calcio, un incremento de manera importante en la viscosidad de las soluciones de gelana a una concentración de 0.03 y 0.05% presentando comportamiento no newtoniano y viscoelástico, con poca dependencia de los módulos  $G'$  y  $G''$  con la frecuencia.

### 1.5.4 Comportamiento reológico de emulsiones

Desde el punto de vista reológico, una emulsión se define como una dispersión de partículas deformables en una fase continua (*Barnes, 2004*). Las propiedades reológicas pueden dar información sobre la estructura de la emulsión, el estado de agregación de los glóbulos de aceite, además de relacionar su comportamiento con la estabilidad (*Dickinson, 1998*).

El comportamiento reológico de las emulsiones puede variar desde un líquido hasta un semisólido, presentando propiedades plásticas o viscoelásticas el cual depende del tipo y concentración de ingredientes, del proceso y sus condiciones.

En el caso de emulsiones fluidas, la viscosidad incrementa en función de la fracción volumen de aceite y es directamente proporcional a la viscosidad de la fase continua. Cuando la fracción volumen sobrepasa un punto crítico, los glóbulos forman una estructura empacada que provoca que el sistema no fluya fácilmente dándole propiedades más cercanas a un sólido (gel) (*McClements, 1999*).

En estudios realizados por Dickinson (1998), se muestra que emulsiones a concentraciones de aceite menores a 40% tienen un comportamiento newtoniano y a concentraciones mayores a 40% son fluidificantes a la cizalla.

En emulsiones que presentan floculación se reporta un marcado adelgazamiento a la cizalla con altas viscosidades aparentes a bajas velocidades, al igual que cuando se utilizan polisacáridos, como la goma xantana; a diferencia de otros hidrocoloides como la goma guar o carboximetilcelulosa, las cuales presentan comportamiento no newtoniano pero con bajas

viscosidades aparentes. Esto se debe a la interacción que ocurre entre las cadenas de xantana que pueden llegar a formar una red tridimensional (gel).

De acuerdo con Barnes (2004) las emulsiones se pueden clasificar en dos tipos: emulsiones diluidas o fluidas donde el módulo  $G'' > G'$  a bajas frecuencias, pero al aumentar la frecuencia se puede dar un cambio en dichos módulos y emulsiones concentradas donde  $G' > G''$  en todo el intervalo de frecuencias.

# CAPÍTULO II

2.1 Materiales

2.2 Métodos

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

---

### 2.1 MATERIALES

Los hidrocoloides empleados fueron caseinato de sodio (Lactonat EN, lote No. 31023, Lactoprot, Alemania), producto obtenido de leche pasteurizada con  $5.63\% \pm 0.09\%$  de humedad; gelana de bajo acilo y de tamaño de partícula fino (Kelcogel F, lote No. 2A0021A, Kelco, San Diego, USA), con  $10.2\% \pm 0.25\%$  humedad; aceite comestible puro de girasol (Capri); cloruro de calcio grado analítico (Merck); agua desionizada y amortiguador acetato para control de pH. Se utilizó 0.03% de azida de sodio como conservador. Se estudiaron 3 niveles de fracción volumen de aceite (20%, 40% y 60% p/p), 2 niveles de concentración de proteína (1% y 2% p/p), gelana (0.05% p/p) y 2 medios de disolución (agua desionizada y amortiguador acetato pH 5.4), con y sin la adición de 5 mM de  $\text{CaCl}_2$ .

### 2.2 MÉTODOS

#### 2.2.1 Preparación de amortiguador acetato pH 5.4

Se preparó un reactivo A a partir de una solución al 0.2 M de ácido acético (11.5 mL en 1000 mL) y un reactivo B de una solución de acetato de sodio (27.2g  $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en 1000 mL).

Para preparar la solución amortiguadora (acetato pH 5.4) se realiza mezclando 8.8 mL del reactivo A más 4.2 mL del reactivo B diluido en un total de 100 mL.

#### 2.2.2 Preparación de la fase continua de caseinato de sodio

Se dispersó el caseinato de sodio al 1% y 2% p/p adicionando la muestra en polvo en pequeñas cantidades (para evitar la formación de grumos) en disolución amortiguadora y/o con agua desionizada como medio de disolución. En los sistemas con  $\text{CaCl}_2$  (5 mM), éste se disolvió antes de adicionar la proteína a temperatura ambiente y con agitación continua empleando un agitador magnético. Una vez hecha la dispersión se midió pH, con un potenciómetro portátil (Waterproof, pH TESTR3, Double junction, OAKTON Instruments).

### **2.2.3 Preparación de disoluciones de gelana**

Se adicionó gelana (0.05% p/p) al medio dispersante (agua desmineralizada o amortiguador acetato) a temperatura ambiente y posteriormente se calentó hasta alcanzar 90 °C con parrilla y agitación magnética; se mantuvo por 10 minutos. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y al alcanzar la temperatura de 70 °C se agregó el CaCl<sub>2</sub> (5 mM) previamente disuelto en agua de la misma solución. Se dejó enfriar a 25 °C y se monitoreó el pH.

### **2.2.4 Preparación de la fase continua con mezcla de caseinato de sodio-gelana**

Se prepararon disoluciones de caseinato de sodio al 2% y 4%, y gelana al 0.1% por separado, para posteriormente mezclar partes iguales de las mismas a 25 °C con agitación constante, para obtener una concentración final de 1% ó 2% de caseinato y 0.05% de gelana. El CaCl<sub>2</sub> (5 mM) se adicionó en la disolución de proteína.

### **2.2.5 Preparación de la emulsión**

Se agregó el aceite (20%, 40% y 60% p/p) a las disoluciones de caseinato de sodio, gelana y a sus mezclas a una velocidad de goteo de 2 mL/minuto, utilizando una bureta y agitando la muestra con una propela manteniendo una agitación constante aproximada de 495 rpm (medida con un fototacómetro Fisher Scientific). Una vez adicionado el aceite se utilizó un agitador de alta velocidad (Silverson L4R) a una velocidad aproximada de 5900 rpm (medición con fototacómetro), durante 15 minutos a 25 °C, para formar la emulsión, nuevamente se monitoreó el pH. Para mantener constante la temperatura a 25 °C y evitar el calentamiento de la muestra durante la homogenización, se adaptó un baño maría monitoreando la temperatura cada minuto con un sensor de temperatura (Paytec minitemp, Oaklon, instruments, USA). Las emulsiones se caracterizaron de inmediato porque se observaba separación de fases.

### **2.2.6 Pruebas de cizalla estacionaria**

Se realizaron pruebas a 25 °C en un reómetro de control de esfuerzos (Haake, modelo RT 20) empleando la geometría de placa rugosa, PP35 (radio= 17.5 mm, separación= 0.5 mm),

para muestras semisólidas (60% de aceite y 40% sólo en mezclas) y cono y placa, C35/4° (radio= 17.5 mm) para muestras líquidas (20% y 40% de aceite), además de un reómetro de control de esfuerzos (Physica, LS100) empleando geometría de doble espacio anular, DG 1 (relación de radios 1.041) y cilindros concéntricos, CC24 (diámetro CUP / BOB 26.03 / 24 mm), para muestras de baja consistencia.

Las condiciones de prueba fueron:

Dos ciclos de ascenso y descenso con un intervalo de velocidad de corte de  $0.037 \text{ s}^{-1}$  a  $600 \text{ s}^{-1}$ , en un tiempo de 120 ó 180 s por ciclo, dependiendo de la muestra, con la finalidad de alcanzar condiciones estacionarias.

Para la obtención del modelo reológico se grafica el esfuerzo en función de velocidad de corte, si la relación es lineal estamos hablando de un fluido tipo newtoniano, si la relación no es lineal entonces se procede a hacer el siguiente tratamiento matemático para el fluido de la potencia: del gráfico  $\text{Log } \sigma \text{ vs } \text{Log } \dot{\gamma}$ , se aplica una regresión lineal, donde  $k = \text{Antilog de la ordenada al origen (Pa.s}^n)$  y  $n = \text{pendiente de la curva (m)}$  para obtener la ecuación:

$$\sigma = K\dot{\gamma}^n$$

La obtención del modelo reológico se realizó por medio de una regresión con los promedios de las tres repeticiones, reportando el resultado del modelo que presentó  $r^2 \geq 0.99$ .

Las gráficas de viscosidad aparente en función de la velocidad de corte y las de parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular, presentan barras de error correspondientes a la variación entre las tres repeticiones.

Se reportan los valores de viscosidad e índice de consistencia promedio, así como el coeficiente de variación correspondiente a cada emulsión.

### **2.2.7 Pruebas de cizalla oscilatoria**

Se realizaron pruebas de pequeña amplitud a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  en un reómetro de control de esfuerzos (Physica, LS100) empleando geometría de doble espacio anular, DG 1 (relación de radios 1.041), para las muestras líquidas y un reómetro (Physica, MC100) empleando geometría MP31/P (placa rugosa/placa separación = 0.5 mm, radio = 26 mm) o MK24/25 (cono y placa separación = 0.05 mm, radio del cono 37.5 mm, ángulo  $1^\circ$ , truncación del cono de 50

$\mu\text{m}$ ), para muestras semisólidas, para este último caso se adaptó una “capa de arenilla” en la placa inferior para evitar deslizamiento por exceso de aceite.

Las pruebas oscilatorias se llevaron a cabo de la siguiente forma:

Se inicio por definir la zona de viscoelasticidad lineal mediante un barrido de esfuerzos. Las condiciones de prueba se determinaron de acuerdo a las características de la emulsión obtenida, obteniendo el un intervalo de torque ( $M$ ) de 0.001-10 mNm en distribución logarítmica a frecuencia constante de 1 Hz.

Para realizar el barrido de frecuencias se tomó un valor de torque (mNm) de acuerdo a la gráfica obtenida en la prueba anterior, el cual permanecerá constante durante la prueba, y fue aquel valor donde se observó la zona de viscoelasticidad lineal. El intervalo de frecuencias utilizado fue de 0.01 a 30 Hz.

### **2.2.8 Micrografías**

Se observó la homogeneidad de las muestras en un microscopio óptico OLYMPUS CX31, el cual cuenta con 4 objetivos: 4x (Plan C 4x/0.10), 10x (Ach 10x/0.25 Ph1,  $\infty/-$ ), 40x (Ach 40x/0.65 Ph2,  $\infty/0.17$ ) y 100x (Ach 100x/1.25 Oil Ph3,  $\infty/-$ ); de los cuales solo se obtuvo la representación esquemática con el objetivo 10x para su análisis visual. Cabe mencionar que el microscopio cuenta con una cámara digital EVOLUTION LC (Pixelinc) que permite digitalizar las imágenes por medio del software (Image-Pro Discovery versión 4.5) instalado en la computadora.

# CAPÍTULO III

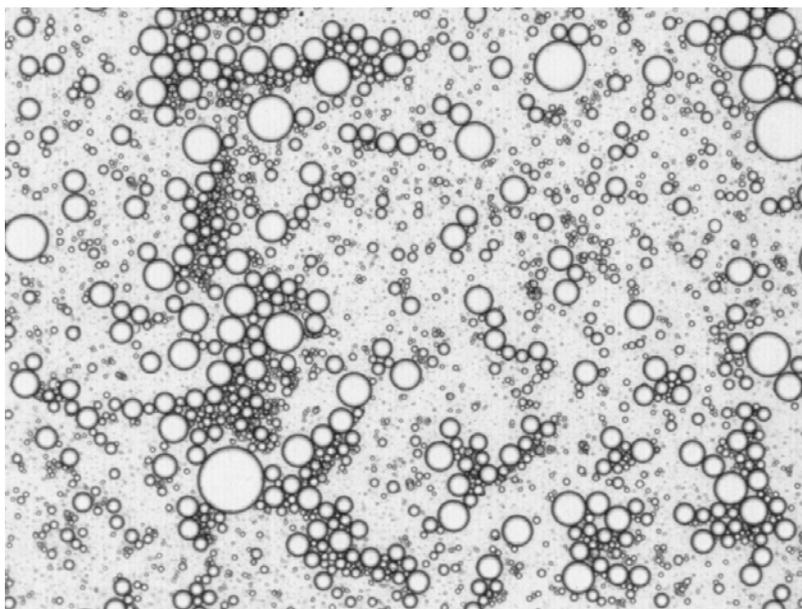
- 3.1 Pruebas bajo cizalla estacionaria de emulsiones elaboradas con caseinato de sodio.
- 3.2 Emulsiones elaboradas con gelana
- 3.3 Pruebas bajo cizalla estacionaria de emulsiones elaboradas con mezcla de caseinato de sodio-gelana.
- 3.4 Pruebas bajo cizalla oscilatoria de emulsiones elaboradas con caseinato de sodio.
- 3.5 Pruebas bajo cizalla oscilatoria de emulsiones elaboradas con mezcla de caseinato de sodio-gelana.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

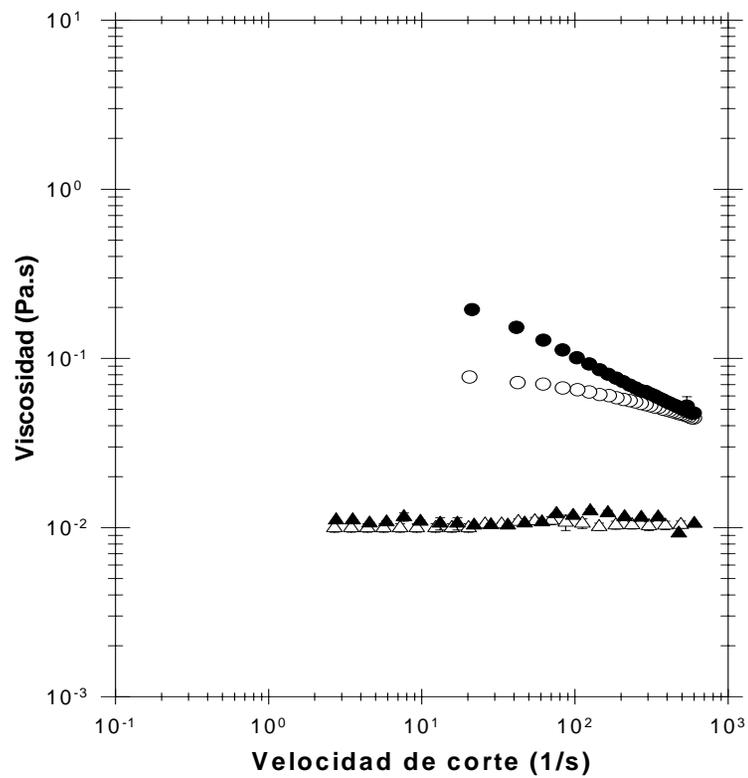
#### 3.1 PRUEBAS BAJO CIZALLA ESTACIONARIA DE EMULSIONES ELABORADAS CON CASEINATO DE SODIO

La caracterización reológica de emulsiones elaboradas con 1% y 2% p/p de caseinato de sodio y 20% p/p de aceite bajo cualquiera de las condiciones en estudio, no fue posible realizarlas, ya que los sistemas fueron altamente inestables, como se ve en la Figura 3.1, donde se observa una amplia distribución de tamaños de los glóbulos de aceite, lo que pone en evidencia la inestabilidad del sistema y lo que provocó el fenómeno de cremado, debido al bajo contenido de aceite, a la baja consistencia de la fase acuosa y a las fuerzas hidrodinámicas predominantes.

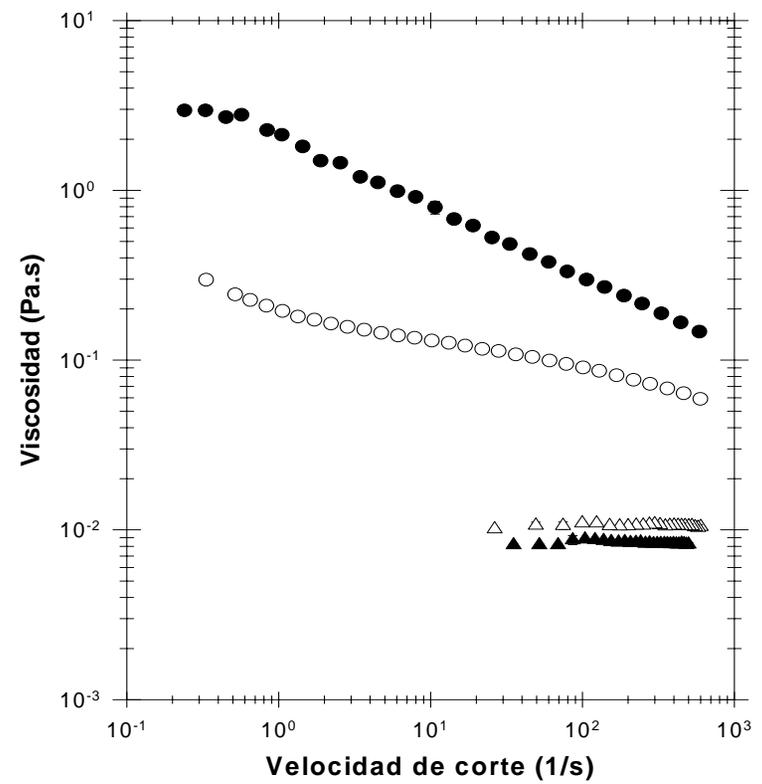


**Figura 3.1.** Micrografía de la emulsión con 20% de aceite puro de girasol, 1% de caseinato de sodio en agua desionizada

Por otra parte en la Figura 3.2 se muestra el comportamiento al flujo que tienen las emulsiones con caseinato de sodio al 1% y 2%, elaboradas con agua desionizada (pH 6.5 -7.0) y amortiguador sin la presencia de iones con 40% y 60% de aceite.



(a)



(b)

**Figura 3.2** Viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de emulsiones con 40% ( $\Delta$ -en agua,  $\blacktriangle$ -en amortiguador) y 60% ( $\circ$ -en agua,  $\bullet$ -en amortiguador) de aceite de girasol, (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio.

En la Figura 3.2a se observa el comportamiento al flujo para las emulsiones con 40% de aceite y 1% de caseinato de sodio en las que se tienen fluidos con comportamiento newtoniano y bajas viscosidades (Cuadro 3.1) para ambos medios de dispersión, pero con un ligero aumento para las elaboradas con amortiguador en comparación con las elaboradas con agua; lo que se debe probablemente a la presencia de iones sodio (80 mM) en el amortiguador, que inducen la asociación de submicelas de caseína. Además, las proteínas son particularmente sensibles a cambios de pH y cuanto más cercanos al punto isoeléctrico (pI caseinato = 4.6) modifican las membranas interfaciales provocando que las fuerzas de repulsión no sean lo suficientemente grandes para vencer las fuerzas de atracción (McClements, 2004), causando la unión de glóbulos de aceite y dando origen a la floculación del sistema. Este fenómeno se puede observar mejor cuando a los sistemas se les adiciona CaCl<sub>2</sub>.

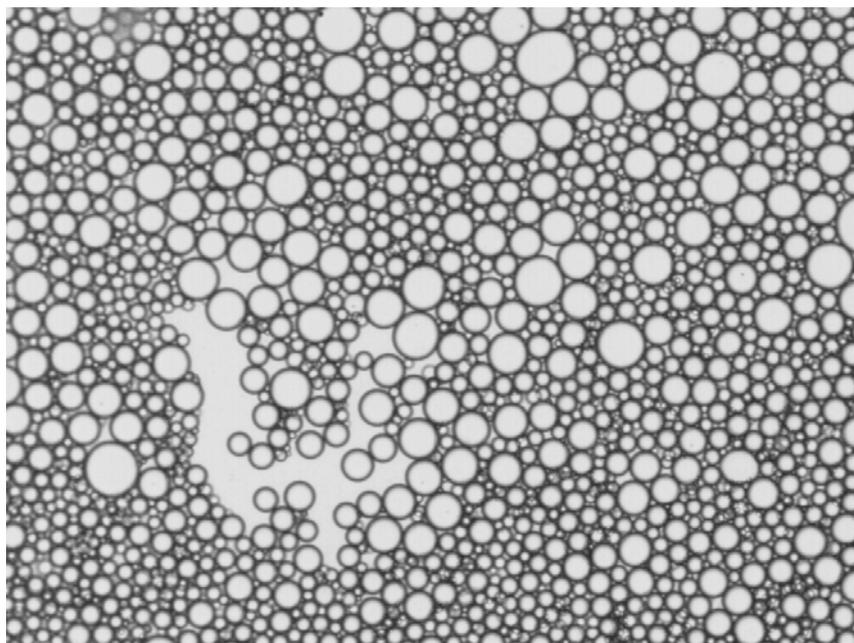
**Cuadro 3.1** Modelo reológico de emulsiones de caseinato de sodio.

	CASEINATO DE SODIO	MODELO REOLOGICO	$\eta$ (Pa.s)	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	r <sup>2</sup>	
40% ACEITE	1%	Newtoniano	0.0095 (6.8)			0.998	
	AGUA	2%	Newtoniano	0.0104 (2.4)		0.999	
	AMORTIGUADOR	1%	Newtoniano	0.0107 (4.6)			0.994
		2%	Newtoniano	0.0083 (2.4)			0.999
60% ACEITE	1%	Potencia		0.149 (1.9)	0.8 (0.8)	0.998	
	AGUA	2%	Potencia	0.232 (1.0)	0.79 (0.7)	0.997	
	AMORTIGUADOR	1%	Potencia		0.827 (8.1)	0.54 (1.8)	0.999
		2%	Potencia		2.719 (6.4)	0.49 (6.1)	0.992

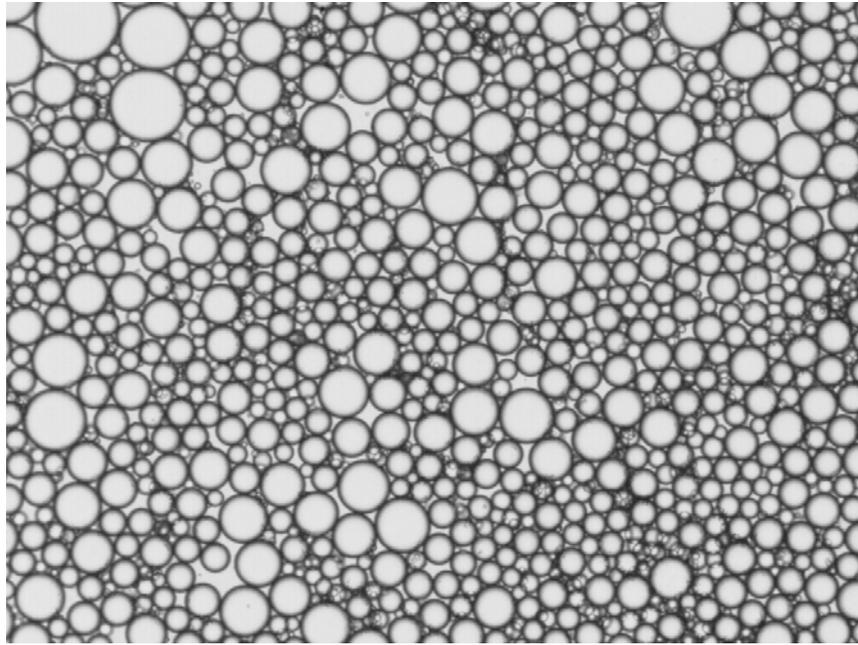
El número dentro del paréntesis, es el coeficiente de variación (%). El coeficiente de correlación es el obtenido para la curva promedio de las tres repeticiones.

El mismo comportamiento se da en las emulsiones con 2% de caseinato de sodio (Figura 3.2b), pero con un ligero aumento en la viscosidad para el caso de la elaborada con agua, en comparación con la de 1%, debido a que el aumento de proteína hace que la fase continua sea más viscosa; por otra parte se observa que la combinación de proteína-medio de dispersión, es un factor importante en la viscosidad del sistema ya que en la emulsión al 2% en agua y a 1% en amortiguador tienen aproximadamente el mismo valor (0.0104 y 0.0107 Pa.s respectivamente), y a 2% en amortiguador disminuye a 0.0083 Pa.s, esto se debe a que a medida que la proteína se aleja de su punto isoeléctrico, ésta se vuelve más soluble a mayor concentración (Jahaniaval y col., 2000). Sin embargo la diferencia entre las viscosidades de las cuatro emulsiones es mínima, como lo ha establecido Dickinson y Golding (1997), donde consideran que para emulsiones con una fracción volumen de aceite menor a 0.5 muestran un comportamiento newtoniano con baja viscosidad.

Tanto la emulsión con 1% (Figura 3.3) y 2% (Figura 3.4) de caseinato en agua desionizada, muestran que los glóbulos de aceite son heterogéneos y la distribución de éstos en la emulsión es uniforme.



**Figura 3.3** Micrografía de la emulsión con 40% de aceite puro de girasol, 1% caseinato de sodio en agua desionizada.



**Figura 3.4** Micrografía de la emulsión con 40% de aceite, 2% de caseinato de sodio en agua desionizada.

Para emulsiones con 60% de aceite el comportamiento al flujo que presentan es definido por la ley de la potencia adelgazante a la cizalla (Figura 3.2a y 3.2b), con mayor consistencia en presencia de amortiguador, además, es evidente la influencia de la concentración de aceite sobre el comportamiento reológico, ya que pasan de fluidos newtonianos a no newtonianos al aumentar de 40% a 60% de aceite. Resultados similares reportan Dickinson y Golding (1997), donde presentan que a fracciones volumen de aceite entre 0.5-0.7 tienen un comportamiento no newtoniano.

Por otra parte, después de aproximadamente 24 horas de reposo se observa una capa de aceite en la superficie de la emulsión, es decir, hay un exceso de aceite para la cantidad de proteína presente ya que básicamente la relación proteína/aceite es causada por la cantidad de proteína adsorbida en la interfase aceite/agua (Dickinson y col, 2001; Dickinson y Golding, 1997), lo que provoca la interacción atractiva de los glóbulos de aceite de la emulsión dando paso a la coalescencia (van Aken y col., 2003).

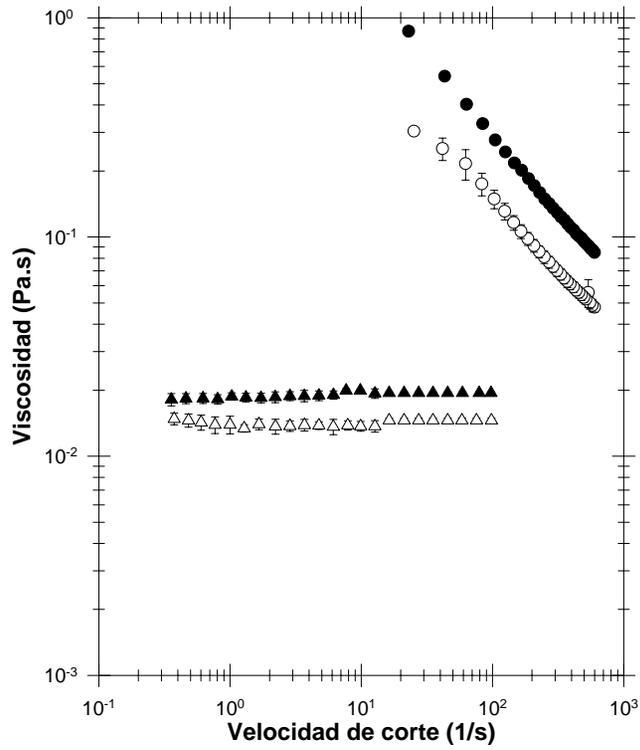
Cuando se adiciona cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), el comportamiento newtoniano para las emulsiones con 40% de aceite, 1% y 2% de caseinato, en ambos medios de dispersión no se modifica (Figura 3.5), con respecto a las emulsiones que no se les adicionó, teniendo fluidos newtonianos con un ligero aumento en la viscosidad

(Cuadro 3.2). Esto se debe a que las alteraciones en las propiedades reológicas de la emulsión, se ven influenciadas por la fase continua (*McClements, 1999*), y como se ha mencionado, el comportamiento reológico de dispersiones de caseinato no se modifica a concentraciones menores a 4%, aun con la adición de iones (*Carr y col., 2002*); además, el medio de dispersión no influyó en emulsiones con 1% de caseinato de sodio con calcio reportando el mismo valor de viscosidad.

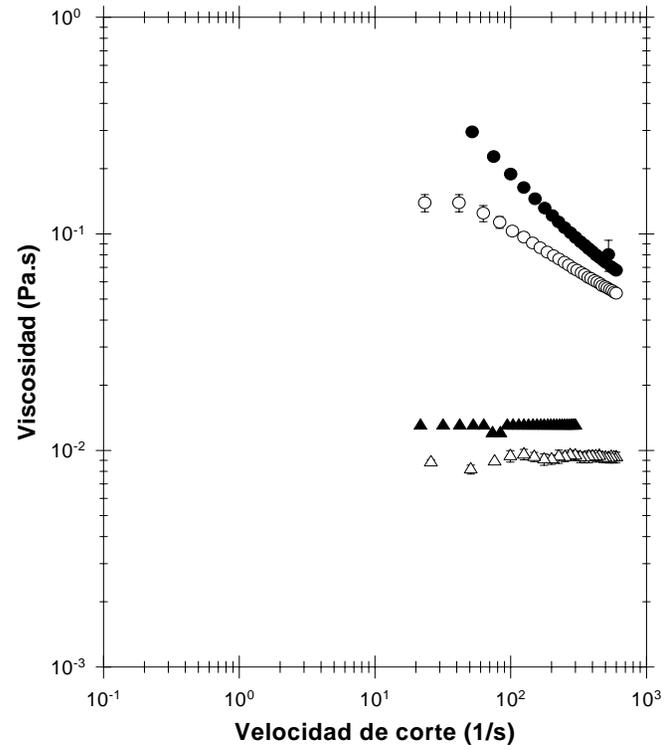
Para las emulsiones con 60% de aceite y 1% de caseinato se observa una marcada diferencia con respecto a las que no se adicionó cloruro de calcio, pues sus índices de consistencia,  $k$ , aumentan de forma considerable de 0.091 a 2.43 Pa.s<sup>n</sup> en agua sin y con la adición de 5 mM CaCl<sub>2</sub> y de 0.82 a 7.82 Pa.s<sup>n</sup> en amortiguador acetato sin y con la adición de 5 mM CaCl<sub>2</sub>. Respecto a esto se han realizado varios estudios (*Casanova y Cardona, 2004; Radford y col, 2004; Dickinson y Davis, 1999*), donde se ha demostrado la influencia de los iones calcio sobre el caseinato en emulsiones, reportando que los iones de calcio promueven la asociación de submicelas de caseína, ya que se unen a los residuos fosfoserinos de la  $\alpha_{s1}$  y  $\beta$  de la caseína en el interior de la proteína, formando agregados que al combinarlos con una alta concentración de aceite da como resultado un sistema altamente adelgazante a al cizalla (Figura 3.5a).

Es importante destacar la disminución del índice de consistencia de las emulsiones con 60% de aceite en amortiguador con 1 y 2% de caseinato con iones calcio (Cuadro 3.2), esto se debe probablemente a que se forme una capa más gruesa de caseinato de sodio alrededor de los glóbulos de aceite debido a la interacción entre micelas por los iones calcio formando una estructura menos compacta que al aplicar un cizallamiento presenta un comportamiento menos adelgazante (Figura 3.5b).

En la Figura 3.6 se observa que los glóbulos de aceite siguen siendo heterogéneos, pero están más juntos, lo que puede deberse a la presencia de los iones Ca<sup>++</sup>.



(a)



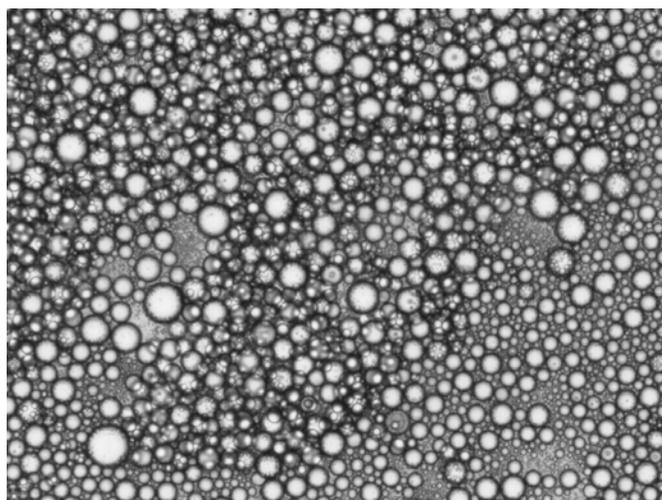
(b)

**Figura 3.5** Viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de emulsiones con 40% ( $\Delta$ -en agua,  $\blacktriangle$ -en amortiguador) y 60% ( $\circ$ -en agua,  $\bullet$ -en amortiguador) de aceite de girasol y 5 mM de  $\text{CaCl}_2$ , (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio.

**Cuadro 3.2** Modelo reológico de emulsiones de caseinato de sodio con 5 mM CaCl<sub>2</sub>.

	CASEINATO DE SODIO	MODELO REOLOGICO	$\eta$ (Pa.s)	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	r <sup>2</sup>	
40% ACEITE	1%	Newtoniano	0.015 (4.3)			0.999	
	AGUA	2%	Newtoniano	0.009 (5.0)		0.999	
	AMORTIGUADOR	1%	Newtoniano	0.015 (5.4)			0.991
		2%	Newtoniano	0.013 (0.5)			0.999
60% ACEITE	1%	Potencia		2.43 (10.1)	0.37 (3.1)	0.997	
	AGUA	2%	Potencia	0.25 (9.8)	0.84 (3.2)	0.985	
	AMORTIGUADOR	1%	Potencia		7.82 (9.6)	0.28 (5.0)	0.996
		2%	Potencia		2.9 (7.2)	0.4 (3.7)	0.991

El número dentro del paréntesis, es el coeficiente de variación (%).El coeficiente de correlación es el obtenido para la curva promedio de las tres repeticiones.



**Figura 3.6** Micrografía de la emulsión con 40% de aceite, 1% de caseinato de sodio, amortiguador acetato y 5 mM de CaCl<sub>2</sub>.

### 3.2 EMULSIONES ELABORADAS CON GELANA

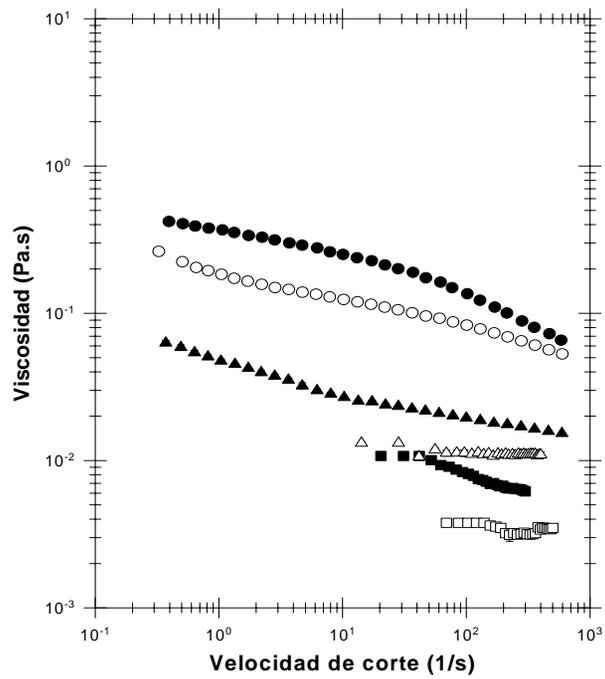
Al realizar la homogenización de los sistemas con 20%, 40% y 60% de aceite, en donde la fase acuosa está compuesta por gelana sin caseinato, con y sin la presencia de cloruro de calcio, en amortiguador acetato o en agua desionizada, se presentó una separación instantánea de las fases al término de la misma (Figura 3.7), es decir no se formó emulsión. De acuerdo con los estudios realizados por Huang y col. (2001), la gelana, al ser un polímero hidrofílico, no presenta superficie activa, por lo que no fue posible caracterizar estos sistemas, puesto que la gelana por sí sola no forma emulsiones aceite en agua.



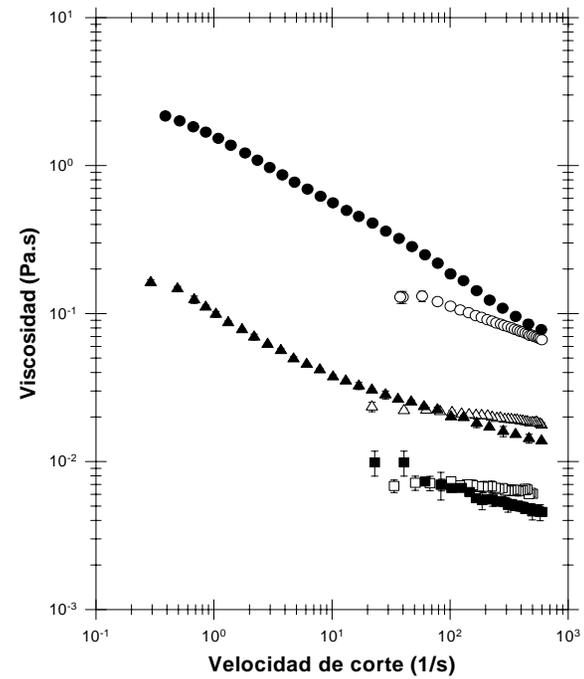
**Figura 3.7** Emulsiones elaboradas a partir de gelana 0.05%, aceite puro de girasol (40% p/p), amortiguador acetato pH 5.4, con (izquierda) y sin (derecha) la adición de  $\text{CaCl}_2$  (5 mM).

### 3.3 PRUEBAS BAJO CIZALLA ESTACIONARIA DE EMULSIONES ELABORADAS CON MEZCLA DE CASEINATO DE SODIO – GELANA

En la Figura 3.8 se muestra la viscosidad aparente en función de la velocidad de corte correspondientes a las mezclas de 0.05% de gelana con 1% y 2% de caseinato, en agua y en amortiguador sin la adición de cloruro de calcio, a las tres concentraciones de aceite empleadas donde se puede observar el efecto que tiene la adición de la goma gelana sobre el comportamiento reológico con respecto a las emulsiones elaboradas con caseinato de sodio solo.



(a)



(b)

**Figura 3.8** Viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de emulsiones con 20% ( $\square$ -en agua,  $\blacksquare$ -en amortiguador), 40% ( $\Delta$ -en agua,  $\blacktriangle$ -en amortiguador) y 60% ( $\circ$ -en agua,  $\bullet$ -en amortiguador) de aceite de girasol, (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio y 0.05% de gelana

En principio, la adición del polisacárido a las emulsiones con 20% de aceite permitió que se caracterizaran presentando un comportamiento newtoniano en agua y de la ley de la potencia en amortiguador (Cuadro 3.3), que se justifica debido a que bajo estas concentraciones de aceite las interacciones interpartícula de la proteína pueden ser despreciables (*Dickinson y Golding, 1997*), en comparación con las de caseinato solo, ya que la goma gelana está actuando como agente espesante en la fase continua de la mezcla

En la emulsión a 40% a ambas concentraciones de caseinato se observa un aumento de la viscosidad e índice de consistencia con respecto a las de 20%, dichos sistemas se describen por el modelo de la ley de la potencia excepto para la emulsión con 1% de proteína-gelana en agua, esto se puede atribuir al aumento de concentración de aceite y a la presencia de iones en el amortiguador (80 mM Na<sup>+</sup>), que promueven cambios en la conformación de gelana (*Milas y col., 1990*) que dan como resultado la transición de un estado desordenado de madejas aleatorias, cuando el disolvente es agua desionizada, a otro formado por dobles hélices, cuando el disolvente es amortiguador, lo que modifica las propiedades reológicas de la fase continua.

Cabe destacar que el incremento en los valores de viscosidad e índice de consistencia es atribuido a las propiedades gelificantes de la gelana en las emulsiones con amortiguador, observándose este efecto en la Figura 3.9, ya que cuando el medio es agua, se observa la formación de aglomerados de aceite en comparación cuando el medio es amortiguador, en la cual los glóbulos parecen estar más unidos, debido a que éstos están rodeados por la proteína y quedan inmersos en la red de gelana.

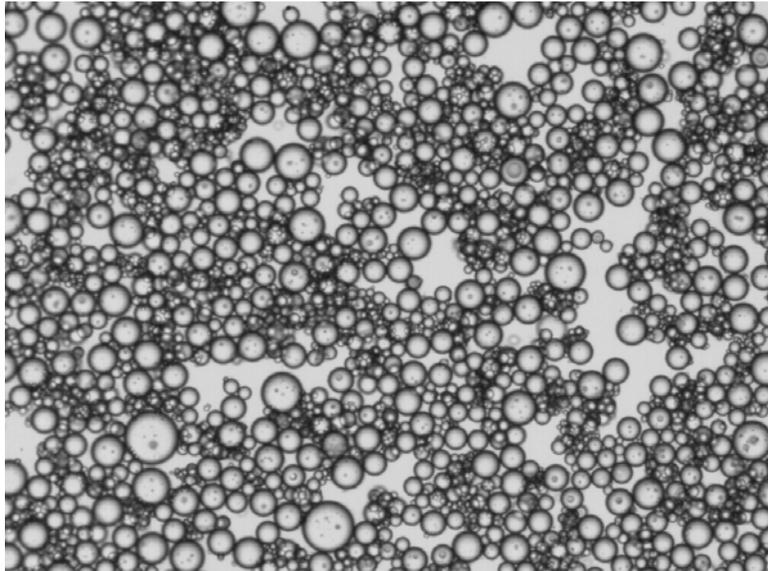
Por otra parte, el cambio en las tendencias en las curvas, con caseinato de sodio solo y mezclas (Figura 3.2 y 3.8) es atribuido probablemente a la destrucción de la estructura de la conformación de gelana al aumentar la velocidad de corte; además, la disminución en los valores de k, en las emulsiones con 60% de aceite en mezcla con gelana con relación a las emulsiones con caseinato solo en agua y en amortiguador, con y sin la adición de CaCl<sub>2</sub>, se debe a que los glóbulos de aceite se encuentran rodeados por menor cantidad de proteína, ya que parte del caseinato de sodio interacciona con gelana. La interacción pudiera ser a través de la formación de un complejo como el reportado en estudios realizados por Ye y col., (2006), entre caseinato de sodio y goma arábica, dichas interacciones están en función de las condiciones del sistema como pH y presencia de iones.

**Cuadro 3.3** Modelo reológico de emulsiones con mezcla de caseinato de sodio-gelana

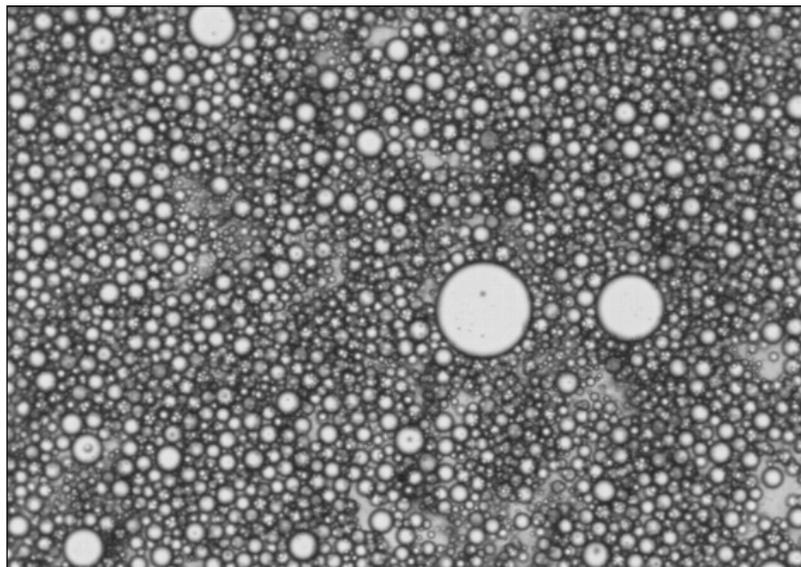
	CASEINATO DE SODIO	MODELO REOLOGICO	$\eta$ (Pa.s)	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	r <sup>2</sup>
	1%	Newtoniano	0.003 (4.5)			0.999
AGUA	2%	Newtoniano	0.006 (9.11)			0.998
<b>20% ACEITE</b>						
	1%	Potencia		0.02 (0.98)	0.77 (0.06)	0.999
AMORTIGUADOR	2%	Potencia		0.024 (10.8)	0.73 (5.4)	0.996
	1%	Newtoniano	0.011 (2.7)			0.999
AGUA	2%	Potencia		0.03 (1.7)	0.91 (0.6)	0.999
<b>40% ACEITE</b>						
	1%	Potencia		0.04 (2.1)	0.81 (0.5)	0.998
AMORTIGUADOR	2%	Potencia		0.10 (8.9)	0.66 (0.8)	0.994
	1%	Potencia		0.18 (8.4)	0.81 (1.8)	0.999
AGUA	2%	Potencia		0.23 (2.0)	0.81 (0.8)	0.995
<b>60% ACEITE</b>						
	1%	Potencia		0.34 (2.7)	0.77 (0.3)	0.995
AMORTIGUADOR	2%	Potencia		1.59 (6.5)	0.53 (1.7)	0.998

El número dentro del paréntesis, es el coeficiente de variación (%).El coeficiente de correlación es el obtenido para la curva promedio de las tres repeticiones.

Las emulsiones con 60% de aceite, presentan un marcado comportamiento no newtoniano que se atribuye a la concentración de aceite, ya que puede existir una estructura altamente empacada debida a los aglomerados de los glóbulos de aceite o bien interacciones atractivas intergota que promueven la coalescencia del sistema el cual se observó después de 24 horas de elaborada la emulsión.



(a)

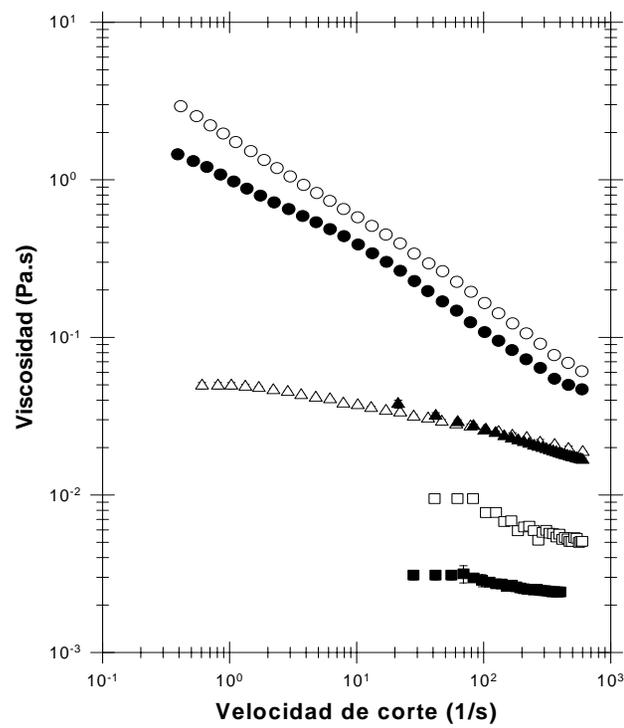


(b)

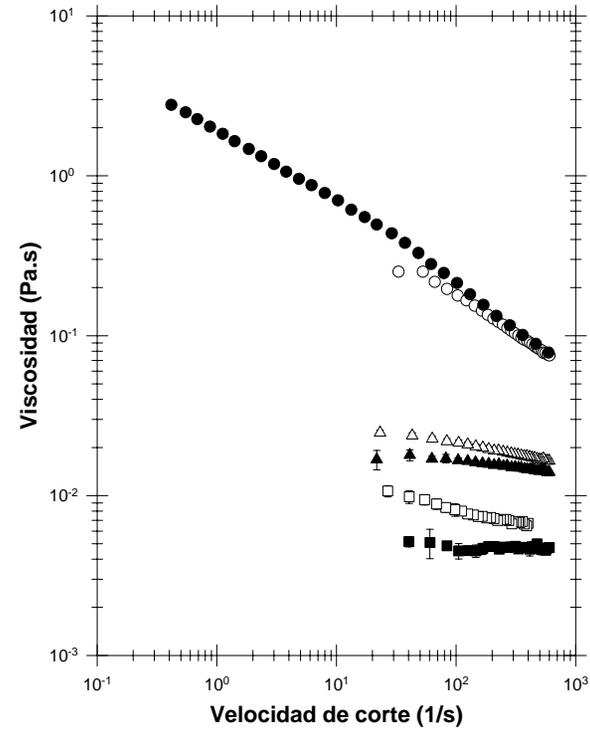
**Figura 3.9** Micrografía de las emulsiones con 40% de aceite, 1% de caseinato de sodio, 0.05% de gelana y (a) agua desionizada y (b) amortiguador acetato

En la Figura 3.10 se presenta el comportamiento de la viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de las emulsiones cuando se adiciona cloruro de calcio, no habiendo cambio en la tendencia con respecto a las que no tenían iones; sin embargo, como se observa en el Cuadro 3.4 las emulsiones elaboradas con amortiguador presentan valores de viscosidad y de índice de consistencia menores a las elaboradas con agua, tal disminución se debe probablemente a que los iones  $\text{Na}^+$  interfieren con los iones  $\text{Ca}^{++}$  en la formación del gel de gelana, pues cuando los iones  $\text{Ca}^{++}$  actúan solos (en agua desionizada) pueden interactuar tanto con el grupo carboxilo de la proteína como con el grupo carboxil de los residuos D-glucosil de la gelana formando un complejo que aumenta la consistencia del sistema (*Benichou y col., 2002*). Sin embargo, para la emulsión con 1% de caseinato-0.05% de gelana con 40% de aceite y la que tiene 2% de caseinato-0.05% de gelana con 60% de aceite presenta un aumento en los valores de k cuando se pasa de agua desionizada a amortiguador siendo mayores los valores para las de 60% de aceite.

Para el caso de las emulsiones con 60% de aceite, se aprecia el carácter dominante del gel de gelana a 1% de caseinato de sodio, a pesar de la alta concentración de aceite. A 2% de caseinato el efecto de iones sobre gelana es menos evidente, reflejando una fuerte competencia por los iones entre la gelana y el caseinato, como se observa en la Figura 3.11, donde se compara la acción del  $\text{Ca}^{++}$  en agua y cuando está en combinación con los iones del amortiguador, ya que como se puede observar en la Figura 3.11a los glóbulos de aceite están más compactos en comparación con los glóbulos de la Figura 3.11b.



(a)



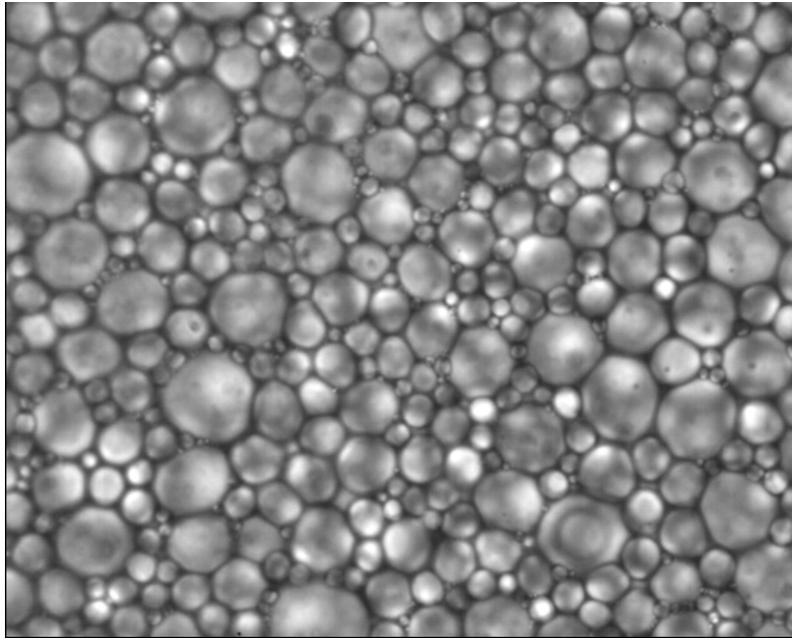
(b)

**Figura 3.10** Viscosidad aparente en función de la velocidad de corte de emulsiones con 20% ( $\square$ -en agua,  $\blacksquare$ -en amortiguador), 40% ( $\Delta$ -en agua,  $\blacktriangle$ -en amortiguador) y 60% ( $\circ$ -en agua,  $\bullet$ -en amortiguador) de aceite de girasol, (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, 0.05% de gelana y 5 mM  $\text{CaCl}_2$

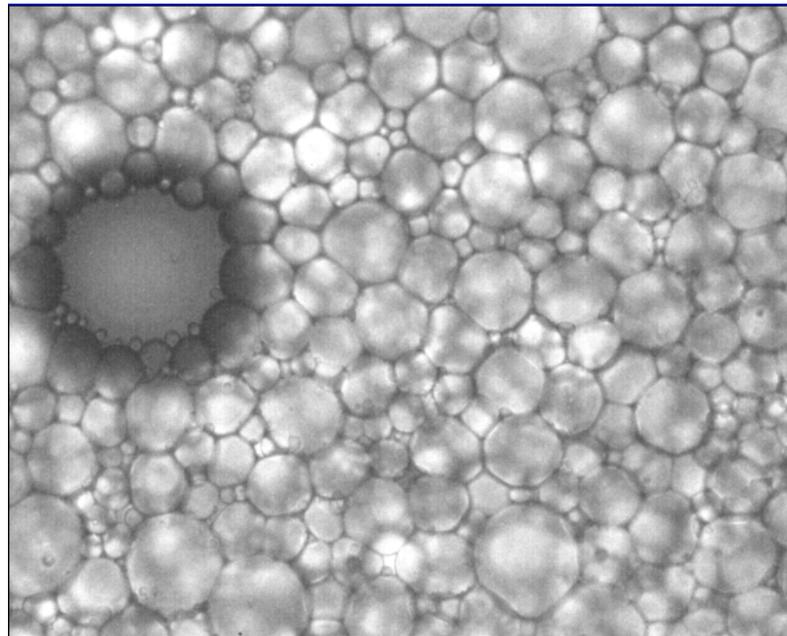
**Cuadro 3.4** Modelo reológico de emulsiones con mezcla de caseinato de sodio- gelana y CaCl<sub>2</sub>

	CASEINATO DE SODIO	MODELO REOLOGICO	$\eta$ (Pa.s)	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	r <sup>2</sup>
	1%	Potencia		0.012 (8.8)	0.85 (1.0)	0.997
	AGUA	2%	Potencia	0.020 (10.7)	0.8 (1.3)	0.998
<b>20% ACEITE</b>						0.999
	1%	Newtoniano	0.002 (3.0)			
	AMORTIGUADOR	2%	Newtoniano	0.005 (6.0)		0.997
	1%	Potencia		0.043 (0.95)	0.84 (0.8)	0.999
	AGUA	2%	Potencia	0.041 (6.4)	0.85 (0.6)	0.999
<b>40% ACEITE</b>						
	1%	Potencia		0.091 (9.6)	0.73 (3.8)	0.999
	AMORTIGUADOR	2%	Potencia	0.025 (9.7)	0.91 (1.7)	0.999
	1%	Potencia		1.90 (0.9)	0.46 (0.1)	0.998
	AGUA	2%	Potencia	0.79 (1.3)	0.64 (1.2)	0.999
<b>60% ACEITE</b>						
	1%	Potencia		1.06 (1.5)	0.51 (0.4)	0.994
	AMORTIGUADOR	2%	Potencia	2.03 (1.0)	0.5 (0.4)	0.995

El número dentro del paréntesis es el coeficiente de variación (%). El coeficiente de correlación es el obtenido para la curva promedio de las tres repeticiones.



(a)

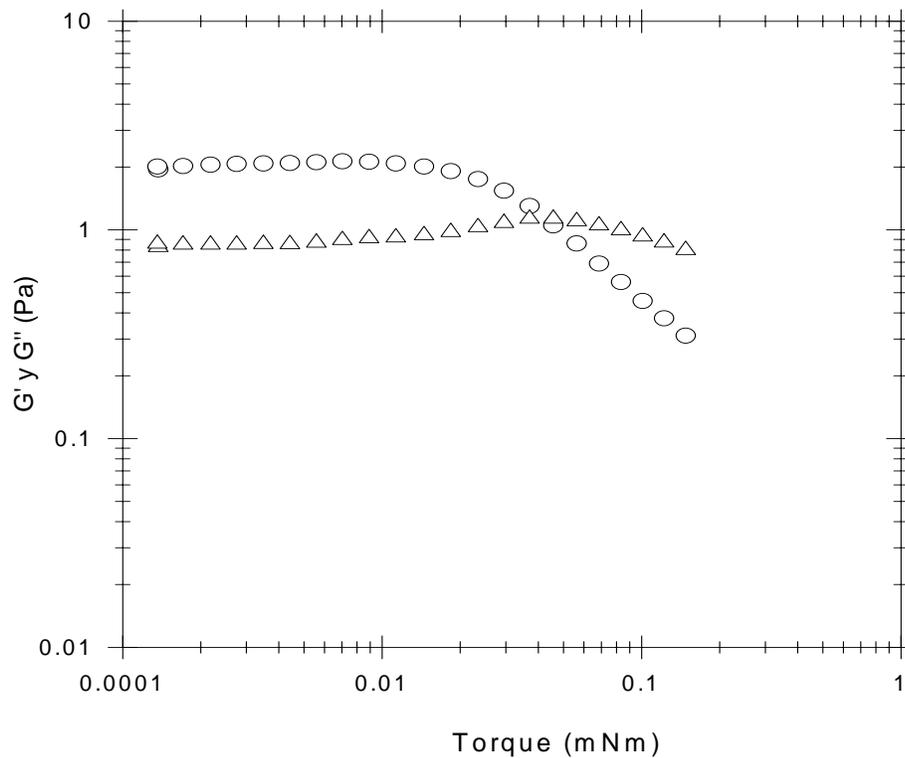


(b)

**Figura 3.11** Micrografía de emulsiones con 60% de aceite, 2% de caseinato de sodio, 0.05% de gelana y 5 mM  $\text{CaCl}_2$  (a) agua desionizada y (b) amortiguador acetato (objetivo 40x)

### 3.4 PRUEBAS BAJO CIZALLA OSCILATORIA PARA EMULSIONES ELABORADAS CON CASEINATO DE SODIO

En la Figura 3.12 se muestra un ejemplo de un barrido de torque (esfuerzo) donde la región de viscoelasticidad lineal se encuentra en el intervalo de 0.0015 a 0.01 mNm, dado que en dicha región lineal las propiedades reológicas no son dependientes de la deformación ni del esfuerzo.



**Figura 3.12** Barrido de torque (esfuerzo)  $G'$ ( $\circ$ ) y  $G''$ ( $\triangle$ ).

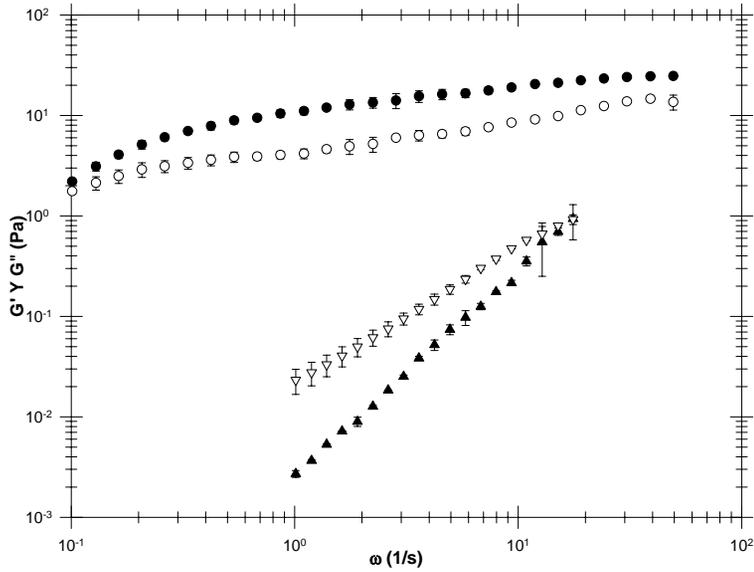
En las Figuras 3.13 (a) y (b) se presenta el espectro mecánico para las emulsiones elaboradas con agua desionizada a 40% y 60% de aceite con 1% y 2% de caseinato de sodio.

Con 1% de proteína, la emulsión con 40% de aceite (Figura 3.13a) predomina el módulo de pérdida ( $G''$ ) presentando un comportamiento típico de una emulsión diluida o fluida (*Barnes, 2004*), este comportamiento es debido a que predominan las características de la fase acuosa; con 60% de aceite se observa un claro dominio de  $G'$  sobre  $G''$ , esto es un comportamiento típico de emulsiones concentradas lo que se debe

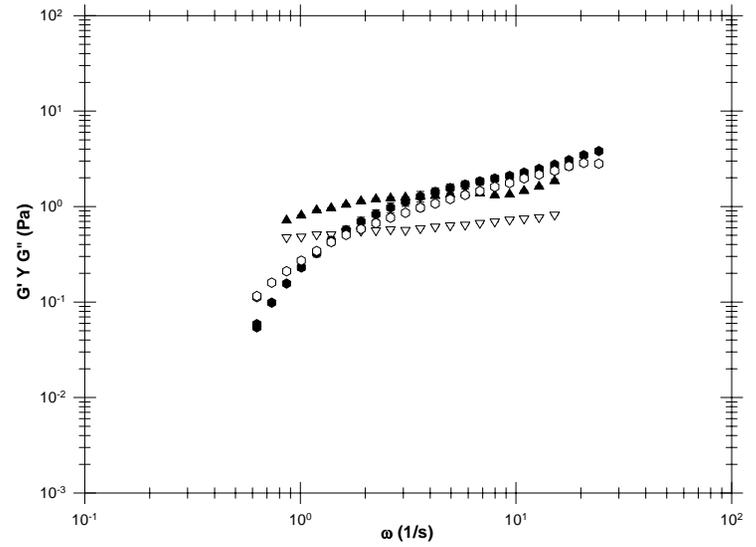
principalmente a la fracción volumen de aceite, ya que éste confiere las características elásticas del sistema.

Cuando se adiciona el 2% proteína (Figura 3.13b), se observa el caso contrario para la emulsión con 40% de aceite predominando el módulo de almacenamiento ( $G'$ ), por otra parte, la influencia de la alta concentración de aceite en la emulsión con 60% es más evidente en comparación con 1% de caseinato, ya que no se observa un claro dominio de  $G'$  o  $G''$  presentando un comportamiento tanto elástico como viscoso en el que existe un cruce de los módulos a una frecuencia aproximada de  $1\text{s}^{-1}$ , lo que se puede deber al aumento en la concentración del caseinato de sodio.

Cuando se trata de emulsiones elaboradas con amortiguador como medio de dispersión con 40% de aceite y 1% de proteína, parece no definirse el módulo dominante, aunque después de  $10\text{ s}^{-1}$  parece predominar  $G'$ , esto determina que hay una parte elástica y otra viscosa predominando finalmente la primera (Figura 3.14a), lo que puede ser por una reorganización de la estructura o de los flóculos que pudieron haberse formado (*Dickinson y Golding, 1997*); por el contrario, cuando hay 2% de caseinato (Figura 3.14b) domina el comportamiento elástico y en las emulsiones con 1% y 2% de caseinato y 60% de aceite predomina el comportamiento viscoso, esto se debe a la presencia de iones sodio en el amortiguador, ya que están actuando en la fase acuosa del sistema, pues estudios realizados por Casanova y Cardona, (2004) en presencia de estos iones, las micelas de caseína tienden a formar aglomerado y aunado con la cantidad de aceite adicionada modifican el comportamiento de la emulsión siendo más viscoso para la que tiene 60% de aceite y dando un comportamiento más elástico para las de 40% a 1% y 2% de caseinato.

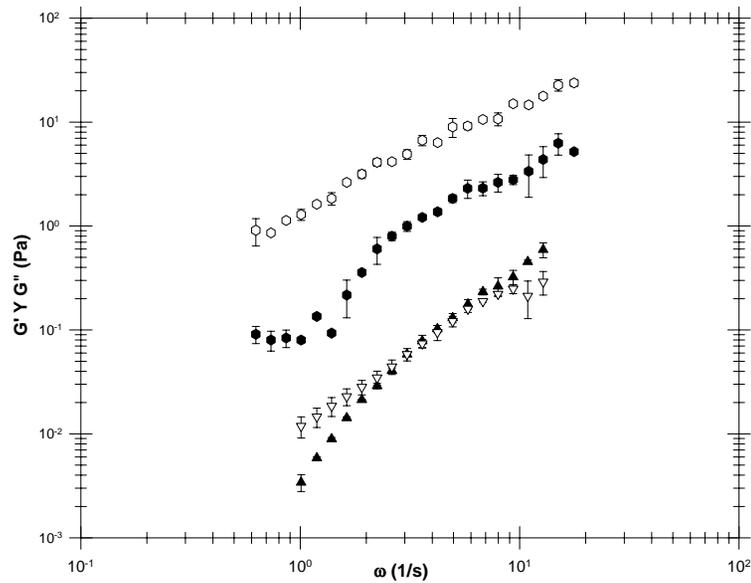


(a)

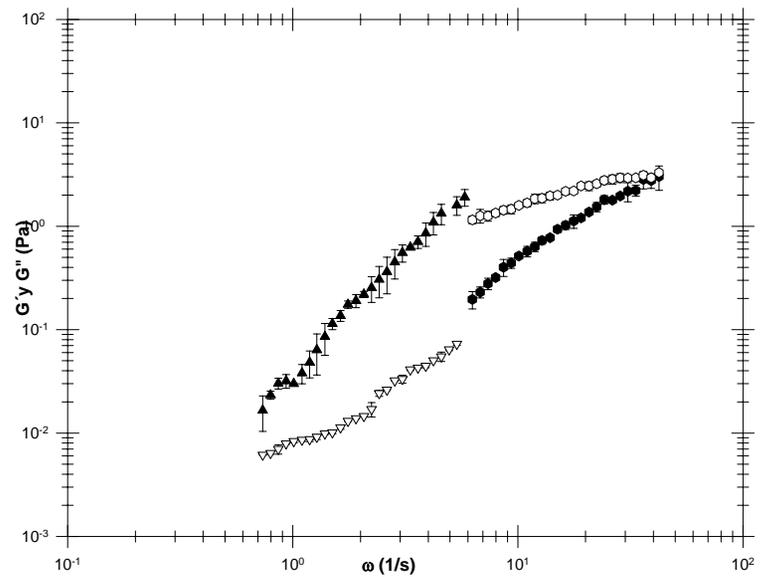


(b)

**Figura 3.13** Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s), de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, en agua desionizada con 40% ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \nabla$ ) y 60% ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ) de aceite de girasol.



(a)



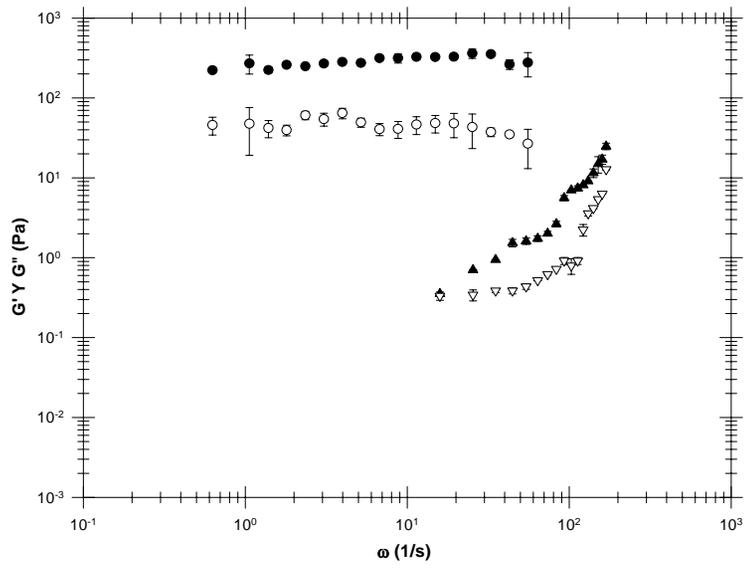
(b)

**Figura 3.14** Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s), de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, en amortiguador con 40% ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \nabla$ ) y 60% ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ) de aceite de girasol.

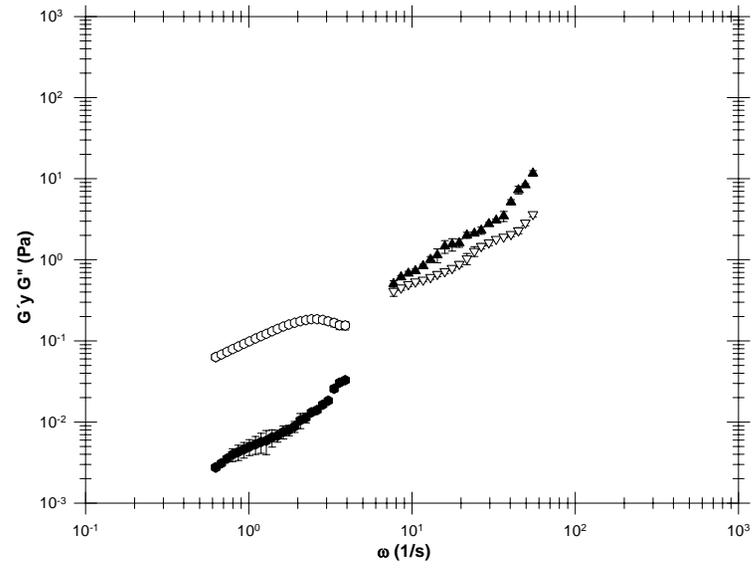
Al adicionar 5 mM de cloruro de calcio a las emulsiones con 1% de caseinato de sodio en agua desionizada con 40% de aceite predomina el módulo elástico (Figura 3.15a), sin embargo, la tendencia de los módulos con respecto a la frecuencia en comparación con la emulsión sin iones calcio se modifica debido a los aglomerados de caseína que debilitan la estructura formada por los glóbulos de aceite. Para la emulsión con 60% de aceite domina la fase oleosa correspondiente a  $G'$ , este comportamiento puede deberse a que los iones  $Ca^{++}$  se unen a los residuos fosfoserinos de la alfa y beta caseína provocando que se formen aglomerados (*Dickinson y col., 2001*) y dejando libres glóbulos de aceite.

Con respecto a las emulsiones con 2% de caseinato en agua desionizada (Figura 3.15b), el comportamiento para la emulsión con 40% de aceite no se modifica predominando  $G'$ , pero presenta un comportamiento más cercano a un fluido viscoelástico con respecto a la que tiene 1% de caseinato de sodio con cloruro de calcio, debido probablemente al aumento de proteína. Para el caso de las emulsiones con 60% de aceite, el módulo  $G''$  predomina con respecto a la que tiene 1% de caseinato con calcio y a la de 2% de caseinato sin calcio, esto coincide con lo realizado por Casanova y Cardona (2004), en el que la presencia de iones calcio disminuye la capacidad emulsificante del caseinato cuando éste está a mayor concentración

Cuando se combinan los iones sodio del amortiguador con los iones calcio adicionados a la emulsión con 40% de aceite y 1% de caseinato, se tiene una emulsión con carácter elástico, y una emulsión con carácter viscoso para la que tiene 60% de aceite y 1% de caseinato como se observa en la Figura 3.16a, caso contrario de cuando se aumenta al 2% de caseinato de sodio en el cual se tiene una emulsión con estructura ordenada con carácter elástico para la emulsión con 60% de aceite, y una emulsión con 40% de aceite en la que la estructura es reorganizada al aplicar una fuerza oscilatoria, ya que hay un cruce de los módulos a frecuencias de  $1.5 \text{ s}^{-1}$  aproximadamente al aumentar la frecuencia siendo el comportamiento similar al de las emulsiones elaboradas con agua, 2% de caseinato de sodio y 60% de aceite (Figura 3.13b), para el sistema más complejo (2% caseinato, 60% aceite, amortiguador y 5 mM  $CaCl_2$ ) los valores de  $G'$  y  $G''$  son mucho mayores como se aprecia en la Figura 3.16b con respecto a cuando no se tenía calcio; por lo tanto, así como se observó en las pruebas de cizalla estacionaria, el aumento de caseinato sin la adición de iones o en combinación con los de sodio dan como resultado un sistema con comportamiento clásico de una emulsión diluida o fluida (40% aceite) o concentrada (60% aceite).

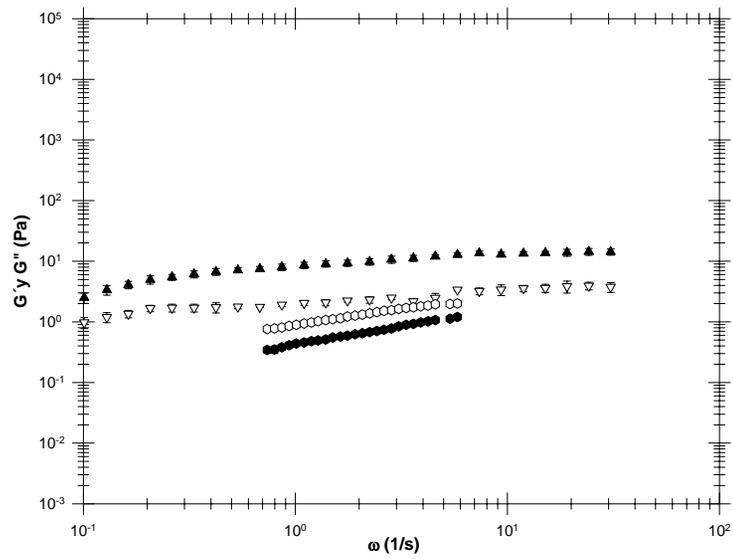


(a)

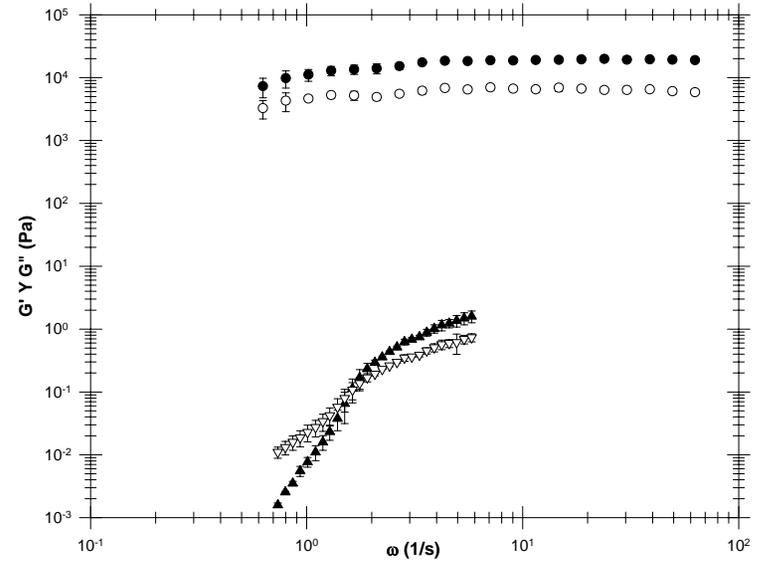


(b)

**Figura 3.15** Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s), de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, en agua desionizada con 40% ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \nabla$ ) y 60% ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ) de aceite de girasol, con la adición de  $\text{CaCl}_2$



(a)



(b)

**Figura 3.16** Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s), de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, en amortiguador con 40% ( $G'$ ▲,  $G''$ ▽) y 60% ( $G'$ ●,  $G''$ ○) de aceite de girasol, con la adición de  $\text{CaCl}_2$

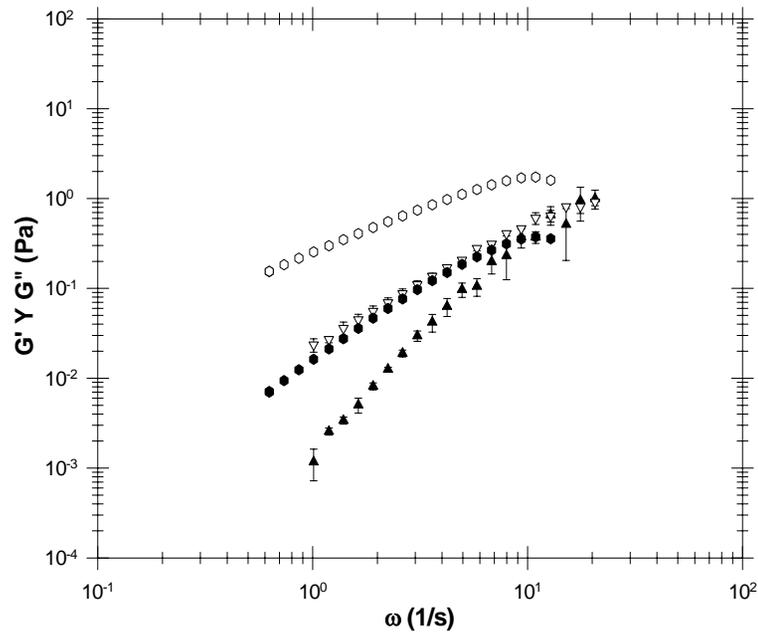
### 3.5 PRUEBAS DE CIZALLA OSCILATORIA DE EMULSIONES ELABORADAS CON MEZCLA DE CASEINATO DE SODIO-GELANA

Para todas las emulsiones con mezcla de 0.05% de gelana con 1% y 2% de caseinato de sodio elaboradas con agua desionizada Figuras 3.17 (a) y (b) predomina el carácter viscoso ( $G''$ ) para las tres concentraciones de aceite. Cabe mencionar que la emulsión con 1% de caseinato, 0.05% de gelana y 20% de aceite no se caracterizó debido a la baja viscosidad, a diferencia de la emulsión con más proteína.

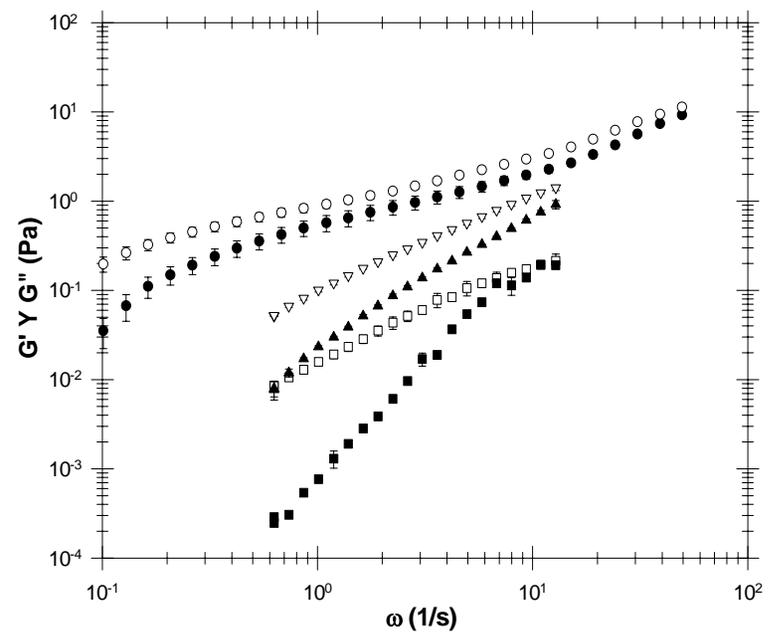
Los valores de  $G'$  y  $G''$  aumentan en función de la cantidad de aceite. La emulsión con 60% de aceite y 2% de caseinato (Figura 3.17b) presenta un comportamiento viscoso lo que se debe a que la gelana confiere más viscosidad al medio acuoso (*Sosa-Herrera y col., 2007*), con ligera tendencia a cruzarse a frecuencias mayores a  $40 \text{ s}^{-1}$ , aunque este efecto no está bien definido.

Cuando el medio de dispersión es amortiguador (Figura 3.18) se presenta el caso contrario a las emulsiones anteriores, pues en éstas el módulo que predomina es el de almacenamiento ( $G'$ ), lo que se justifica por la probable formación de un gel débil en la fase continua debido a la presencia de iones sodio que actúan con gelana, lo que contribuye al comportamiento elástico del sistema para las tres fracciones volumen de aceite con 1% de caseinato de sodio (Figura 3.18a).

Cuando hay 2% de caseinato de sodio-0.05% de gelana (Figura 3.18b) para la emulsión con 60% de aceite el comportamiento es inverso con respecto a la emulsión con 1% de caseinato Figura 3.18a, esto se explica porque puede existir la formación de aglomerados de caseinato por la presencia del polisacárido (*Vega y col., 2005*) provocando la floculación del sistema por el alto contenido de aceite haciendo más diluida la emulsión, esto se aprecia mejor con la adición de cloruro de calcio (Figura 3.20a y 3.20b), pues para todos los casos con 60% de aceite domina el carácter viscoso del sistema.

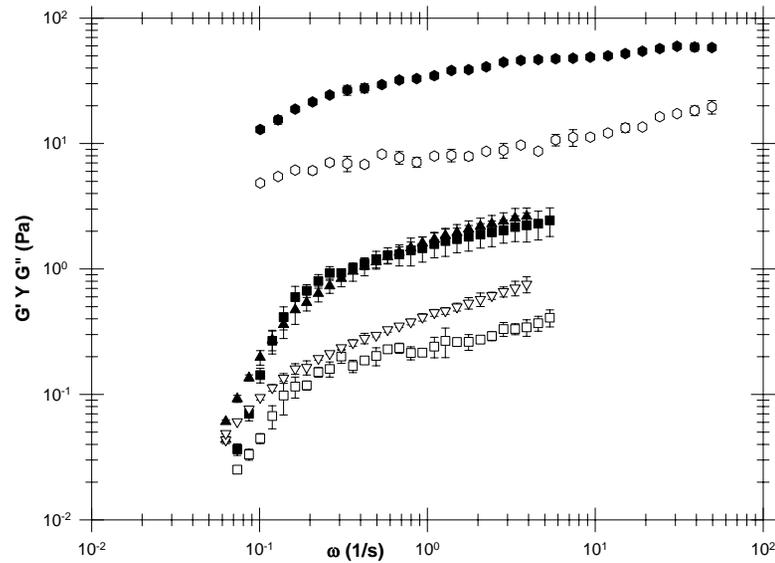


(a)

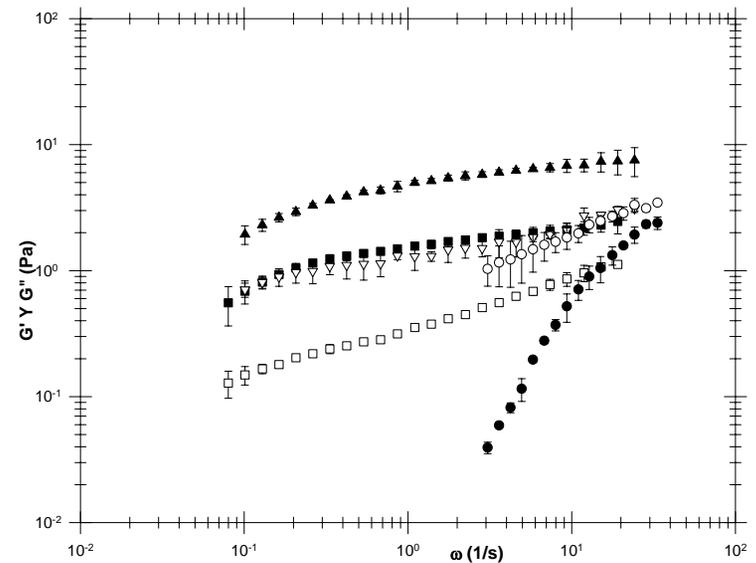


(b)

**Figura 3.17** Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s), de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, gelana 0.05%, en agua desionizada con 20% ( $G' \blacksquare$ ,  $G'' \square$ ), 40% ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \nabla$ ) y 60% ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ) de aceite de girasol.



(a)



(b)

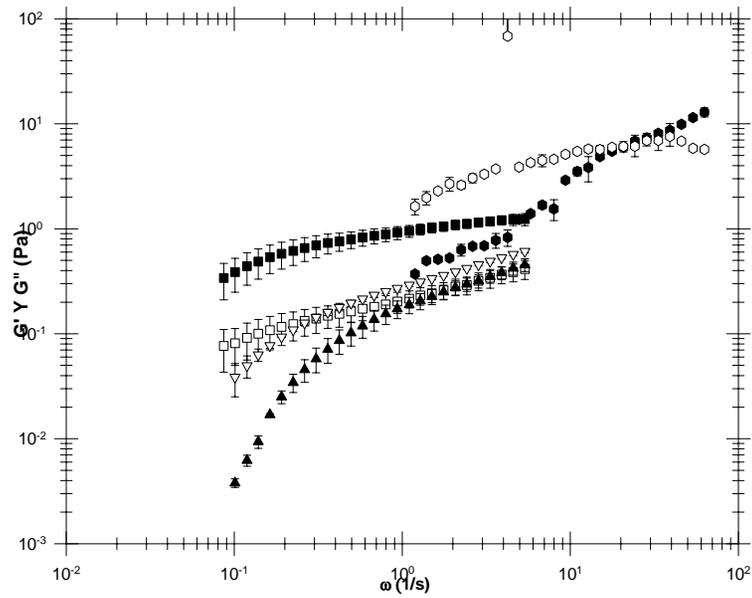
**Figura 3.18** Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s), de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, gelana 0.05%, en amortiguador con 20% ( $G' \blacksquare$ ,  $G'' \square$ ), 40% ( $G' \blacktriangle$ ,  $G'' \nabla$ ) y 60% ( $G' \bullet$ ,  $G'' \circ$ ) de aceite de girasol.

Sin embargo, la situación que se presenta en emulsiones donde hay mezcla de 0.05% de gelana, 1% de caseinato de sodio con la adición de cloruro de calcio en agua desionizada (Figura 3.19) se hace evidente que utilizando 20% de aceite la emulsión puede caracterizarse. Al parecer se ha formado un gel que permite que la separación de las fases sea más lenta, ya que los glóbulos de aceite se ven atrapados e inmovilizados dentro de la red formada por la interacción de los iones calcio con la gelana y el caseinato (*Sosa-Herrera y col, 2007*).

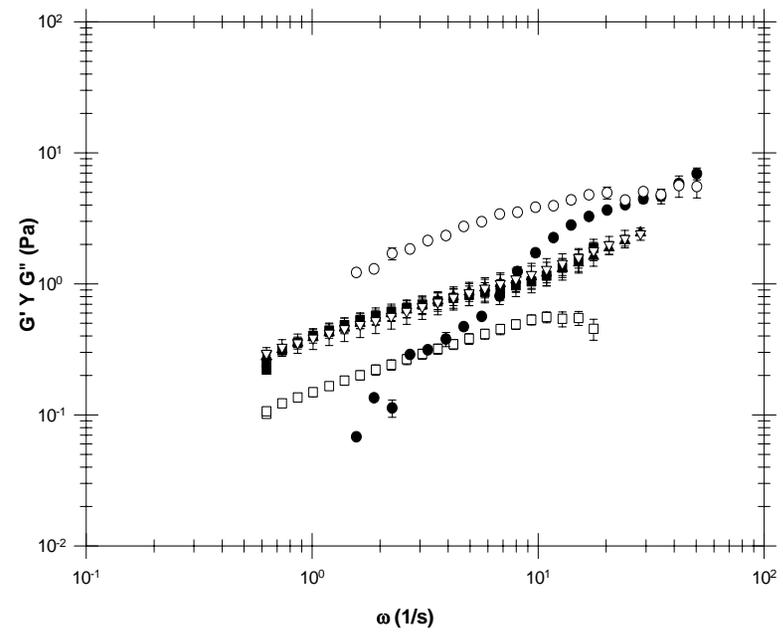
Cabe destacar que las emulsiones con 1% y 2% de caseinato de sodio con gelana predominan las características de la fase acuosa, ya que presentan un comportamiento de gel similar al que presenta la gelana en presencia de iones calcio (*Martínez-Padilla y col., 2004*).

Para los sistemas con 1% de caseinato de sodio con 40% y 60% de aceite y para la emulsión con 2% de caseinato de sodio con 60% de aceite en agua desionizada, predomina  $G''$  presentando comportamiento de una emulsión fluida, debido a que la estructura formada por los glóbulos de aceite se debilita por la interacción de gelana y caseinato, inducida por los iones calcio, lo cual coincide con lo observado en las pruebas de cizalla estacionaria, donde el índice de consistencia disminuye en estos sistemas. Por otra parte la emulsión con 2% de caseinato de sodio y 40% de aceite en agua (Figura 3.19b) no se observa un claro predominio tanto de  $G'$  como de  $G''$ , ya que tanto el módulo elástico como el viscoso se encuentran superpuestos.

Para las emulsiones con 20% y 40% de aceite (Figuras 3.20a y 3.20b) el comportamiento a un gel débil en la fase continua es más pronunciado en presencia de amortiguador y cloruro de calcio, esto debido a que tanto la gelana como el caseinato interactúan con los iones, ya sea formando gel, aglomerados de caseínas o interactuando entre ellos por medio de los iones  $Ca^{++}$ , que causan un sistema con estructura compleja y compacta, es decir que la estructura que se ha formado es más compleja y resistente a la ruptura haciendo más pronunciada su elasticidad, sin embargo cuando hay 60% de aceite el sistema se considera una emulsión diluida o fluida pero muy adelgazante a la cizalla según las pruebas de flujo, predominando así el comportamiento viscoso ya que como se ha mencionado la unión entre los glóbulos de aceite es debilitada por la falta de proteína disponible para rodearlos debido a las interacciones de ésta con gelana o entre sus micelas.

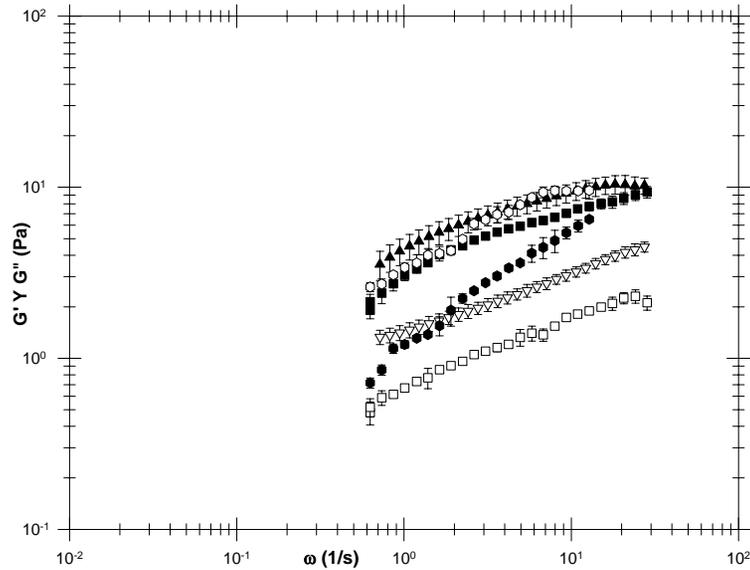


(a)

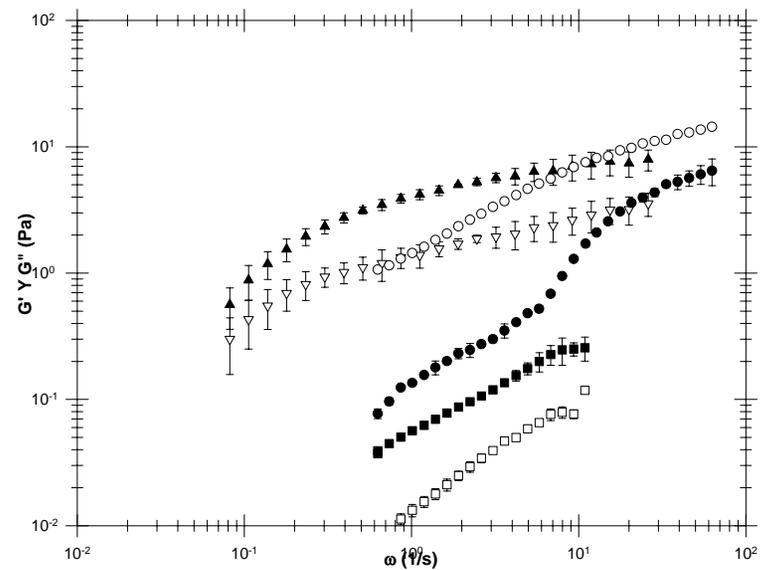


(b)

**Figura 3.19** Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s), de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, gelana 0.05%, en agua desionizada con 20% ( $G'$  ■,  $G''$  □), 40% ( $G'$  ▲,  $G''$  ▽) y 60% ( $G'$  ●,  $G''$  ○) de aceite de girasol con la adición de  $\text{CaCl}_2$



(a)



(b)

**Figura 3.20** Parámetros viscoelásticos dependientes de la frecuencia angular (1/s), de emulsiones elaboradas con (a) 1% y (b) 2% de caseinato de sodio, gelana 0.05%, en amortiguador con 20% ( $G'$  ■,  $G''$  □), 40% ( $G'$  ▲,  $G''$  ▽) y 60% ( $G'$  ●,  $G''$  ○) de aceite de girasol, con la adición de  $\text{CaCl}_2$

## 4. CONCLUSIONES

---

- A baja y media concentración de aceite (20%-40 %) las emulsiones pueden ser consideradas diluidas o fluidas, en donde las interacciones interpartícula pueden ser despreciables y las propiedades reológicas de las mismas están dominadas por las características de la fase continua.
- Cuando existen altas concentraciones de aceite (60%) las interacciones interpartícula pueden promover la formación de flóculos, por lo que el comportamiento al flujo, así como las propiedades viscoelásticas de las emulsiones se ven dominadas por la fase dispersa.
- La relación caseinato de sodio/aceite es determinante en las características reológicas así como en la homogeneidad en el tamaño y distribución de los glóbulos de aceite de las emulsiones formadas, particularmente en las emulsiones de caseinato solo. De tal forma que el sistema es más homogéneo en la distribución de los glóbulos cuando existe un equilibrio entre la cantidad de caseinato disponible y los glóbulos de aceite presentes.
- La gelana juega un papel determinante sobre las propiedades reológicas a pesar de no tener propiedades emulsificantes, debido a su alta sensibilidad a la presencia de iones tanto mono ( $\text{Na}^+$ ) como divalentes ( $\text{Ca}^{++}$ ) para modificar su conformación y formar gel. Observándose un claro dominio de ésta, inclusive sobre las características de las emulsiones concentradas (60%), tanto en el comportamiento al flujo como en las características viscoelásticas, así como en su homogeneidad.
- Cuando se encuentran en mezcla el caseinato de sodio y la goma gelana, éstos pueden interactuar por la presencia de iones ( $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$ ), ya que ambos son afines a dichos iones; sin embargo, cuando no hay presencia de iones la gelana actúa únicamente como agente espesante de la fase acuosa en emulsiones con 20%

y 40% de aceite. Para las emulsiones con 60%, el índice de consistencia disminuye con respecto a las emulsiones con caseinato de sodio solo, ya que puede haber más glóbulos de aceite sin caseinato en la interfase, haciendo un sistema más fluido.

- El estudio de la incorporación de la goma gelana en emulsiones aceite en agua al 40%, con 2% de caseinato y 5 mM de  $\text{CaCl}_2$  a pH ácido, proporciona una alternativa de formulación base para aderezos.

## 5. REFERENCIAS

---

Aguado, J., Calles, M. J., López, P. B., Cañizares, C. P., Rodríguez, S. F., Santos, L. A., Serrano, G. D., 1999, Ingeniería de la industria alimentaria, vol. 1 Conceptos básicos, colecciones Sínteis, España Madrid.

Antipova, A. S., Dickinson E., Murray, B. S., Semenova, M. G., 2002, On effect of calcium ions on the sticking behavior of casein-coated particles in shear flow, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, **27**, 123-131.

Badui, D. S., 1981, Química de los alimentos, Alhambra S. A., Madrid, España.

Baird, J. K., Talashek, T. A., Chang, H., 1991, Gellan gum: effect of composition on gel properties, Gums and Stabilisers for the Food Industry, Elsevier Applied Science Publisher, New York.

Barnes, H. A., 2004, The rheology of emulsions, Emulsions: Structure Stability and Interactions, Editor Petser, D. N., Albuquerque, USA, vol. 4

Benichou, A., Aserine, A., Garti, N., 2002, Protein-polysaccharide interactions for stabilization of food emulsions, Dispersion Science and Technology, **23** (1-3), 93-123.

Caric, M., 1994, Concentrated and Dried Dairy Products. VCH Publishers, Inc. New York.

Carr, A. J., Munro, P. A., Campanella, O. H., 2002, Effect of added monovalent or divalent cations on the rheology of sodium caseinate solutions, International Dairy Journal, **12**, 487-492.

Carr, A. J., Southward, C. R., Creamer, L. K., 2003, Protein hydration and viscosity of dairy fluids, Editado por P. F. Fox, & P. L. H. McSweeney, Advanced Dairy Chemistry, Vol. 1, Proteins 3ra. ed., USA, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 1289-1323.

Casanova, H., Cardona, S., 2004, Emulsiones O/W estabilizadas con caseinato de sodio: efecto de los iones calcio, concentración de proteína y temperatura. Revista de la Facultad

*de Química Farmacéutica* (Universidad de Antioquia, Medellín. Colombia), 11 (1), 13-19.

Cheftel, J. C., Cuq, L. J., Lorient, D., 1989, Proteínas alimentarias, Acribia, Zaragoza España.

Chiralt, B. A., Martínez, N. N., Camacho, V., 1998, Laboratorio de coloides en alimentos, Servicio de publicaciones, Valencia.

de Kruif, C. G., Tuinier, R., 2001, Polysaccharide protein interactions, *Food Hydrocolloids*, 15, 555-563.

Dickinson, E., 1994, Emulsion stability, *Food Hydrocolloids: Structures, properties and functions*, Plenum Press, New York.

Dickinson, E., 1998, Rheology of emulsions – The Relationship to structure and stability, Modern aspect of emulsions science, Editor Bernard P. B., The royal society of chemistry information services, Cambridge.

Dickinson, E., 1999, Casein in emulsions: Interfacial properties and interactions. *International Dairy Journal*, 9, 305-312.

Dickinson, E., 2003, Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems, *Food Hydrocolloids*, 17, 25 – 39.

Dickinson, E., Davies, E., 1999, Influence of ionic calcium on stability of sodium caseinate emulsions, *Colloids on Surfaces*, 12, 203-211.

Dickinson, E., Golding, M., 1997, Rheology of sodium caseinate stabilized oil-in-water emulsions, *Journal of Colloids and Interface Science* 191, 166 – 176.

Dickinson, E., Semenova, M. G., Antipova, S. A., 1998, Salt stability of casein emulsions. *Food Hydrocolloids*, 12, 227-235.

Dickinson, E., Semenova, M. G., Belyakova, L. E., Antipova, S. A., Il'in, M., Tsapkina, E. N., Ritzoulis, C., 2001, Analysis of lights scattering data on the calcium ion sensitivity of

caseinate solution thermodynamics: Relationship to emulsion flocculation, *Journal of Colloid and Interface Science*, **239**, 87 – 97.

Fennema, O. R., 2000, Química de los alimentos, 2<sup>a</sup> ed., Acribia, Zaragoza, España.

Fichtali, J., Van de Voort, F. R., 1993, A rheological model for sodium caseinate, *Journal of Food Engineering*, **19**, 203-211.

Glicksman, M., 1982, Food hydrocolloids, Vol. 1, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, EUA.

Huang, X., Kakuda, Y., Cui, W., 2001, Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity, *Food Hydrocolloids*, **15**, 533-542.

Jahaniaval, F., Kakuda, Y., Abraham, V., Marcote, N., 2000, Soluble protein fractions from pH and heat treated sodium caseinate: physicochemical and functional properties, *Food Research International*, **33**, 637-647.

Jampen, S., Britt, I. J., Tung, M. A., 2002, Gellan polymer solution properties: dilute and concentrated regimes, *Food Research International*, **33**, 579-586.

Lozano-Esquivel, I. E., Ponce de León-Ramírez, Y. R., 2006, Viscoelasticidad y comportamiento al flujo de emulsiones elaboradas con mezclas de caseinato de sodio-alginato de sodio, Tesis de Ingeniería en alimentos, FES Cuautitlán, UNAM.

Martínez-Padilla, L. P., 2001, Apuntes de Reología de fluidos, en Seminario de titulación de Reología y textura de materiales biológicos, Abril-Mayo, FES Cuautitlán, UNAM.

Martínez-Padilla, L. P., López-Araiza, F., Tecante, A., 2004, Steady and oscillatory shear behavior of fluid gels formed by binary mixtures of xanthan and gellan, *Food Hydrocolloids*, **18**, 471-481.

McClements, D. J., 1999, Food emulsions: Principles, Practice, and Techniques, CRC Press, Washington.

McClements, D. J., 2004, Protein-stabilized emulsions, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, **9**, 305-313.

Méndez, M. G., Nuñez, S. C., Solorza F. J., 2001, Introducción a la reología, IPN, México.

Milas, M., Shi, X., Rinaudo, M. 1990, On the physicochemical properties of gellan gum, *Biopolymers*, **30**, 451-464.

Moritaka, H., Nishinari, K., Nakahama, N. Fukuba, H., 1994, Rheological and thermal properties of gellan gum gels, *Food Hydrocolloids: Structures, properties and functions*, Plenum Press, New York.

Nishinari, K., Zhang, H., Ikeda S., 2000, Hydrocolloid gels of polysaccharides and proteins, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **5**, 195-201.

Papageorgiou, M., Kasapis, S., Richardson, K. R., 1994, Steric exclusion phenomena in gellan-gelatin systems I. Physical properties of single and binary gels, *Food Hydrocolloids*, vol. 8, **2**, 97-112.

Radford, S. J., Dickinson, E., Golding, M., 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.

Rao, M. A., 1999, Rheology of fluid and semisolid foods: principles and applications, An Aspen publication, Gaithersburg, Maryland, EUA.

Rao, M. A., Steffe, J. F., 1992, Viscoelastic properties of foods, Elsevier Applied Science, London y New York.

Sánchez, Ch., Renard, D., 2002, Stability and structure of protein-polysaccharide coacervates in the presence of protein aggregates, *International Journal of Pharmaceutics*, **242**, 319 – 324.

Sanderson, G. R., 1990, Gellan gum, Food gels, (P. Harris ed.), Elsevier Applied Science, London.

Sanderson, G. R., Ortega, D., 1994, Alginates and gellan gum: complementary gelling agents, *Food Hydrocolloids: Structures, Properties and Functions*, Plenum Press, New York, EUA.

Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P. A., 2002, Formation and stability of sodium caseinate emulsions: influence of retorting (121°C for 15 min.) before or after emulsification, *Food Hydrocolloids*, **16**, 153-160.

Sosa-Herrera, M. G., Berli, C. L. A., Martinez-Padilla, L. P., 2007, Physicochemical and rheological properties of oil-in-water emulsions prepared with sodium caseinate/gellan gum mixtures, *Food Hydrocolloids* (en prensa).

Sutherland, Y.W., 1994, Structure-function relationships in microbial exopolisaccharides, Biotech, vol. 12.

van Aken, G. A., Blijdenstein, T. B. J., Hotrum, N. E., 2003, Colloidal destabilisation mechanisms in protein-stabilised emulsions, *Colloid and Interface Science*, **8**, 371-379.

Vega, C., Dalgleish, D. G., Goff, H. D., 2005, Effect of k- carrageenan addition to dairy emulsions containing sodium caseinate and locust bean gum, *Food Hydrocolloids*, **19**, 187-195.

Vendrusculo, C. T., Pereira, J. L., Scamparini, A. R. P., 1994, Gellan gum: production and properties, *Food Hydrocolloids. Structures, Properties and Functions*, Plenum Press, New York.

Ye, A., Flanagan, J., Singh, H., 2006, Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum arabic, *Biopolymers*, **82**, 121-133.

Wong, D. W. S., 1995, Química de los alimentos: mecanismos y teoría, Acribia, Zaragoza, España, EUA.