



# Universidad Nacional Autónoma de México

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y COMPORTAMIENTO  
AL FLUJO DE NANOPARTÍCULAS CONSTITUIDAS POR  
PROTEÍNA LÁCTEA Y POLISACÁRIDOS (XANTANA Y GOMA  
ARÁBIGA) EN MEDIO ACUOSO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA

BIBIANA BONILLA REYNA

ASESORAS

DRA. MARÍA GUADALUPE SOSA HERRERA  
DRA. LAURA PATRICIA MARTÍNEZ PADILLA



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR  
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
 FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
 ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN  
 PRESENTE



ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ  
 Jefa del Departamento de Exámenes  
 Profesionales de la FES Cuautitlán.

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Caracterización fisicoquímica y comportamiento al flujo de nanopartículas  
constituidas por proteína láctea y polisacáridos (xantana y goma arábica)  
en medio acuoso.

Que presenta la pasante Bibiana Bonilla Reyna

Con número de cuenta: 302754289 para obtener el título de:

Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
 Cuautitlan Izcalli, Mex. a 7 de diciembre de 2010.

PRESIDENTE Dra. Ma. de los Angeles Cornejo Villegas

VOCAL MC. Leticia Zúñiga Gómez

SECRETARIO Dra. María Guadalupe Sosa Herrera

1er SUPLENTE IA. Miriam Edith Fuentes Romero

2º SUPLENTE IA. Verónica Romero Arreola

## **DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS**

### ***A Dios.***

*Por darme esta vida tan maravillosa, por jamás dejarme sola, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante toda mi vida, por haberme permitido hacer realidad uno de mis grandes sueños, además de su infinita bondad y amor.*

### ***A mi abuelita.***

*A mi abuelita Silvia Ocampo, por ser el vivo ejemplo de una gran mujer, capaz, culta, generosa y amorosa, que con sabiduría me da consejos y enseña, por haberme inculcado la unión e importancia de la familia, gracias por tu amor.*

### ***A mis padres.***

*A mi padre José desde el cielo que me dio el ejemplo y un amor intachable, a mi madre Silvia por el esfuerzo tan grande que hace, por el valor que tiene para salir adelante y me ha inspirado siempre, por el amor incondicional que me brinda y por creer siempre en mí.*

### ***A mis hermanas.***

*A Silvia Elena y Paola por la paciencia, sus palabras, su amor, sus consejos y enseñanzas.*

**A Héctor.**

*Por ser el hombre de mi vida, por creer en mí y en mis capacidades, por su motivación constante que me ha permitido ser una mejor persona, por ser correspondida, por enseñarme a amar y tener fe.*

**A Mis Familiares.**

*De manera muy especial agradezco a mi familia por estar conmigo siempre, por su ayuda, comprensión, unión y amor. A mi nueva familia Valenzuela Castillo que me han abierto los brazos brindándome un gran apoyo y amor.*

**A mis amigos.**

*Les agradezco a todos aquellos amigos que han formado parte de mi historia, principalmente a Gaby por ser la mejor amiga que pude haber tenido, por escucharme, por sus palabras y su cariño. A Cristy, Miriam, Karen e Ilse por quererme de manera sincera, por cada momento que he pasado junto a ellas.*

**A Miss Pily.**

*Por haberme brindado ayuda en el momento que más necesite, por ser tan generosa conmigo y mi familia, siempre te recordaré.*

***A Mis Asesoras.***

*A la Dra. Guadalupe Sosa y la Dra. Laura Patricia Martínez, que con gran dedicación me acompañaron en esta investigación, por su tiempo, apoyo y enseñanzas.*

*Un agradecimiento muy especial a la DGAPA-UNAM, debido a que parte del estudio fue financiado por el proyecto PAPIIT IN119110 (Efecto de proteína láctea sola y en mezcla con polisacáridos sobre la estabilidad y reología de sistemas dispersos), de igual forma a mis profesores de la universidad, mis sinodales y a la universidad misma.*

*Gracias papá que estás desde el cielo ayudándome a seguir mi camino, gracias te doy por la vida que me diste, por esos años de felicidad que hicieron que después de tanto tiempo siguieran presentes en mi corazón, desde el alma te dedico este esfuerzo a ti que en paz y amor descansas.*

## ÍNDICE

<b>Resumen</b>	<b>vii</b>
<b>Introducción</b>	<b>ix</b>
<b>Capítulo I. Antecedentes</b>	<b>1</b>
1.1 Proteína láctea	1
1.1.1 Caseinato de sodio	3
1.1.2 Suero de leche	7
1.2 Polisacáridos	9
1.2.1 Xantana	10
1.2.2 Goma arábica	12
1.3 Mezcla proteína-polisacárido	14
1.3.1 Características de las nanopartículas formadas	15
1.4 Propiedades fisicoquímicas de hidrocoloides	16
1.4.1 Tamaño de partícula	17
1.4.2 Potencial zeta	19
1.4.3 Tensión superficial	22
1.5 Comportamiento al flujo, pruebas en cizalla estacionaria	27
<b>Capítulo II. Metodología de la investigación experimental</b>	<b>32</b>
2.1 Objetivos	32
2.1.1 Objetivo general	32
2.1.2 Objetivos particulares	32
2.2 Materiales y métodos	33
2.2.1 Preparación y tratamiento de las muestras	33
2.2.2 Potencial zeta y tamaño de partícula	34
2.2.3 Tensión superficial	36
2.2.4 Pruebas de flujo en cizalla estacionaria	36

<b>Capítulo III. Resultados y análisis de resultados</b>	<b>38</b>
3.1 Tamaño, distribución de partícula y potencial zeta de las nanopartículas	38
3.2 Tensión superficial de las nanopartículas formadas	51
3.3 Comportamiento al flujo en los sistemas acuosos	59
<b>Conclusiones</b>	<b>71</b>
<b>Referencias bibliográficas</b>	<b>76</b>



## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características de diferentes caseínas	5
Cuadro 2. Características físico-químicas de las proteínas del suero de leche	8
Cuadro 3. Valores de diámetro de Sauter medio de las partículas de sistemas acuosos elaborados con los hidrocoloides individuales	39
Cuadro 4. Valores de diámetro de Sauter medio de las partículas de sistemas acuosos elaborados con mezcla de hidrocoloides	42
Cuadro 5. Potencial zeta promedio de los componentes individuales	50
Cuadro 6. Potencial zeta promedio de mezclas de hidrocoloides	51
Cuadro 7. Concentración de adsorción crítica de los hidrocoloides individuales en medio acuoso	54
Cuadro 8. Concentración de adsorción crítica de la mezcla de proteínas y polisacáridos en medio acuoso	55
Cuadro 9. Parámetros reológicos de los componentes individuales	61
Cuadro 10. Parámetros reológicos de las mezclas de hidrocoloides	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la molécula de xantana	11
Figura 2. Propuesta del comportamiento de la xantana al aplicar fuerza de cizalla	12
Figura 3. Modelo de la doble capa eléctrica	19
Figura 4. Variación en la concentración de iones positivos (contraiones) y negativos (coiones) en relación con la distancia del coloide negativo	20
Figura 5. Presencia de la doble capa eléctrica	21
Figura 6. Curva para obtener la concentración de adsorción crítica de un sistema acuoso	25
Figura 7. Representación de los regímenes presentes en la concentración de adsorción crítica de los hidrocoloides	26
Figura 8. Tipos de fluidos independientes del tiempo	30
Figura 9. Representación del comportamiento viscoso de un fluido no newtoniano empleando el modelo de Carreau	31
Figura 10. Distribución de tamaño de partícula de los hidrocoloides individuales, caseinato (C) y suero de leche (S) a concentración de 2%. (a) Goma arábica (A) 10% y xantana (X) 0.5%, (b) goma arábica 5% y xantana 0.3%	41
Figura 11. (a) Distribución de tamaño de partícula de la mezcla caseinato (C) 2% con goma arábica (A) 10% y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Mezcla de caseinato 2% con goma arábica 5% y los componentes individuales	43
Figura 12. (a) Distribución de tamaño de partícula de la mezcla caseinato (C) 2% con xantana (X) 0.5% y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Mezcla de caseinato 2% con xantana 0.3% y los componentes individuales	45
Figura 13. (a) Distribución de tamaño de partícula de la mezcla suero de leche (S) 2% con goma arábica (A) 10% y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Mezcla de suero de leche 2% con goma arábica 5% y los componentes individuales	46
Figura 14. (a) Distribución de tamaño de partícula de la mezcla suero de leche	48

(S) 2% con xantana (X) 0.5% y los componentes individuales en medio acuoso.	
(b) Mezcla de suero de leche 2% con xantana 0.3% y los componentes individuales	
Figura 15. Curva comparativa de la concentración de adsorción crítica de los hidrocoloides individuales	52
Figura 16. Curva comparativa para obtener la concentración de adsorción crítica de los hidrocoloides individuales	54
Figura 17. (a) Curva comparativa para obtener la concentración de adsorción crítica de las mezclas caseinato (C) 2% con xantana (X) 0.5 y 0.3%, y los componentes individuales. (b) Mezcla de caseinato 2% con goma arábica (A) 5 y 10%, y sus componentes individuales	56
Figura 18. (a) Curva comparativa para obtener la concentración de adsorción crítica de las mezclas suero de leche (S) 2% con xantana (X) 0.5 y 0.3%, y los componentes individuales. (b) Mezcla de suero de leche 2% con goma arábica (A) 5 y 10%, y sus componentes individuales	58
Figura 19. (a) Curva de flujo comparativa del caseinato (C) 2% y suero de leche (S) 2%. (b) Curva de viscosidad en función de la velocidad las proteínas lácteas a concentración de 2%	60
Figura 20. (a) Curva de flujo comparativa de la goma arábica (A) 5 y 10%, y xantana (X) 0.3 y 0.5%. (b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla	62
Figura 21. (a) Curva de flujo comparativa de la mezcla caseinato (C) 2% con goma arábica (A) 5 y 10%, y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla	64
Figura 22. (a) Curva de flujo comparativa de la mezcla caseinato (C) 2% con xantana (X) 0.3 y 0.5%, y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla	67
Figura 23. (a) Curva de flujo comparativa de la mezcla suero de leche (S) 2% con	69

goma arábica (A) 5 y 10%, y los componentes individuales en medio acuoso. (b)  
Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla

Figura 24. (a) Curva de flujo comparativa de la mezcla suero de leche (S) 2% 70  
con xantana (X) 0.3 y 0.5%, y los componentes individuales en medio acuoso.  
(b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla

## RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el efecto del polisacárido (xantana y goma arábica) sobre la formación de nanopartículas con dos proteínas lácteas en medio acuoso, analizando el comportamiento al flujo mediante pruebas de cizalla estacionaria y sus propiedades fisicoquímicas (potencial zeta, tamaño de partícula y tensión superficial), elaborados con mezclas de proteínas (suero de leche y caseinato de sodio) y polisacáridos (xantana y goma arábica). Los sistemas se evaluaron utilizando a los hidrocoloides por separado y en mezcla, con concentración de proteínas del 2% y goma arábica de 5 y 10%, mientras que para xantana fue de 0.3 y 0.5%. Se determinó el tipo de fluido y se ajustó al modelo reológico de cada una de las muestras, tanto solos como mezcla. Por otra parte, se determinó la adsorción en la interfase de los sistemas mediante la determinación de la tensión superficial, la xantana como componente individual no se adsorbe sin importar la concentración de la misma debido a su naturaleza de formar dobles hélices y ser pseudoplástico, a diferencia de lo que pasa con los demás hidrocoloides. Las proteínas lácteas, debido a su naturaleza anfifílica se adsorben con mayor facilidad que la goma arábica mostrando una concentración de adsorción crítica menor, sin embargo la xantana, a pesar de no poseer actividad superficial, modificó la concentración de adsorción crítica de las proteínas como es el caso de la mezcla suero al 2% y xantana al 0.3%, la cual llega a una concentración de adsorción crítica menor.

La diferencia en la adsorción de interfase de las nanopartículas formadas de los sistemas, en principio se debe a la naturaleza de las proteínas, y en mezcla también se le atribuye a la naturaleza del polisacárido presente.

El potencial zeta de los sistemas acuosos individuales disminuyó cuando aumenta la concentración de hidrocoloides, esto se debe a que entre mayor cantidad de partículas, existe menos repulsión entre las mismas. Cuando están en mezcla, el valor del potencial zeta para la xantana predomina sobre el de las proteínas debido a que es un

polisacárido aniónico, mostrando un valor cercano de potencial zeta al de la goma en forma individual; sin embargo, esto no sucedió con la goma arábica, confirmándose un comportamiento similar en las pruebas de flujo y en la distribución del tamaño de partícula.

El tamaño de las nanopartículas formadas por las mezclas (450-1700 nm) difiere de cuando se caracterizan los componentes individuales (300-10000 nm), se observa un efecto sinérgico con la mezcla caseinato de sodio al 2% y la goma arábica a las dos concentraciones, sobretodo al 10%, debido a que el caseinato de sodio interfiere en la asociación de la goma arábica por tener partículas de menor tamaño (goma arábica al 10% con partículas de 1384 nm, caseinato de sodio 2% con 327 nm y la mezcla de caseinato de sodio al 2% y la goma arábica al 10% con 601 nm), reduciéndose casi a la mitad que por sí sola; sin embargo, el suero de leche al ser de estructura anfifílica interacciona más con la goma arábica siendo éste un efecto antagonista.

## INTRODUCCIÓN

Los hidrocoloides alimenticios están asociados tradicionalmente con el fenómeno de espesamiento y gelificación; sin embargo, éstos también pueden influir sobre las propiedades de los sistemas dispersos a través de sus propiedades interfaciales. Muchos hidrocoloides pueden actuar como estabilizantes de sistemas dispersos debido a que proporcionan un aumento en la viscosidad de la fase continua o forman gel (Dickinson, 2003). Estas propiedades funcionales de los polisacáridos afectan el comportamiento y las características fisicoquímicas de un alimento en general contribuyendo con la calidad del producto. Algunas propiedades funcionales son: hidratación, espumado, emulsificación, gelificación; éstas dependen de factores intrínsecos propios de la molécula como: conformación, peso molecular, hidrofobicidad, ionización, estructura así como de factores extrínsecos del medio que los rodea y que pueden modificarse como: pH, fuerza iónica, temperatura (Firouz y col., 2000). La xantana es un polisacárido de alto peso molecular ampliamente utilizado en productos alimenticios debido a sus características físicas (viscosidad) y químicas (solubilidad y estabilidad), otro polisacárido importante que se utiliza principalmente en la industria de bebidas es la goma arábica, la cuál tiene la capacidad de formar emulsiones estables en un amplio intervalo de pH y presencia de electrolitos (BeMiller, 1988; Dickinson y McClements, 1996; Nussinovitch, 1997).

La adición de hidrocoloides de forma individual no ha sido la única forma de aplicación en productos alimenticios, se han empleado mezclas de proteína-polisacárido en los últimos años, para la modificación de las propiedades de productos (Dickinson, 2003).

La importancia del estudio de las proteínas lácteas y polisacáridos se debe a que en la actualidad, en la industria de los alimentos cada vez es más frecuente el uso de los mismos, las proteínas lácteas participan en la creación de muchas estructuras alimenticias interaccionando de diversas formas con los ingredientes que las

constituyen. Durante los procesos de manufactura de sistemas alimenticios, las interacciones entre polisacáridos y proteínas junto con las interacciones competitivas con otros componentes del sistema, determinan la relación entre la estructura y las propiedades de los alimentos, con el resultado de que en conjunto crean un ensamble único de moléculas dando origen a la estructura de un alimento en particular (Ye, 2008-a y 2008-b).

Las interacciones entre polisacáridos y proteínas pueden generar incompatibilidad termodinámica o la formación de complejos, lo cual dependerá: del pH, la fuerza iónica, la densidad de carga y de la concentración de cada hidrocoloide. Estudios recientes sobre interacciones de polisacáridos con proteína láctea (Sosa-Herrera y col., 2008; Benichou y col., 2007; Ye y col., 2006; Weinbreck y col., 2004; Girard y col., 2002) han mostrado que tanto las proteínas del suero como las caseínas interactúan con polisacáridos a bajo pH para formar coacervados complejos, solubles o insolubles, que influyen sobre las propiedades funcionales de proteínas lácteas tales como solubilidad, superficie activa, estabilidad conformacional, habilidad para formar gel y sus propiedades espumantes y emulsificantes.

Las proteínas lácteas constituyen nanopartículas (decenas a centenas de nm en tamaño), al igual que muchos polisacáridos que son polímeros lineales de menos de 1 nm en espesor. Al interactuar entre ellos forman redes moleculares (nanoestructuras bi y tri dimensionales) que controlan muchas de las propiedades de los sistemas coloidales alimenticios. Un ejemplo de cómo estas nanopartículas contribuyen con las propiedades de sistemas alimenticios macroscópicos, es la forma en que pueden controlar la calidad de espumas y emulsiones. Cuando se crea una espuma o una emulsión, se generan burbujas de gas o gotas de aceite en un medio líquido. Esto involucra la formación de una interfase aire-agua o aceite-agua cuyas moléculas presentes y sus interacciones determinan su estabilidad. Estas estructuras originadas en la interfase son ejemplos de nanoestructuras bidimensionales (Morris, 2005).



Existen otros estudios donde se utilizan mezclas de xantana y caseinato de sodio, ambos al 0.1%, donde se evaluó el efecto del pH sobre la estructura de los mismos, así como las interacciones que se forman, donde se muestra que la xantana modifica la adsorción de la proteína láctea estudiada (Toshiro y col., 2008). Por otro lado, Perrechil y col., 2009, emplearon mezclas de algarrobo del 0.05-1.5% (w/v) y caseinato de sodio del 0.5-10% (w/v) donde estudiaron el comportamiento reológico de los sistemas modelo con el fin de determinar las interacciones presentes. Mezclas de guar 0.04% y caseinato de sodio al 1.6% se estudiaron para ver el efecto del pH en la mezcla, la guar al ser un polisacárido aniónico modificó las interacciones formadas y éstas a su vez dependían de la concentración de la goma (Neirynecka y col., 2006). Sin embargo, las mezclas con otras proteínas lácteas como las del suero para aplicaciones de sistemas dispersos como emulsiones no han sido ampliamente estudiadas, por lo tanto se considera de relevancia realizar un estudio del efecto de la mezcla de proteína láctea y polisacáridos en el comportamiento al flujo de las disoluciones y su funcionalidad en la interfase de las nanopartículas formadas, debido a que la magnitud de los cambios en las propiedades de las proteínas depende, entre otros factores de la naturaleza del polisacárido presente.

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1 PROTEÍNA LÁCTEA

Las proteínas son macromoléculas que resultan de la polimerización, mediante enlaces peptídicos de aminoácidos, por esta razón, todas las propiedades nutrimentales y sus características físicas y químicas dependen completamente del tipo, de la concentración y de la secuencia de unión de los monómeros constituyentes. Las proteínas desempeñan un papel por demás importante en alimentos y ésta es la razón fundamental por la cual se estudian.

Cuando la proteína se solubiliza en agua adquiere dimensiones coloidales, son anfóteras, es decir que pueden reaccionar ya sea como un ácido o como una base, su hidrólisis completa produce una mezcla de aminoácidos, y en algunos casos sustancias distintas a éstos. Dependiendo de la influencia de los diferentes grupos radicales ionizables y pH al que se encuentren.

Las proteínas son responsables en gran medida de la textura y de las características reológicas de muchos alimentos, y las alteraciones indeseables físicas o químicas que éstos sufren dan como resultado una calidad sensorial y nutricional pobre que llevan consigo el rechazo del producto (Cheftel y col., 1989).

Las diferencias de solubilidad de las proteínas en los diversos disolventes está en función de factores fisicoquímicos propios del polímero (peso molecular, estructura secundaria y terciaria, ionización, forma, composición de los aminoácidos) y de factores externos (pH, temperatura, fuerza iónica), el potencial zeta de la partícula es un factor importante para que se presente la solubilidad. La solubilidad implica que se establezca una fuerte interacción proteína-disolvente; si esto no ocurre, se favorecerá la

asociación proteína-proteína, que además de afectar a la solubilización, impide la precipitación. Debido a su naturaleza anfótera, la solubilidad de las proteínas globulares está influenciada por el pH al que se encuentren, dependiendo del pH del sistema, estos polímeros pueden actuar como cationes y como aniones, de tal manera que al desarrollar la misma carga eléctrica provocan fuerzas de repulsión entre ellos que repercuten en un aumento de la solubilidad y estabilidad en sistemas dispersos (Badui, 1993).

Las propiedades funcionales de las proteínas, son propiedades fisicoquímicas que le permiten contribuir con las características deseadas de un alimento. Éstas se pueden clasificar en: propiedades de hidratación (grupo I) que son dependientes de las interacciones proteína-agua; propiedades dependientes de las interacciones proteína-proteína (grupo II); y propiedades superficiales (grupo III). El grupo I incluye propiedades tales como: adsorción, retención de agua, solubilidad, dispersibilidad y viscosidad. El grupo II interviene en fenómenos tales como: precipitación, gelificación y formación de otras estructuras diferentes (fibras y pastas proteínicas, por ejemplo). El grupo III se refiere a las características espumantes de proteínas. Estos grupos no son totalmente independientes; por ejemplo, la gelificación no sólo implica las interacciones proteína-proteína, sino también las interacciones proteína-agua; la viscosidad y la solubilidad dependen una y otra de las interacciones proteína-agua y proteína- proteína (Cheftel y col., 1989).

Algunas propiedades superficiales de las proteínas solubles son las emulsionantes y espumantes, la característica más importante responsable de estas propiedades, es su habilidad para difundirse hacia la interfase aceite-agua o aire-agua y adsorberse. Se admite, generalmente, que desde el instante en que una parte de la molécula entra en contacto con la interfase, los residuos de los aminoácidos no polares se orientan hacia

la fase no acuosa, la energía libre del sistema desciende y la proteína restante se adsorbe espontáneamente. Durante la adsorción, la mayor parte de las proteínas se despliegan completamente y si hay disponible una gran superficie, se extienden en una capa monomolecular. Según algunos autores, cuanto más hidrófoba sea la proteína, más elevada será la concentración proteínica en la interfase y menor la tensión interfacial y por lo tanto, más estable la emulsión (Badui, 1993).

Las proteínas de la leche son algunas de las principales clases de proteínas. Son ampliamente utilizados como gelificantes para la elaboración de productos alimenticios. La leche es un buen alimento debido a la alta calidad de sus proteínas, las cuales, para su estudio, se han dividido en dos grandes grupos de acuerdo con su estado de dispersión: las caseínas que representan el 80% del total bajo la formación de complejos macromoleculares, conteniendo una parte mineral (fosfato de calcio) que se encuentra en forma de submicelas. Las caseínas están presentes fundamentalmente en esta forma y contienen hasta un 8% de constituyentes minerales. Entre estos últimos, el calcio micelar representa el 27% del calcio total de la leche, con una concentración de 1,2 g/l (Dickinson, 2000).

### **1.1.1 CASEINATO DE SODIO**

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

Este ingrediente derivado de la leche es muy frecuente en la industria, debido a su buena solubilidad dependiendo del pH, de la naturaleza surfactante, la resistencia al

calor y la capacidad de retención de agua. Es usado frecuentemente como agente estabilizante en emulsiones tales como: mezclas para helado, substitutos de crema para café, cremas al licor y cremas batidas. Una desventaja del uso de caseinato de sodio es su aplicabilidad limitada en los productos ácidos (Euston y col., 1999).

La composición de los caseinatos se encuentra basada en caseínas, las cuales constituyen aproximadamente el 80% de las proteínas totales de la leche, siendo los constituyentes mayoritarios de los caseinatos las caseínas  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ ,  $\beta$ , y  $\kappa$ . Éstas se definen como las fosfoproteínas de la leche cruda desnatada que precipitan a pH 4.6 a 20 °C, las cuales a su vez se diferencian entre sí en pesos moleculares, cargas eléctricas y tamaños, en el Cuadro 1 se presentan las diferentes caseínas. Las características fisicoquímicas hacen que cada una de ellas tenga distintas propiedades funcionales (Charalambus, 1990).

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

Aproximadamente en la leche normal, el 95% de la caseína se encuentra unida a grupos de fosfato cálcico en forma de complejos esféricos muy hidratados, las cuales se les conoce como submicelas, éstas poseen diámetros que van desde los 30 a los 300 nm y pueden llegar a pesar  $10^9$  Daltons (Charalambus, 1990).

*Cuadro 1. Características de diferentes caseínas (Charalambus, 1990; Coulltate, 1998; Wong, 1995; Srinivasan y col., 1999).*

	CASEÍNA			
	$\alpha_{s1}$	$\alpha_{s2}$	$\beta$	$\kappa$
Porcentaje del total de las caseínas ubicadas en la leche	40-55		25-35	10
Diámetro (nm)	30-300			
Peso molecular (Daltons)	23600	23600	2400	18000 a 19000
Composición	199 restos aminoácidos con 8 fosfoserilos y 12 restos de carbono	Rica en residuos catiónicos, es la mas hidrofila de todas las caseínas debido al alto grado de fosforización, 10-13 residuos fosfoseril/mol	Constituida por una sola cadena polipeptídica de 209 restos aminoácidos	Distribución asimétrica, alto contenido en ácido aspártico y glutámico; ácida y muy soluble
Hidrofobicidad	Hidrofobicidad de 1172 calorías por residuo, alta carga y baja hidrofobicidad; baja tendencia a formar agregados.	Hidrofobicidad de 1111 calorías por residuo. Tienen baja tendencia a formar agregados	Es la mas hidrófoba de las caseínas, 1334 calorías por residuo.	Hidrofobicidad 1310 calorías por residuo
Grupos Fósforo	Una parte muy fosforilada, residuos 41-80 representando la casi totalidad de la carga negativa.		Sus cinco restos fosfoserilo están agrupados en las proximidades del dominio N-Terminal (resots 1-43)	Sus monómeros tienen un solo resto fosfato y entre 0 y 5 cadenas de hidratos de carbono
Carga eléctrica	Carga negativa de -21 a pH 6.8	Carga negativa de -23 a pH 6.8	Carga negativa de -12 a pH 6.7	Carga negativa de -4 a pH 6.7
Comportamiento frente a iones calcio	Tiende a precipitar en presencia de iones calcio	Gran solubilidad en presencia de iones calcio	No precipitan bajo la acción del calcio tan fácilmente como la $\alpha_{s1}$	Es la menos sensible a la precipitación por iones calcio, ejerciendo una estabilización a las restantes caseínas
Otros	Fuerte asociación en la formación de micelas. Mejor distribución de los grupos hidrofílicos que la caseína $\beta$	Sus interacciones electrostáticas son muy importantes y dependen del pH	En la interfase agua-aceite compete con la $\alpha_{s1}$ por ser adsorbidas, siendo la caseína $\beta$ la de mayor facilidad para lograrlo e incluso puede desplazar a la ya adsorbida	

La micela de la caseína es aproximadamente esférica, aunque no posee una superficie lisa; está constituida de pequeñas unidades llamadas submicelas las cuales contienen aproximadamente una mezcla de las diferentes fracciones de caseína, predominando en gran medida las  $\alpha_{S1}$  y  $\beta$  caseínas, seguidas de  $\alpha_{S2}$  y  $\kappa$  caseínas las cuales representan el 93% de su peso. El 7% restante está constituido por 3% de calcio inorgánico, 3% de fosfato y pequeñas cantidades de magnesio, sodio, potasio y citrato. El calcio, el fosfato de calcio coloidal y el citrato, son componentes integrales y colectivamente estabilizan a la micela. El calcio neutraliza la carga repulsiva electrostática negativa sobre la caseína fosforizada facilitando las interacciones hidrofóbicas, permitiendo así la agregación de submicelas hasta formar una micela, donde aquellas con  $\kappa$ -caseína se encuentran hacia el exterior de la misma. La existencia de submicelas ha sido controversial en el pasado; sin embargo, existe ahora un consenso de que éstas existen (Walstra, 1999).

Cuando el calcio es removido de la micela, éstas se disocian, de forma que cuando se reconstituyen en agua, el caseinato de sodio se representa como pequeñas partículas de proteína asociadas, submicelas de caseína, de forma aproximadamente esférica de 10 a 20 nm de diámetro, en equilibrio con moléculas de caseína libre (Dickinson, 1999).

La solubilidad es importante para que se puedan dar las propiedades funcionales como capacidad de espumado, emulsificación, viscosidad y gelificación. La solubilidad del caseinato de sodio en agua, es mínima en el intervalo de pH de 3.8-4.0, debido a que se encuentra cercana al punto isoeléctrico de las proteínas que la conforman, pero aumenta dramáticamente con el aumento de pH de 6.5 a 8. Por otro lado, la solubilidad se incrementa con la adición de fosfato diácido de sodio ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), entre pH de 5.6 y 6.2. La solubilidad del caseinato de sodio también está en función de la hidrofobicidad, la cual aumenta al disminuir el pH por debajo de 3.75, debido a los

cambios que se dan en las estructuras conformacionales, es decir, la estructura  $\beta$  de las proteínas aumenta exponiendo a los grupos hidrófobos hacia la superficie.

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

### **1.1.2 SUERO DE LECHE**

El suero de la leche es una significativa fuente de proteínas funcionales:  $\beta$ -lactoglobulina ( $\beta$ -Lg) y  $\alpha$ -lactoalbúmina ( $\alpha$ -La) principalmente, obtenido como subproducto de la industria del queso y la caseína (Fox y McSweeney, 1998). Las proteínas de suero de leche tienen un excelente valor nutrimental, solubilidad variable en agua y capacidad emulsificante (Walstra y col., 1999).

El suero de leche, a diferencia de las caseínas, contiene menos ácido glutámico y prolina las cuales afectan en la adsorción, pero son más ricos en ácidos azufrados (cisteína y metionina). Hay observaciones que indican que la molécula sufre modificaciones cuando varía el pH (Cuadro 2), lo que presupone una estructura compacta, globular, estable, en el cual están incluidos los grupos ionizados y pierden sus características propias



Aunque la estructura tridimensional de la  $\beta$ -lactoglobulina no esté totalmente determinada, el conocimiento de la secuencia permite prever, parcialmente, la estructura secundaria: 10 a 50% de hélice  $\alpha$  según los métodos utilizados, 20 a 30% de dobles enlaces  $\beta$ , 50-60% de curvas  $\beta$  y de estructura no ordenada. Es una proteína de tipo globular donde la repartición de los residuos no polares, polares e ionizados es uniforme, los residuos hidrófobos se orientan en el seno de la molécula, lo que limita las asociaciones o interacciones con otras moléculas proteínicas. Sin embargo, las moléculas de  $\beta$ -lactoglobulina, se pueden asociar más o menos según el pH del medio.

Al igual que la  $\beta$ -lactoglobulina, la  $\alpha$ -lactoalbúmina es una proteína globular. Su estructura primaria presenta numerosas analogías de secuencia con la lisozima del huevo de gallina: 44 residuos de aminoácidos idénticos en 123. Además, la localización de cuatro uniones disulfuro es idéntica, lo que indica la similitud de estructuras tridimensionales de estas dos proteínas (Cheftel, y col., 1989).

*Cuadro 2. Características físico-químicas de las proteínas del suero de leche (Cheftel y col., 1989).*

Proteínas	Carga a pH 6,6		pH isoiónico		Volumen específico (ml/g)		Adsorción específica a 280 nm (cm <sup>2</sup> /g)		MM	Hidrofobicidad kJ residuo
	C (1)	E(2)	C (1)	E(2)	C (1)	E(2)	C (1)	E(2)		
$\beta$ Lacto-globulina A	-11	-11	5,2	-15,3	0,75	0,75	0,94	0,92	18362	5,03
$\alpha$ Lacto-albúmina B	-2,6	-2,6	-5,4	-4,8	0,73	0,74	2,00	2,01	14174	4,68

(1) C: Calculado

(2) E: Experimental

## 1.2 POLISACÁRIDOS

Son carbohidratos que están formados por monosacáridos (azúcar simple) unidos a través de enlaces glucosídicos. Se encuentran como cadenas ramificadas o lineales y pueden adoptar una conformación ordenada que son: a) zig-zag debido a la forma de enlaces con el oxígeno que unen a los monómeros, se encuentran puentes de hidrógeno entre grupos hidroxilo OH de monosacáridos vecinos; y b) helicoidal que resulta de la geometría en forma de U de la unión mediante el oxígeno entre los monosacáridos. O al azar, conformación de enrollamiento consiste en una geometría plegada de las uniones mediante el oxígeno (Cubero y col., 2002).

Debido al gran número de puentes y enlaces químicos que les permiten a sus moléculas una cierta rotación y flexibilidad de movimiento, estas rotaciones causan que los polímeros tomen estas diferentes conformaciones.

Los polisacáridos pueden ser clasificados de acuerdo al tipo de monómero constituyente:

- Homopolisacáridos están integrados por un solo tipo de monosacárido como el almidón o la celulosa.
- Heteropolisacáridos son aquellos que están formados por varios tipos de monosacáridos como el algarrobo, la goma arábica y el alginato (Cheftel y col., 1989).

En las interacciones de polisacáridos-agua, los polisacáridos tienen la capacidad de retener agua formando soluciones coloidales de alta viscosidad. El agua establece puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilo de los polisacáridos, en consecuencia, hay capas de moléculas de agua adyacentes a los grupos hidroxilo de los polisacáridos

parcialmente ordenados e inmovilizados. Los polisacáridos modifican y controlan la movilidad del agua en los sistemas que forman los alimentos. El agua de hidratación que está unida por puentes de hidrógeno y solvata a las moléculas de polisacáridos, se describe a menudo como agua cuya estructura ha sido modificada lo suficiente por la presencia de la molécula del polímero (Cheftel y col., 1989).

Algunas propiedades funcionales de los polisacáridos que dependen de la hidratación son: espesantes, estabilizantes, gelificantes y emulsificantes, que a su vez dependen de factores intrínsecos propios de la molécula como: conformación, peso molecular, hidrofobicidad, ionización, estructura; así como de factores extrínsecos del medio que los rodea y que pueden modificarse como pH, fuerza iónica, temperatura, entre otros. Otras propiedades funcionales de los polisacáridos son formación de películas, encapsulantes, agentes de volumen y sustitutos de grasa (Cubero y col., 2002).

### **1.2.1 XANTANA**

Al grupo de polisacáridos que tienen propiedades gelificantes y espesantes que son conocidas como gomas, son hidrocoloides (poseen carácter hidrofílico y se dispersan en soluciones como coloides) tanto naturales como sintéticos, se utilizan en la industria alimentaría para modificar las propiedades reológicas, no contribuyen al valor nutritivo del alimento ya que el humano no las metaboliza, no imparten color o sabor a los productos finales. Se utilizan para modificar las propiedades de flujo y la textura de los alimentos líquidos y las bebidas.

La xantana se obtiene por una polimerización por fermentación de la dextrosa por la bacteria *Xanthomonas campestris*, que se encuentra comúnmente en las hojas de las plantas de la familia de las coles (Cubero y col., 2002).

La xantana es un heteropolisacárido ramificado que está formado por un esqueleto de unidades de D-glucosa unidas entre sí por enlaces (1,4), una de cada dos glucosas se encuentra unida por un enlace (1,3) a una cadena lateral formada por dos manosas con un ácido glucurónico, entre ellas alrededor de la mitad de las terminales de la cadena lateral están unidos a un grupo de piruvato y el 90% de la manosas más próximas a la cadena central están acetilados en el carbono 6 (Figura 1) (Glicksman, 1981).

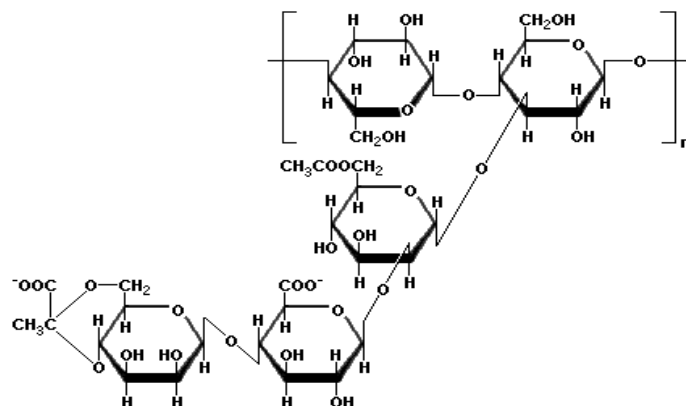


Figura 1. Estructura de la molécula de xantana (BeMiller, 1988).

La xantana es utilizada en la industria alimentaria debido a las siguientes características de importancia: solubilidad en agua fría o caliente, alta viscosidad a bajas concentraciones, presenta solubilidad y estabilidad en sistemas ácidos, puede formar interacciones con otras gomas, capacidad de estabilizar emulsiones y suspensiones, buena estabilidad de las soluciones frente a la congelación/descongelación. A elevadas temperaturas la hidrólisis ácida del polisacárido es acelerada dando lugar a viscosidades menores. Las sales divalentes, como las de calcio y magnesio presentes en las soluciones de xantana tienen un efecto similar sobre la viscosidad. Las viscosidades óptimas se obtienen a concentraciones salinas de aproximadamente 0,1%. Concentraciones de sales más altas no aumentan la estabilidad ni afectan a las propiedades reológicas de las soluciones de xantana (Glicksman, 1981).

Las características de las soluciones acuosas de xantana presentan un alto grado de viscosidad en comparación con las soluciones de otros polisacáridos. Una disolución rápida requiere una buena dispersión de las partículas de xantana en el medio acuoso. La viscosidad en las soluciones de xantana se recupera totalmente después de fuertes tratamientos térmicos.

Las disoluciones de xantana son fluidificantes pero no tixotrópicas, es decir que incluso después de un cizallamiento intenso, la viscosidad inicial se recupera instantáneamente. En la Figura 2 se observa como la xantana presenta dobles hélices cuando se encuentra hidratada, al aplicar fuerza de cizalla favorece la separación y el ordenamiento de las moléculas ocasionando un comportamiento pseudoplástico, este comportamiento al flujo incrementa las cualidades sensoriales (desprendimiento de aroma, palatabilidad) en los productos finales y garantiza un alto grado de mezclado, bombeado y vertido. Las soluciones de xantana son muy resistentes a las variaciones de pH, es decir son estables tanto en condiciones ácidas como alcalinas (BeMiller, 1988).

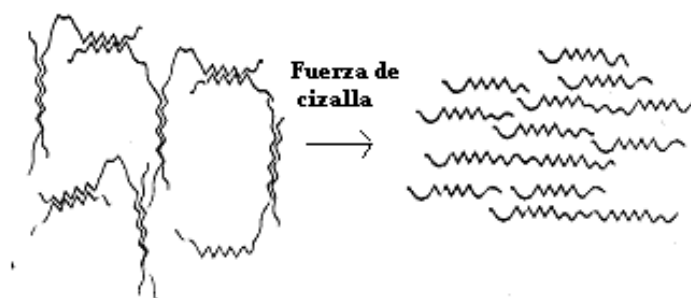


Figura 2. Propuesta del comportamiento de la xantana al aplicar fuerza de cizalla (BeMiller, 1988).

### 1.2.2 GOMA ARÁBIGA

La goma arábica es obtenida del exudado de determinadas especies del árbol de acacia, es uno de los biopolímeros más utilizados a escala industrial. Es un heteropolisacárido

ramificado formado por una cadena principal de unidades de B-galactopiranosas a la cual se le unen residuos de L-ramnopiranosas, de L-arabinofuranosas y de ácido glucurónico. Tiene remarcada solubilidad en agua, cerca del 40% a 24 °C. Su alta solubilidad da soluciones de alta viscosidad, y esto es de gran valor para estabilizar emulsiones en un amplio intervalo de pH y en presencia de los electrolitos (BeMiller, 1988; Dickinson y Mclements, 1996; Nussinovitch, 1997).

Como se mencionó anteriormente la goma arábica se utiliza como emulsificante, al igual que las proteínas; se utiliza como estabilizante de suspensiones especialmente en la industria de bebidas refrescantes; para formar películas protectoras; para encapsular y dispersar aromas, pigmentos, aceites esenciales en productos concentrados y en polvo. También estabiliza espumas y retrasa la formación de cristales de hielo (Dickinson y Galazka, 1989).

Muchas investigaciones se han llevado a cabo en los últimos años para revelar la estructura molecular de la goma y relacionarlo así con sus propiedades tensoactivas y reológicas. Recientemente, una serie de estudios sobre numerosas muestras de goma arábica se informó que al utilizar cromatografía, índice de refracción y detector de rayos ultravioleta, se mostró una gran variación en la composición molecular de la distribución del peso de los distintos componentes entre las muestras individuales. Esas variaciones son debidas al origen, tipo y edad del árbol, e incluso a los posibles efectos de las condiciones de proceso (BeMiller, 1988).

Una característica de la goma arábica es su capacidad para formar una película adsorbida en interfases aceite-agua, cuya superficie viscoelástica es bastante insensible a la dilución de la fase acuosa. La formación de una capa gruesa con alta estabilidad en torno a las gotas de la emulsión, permite a la emulsión de aceite estabilizar a un

concentrado o como bebidas diluidas. Para producir una emulsión estable, es necesario que exista suficiente adsorción de la goma durante la emulsificación para producir la estabilización de la capa requerida.

Este coloide hidrófilo también puede formar textura variada cuya estructura queda asegurada por enlaces hidrógeno y/o electrostáticos. La adición de coloides hidrófilos, puede modificar favorablemente varias propiedades funcionales de los sistemas dispersos (Dickinson y Galazka, 1989).

El efecto de la viscosidad se debe a que las largas moléculas lineales, que están extendidas a causa de numerosas cargas electrostáticas del mismo signo y su hidratación, asumen un volumen aparente máximo. Las moléculas ricas en grupos hidroxilo pero sin grupos ionizados, son menos sensibles a la adición del pH, a la concentración en electrolito y a la temperatura (BeMiller, 1988).

### **1.3 MEZCLA PROTEÍNA-POLISACÁRIDO**

En particular, las mezclas de proteínas y polisacáridos se pueden encontrar entre los ingredientes de una amplia gama de sistemas coloidales de alimentos como mayonesa y helados. Las proteínas son principalmente formadores de emulsión y agentes estabilizantes, mientras que los polisacáridos se utilizan principalmente como agentes espesantes. Además, ambos tipos de polímeros pueden contribuir a modificar las características texturales y estructurales de los productos alimenticios. La estabilidad y la textura de los alimentos coloidales no sólo depende de las propiedades funcionales de los ingredientes individuales, sino también de la naturaleza y de la fuerza de las interacciones de proteína-polisacárido (Dickinson, 1995).

Estas mezclas conducen también a la separación de fases debido a la incompatibilidad termodinámica o formación de complejos, dependiendo de la afinidad entre los diferentes biopolímeros y el disolvente (Doublier y col., 2000; Ye, 2008-a). La incompatibilidad termodinámica es un fenómeno frecuente cuando se utilizan proteínas con carga negativa en mezcla con polisacáridos, dependiendo de las condiciones de pH y fuerza iónica (Doublier y col., 2000). En los sistemas de proteína y soluciones de polisacárido el pH y fuerza iónica pueden influir en la asociación libre de las proteínas, ya que el polisacárido y las interacciones de proteína-polisacárido desempeñan un papel menor. La incompatibilidad entre los biopolímeros aumenta cuando el pH es suficientemente superior al punto isoeléctrico (PI) de la proteína (Syrbe y col., 1989).

### **1.3.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS NANOPARTÍCULAS FORMADAS**

Las mezclas de polímeros son a menudo inestables, lo que conduce a la separación de la mezcla en dos fases. Una dilución de mezcla de biopolímeros de proteínas y polisacáridos puede ser co-soluble y puede formar una solución estable, sin embargo, si las proteínas y polisacáridos, son incompatibles (es decir, si se repelen entre sí), se da una separación de las fases debido a su incompatibilidad termodinámica. En dicha separación de fases se muestra una fase rica de proteínas y otra fase de polisacáridos. En cambio, si las proteínas y polisacáridos muestran una atracción neta, generalmente a través de las interacciones electrostáticas (cuando tienen grupos de cargas opuestas), se produce una separación en la fase asociativa, dando lugar a la formación de complejos de proteína-polisacárido. La mezcla se separa en dos fases: la fase inferior contiene el complejo proteína-polisacárido y la fase superior contiene principalmente el disolvente (Tolstoguzov, 1991).

La formación de complejos entre proteínas y polisacáridos se produce en los valores de pH por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas y una fuerza iónica baja, por lo



general  $<0.3$ . Las moléculas de proteína tienen una carga positiva neta y se comportan como policationes a valores de pH por debajo del punto isoelectrico de los polisacáridos (De Kruif y col., 2004).

La formación de un complejo electrostático generalmente es un proceso reversible, en función de variables tales como el pH y la fuerza iónica. En general, los complejos electrostáticos se disocian cuando la fuerza iónica excede 0.2-0.3, o cuando el pH es superior al punto isoelectrico. Las interacciones hidrofóbicas y los puentes de hidrógeno, pueden llevar a la formación de un complejo irreversible (Doublier y col., 2000).

#### **1.4 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE HIDROCOLOIDES**

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

Es importante conocer otras propiedades fisicoquímicas como son el tamaño y la distribución de las nanopartículas que se forman a partir de la mezcla de hidrocoloides, como también la tensión superficial, debido a que el estudio de éstas reflejan el comportamiento de los hidrocoloides en medio acuoso.

### 1.4.1 TAMAÑO DE PARTÍCULA

Las nanopartículas se forman en un medio líquido, generalmente agua. Existen varios medios no acuosos, tales como alcoholes que también se pueden utilizar.

La importancia de determinar la distribución de tamaño de partícula es de suma importancia, ya que afectan las propiedades clave de coloides como la reología y la tensión superficial, entre otras. También pueden ser utilizadas para evitar la acumulación de partículas, debido a las colisiones entre partículas en el medio líquido, es decir que se formen agregados.

Una de las propiedades más importantes a considerar que se relaciona directamente con el tamaño y la distribución de partículas en el medio, es la naturaleza del hidocoloide a utilizar. La dispersión de hidocoloides que dan lugar a emulsiones, suspensiones y espumas, pueden resultar con valores de tamaño de partícula mayores que la clásica dispersión coloidal que va entre 1 nm y  $1 \times 10^3$  nm de diámetro. Los resultados de las emulsiones casi siempre son menores, usualmente tienen diámetros de  $0.2 \times 10^3$  nm y pueden tener diámetros mayores a los  $50 \times 10^3$  nm, las burbujas de espuma casi siempre son más extensas, usualmente con diámetros mayores a los  $10 \times 10^3$  nm y algunas veces superan los  $1000 \times 10^3$  nm. Las partículas en suspensión normalmente tienen partículas mayores a los  $0.2 \times 10^3$  nm y pueden ser mayores a los  $50 \times 10^3$  nm (Ye, 2008-a).

La distribución se representa usualmente por un histograma de tamaños y si hay suficiente información, una función de la distribución de tamaño. La estabilidad de la dispersión no es necesariamente una función de dispersión del tamaño de partícula, aunque puede haber un tamaño óptimo para algún tipo de dispersión individual.

En algunas dispersiones existen grandes intervalos de tamaño, los tamaños más pequeños de partícula representan la dispersión más estable, en dichos casos los cambios en la curva de distribución de tamaño de partícula con el tiempo produce una estabilidad en la mezcla de dispersiones. El tamaño de partícula también ejerce una influencia importante sobre la viscosidad, para la interacciones electrostáticas de las partículas, la dispersión de la viscosidad es mayor para una concentración mayor de masa o volumen, cuando las partículas son más pequeñas, por ejemplo, cuando hay interacción electrostática en las partículas, la viscosidad es mayor cuando las partículas son más pequeñas, debido a que el área en la interfase incrementa y las películas más delgadas incrementan su resistencia para flotar. La viscosidad de las dispersiones tiende a ser más alta cuando la dispersión del tamaño de partícula es relativamente homogénea, esto quiere decir, cuando la curva de distribución del tamaño de partícula es angosta en lugar de ser abierta. Las partículas dispersadas no siempre son esféricas aunque deberán tener un alto nivel de simetría y algunas veces se pueden aproximar a ser esféricas.

Hay pocos instrumentos de análisis en donde fácilmente se puede medir el tamaño de las partículas dispersas, cuando el tamaño se acerca a un nanómetro, sin embargo existen varios métodos para la determinación de la distribución de tamaño de partícula, destacando entre ellos el método de distribución de luz láser. La serie Zetasizer Nano es un equipo comercial que mide el tamaño de las partículas en medio acuoso mediante la observación de la dispersión de luz láser de estas partículas, la determinación de la velocidad de difusión y que se derivan del tamaño de ésta, usando la relación de Stokes-Einstein (Ye, 2008-a).

### 1.4.2 POTENCIAL ZETA

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

Se utiliza el modelo de la doble capa eléctrica para visualizar la atmósfera iónica en la proximidad de las partículas coloidales cargadas, y para explicar como actúan las fuerzas eléctricas de repulsión. Es posible entender este modelo, como una secuencia de etapas que ocurren alrededor de una partícula coloidal negativa, si los iones que neutralizan sus cargas son repentinamente separados (Figura 3).

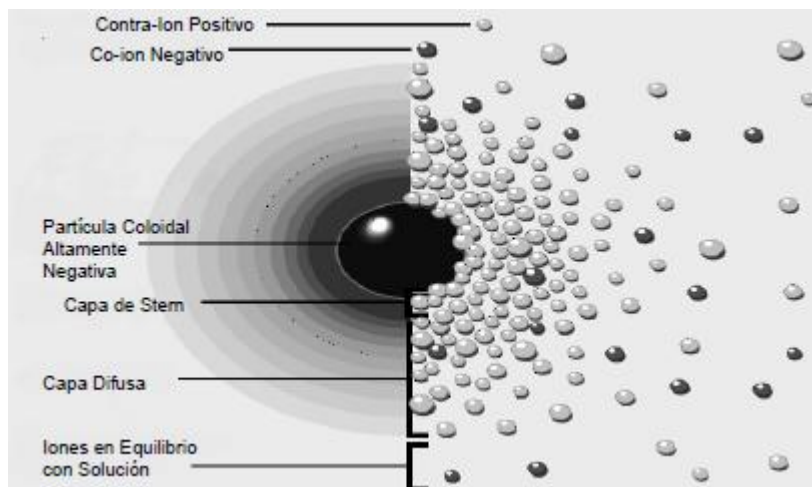


Figura 3. Modelo de la doble capa eléctrica (Sandoval y Montellano, 2003).

La vista izquierda de la Figura 3 muestra el cambio de la densidad de carga alrededor de la partícula coloidal. La vista derecha muestra la distribución de iones positivos y negativos alrededor de la partícula coloidal cargada.

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

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

En forma similar, aunque opuesta, la formación de la capa difusa se da debido a la presencia de iones negativos, llamados co-iones pues tienen la misma carga que la partícula coloidal. Su concentración incrementa gradualmente al alejarse de la partícula (Figura 4) y su espesor aumenta con el incremento de la temperatura, y disminuye cuando aumenta la concentración en los iones (Sánchez, 2004).

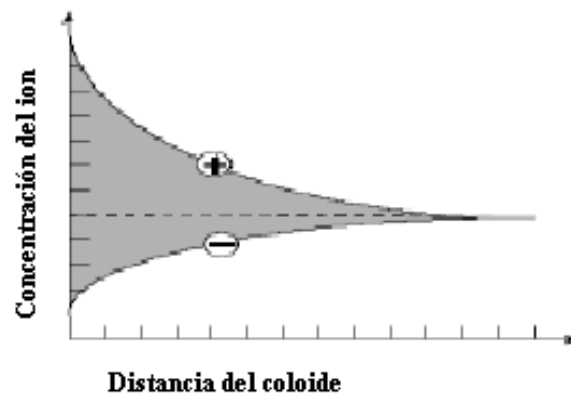


Figura 4. Variación en la concentración de iones positivos (contraiones) y negativos (coiones) en relación con la distancia del coloide negativo (Sánchez, 2004).

A cualquier distancia de la superficie, la densidad de la carga del sistema es igual a la diferencia de la concentración entre iones positivos y negativos. La densidad de carga es mucho mayor cerca de la partícula coloidal y gradualmente disminuye a cero cuando las concentraciones de iones positivos y negativos se asemejan. Por lo tanto la partícula coloidal se encuentra rodeada de una capa interna (capa de Stern) y otra externa (capa difusa), encontrándose entre ambas una mezcla de iones negativos y positivos, los cuales permiten que ambas capas se puedan encontrar en equilibrio dentro del sistema, llamándose esta zona entre ambas capas como potencial zeta.

La doble capa eléctrica (formada por las dos capas antes mencionadas) al poseer una capa cargada positivamente y otra negativamente, las cuales no sólo no permiten la incorporación en ellas de iones de su misma carga, sino que además los repelen, es capaz de generar efectos de repulsión entre las superficies de las partículas coloidales evitando su aglomeración (Figura 5). El espesor de esta doble capa depende del tipo y de la concentración de los iones de la solución. La presencia de la doble capa eléctrica alrededor de cada partícula coloidal provoca que éstas se repelan unas a otras.

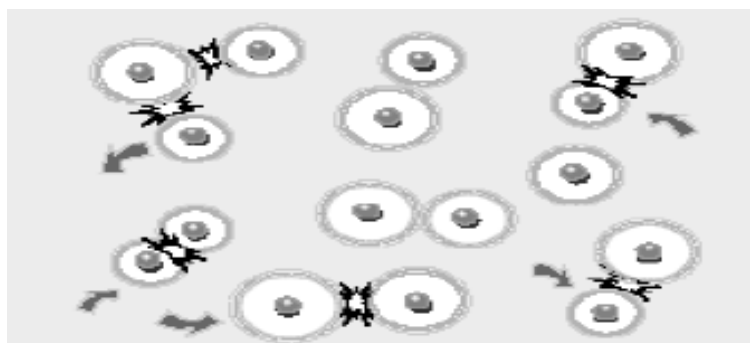


Figura 5. Presencia de la doble capa eléctrica (Sandoval y Montellano, 2003).

El potencial zeta depende de factores tales como: la temperatura, la presencia de compuestos activos o surfactantes, la concentración, el tipo de iones y el pH, que a su

vez está relacionado con el punto isoelectrico de la partícula coloidal, el cuál estabiliza el sistema a un pH por encima de éste (Sandoval y Montellano, 2003).

### **1.4.3 TENSION SUPERFICIAL**

En el interior de un líquido una molécula es atraída por las fuerzas de cohesión que le rodean, de manera que el efecto total es nulo. Pero en la superficie, las fuerzas que atraen a las moléculas hacia abajo no pueden ser neutralizadas por las moléculas superiores, porque no existen. A causa de este hecho los líquidos tienden siempre a presentar la menor superficie libre posible, y así por ejemplo, una gota adopta la forma esférica porque ésta, a igualdad de volumen le corresponde la mínima superficie.

Esta tendencia de las superficies libres a contraerse es motivo de una fuerza que actúa tangencialmente a la superficie libre y normal al borde de sujeción de ésta, recibe el nombre de tensión superficial y mide la fuerza por unidad de longitud del borde de sujeción.

La adsorción es la acumulación espontánea de materia de naturaleza anfipática en la interfase, de tal manera que al ocupar un lugar en ella se produce una disminución en la energía libre de la superficie disminuyendo la tensión superficial. La adsorción de moléculas da lugar a la formación de monocapas, al posicionarse los grupos hidrofóbicos hacia la fase no polar (aire) y la parte hidrofílica hacia la polar (líquido) (Norde, 2003).

Una característica que tienen las proteínas es la rápida adsorción en la superficie, en comparación con los hidrocoloides (Dickinson, 2002). La adsorción de las moléculas en solución es un proceso competitivo, éste ocurre por la interacción entre las moléculas de soluto y el material adsorbente. Aquellas moléculas que tengan una

mayor afinidad con el adsorbente serán las que logren adsorberse en la interfase. Existen interacciones que se involucran durante dicho proceso, como son:

1.- Interacciones de Van der Waals, son fuerzas de estabilización molecular; forman un enlace químico no covalente en el que participan dos tipos de fuerzas o interacciones, las fuerzas de dispersión (que son fuerzas de atracción) y las fuerzas de repulsión entre las capas electrónicas de dos átomos contiguos (Butt y col., 2006).

- Fuerzas de dispersión; todos los átomos, aunque sean apolares, forman pequeños dipolos debido al giro de los electrones en torno al núcleo. La presencia de este dipolo transitorio hace que los átomos contiguos también se polaricen, de tal manera que se producen pequeñas fuerzas de atracción electrostática entre los dipolos que forman todos los átomos.
- Repulsión electrostática; a estas fuerzas de dispersión se opone la repulsión electrostática entre las capas electrónicas de dos átomos contiguos.

2.- Puentes de hidrógeno; los átomos fuertemente electronegativos, como nitrógeno, oxígeno o flúor, cuando forman enlaces con hidrógeno, adquieren mayor densidad electrónica que éste y una carga parcial negativa  $d(-)$ , dejando al hidrógeno con carga parcial positiva  $d(+)$ . Entonces, cuando uno de estos átomos se aproxima a un hidrógeno unido a otro átomo electronegativo, se forma una atracción entre las cargas contrarias que recibe el nombre de interacción o enlace por puente de hidrógeno. Estos enlaces son de baja energía (5 kcal/mol) pero muy selectivos en cuanto a la dirección en que se forman, lo que los hace muy importantes en la estructura de las moléculas orgánicas (Norde, 2003).



3.- Interacciones hidrófobas, la tendencia de los grupos no polares, a alejarse del agua, promueve su agrupación en el interior de las moléculas orgánicas en donde (grupos no polares del adsorbente y el adsorbato interactúan en medio acuoso).

- 1ra etapa: Los residuos hidrófobos de los biopolímeros se transportan hacia la interfase, lo que provoca un decremento en la tensión superficial. Los mecanismos de transporte pueden ser difusión y convección en flujos laminar y turbulento.
- 2da etapa: Se empiezan a posicionar las moléculas en la interfase. La ordenación conformacional del biopolímero es rápida, ésta es flexible y lenta para aquellas que tienen estructura rígida. La concentración del biopolímero en la interfase aumenta hasta alcanzar el estado de equilibrio cuando la superficie se satura irreversiblemente por las moléculas adsorbidas. Las moléculas adsorbidas se colapsan y empiezan a interactuar entre ellas, formando agregados llamados submicelas (Norde, 2003).

Una propiedad característica de los biopolímeros surfactantes es que forman estructuras definidas al interactuar espontáneamente entre ellos. La micelización ocurre por una atracción entre los grupos hidrófobos de la molécula anfipática y una repulsión entre las partes hidrofílicas, una vez que la interfase se ha saturado. Los biopolímeros surfactantes debido a su naturaleza polar-apolar de sus moléculas presentan un fenómeno denominado “Concentración de adsorción crítica”, donde las moléculas disminuyen la tensión superficial de la sustancia en concentraciones por debajo a la crítica, en que estos mismos han cubierto la totalidad de la superficie. Arriba de esta concentración las moléculas del surfactante se dirigen hacia el interior del líquido formando agregados de moléculas sencillas, como consecuencia se produce

una estructura con una orientación específica de alto peso molecular. Debido a esto se observan cambios bruscos en las propiedades fisicoquímicas (Butt y col., 2006; Norde, 2003).

A través del comportamiento de la tensión superficial frente a la concentración de una determinada sustancia se muestra en la Figura 6, donde se obtiene la concentración de adsorción crítica la cual es el punto cuando cambia la pendiente, así como el comportamiento que está directamente relacionado con la estructura que posee el sistema (Butt y col., 2006).

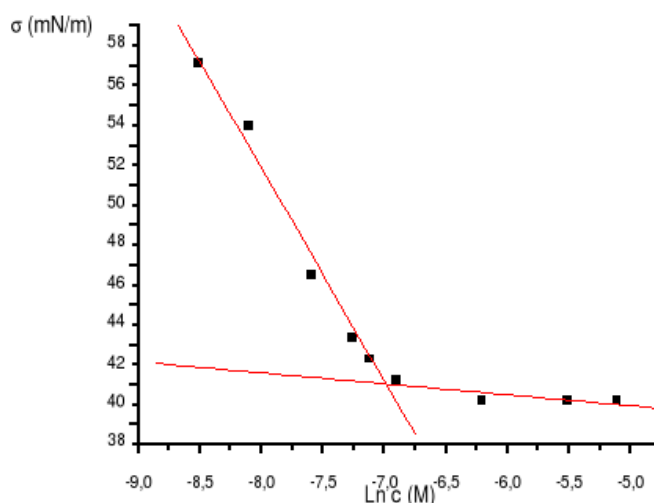


Figura 6. Curva para obtener la concentración de adsorción crítica de un sistema acuoso.

La característica más importante responsable de las propiedades emulsionantes de una proteína soluble, es su capacidad para difundirse hacia la interfase y adsorberse. Se admite generalmente, que desde el instante en que una parte de la molécula entra en contacto con la interfase, los residuos de los aminoácidos no polares se orientan hacia la fase no acuosa, la energía libre del sistema desciende y la proteína restante se adsorbe espontáneamente. Durante la adsorción, la mayor parte de las proteínas se

despliegan completamente y si hay disponible una gran superficie, se extiende una capa monomolecular. Según algunos autores, cuanto más hidrófoba sea la proteína, más elevada será la concentración proteínica en la interfase, menor la tensión superficial y por lo tanto el sistema disperso más estable (Cheftel y col., 1989).

La tensión superficial se puede dividir en tres regímenes de tiempo que son típicos principalmente en las proteínas. En la Figura 7 se observa un caso hipotético. El primer régimen es el de inducción, donde la tensión superficial sigue siendo relativamente constante en los valores del líquido puro. El régimen II se caracteriza por una fuerte disminución de la tensión superficial de ese valor inicial. El régimen final es una disminución constante de la tensión superficial. La reducción lenta de la tensión en el régimen III a menudo se extiende por varias horas (Ward y Regan, 1980; Tomberg, 1978).

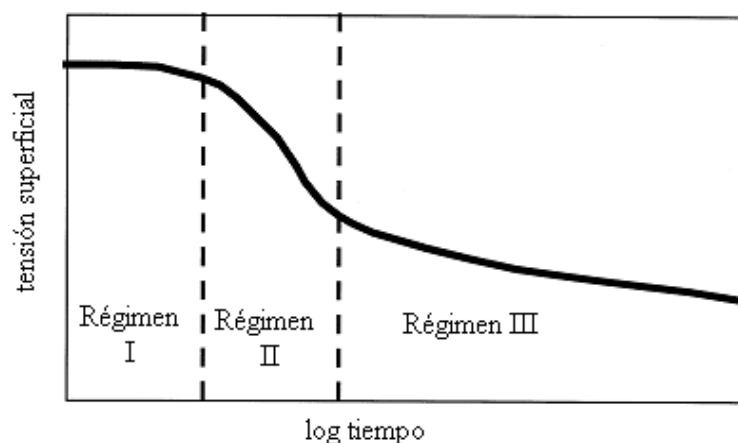


Figura 7. Representación de los regímenes presentes en la concentración de adsorción crítica de los hidrocoloides (Tomberg, 1978).

## 1.5 COMPORTAMIENTO AL FLUJO, PRUEBAS EN CIZALLA ESTACIONARIA

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

El líquido ideal o newtoniano se define como aquel en el que la representación del esfuerzo de cizalla ( $\sigma$ ) en función de la velocidad de cizalla ( $\dot{\gamma}$ ), es una línea recta que empieza del origen. En estos fluidos la viscosidad es constante para cualquier velocidad de cizalla aplicada (Steffe, 1996).

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

$$\sigma = \eta \dot{\gamma}$$

Donde:

$\sigma$  : Esfuerzo de cizalla (Pa)

$\eta$  : Viscosidad (Pa.s)

$\dot{\gamma}$  : Velocidad de cizalla (1/s)

Los fluidos no newtonianos son aquellos cuya relación esfuerzo- velocidad de cizalla no es lineal. Los fluidos no-newtonianos se clasifican en:

- a) Fluidos independientes del tiempo; son aquellos para los cuales la velocidad de cizalla en un punto dado depende solamente del esfuerzo de cizalla en este punto y no del tiempo; estos se clasifican en:

1.- Fluidificantes a la cizalla, en estos fluidos la viscosidad aparente disminuye al incrementarse la velocidad de cizalla. La mayoría de los fluidos no newtonianos se encuentran en esta categoría. Uno de los modelos matemáticos más conocidos que describe este tipo de comportamiento es el modelo de la potencia.

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

Donde:

$k$  = índice de consistencia del fluido (Pa.s<sup>n</sup>)

$n$  = índice de comportamiento al flujo (adimensional)

$n < 1$  si es fluidificante a la cizalla

$n > 1$  si es espesante a la cizalla

2.- Espesante a la Cizalla, es un fenómeno de espesamiento independiente del tiempo que se da a altas velocidades de deformación. La gráfica no es lineal, pero los valores de esfuerzo y velocidad de deformación están unívocamente relacionados (espesamiento de estado estacionario). La viscosidad aparente aumenta al incrementar la velocidad de cizalla.

b) Fluidos dependientes del tiempo; son aquellos para los cuales la velocidad de cizalla es una función tanto de la magnitud como de la duración del esfuerzo y dependen del tiempo. Se clasifican en:

1.- Tixotrópicos; el esfuerzo de cizalla disminuye reversiblemente con el tiempo de cizallamiento para una velocidad de cizalla dada a una temperatura constante. Después de cierto tiempo de cizallamiento ya no presenta dependencia del tiempo, presentando una curva que puede obedecer a la ley de la potencia con  $n < 1$ .

2.- Antitixotrópicos; muestran un incremento reversible de viscosidad con el tiempo de cizallamiento, a una velocidad de cizalla dada. En cierto tiempo de cizallamiento estos fluidos presentan una curva que obedece a la ley de la potencia  $n > 1$  (BeMiller, 1988).

Existen varios modelos empíricos con los cuales se puede correlacionar el comportamiento de los fluidos plásticos, dentro de ellos se encuentran:

- Modelo de Bingham; para este tipo de flujo la ecuación que la describe es:

$$\sigma = \sigma_0 + \eta_p \dot{\gamma}$$

Donde:

$\sigma$  : Esfuerzo de cizalla (Pa)

$\sigma_0$  : Esfuerzo inicial (Pa)

$\eta_p$  : Viscosidad plástica (Pa.s)

$\dot{\gamma}$  : Velocidad de cizalla (1/s)

La resistencia inicial puede sobrepasarse por un mínimo esfuerzo inicial, cuando el flujo comienza. Una vez que el esfuerzo inicial es aceptado, comienza el flujo y la sustancia actúa de la misma manera que un fluido newtoniano (BeMiller, 1988).

- Modelo de Herschel-Bulkley; es un modelo que amplía la ecuación de la potencia con el término correspondiente al esfuerzo inicial ( $\sigma_0$ ).

$$\sigma = \sigma_0 + k \dot{\gamma}^n$$

Donde:

$\sigma$  : Esfuerzo de cizalla (Pa)

$\sigma_0$  : Esfuerzo inicial

$k$  : Índice de consistencia del fluido (Pa.s<sup>n</sup>)

$n$  : Índice al comportamiento al flujo (adimensional)

$\dot{\gamma}$  : Velocidad de cizalla (1/s)

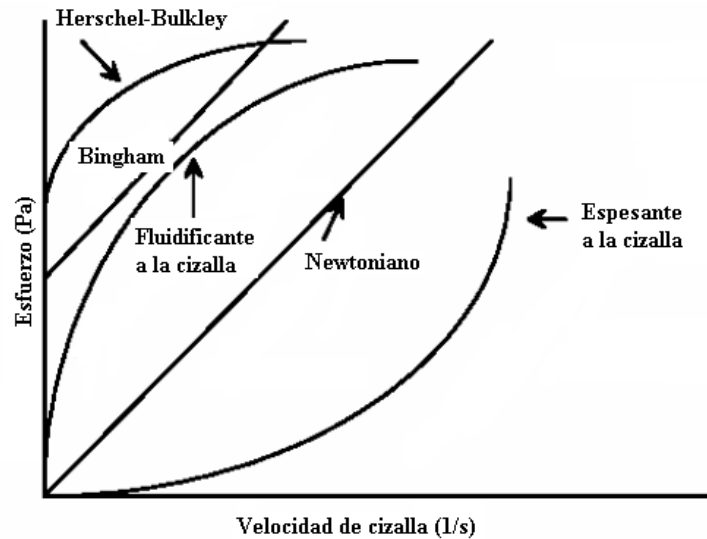


Figura 8. Tipos de fluidos independientes del tiempo (Glicksman, 1981).

- Modelo de Carreau; describe la variación de viscosidad con la velocidad de cizalla que se puede observar en la Figura 9, este modelo tiene tres parámetros  $\eta_0$ ,  $t_c$  y  $n$ , en el modelo original también hay un cuarto parámetro  $\eta_1$  ó viscosidad de cizalla infinita, que es generalmente despreciado por ser muy pequeño en relación con  $\eta_0$  (Tiu y col., 1995).

$$\frac{\eta}{\eta_0} = \frac{1}{\left[1 + (t_c \dot{\gamma})^2\right]^{(1-n)/2}}$$

El parámetro  $n$  es el índice de comportamiento de la ley de la potencia y el parámetro  $t_c$  es un tiempo característico, que es recíproco de la velocidad de cizalla crítica a partir de la intersección de la región de viscosidad constante en la curva de flujo. El

recíproco de  $t_c$  está cerca de  $s^{-1}$ , confirmando la velocidad de cizalla crítica reportados por otros (Thurston y Pope, 1981).

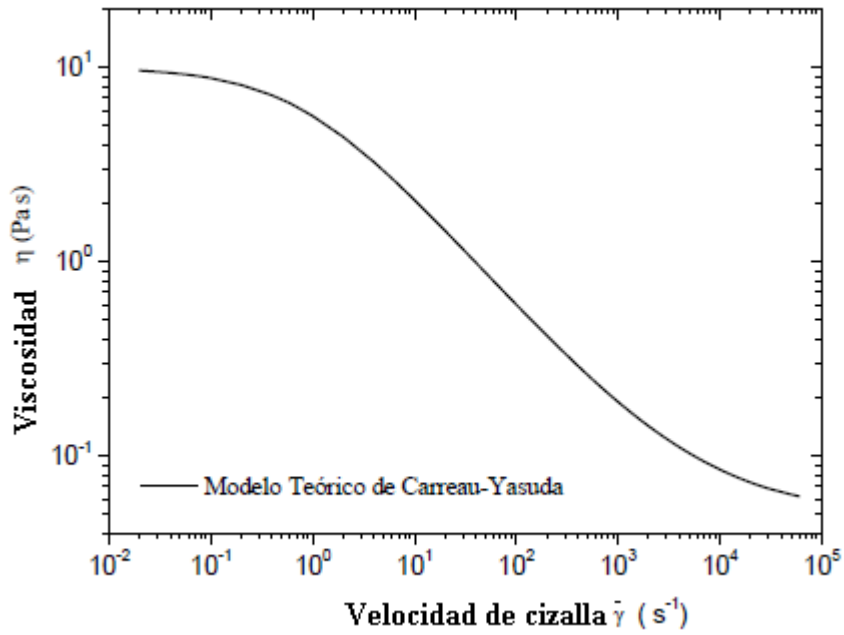


Figura 9. Representación del comportamiento viscoso de un fluido no newtoniano empleando el modelo de Carreau (Thurston y Pope, 1981).



## **CAPÍTULO II. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL**

### **2.1 Objetivos**

#### **2.1.1 Objetivo general**

Evaluar el efecto del polisacárido (xantana y goma arábiga) sobre la formación de nanopartículas con proteína láctea en medio acuoso analizando su comportamiento al flujo y la adsorción en la interfase mediante pruebas de cizalla estacionaria, tensión superficial, potencial zeta y tamaño de partícula.

#### **2.1.2 Objetivos particulares**

##### *Objetivo particular 1:*

Determinar el tamaño, distribución de partícula y potencial zeta de las nanopartículas formadas por proteína láctea y polisacáridos en medio acuoso mediante difracción de rayo láser, identificando el efecto del polisacárido.

##### *Objetivo particular 2:*

Determinar la adsorción en interfase de las nanopartículas formadas por proteína láctea y polisacáridos en medio acuoso mediante pruebas de tensión superficial dinámica, identificando el efecto del polisacárido.

##### *Objetivo particular 3:*

Determinar el comportamiento al flujo de proteína láctea en medio acuoso con polisacáridos, identificando el efecto del polisacárido, mediante pruebas de cizalla estacionaria.

## **2.2 Materiales y métodos**

### *2.2.1 Preparación y tratamiento de las muestra*

Las proteínas que se utilizaron fueron; caseinato de sodio (Lactonat EN, lote No. 31023, Lactoprot, Alemania) y suero de leche (Dairygold, WPC 34, Mitchelstown, Reino Unido), los dos a 2% de concentración. Los polisacáridos que se utilizaron: xantana a 0.3 y 0.5% (Kelco División de Merck & Co. Inc., lote No. 22533K, San Diego, California) y goma arábica a 5 y 10% (Colloides Naturels de México, Distrito Federal, México).

La humedad de los polvos se determinó por medio de una termobalanza digital (Ohaus MB45, San Luis Potosí, México).

### *Preparación de las soluciones acuosas con los componentes individuales*

Las soluciones acuosas con los componentes individuales se realizaron dispersando lentamente el hidrocoloide, el medio dispersante fue agua destilada a una temperatura de 25 °C, se utilizó un agitador de alta velocidad a 2674 rpm (Silverson L4R), y se dejó reposar cada solución por un tiempo de 15 minutos manteniendo la temperatura constante, posteriormente se volvió a someter cada solución bajo agitación magnética (agitador de alta velocidad) agregándole azida de sodio a 0.02% como conservador, se mezcló durante 10 minutos y se dejó reposar otros 10 minutos. Para garantizar la homogeneidad de las disoluciones fue necesario mezclarlas durante dos minutos en el agitador de alta velocidad a 2674 rpm.

### *Preparación de las soluciones acuosas en mezcla*

Las disoluciones acuosas en mezcla se realizaron dispersando lentamente el polisacárido y la proteína por separado, facilitando así la hidratación de los mismos mediante un agitador de alta velocidad a 2674 rpm, se utilizó agua destilada a una temperatura de 25 °C, de igual forma que las soluciones con los componentes

individuales se dejó reposar cada solución por un tiempo de 15 minutos a temperatura constante, se sometió la muestra bajo agitación magnética a 2674 rpm y se agregó azida de sodio (0.02%), el cual se mezcló durante 10 minutos y se dejó reposar otros 10 minutos. Posteriormente se mezcló la muestra durante dos minutos en el agitador de alta velocidad a 2674 rpm.

Mediante pruebas de potencial zeta y tamaño de partícula se pudo comprobar la formación de las nanopartículas generadas por las interacciones entre los hidrocoloides estudiados, bajo las condiciones de elaboración.

### ***Preparación de la muestra para pruebas de adsorción en interfase***

Las soluciones tanto en mezcla como con los componentes individuales, se diluyeron hasta obtener concentraciones de  $1 \times 10^{-3}$ , las diluciones se extrajeron de las muestras con las concentraciones iniciales; es decir, la solución de xantana al 0.3 y 0.5%, la solución de goma arábica al 5 y 10%, caseinato de sodio y suero de leche al 2% y las mezclas, se empleó agua destilada a una temperatura de 25 °C como diluyente, se utilizó una pipeta de 2 ml para realizar las diluciones, se mezcló cada muestra mediante el agitador de alta velocidad a 2674 rpm durante 10 minutos y se agregó azida de sodio al 0.02%, se dejó reposar cada muestra durante 10 minutos.

Para estas pruebas donde se obtiene la tensión superficial, se midió la densidad de cada muestra con el densímetro digital DA-110M (Mettler Toledo, Japón).

### ***2.2.2 Potencial zeta y tamaño de partícula***

Las mediciones se realizaron en un Zeta Sizer Nano Green Bagde (modelo ZEN3600, Malvern, Inc, USA) con un intervalo en el tamaño de partícula de 3 nm a 10  $\mu$ m. Para la medición de potencial zeta de cada muestra realizada a una temperatura de 25 °C, se

utilizó el índice de refracción para el medio dispersante de 1.330. Cada prueba se realizó por triplicado bajo las mismas condiciones.

En los analizadores de tamaño de partícula de Malvern Instrument se emplea la técnica de difracción de rayo láser la cual utiliza el principio físico de la dispersión de las ondas electromagnéticas. Las partículas expuestas a un rayo láser paralelo desvían la luz con un ángulo sólido fijo que depende del diámetro de las partículas. Una lente enfoca la luz dispersada en los anillos de un sensor montado en el plano focal de la lente. La luz no difractada converge en el punto focal del eje óptico. Con ayuda de matemáticas complejas, la distribución de la intensidad de la luz dispersada puede calcularse para estimar la distribución del tamaño de partícula del colectivo de las partículas. Se obtiene como resultado un diámetro de partícula que corresponde a la difracción láser de una partícula esférica con un diámetro equivalente (Diámetro Sauter Medio). Se mide el promedio volumétrico de diámetros y la distribución del tamaño de partícula resultante es una distribución en función al volumen.

Para la obtención del potencial zeta se utiliza la técnica para medir el movimiento de las partículas cargadas bajo un campo eléctrico utilizando el efecto Doppler. La luz difundida por una partícula en movimiento experimenta un cambio de frecuencia. Como la frecuencia de la luz es alta (10<sup>14</sup> Hz), el cambio de frecuencia sólo se puede medir por una mezcla de ópticas o por una técnica de interferometría.

Uno de estos rayos pasa través de una partícula en dispersión (haz difractado), el otro rayo (haz de referencia) pasa a través de la muestra o bien puede ser conducido alrededor de ella. Los dos haces se deben comparar en un punto después de que el haz difractado haya pasado a través de la muestra comparando la diferencia de frecuencia (con un cambio Doppler) entre la luz difundida y la luz incidente (haz de referencia) se

puede determinar la movilidad de las partículas, gracias a la influencia del campo eléctrico que se aplica.

### *2.2.3 Tensión superficial*

Las mediciones de tensión superficial dinámica se realizaron a 25 °C en un tensiómetro de gota colgante, (Modelo PAT-1, Sinterface Technologies, Alemania), en donde una gota de la muestra en estudio se forma en la punta de un capilar. La silueta de la gota se monitorea con una cámara y se digitaliza. Esta imagen se procesa en un ordenador y a partir de ellas se calculan las coordenadas del perfil de la gota, se amplía y se mide el diámetro máximo, el diámetro menor y la distancia que hay en el diámetro máximo de la base de la gota. La imagen digital de la gota se graba conforme el tiempo transcurre y los parámetros característicos (volumen, área y tensión superficial) se obtienen tras ajustar los perfiles de gota experimentales a la ecuación de capilaridad de Young-Laplace (utilizando el programa comercial proporcionado por el fabricante) (Sinterfase, 2011).

Para cada disolución se realizó la prueba por triplicado hasta que se obtuvo la tensión superficial constante.

### *2.2.4 Pruebas de flujo en cizalla estacionaria*

Para la determinación del comportamiento al flujo se utilizó un reómetro de control de esfuerzo Physica modelo LS 100, se empleó geometría de doble espacio angular (DG1) con la relación de radios 1.041. Para las soluciones con los componentes individuales se establecieron las condiciones de acuerdo al hidrocoloide utilizado, para esto fue necesario realizar pruebas previas con la finalidad de obtener las condiciones apropiadas para obtener el comportamiento al flujo de cada hidrocoloide, para la xantana se realizó un barrido de ascenso de torque de  $1 \times 10^{-3}$  a 1 mNm y descenso de 1

a  $1 \times 10^{-3}$  mNm en escala logarítmica en 20 puntos y 15 segundos. Para las proteínas lácteas se controló de igual forma el torque, en el barrido de ascenso en escala logarítmica de 0.001-0.15 mNm y descenso 0.15-0.001 mNm en escala lineal en 20 puntos y 15 segundos.

Para todas las mezclas y la goma arábica en medio acuoso se establecieron las mismas condiciones en las cuales se controló la velocidad de cizalla de  $1-100 \text{ s}^{-1}$ , sometién dose a un precizallamiento con un tiempo de un segundo en cada punto con un total de 30 y velocidad constante de  $100 \text{ s}^{-1}$ , el barrido de ascenso en escala logarítmica con 30 puntos y 10 segundos en cada punto y descenso en escala lineal bajo las mismas condiciones que el ascenso.

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

## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 3.1 Tamaño, distribución de partícula y potencial zeta de las nanopartículas

#### Componentes individuales

La distribución del tamaño de las nanopartículas formadas en los sistemas acuosos de diferentes hidrocoloides en agua destilada (25 °C) se muestra en la Figura 10, a diferentes concentraciones de hidrocoloides. De acuerdo con los datos del Cuadro 3 se observa que el valor promedio del tamaño de las nanopartículas formadas con goma arábica en medio acuoso aumenta conforme a la concentración, el patrón de dispersión se caracteriza por un pico definido, la posición, forma e intensidad del pico depende de la concentración de la disolución, este pico definido representa tamaños de partículas de 600-1000 nm según la concentración del polisacárido, sin embargo, existen nanopartículas de menor tamaño (80 nm) que se pueden apreciar en la Figura 10 para la menor concentración de goma arábica y 500 nm para la concentración del 10%, a pesar que la cantidad de nanopartículas de estos tamaños es mínima en comparación con el pico representativo, se considera que la curva es bimodal en ambos casos, esto quiere decir que la curva es representada por dos picos, para el caso particular de la goma arábica a 10% el primero pico que mostró tamaño de partícula de 500 nm y el segundo pico con tamaños de partícula de 1200 nm (Figura 10-a), la presencia de partículas de mayor tamaño puede ser indicio de formación de agregados.

En la medición de la mayor concentración (10% p/p) (Figura 10-a) el pico se hace significativamente más amplio, debido posiblemente, a la aparición de agregados del polímero, se ha reportado el mismo comportamiento ya antes mencionado (Dror y col., 2006).

La xantana al igual que la goma arábica presenta una distribución bimodal (Figura 10); en su estructura, la molécula del hidrocoloide tiende a formar dobles hélices (Saggun y Coupland, 2004), que a su vez constituyen agregados, los cuales al estar en medio acuoso forman partículas con tamaños promedio de 5811 nm a 0.3% de goma y a concentración de 0.5% aumentan casi al doble el valor promedio del tamaño de las partículas formadas (Cuadro 3) formando agregados y no se aprecia la presencia de moléculas individuales como se puede observar a 0.3% de xantana, cuando estas partículas agregadas que se comienzan a asociar a tamaño de partícula de 900 nm (Figura 10-b). Se ha reportado que la xantana a concentraciones de 0.5% a pH de 5.1 y utilizando 0.05% de sorbato de potasio como conservador, calentando las muestras a 80 °C como pre-tratamiento posteriormente mezclando durante 3 horas, presentaron tamaños de partícula menores a 20,000 nm, considerando que se observa de forma evidente una distribución bimodal con dicha goma, la variación en el tamaño de partícula con el experimental se debe a las condiciones en las que se llevó a cabo la medición y el pre-tratamiento utilizado (Huang y col., 2001).

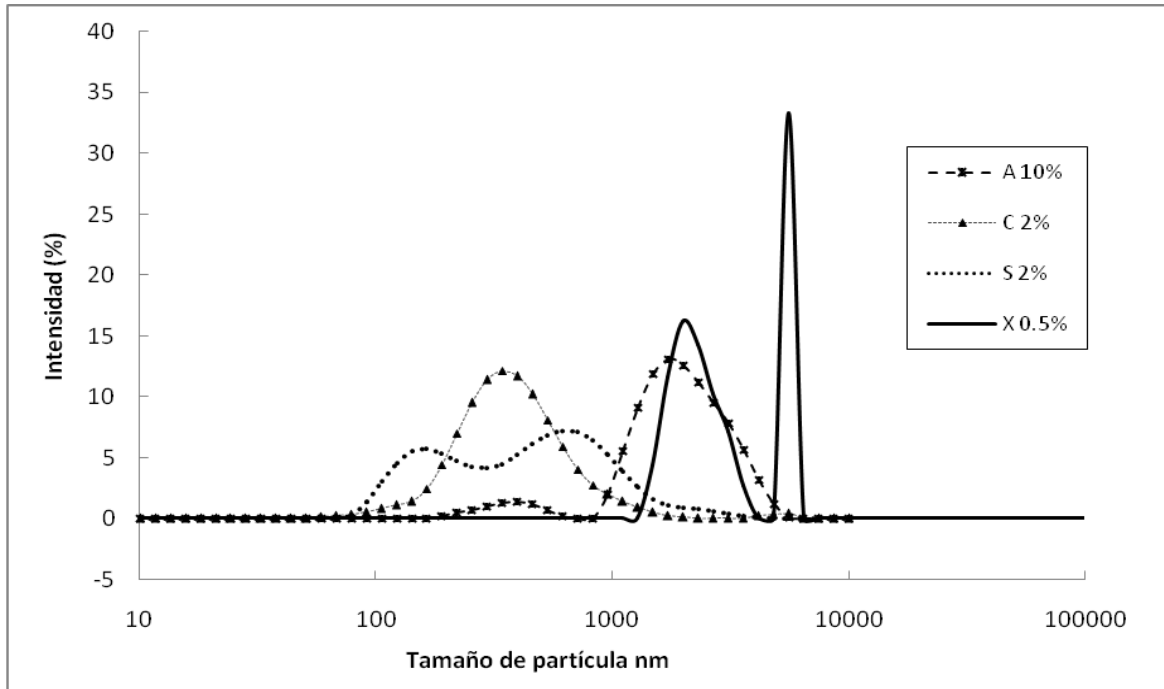
*Cuadro 3. Valores de diámetro Sauter medio de las partículas de sistemas acuosos elaborados con los hidrocoloides individuales*

<b>MUESTRA</b>	<b>DIÁMETRO (nm)</b>	<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>
Goma arábica 5%	646	6.3
Goma arábica 10%	1384	12.7
Xantana 0.3%	5811	563.6
Xantana 0.5%	10021	1166
Caseinato de sodio 2%	327	1.5
Suero de leche 2%	309	3

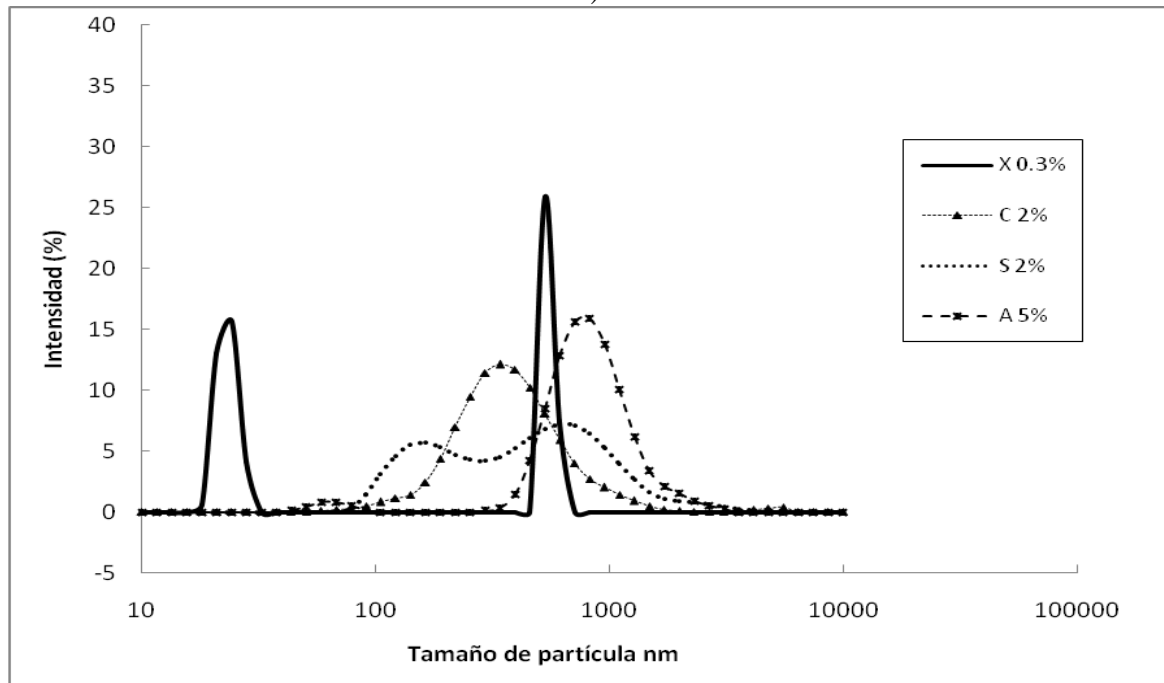


Los polisacáridos, debido a la naturaleza de los mismos muestran comportamiento diferente al de las proteínas lácteas, en la Figura 10 el caseinato de sodio y el suero de leche tienen tamaño de partícula menores a los polisacáridos a la mayor concentración de polisacáridos. El caseinato de sodio tiene una distribución monomodal, es decir que sólo existe un pico representativo en la curva (Figura 10), se reportó que sin importar la concentración de la proteína láctea el comportamiento sigue resultando monomodal para el caso del caseinato de sodio (Moughal y col., 2000).

El caseinato de sodio es polidisperso (Figura 10) cuyo valor promedio del tamaño de partícula es de 327 nm, siendo aún menor el del suero de leche (Cuadro 3), además de presentar la curva bimodal, esta diferencia entre las proteínas lácteas se debe a que sin importar que las dos son proteínas globulares, el suero de leche presenta una estructura secundaria bien definida a diferencia del caseinato cuya estructura secundaria de las caseínas que la integran no está bien definida y la hace más flexible, las cuales en medio acuoso forman agregados conocidos en algunos casos como submicelas (Walstra, 1999; Euston y Horne, 2005).



a)



b)

Figura 10. Distribución de tamaño de partícula de los hidrocoloides individuales, caseinato (C) y suero de leche (S) a concentración de 2%. (a) Goma arábica (A) 10% y xantana (X) 0.5%, (b) goma arábica 5% y xantana 0.3%.

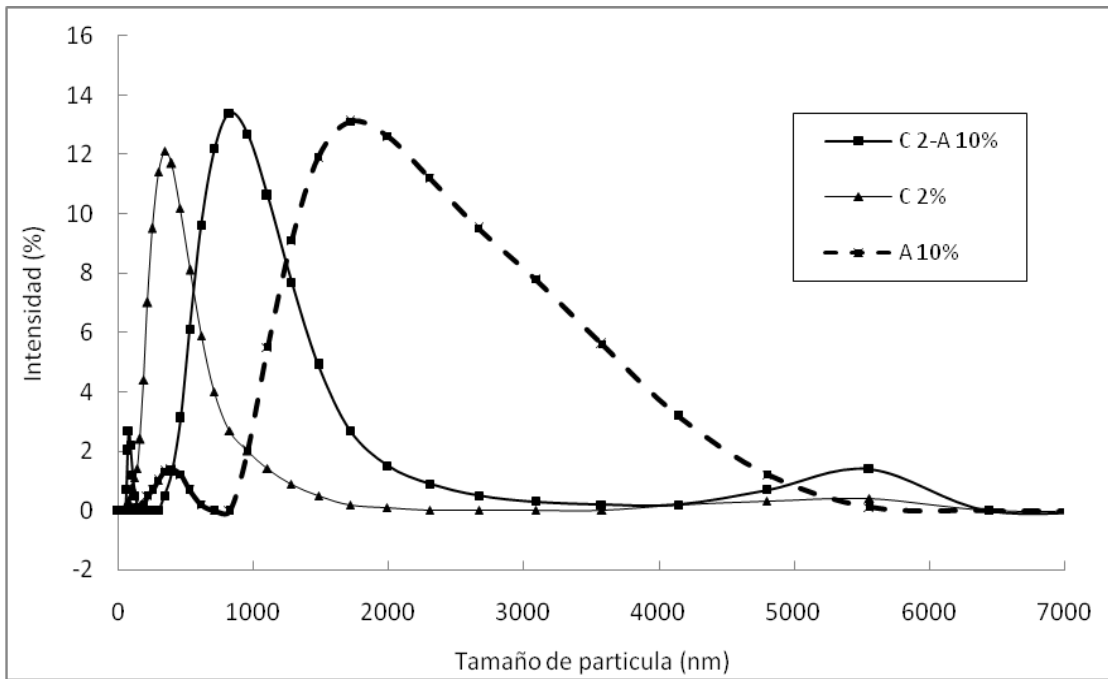
### **Componentes en mezcla**

En la Figura 11 se muestra la distribución de tamaños de partícula de la mezcla caseinato de sodio al 2% y goma arábica al 5 y 10% al igual que los componentes solos. En el Cuadro 2 se observa como la mezcla caseinato de sodio y la goma arábica al aumentar la concentración del polisacárido, el valor promedio del tamaño de partícula aumenta, mostrando en los dos casos, distribución bimodales (Figura 11). Cuando se observa la curva de las mezclas, se aprecia la formación de agregados alrededor de 5500 nm, lo que indica la aparición de complejos de mayor tamaño.

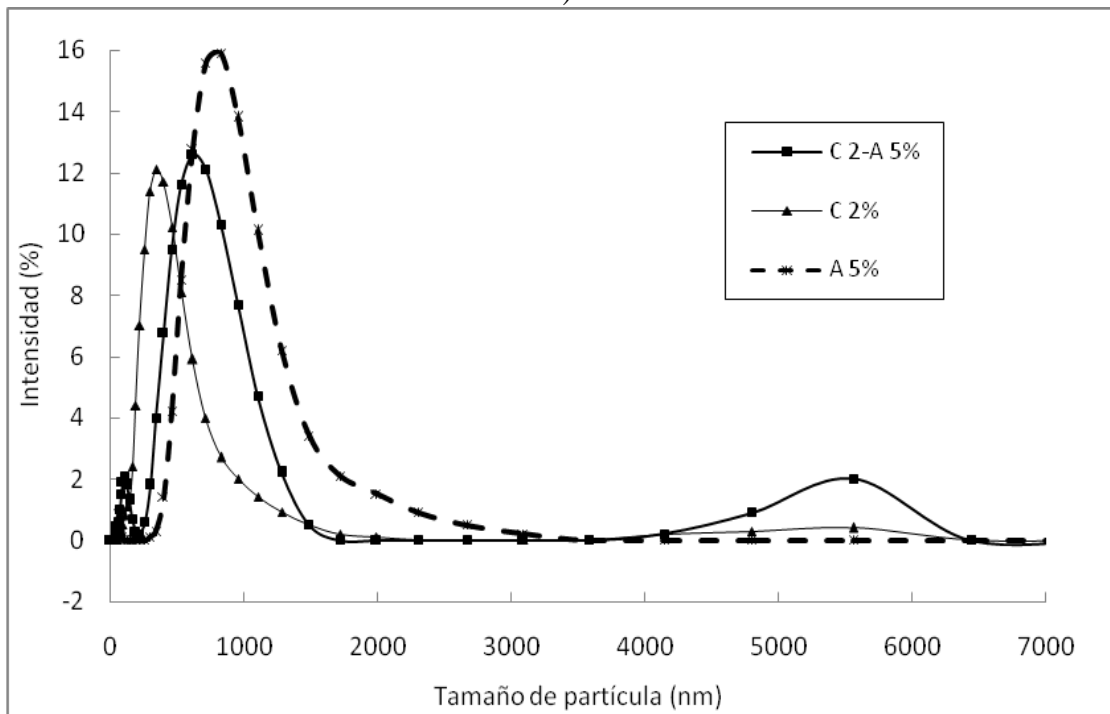
Se observa en los dos casos, que la goma arábica domina el tamaño de partícula sobre todo a concentración de 10%, sin embargo las partículas en estos sistemas son de menor tamaño que las de goma arábica sola, probablemente se deba a que el caseinato de sodio interfiere en la asociación de moléculas de la goma. Se han realizado pocos estudios sobre estas interacciones entre el caseinato de sodio y la goma arábica, Ye y col., (2006) investigaron las interacciones electrostáticas que se dan entre la mezcla, constatando que las nanopartículas formadas son menores a 400 nm, impulsada por las interacciones electrostáticas, por lo que los valores experimentales varían desde 468 a 601 nm no alejándose de lo reportado en la literatura (Cuadro 4).

*Cuadro 4. Valores de diámetro de Sauter medio de las partículas de sistemas acuosos elaborados con mezcla de hidrocoloides*

<b><i>MUESTRA Concentración %</i></b>	<b><i>DIÁMETRO (nm)</i></b>	<b><i>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</i></b>
Suero-Goma arábica (2-10)	1697	70.8
Suero-Goma arábica (2-5)	449	8.1
Suero-Xantana (2-0.5)	977	25.2
Suero-Xantana (2-0.3)	721	48.8
Caseinato-Goma arábica (2-10)	601	49.1
Caseinato-Goma arábica (2-5)	468	3.9
Caseinato-Xantana (2-0.5)	516	22.2
Caseinato-Xantana (2-0.3)	911	12.6



a)

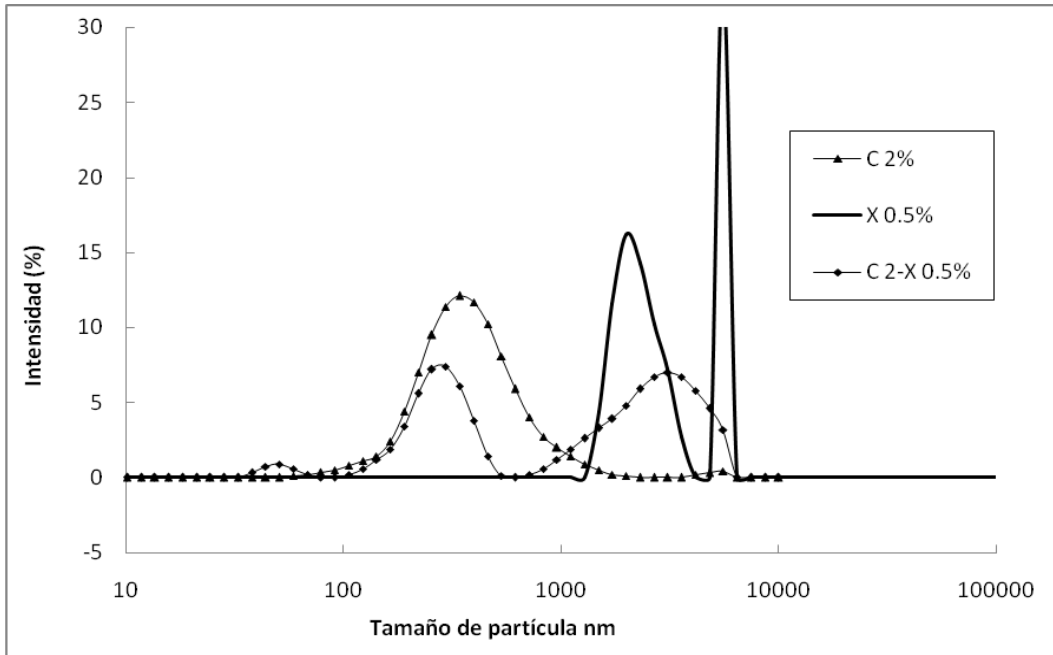


b)

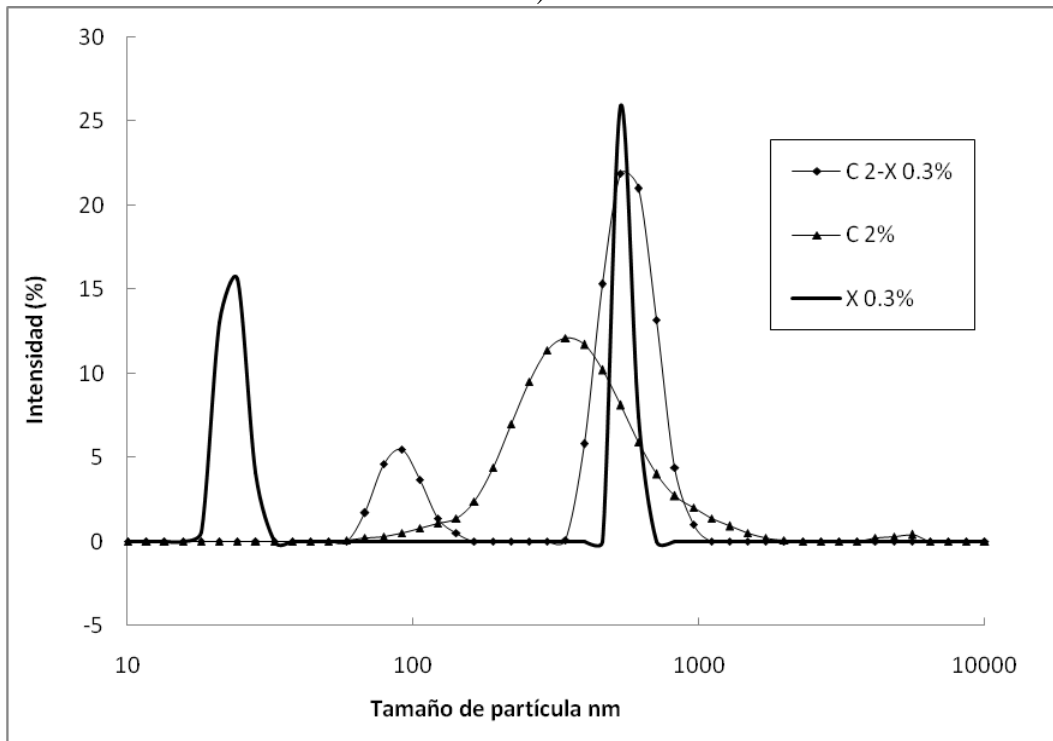
Figura 11. (a) Distribución de tamaño de partícula de la mezcla caseinato (C) 2% con goma arábica (A) 10% y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Mezcla de caseinato 2% con goma arábica 5% y los componentes individuales.

En la Figura 12 se muestran las mezclas de caseinato de sodio al 2% con xantana a dos concentraciones, donde se observa que a menor concentración de polisacárido, el caseinato de sodio promueve la asociación de moléculas de la goma, es decir que más que intervenir en su formación se atribuye a la concentración de la proteína, que en comparación con la del polisacárido es mayor, por lo tanto se puede decir que existe una coacervación donde una fase es rica en los dos polímeros y la otra fase es baja en ambos, por lo que representa la mitad de una base de una fase separada (líquida) de mezcla de biopolímero que está fuertemente hidratada y osmóticamente “hinchada” por la retención de microiones (Grinberg y Tolstoguzov, 1997), a diferencia de lo que sucede cuando se incrementa la concentración de polisacárido, aquí el caseinato de sodio forma agregados que interfieren en la formación de las dobles hélices de la xantana, esto significa que pudiera haber una incompatibilidad termodinámica la cual implica la separación de dos fases acuosas distintas dentro de la misma fase, una rica en proteína y otra en el polisacárido, esto se da por la concentración del hidrocóide, del peso molecular y la conformación de las macromoléculas. Esta separación se da a concentraciones que por lo general va de 2-20%; sin embargo, dependen del tamaño y forma de las partículas (Grinberg y Tolstoguzov, 1997).

Sin importar la concentración de xantana, las curvas son bimodales siendo de mayor tamaño al aumentar la concentración del polisacárido. El valor promedio del tamaño de partícula en mezcla es menor que la xantana sola, sin embargo es mayor que el caseinato de sodio (Cuadro 4). Se ha reportado que la presencia de caseinato de sodio se promueve una asociación libre de las moléculas de xantana, la razón es que las caseínas que conforman al caseinato y las moléculas de la goma tienen carga negativa, existiendo repulsión entre ellos conduciendo a una “incompatibilidad termodinámica” (Hemar y col., 2000).



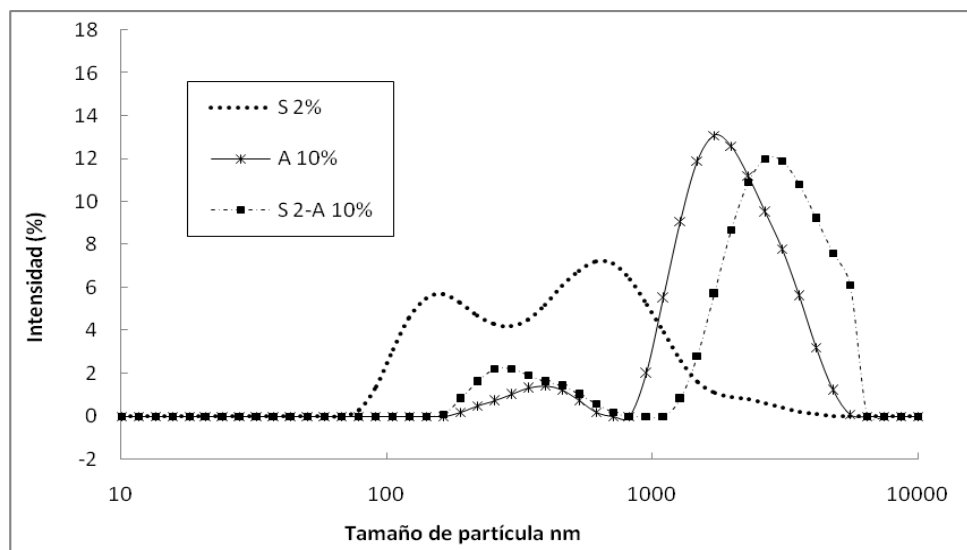
a)



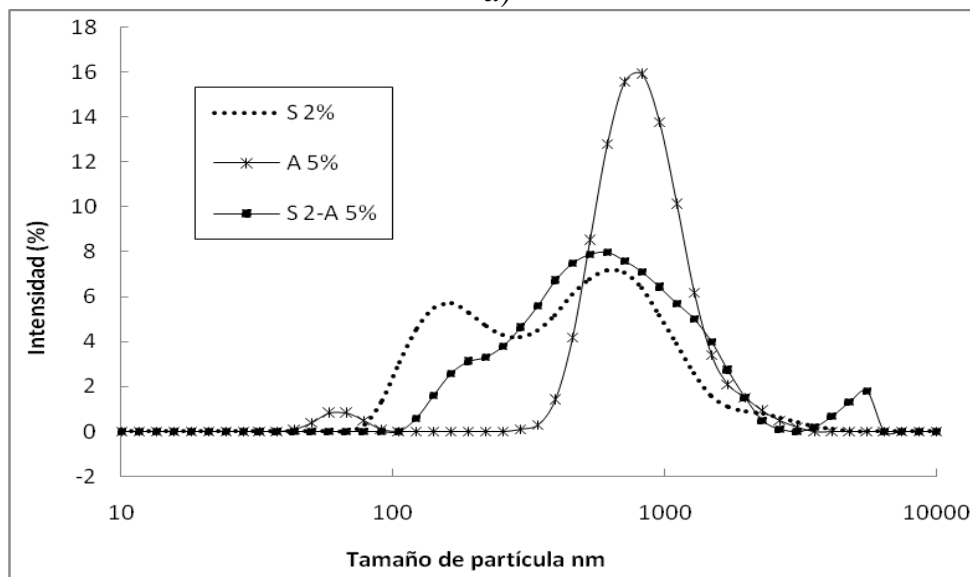
b)

Figura 12. (a) Distribución de tamaño de partícula de la mezcla caseinato (C) 2% con xantana (X) 0.5% y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Mezcla de caseinato 2% con xantana 0.3% y los componentes individuales.

En las Figura 13 se muestran mezclas de suero de leche y goma arábica a diferentes concentraciones, se observa una mayor dispersión de tamaño de partícula en las mezclas, siendo más notorio al aumentar la concentración a 10%, esto se puede atribuir a una mayor interacción entre las partículas a las dos concentraciones generando un aumento en el valor promedio de tamaño de partícula de 449 a 1697 nm (Cuadro 4).



a)

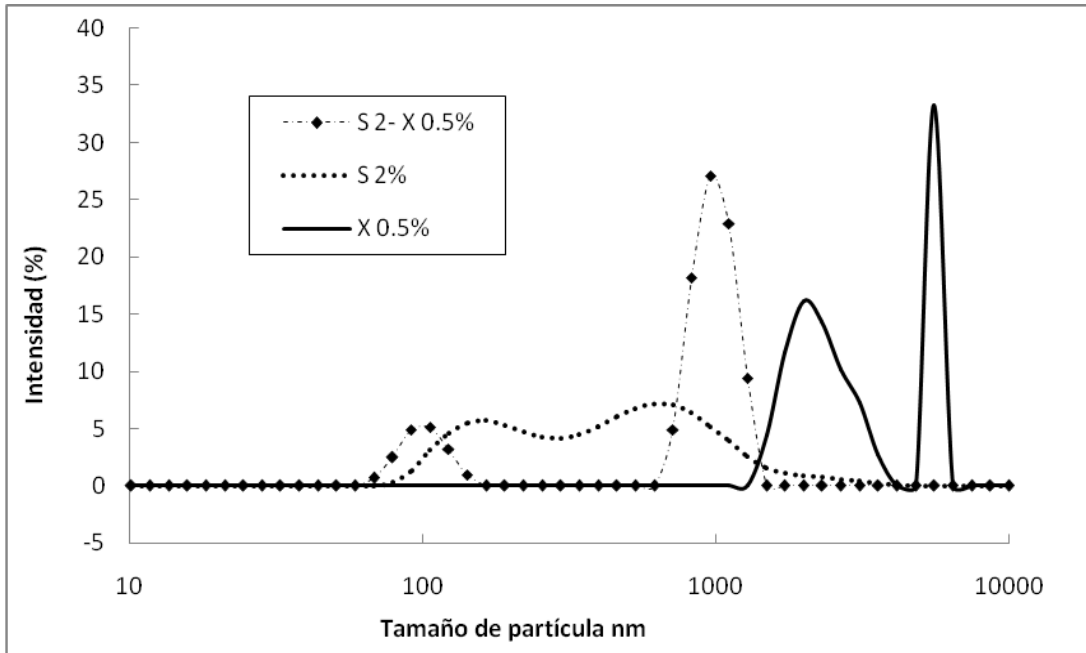


b)

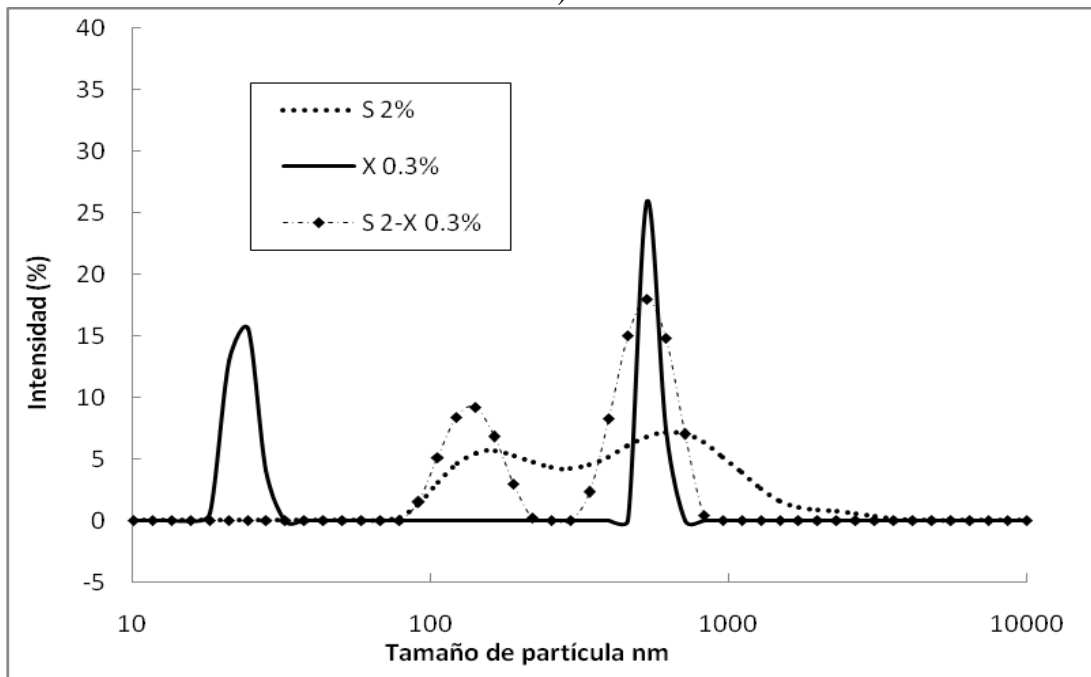
Figura 13. (a) Distribución de tamaño de partícula de la mezcla suero de leche (S) 2% con goma arábica (A) 10% y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Mezcla de suero de leche 2% con goma arábica 5% y los componentes individuales.

En la Figura 14 se muestra la mezcla de suero al 2% y xantana a dos concentraciones (0.3 y 0.5%), cuando se observa la Figura 12 que le confiere la mezcla caseinato de sodio y xantana se observa lo mismo, siendo que el valor promedio del tamaño de partícula a 0.5% es mayor con suero de leche. Estas mezclas forman curvas bimodales, siendo el segundo pico más alto a concentración mayor de xantana. Sun y col., (2006) reportan que sin la presencia de la xantana la curva es polidispersa; sin embargo, al adicionar la goma la distribución de las nanopartículas es más heterogénea y bimodal, al aumentar la concentración de la goma la curva presenta mayor intensidad haciéndola más heterogénea y la distancia entre curvas va siendo menor. A concentración de xantana 0.2% el tamaño promedio de partículas reportado es de 500 nm.





a)



b)

Figura 14. (a) Distribución de tamaño de partícula de la mezcla suero de leche (S) 2% con xantana (X) 0.5% y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Mezcla de suero de leche 2% con xantana 0.3% y los componentes individuales.

### **Potencial zeta de los componentes individuales**

En el Cuadro 5 se presentan los valores de potencial zeta promedio de las disoluciones con los componentes individuales en medio acuoso a diferentes concentraciones, en cada solución, debido a su tamaño microscópico, las fuerzas de unión en la superficie del coloide y el líquido son las que determinan su comportamiento. Uno de los mayores efectos de la superficie son los fenómenos electrocinéticos. Cada coloide tiene una carga eléctrica que suele ser de naturaleza negativa, aunque también puede ser positiva.

Estas cargas producen fuerzas de repulsión electrostática entre los coloides vecinos. Si la carga es suficientemente elevada los coloides permanecen discretos, dispersos y en suspensión. Reduciendo o eliminando estas cargas se obtiene el efecto opuesto y los coloides se aglomeran y sedimentan (Brookhaven instruments corporation, 1994).

Se puede observar en el Cuadro 5 que al aumentar la concentración del hidrocoloide el valor del potencial zeta disminuye, esto indica que de alguna forma al aumentar la concentración del hidrocoloide las moléculas interactúan y se asocian dejando menos moléculas cargadas expuestas.

La magnitud del potencial zeta puede ser un indicador de la estabilidad en el sistema coloidal. Si las partículas en suspensión tienen un gran potencial zeta negativo o positivo tenderán a repelerse entre sí y no hay tendencia, si es el caso, a flocular (proceso por el cual una sustancia dispersa coloidalmente se separa del líquido que la contiene en forma de partículas pequeñas, y no como masa continua). Sin embargo, si las partículas tienen un valor de potencial zeta bajo, entonces no hay fuerzas para evitar que las partículas floculen. La línea divisora general entre suspensiones estables e inestables generalmente se da a valores absolutos de 30 mV, las partículas con un potencial zeta mayor se consideran estables, por debajo de 30 mV hay probabilidad de

interacción o agregación de las partículas (Brookhaven Instruments Corporation, 1994).

Por lo que en los resultados obtenidos (Cuadro 5), se observa que la xantana tiene valores de potencial zeta más negativos que los demás hidrocoloides debido a su naturaleza aniónica, se ha reportado que la xantana a concentración de 0.2% muestra un potencial zeta de -55 mV a un pH 7 en medio acuoso (Benichou y col., 2007). La diferencia encontrada puede deberse a que conforme aumenta la concentración de la xantana el potencial zeta disminuye como se observa al pasar de 0.3 a 0.5%.

Lo que difiere en el potencial zeta de las proteínas estudiadas, puede ser debido a que el caseinato de sodio forma agregados, los cuales tienen cargas más expuestas.

*Cuadro 5. Potencial zeta promedio de los componentes individuales*

<b>Potencial zeta (mV), T°C 25</b>	<b>Goma arábica 5%</b>	<b>Goma arábica 10%</b>	<b>Xantana 0.3%</b>	<b>Xantana 0.5%</b>	<b>Suero de leche 2%</b>	<b>Caseinato de sodio 2%</b>
<i>Promedio</i>	<b>-12,5</b>	<b>-8,3</b>	<b>-44,8</b>	<b>-33,9</b>	<b>-8,7</b>	<b>-19,1</b>
<i>DE</i>	0,14	0,77	0,66	4,39	0,40	1,10
<i>CV (%)</i>	-1,1	-9,2	-1,4	-12,9	-4,5	-5,7

### **Potencial zeta de las mezclas**

En el caso de los sistemas en mezcla (Cuadro 6) se observa que al aumentar la concentración del polisacárido, el valor del potencial zeta es más negativo acercándose al valor de -30 mV, o sobrepasándolo. En el caso de la goma arábica al estar en mezcla ya sea con caseinato de sodio o con suero de leche, el potencial zeta es mayor en comparación con los sistemas individuales, sin embargo en el caso de las mezclas de proteína con xantana el valor del potencial zeta es más cercano al de la xantana. En el caso de la goma arábica esto se puede atribuir a cambios conformacionales en la

proteína que modifican la doble capa eléctrica, en el caso de la xantana se pudiera atribuir a que ésta es la que domina el sistema.

Aunque el potencial zeta no es una medida directa de la carga superficial, éste refleja la carga neta de la partícula en el interior del plano de cizalla. Es evidente la influencia que tiene la naturaleza del polisacárido en las proteínas estudiadas principalmente Benichou y col., (2007), reportaron que las mezclas de suero de leche al 2% y xantana al 0.5% muestran valores de potencial zeta muy cercanos a los experimentales observadas en este trabajo que van desde -35 a -50 mV.

*Cuadro 6. Potencial zeta promedio de las mezclas de hidrocoloides.*

Potencial zeta (mV)	Suero-Goma arábica	Suero-Goma arábica	Suero-Xantana	Suero-Xantana	Caseinato-Goma arábica	Caseinato-Goma arábica	Caseinato-Xantana	Caseinato-Xantana
Conc. %	( 2- 5)	(2-10)	(2-0.3)	(2- 0.5)	(2- 5)	(2- 10)	(2- 0.3)	(2- 0.5)
<i>Promedio</i>	-26,6	-27,0	-33,6	-36,8	-21,0	-23,2	-46,0	-62,1
<i>DE</i>	0,76	0,67	0,75	1,95	1,35	0,78	2,08	3,55
<i>CV (%)</i>	-2,8	-2,4	-2,2	-5,2	-6,4	-3,3	-4,5	-5,7

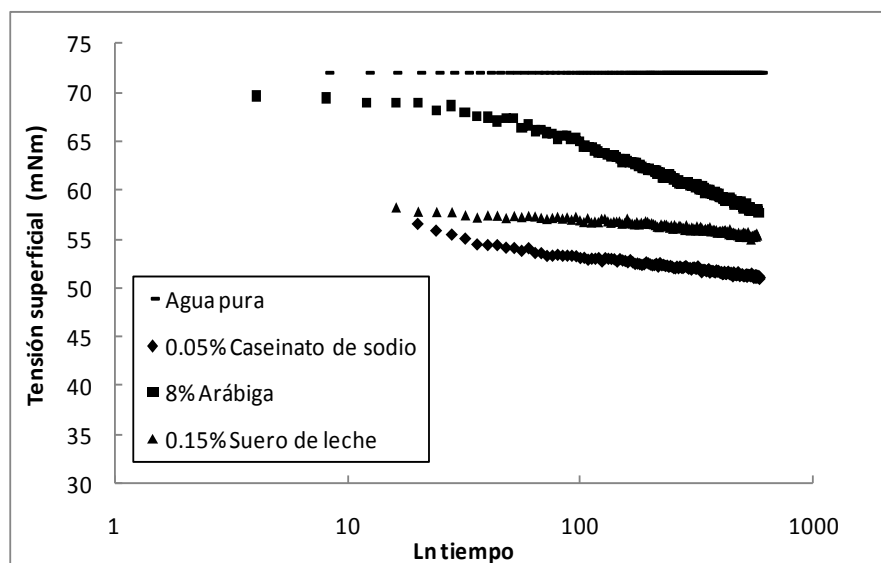
### 3.2 Resultados y análisis de la tensión superficial de las nanopartículas formadas.

#### Componentes individuales

En la Figura 15 se muestran las curvas del logaritmo del tiempo en relación con la tensión superficial de cada hidrocoloide evaluados a la concentración de adsorción crítica a excepción de la xantana debido a que en el intervalo de concentraciones estudiadas no se adsorbe en la interfase, por lo que la tensión superficial permaneció constante (Figura 15) comportándose como el agua pura cuya tensión superficial es de 72 mNm (Adamson y Gast, 1997).

Para la goma arábica no sucede lo mismo, ésta presenta (régimen I), un tiempo de inducción que permanece constante por un tiempo determinado, por lo que en los primeros tiempos y bajo la concentración empleada, las moléculas están presentes en la interfase, pero no puede reducirse la tensión superficial, el periodo de inducción sólo existe para sistemas de muy baja viscosidad, es decir muy diluidos, llega al régimen II donde existe una disminución considerable en la tensión superficial conforme el tiempo transcurre, comparado con las proteínas, la goma tiene un cambio de pendiente más pronunciado por lo que éste último tarda en adsorberse.

En las proteínas se observa que si existe un régimen II disminuye la tensión superficial, por lo que la inducción y adsorción son más rápidas, esto se atribuye a la concentración con la que se llevaron a cabo junto con su capacidad de adsorción, el régimen II se puede observar en la Figura 15, el cual permite que las nuevas cadenas laterales desde el interior de la proteína se puedan adsorber aumentando el número de las entidades adsorbidas disminuyendo, así la tensión superficial con el tiempo.



*Figura 15. Curva comparativa de la concentración de adsorción crítica de los hidrocoloides individuales.*

El régimen III lo presentan las proteínas solamente más que en el caso de la goma arábiga, donde existe una lenta disminución en la tensión superficial, atribuida a cambios conformacionales de la capa adsorbida, donde las moléculas adsorbidas en la capa inicial, debido al entorno hidrofóbico e hidrófilico de las cadenas laterales.

En la Figura 16 se muestra la relación el logaritmo de la concentración y la tensión superficial en equilibrio, de los hidrocoloides individuales estudiados. Las proteínas lácteas, debido a su naturaleza anfifílica se adsorben con mayor facilidad que la goma arábiga, y llegan a la concentración de adsorción crítica (Cuadro 7), Adamson y Gast (1997) menciona que después de llegar a la concentración de adsorción crítica se comienzan a formar agregados, a excepción de la xantana, que debido a su naturaleza no polar no se adsorbe.

Para las disoluciones de xantana se observó que a concentraciones menores de 2.4 g/L, la tensión superficial alcanzó valores cercanos al agua pura. Spinelli y col. (2008), menciona que a concentraciones de 10 g/L con xantana, se observa que no existe de igual forma una adsorción.

La tensión superficial de las proteínas disminuye aún más después de la concentración de adsorción crítica, tal disminución se debe posiblemente a los cambios de agregación. Como el caseinato de sodio, el cual lo forman caseínas bien conocidos por formar submicelas, esa explicación es razonable. Otra consideración es que en las proteínas existen reordenamientos y/o adsorción de múltiples capas (Spinelli y col., 2008).

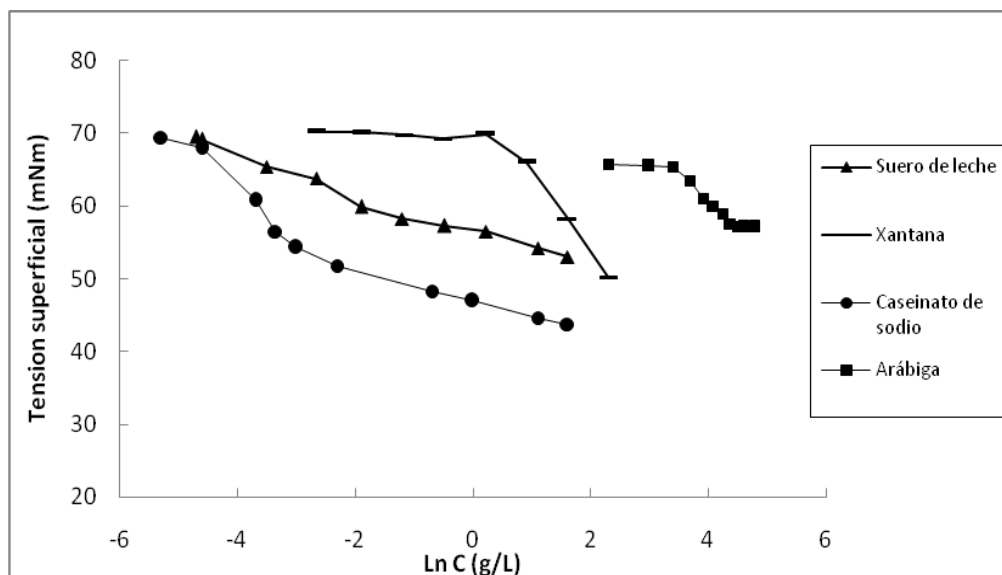


Figura 16. Curva comparativa para obtener la concentración de adsorción crítica de los hidrocoloides individuales.

Cuadro 7. Concentración de adsorción crítica de los hidrocoloides individuales en medio acuoso

MUESTRA	Concentración de adsorción crítica	
	Ln Conc. (g/L)	Conc. (%)
Xantana	No se adsorbe	
Goma arábigo	4.38	8
Caseinato de sodio	-2.99	0.05
Suero de leche	-1,89	0.15

### Tensión superficial dinámica de las mezclas

Al aumentar la concentración de las mezclas, la tensión superficial disminuye debido a que las moléculas se adsorben en la superficie del medio acuoso (Figura 17 y 18). Al incrementar la concentración de los hidrocoloides se alcanza un punto donde las moléculas están totalmente empaquetadas en la superficie, con la parte hidrofílica orientada hacia el agua. Si se continuará agregando hidrocoloide, no cabrían más moléculas y se formarían agregados, ocurre entonces que la tensión superficial no disminuye más y permanece constante.

Se puede observar (Figura 17 y 18) como las mezclas llegaron a la tensión superficial en equilibrio mostrándose los valores de la concentración de adsorción crítica en el Cuadro 8.

*Cuadro 8. Concentración de adsorción crítica de la mezcla de proteínas y polisacáridos en medio acuoso*

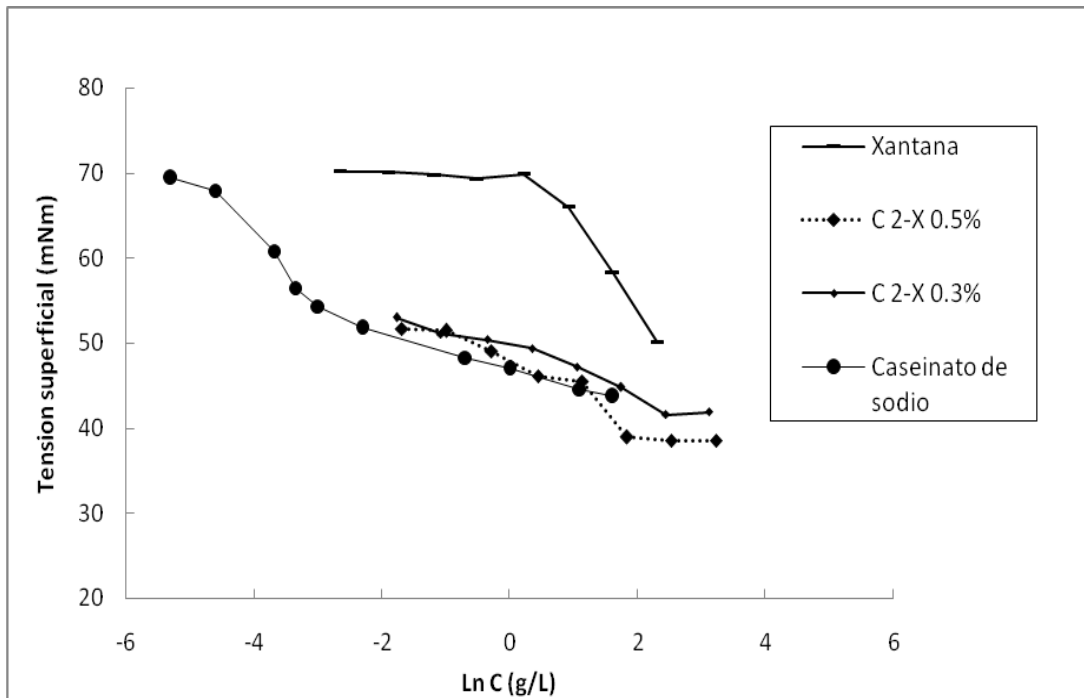
MEZCLA		Conc. (%)	Concentración de adsorción crítica	
Proteína	Polisacárido		*Ln (g/L)	**Conc. (%)
Caseinato de sodio	Xantana	(2, 0.3)	2.44	C 1- X 0.15
Caseinato de sodio	Xantana	(2, 0.5)	1.83	C 0.5- X 0.125
Suero de leche	Xantana	(2, 0.3)	-0,37	S 0.062- X 0.007
Suero de leche	Xantana	(2, 0.5)	2.52	S 1- X 0.3
Caseinato de sodio	Goma arábica	(2, 5)	1.57	C 0.13- A 0.36
Caseinato de sodio	Goma arábica	(2, 10)	4.05	C 1- A 5
Suero de leche	Goma arábica	(2, 5)	3.51	S 1- A 2.5
Suero de leche	Goma arábica	(2, 10)	4.09	S 1-A 5

\*Corresponde al punto donde llega a la concentración de adsorción crítica

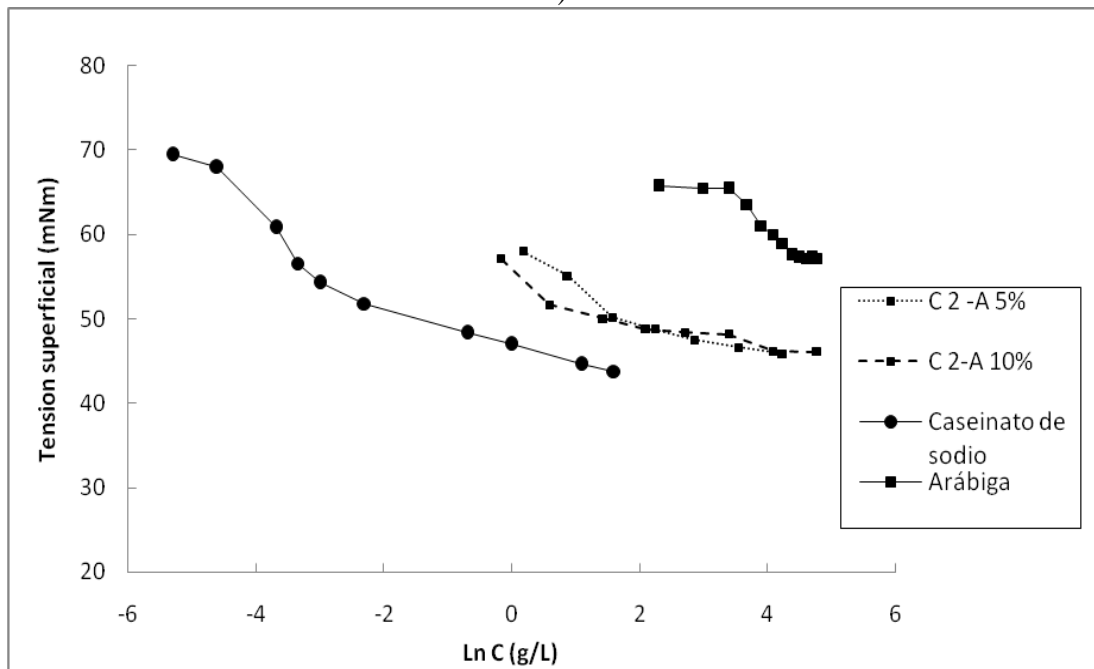
\*\*Corresponde a las concentraciones en el punto donde se limita la concentración de adsorción de cada componente en la mezcla

En la Figura 17 se muestran las mezclas con el caseinato de sodio, el cual por su naturaleza anfifílica es capaz de constituir una monocapa, debido a su capacidad para orientar los segmentos hidrofóbicos en la cara hidrofóbica, mientras que los segmentos hidrofílicos siendo orientados a la fase acuosa, el número de segmentos o monómeros que están en contacto con la interfaz dependerá de la flexibilidad y la estructura molecular de cada proteína y su afinidad por la subfase, dominando la adsorción en comparación con los polisacáridos, llegando a la concentración de adsorción crítica en todos los casos (Cuadro 8), incluso en la mezcla con xantana. Sin embargo, la adsorción en mezcla disminuyó con la presencia de los polisacáridos, debido a que estos últimos no tienen tendencia a la adsorción en interfase aire-agua.





a)



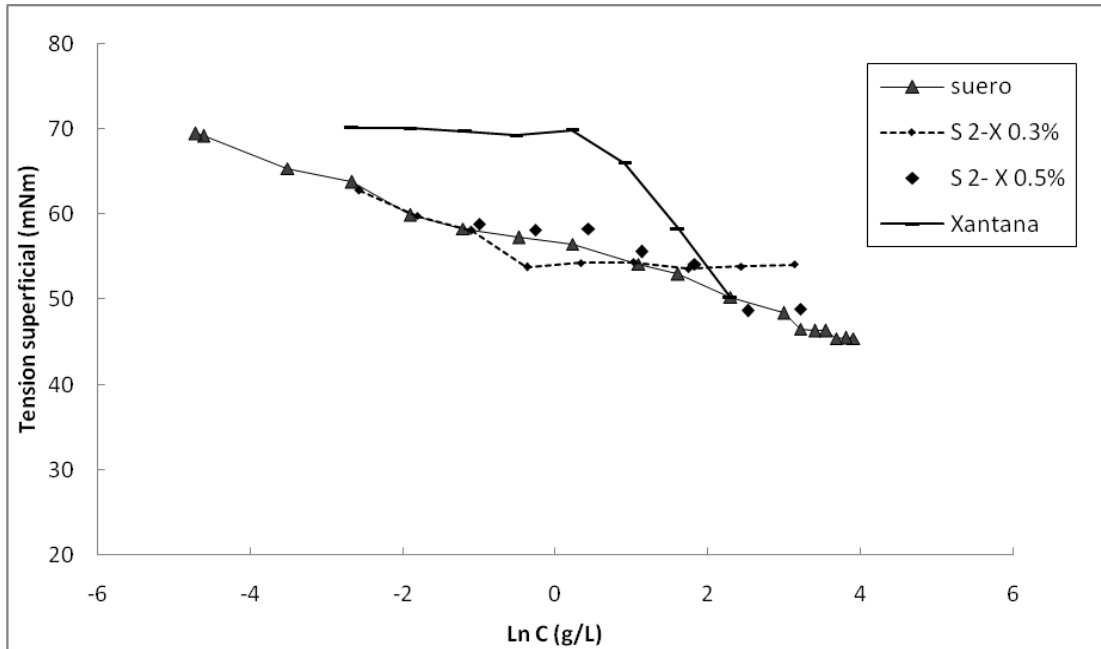
b)

Figura 17. (a) Curva comparativa para obtener la concentración de adsorción crítica de las mezclas caseinato (C) 2% con xantana (X) 0.5 y 0.3%, y los componentes individuales. (b) Mezcla de caseinato 2% con goma arábica (A) 5 y 10%, y sus componentes individuales.

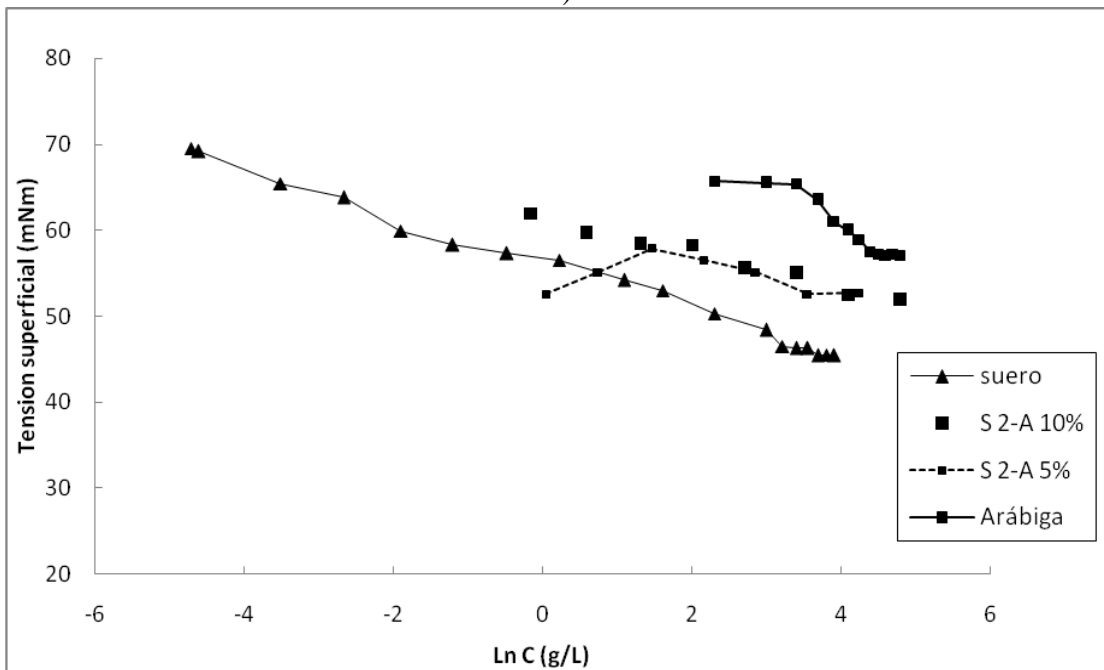
En la Figura 18 se muestra como la mezcla de suero al 2% y xantana al 0.3% llega a la concentración de adsorción crítica con menor concentración, al compararla con una concentración de xantana a 0.5%, es decir, que se adsorbe la mezcla con mayor facilidad a menor concentración de xantana, debido a que ésta no se adsorbe por sí sola (Cuadro 7), por lo tanto interfiere menos con la adsorción del suero.

El suero de leche es una proteína globular de superficie activa y puede ser adsorbida en la superficie de la gota en forma de monocapa (Dickinson, 2002).

Cuando el suero de leche se mezcla con la goma arábica sucede lo mismo, al incrementar la concentración del polisacárido, la adsorción de la mezcla es menor y por lo tanto llegan a la concentración de adsorción crítica con mayor concentración de ambos, que por sí sola la proteína, eso significa que la microestructura de la emulsión que se formará a nivel macro está en función de la concentración del polisacárido y no tanto de la proteína láctea (Adamson y Gast, 1997).



a)



b)

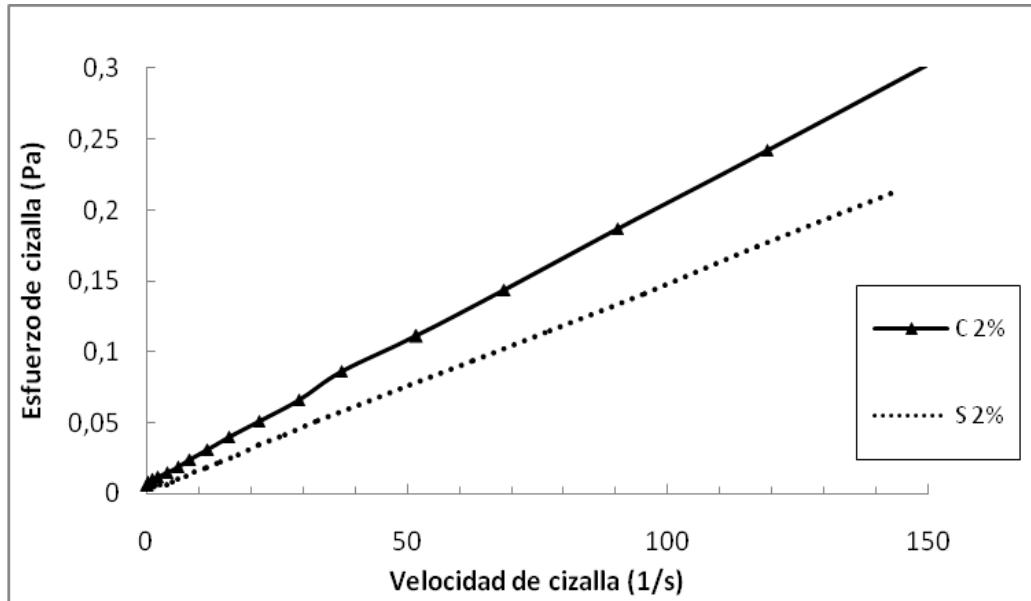
Figura 18. (a) Curva comparativa para obtener la concentración de adsorción crítica de las mezclas suero de leche (S) 2% con xantana (X) 0.5 y 0.3%, y los componentes individuales. (b) Mezcla de suero de leche 2% con goma arábica (A) 5 y 10%, y sus componentes individuales.

### 3.3 Resultados y análisis del comportamiento al flujo en los sistemas acuosos

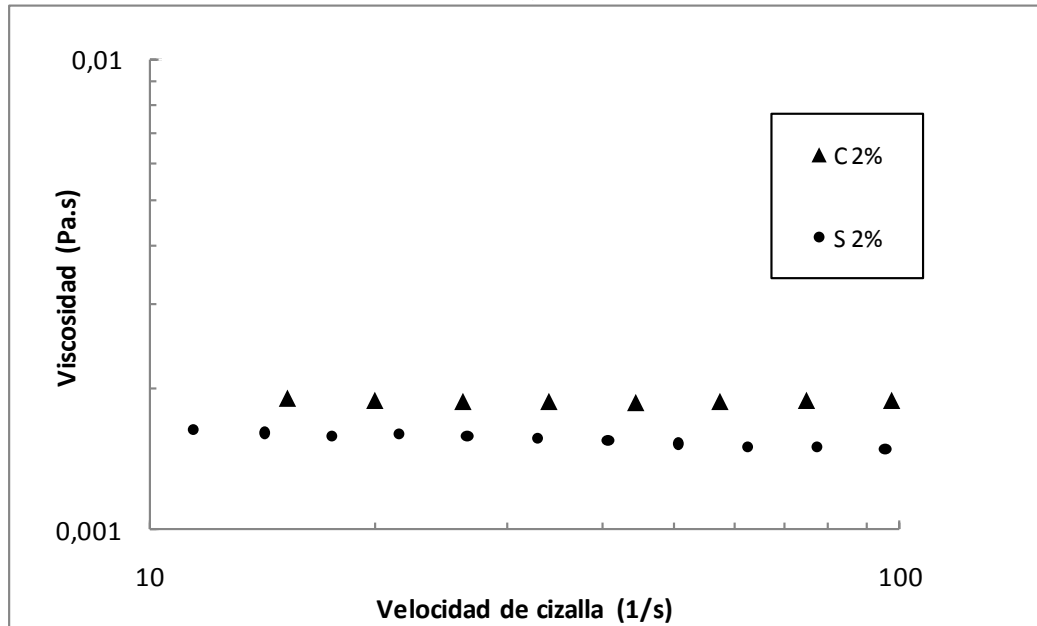
#### **Componentes individuales**

En la Figura 19 se muestra el comportamiento al flujo de las proteínas lácteas estudiadas a 2% de concentración a temperatura de 25 °C, se observa que ambas proteínas presentan comportamiento newtoniano, es decir, una relación lineal entre la velocidad de cizalla y el esfuerzo de cizalla, además de que la viscosidad permanece constante en el intervalo de velocidades de cizalla estudiado. Este sistema está compuesto por partículas de tamaño promedio de 327 nm (Cuadro 3 y Figura 10), cuya distribución de tamaño de partícula es monomodal y polidisperso, es decir, presenta un solo pico, sin embargo la curva no es estrecha. Se ha reportado que el tamaño de submicelas es aproximadamente de 100-1000 nm a concentraciones del 2%, debido a que éstas disoluciones no contienen otro material iónico más que el de la proteína y Na (Sosa-Herrera y col., 2008); por lo que se asume que la viscosidad se atribuye a las submicelas presentes.

El suero de leche a pesar de presentar comportamiento newtoniano y viscosidad menor, se puede atribuir a que existen partículas promedio de menor tamaño que el caseinato de sodio que es de 309 nm, esto es debido a que la distribución del tamaño de partícula es aún más polidisperso presentando inclusive un comportamiento bimodal.



a)



b)

Figura 19. (a) Curva de flujo comparativa del caseinato (C) 2% y suero de leche (S) 2%. (b) Curva de viscosidad en función de la velocidad las proteínas lácteas a concentración de 2%.

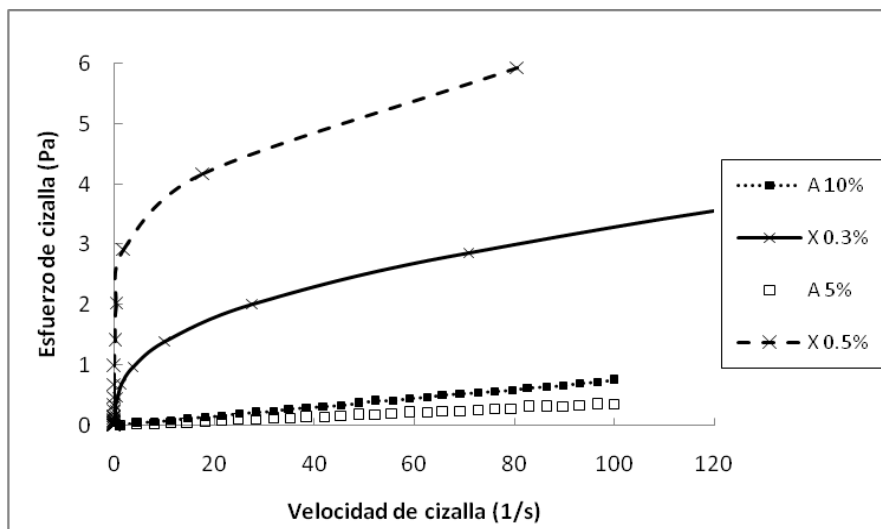
En la Figura 20 se observan los polisacáridos estudiados a dos concentraciones cada uno de ellos, donde la goma arábica a pesar de la alta concentración presenta también comportamiento newtoniano, de acuerdo a lo que se observa en el tamaño de partícula, éste presenta un tamaño mayor a los demás proteínas, esto se debe a que entre mayor sea la concentración de la goma arábica, el tamaño de partícula aumenta formando agregados que modifica la viscosidad. Se observa también en el tamaño de partícula, mostrando un comportamiento bimodal, aunque predominan partículas superiores a 1000 nm, ya que la goma arábica interacciona entre sí disminuyendo el valor potencial zeta.

En la Figura 20, se observa también que la xantana a diferencia de los otros hidrocoloides, muestra un comportamiento no-newtoniano y fluidificante a la cizalla, lo cual es mejor descrito por el modelo de Carreau, que se hace evidente cuando se observan las curvas de viscosidad (Figura 20-b), en donde se aprecia una  $\eta_0$  (viscosidad inicial) que es mayor conforme aumenta la concentración del polisacárido. Esto se da a muy bajas velocidades de cizalla (Cuadro 9), seguido por un descenso prácticamente potencial que está directamente relacionado por el parámetro  $n$  (región pseudoplástica), relacionado a su vez con la destrucción estructural debido a la cizalla.

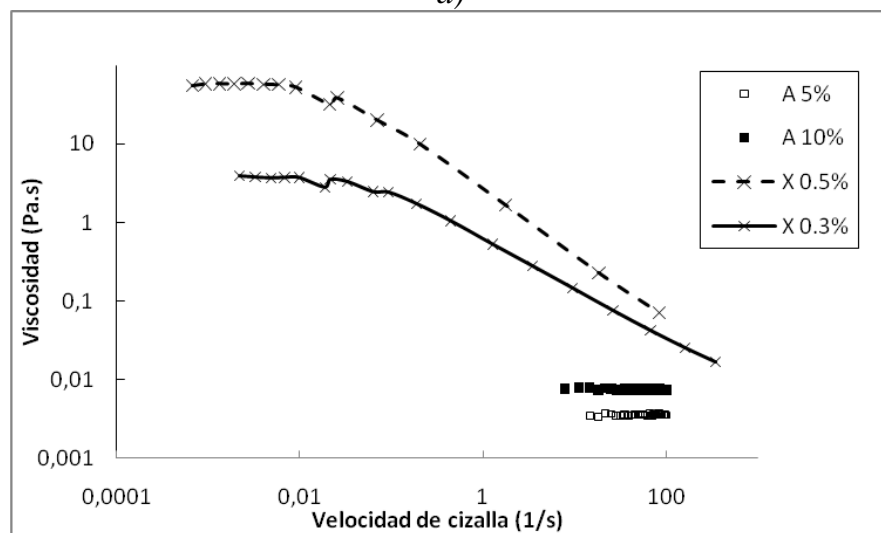
*Cuadro 9. Parámetros reológicos de los componentes individuales*

<b>Muestra</b>	<b>Conc. (%)</b>	<b>Tipo de fluido</b>	<b><math>\eta</math> (Pa.s)</b>	<b><math>\dot{\gamma}</math> (<math>s^{-1}</math>)</b>	<b><math>\eta_0</math> (Pa.s)</b>	<b><math>t_c</math> (s)</b>	<b><math>n</math></b>	<b><math>r</math></b>
Caseinato de sodio	2	Newtoniano	0.0023	1.2-330	-	-	-	0.999
Suero de leche	2	Newtoniano	0.0011	1.5-145	-	-	-	0.999
Xantana	0.3	Carreau		0.001-350	10.99	26.99	0.29	0.992
Xantana	0.5	Carreau		0.001-80	24.98	28.20	0.22	0.983
Goma arábica	5	Newtoniano	0.0030	1-100	-	-	-	0.998
Goma arábica	10	Newtoniano	0.0071	1-100	-	-	-	0.999

Cabe recalcar que el comportamiento se da sin importar la concentración, si aumenta la concentración la viscosidad aumenta, debido a la mayor formación de dobles hélices cuyo tamaño promedio es de 5811 nm y aumentando casi el doble, al aumentar la concentración a 0.5% como se mencionó anteriormente. Sworn (1995) reportó como el comportamiento de la xantana a concentraciones de 0.5% se ajusta a un modelo de Carreau, donde se observa claramente lo anterior.



a)



b)

Figura 20. (a) Curva de flujo comparativa de la goma arábica (A) 5 y 10%, y xantana (X) 0.3 y 0.5%. (b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla.

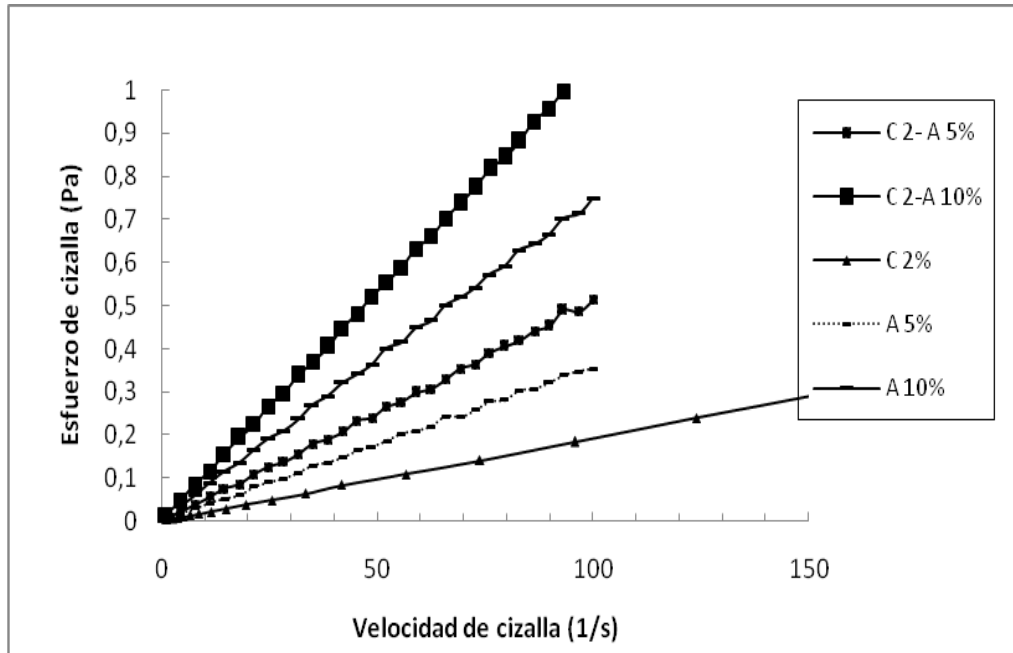
### **Componentes en mezcla**

En la Figura 21-a se muestran las mezclas del caseinato de sodio al 2% y la goma arábica a dos concentraciones y los componentes individuales, donde se observa que son fluidos newtonianos es decir, existe una relación lineal entre la velocidad de cizalla y el esfuerzo de cizalla, además de que la viscosidad permanece constante en el intervalo de velocidades de cizalla estudiado (Figura 20-b), donde la viscosidad aumenta al estar en mezcla con la proteína a las 2 concentraciones del polisacárido sobre todo a mayor concentración de este último. Sin embargo sólo se debe a la mayor concentración de moléculas presentes en el medio, aumentando la cantidad de moléculas dispersas y por lo tanto aumentando la viscosidad, donde se ve que domina la goma arábica y no se da la formación de complejos en tamaño de partícula.,

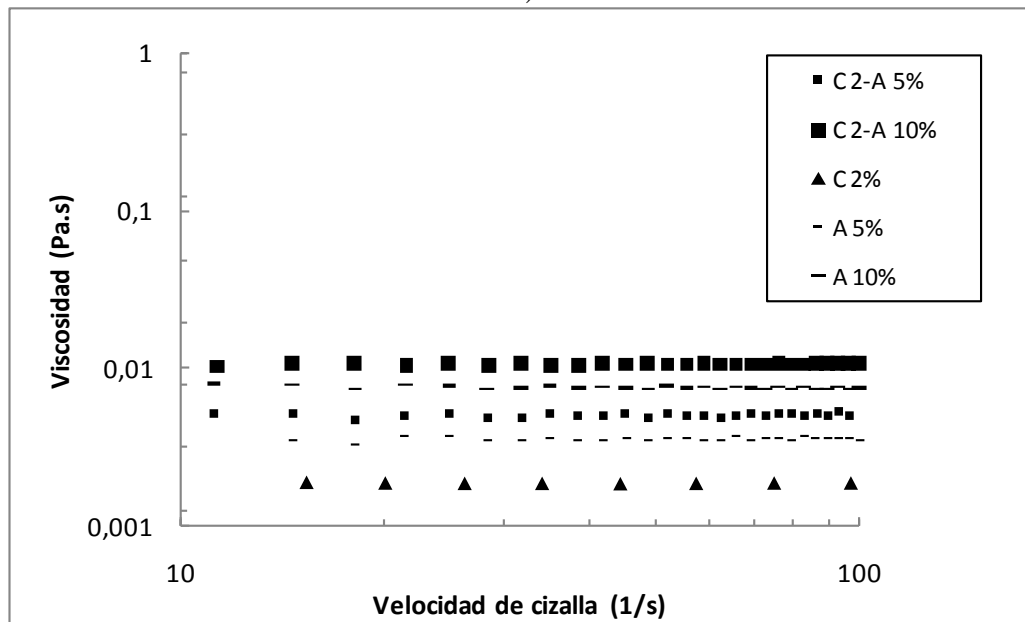
Se ha reportado que la goma arábica presenta comportamiento newtoniano incluso en presencia de una proteína como es el caseinato de sodio a dichas concentraciones, sin embargo la goma arábica al estar en mezcla con el caseinato aumenta proporcionalmente la viscosidad de acuerdo al aumento en la concentración total de hidrocoloides (Srinivasan y Razumovsky, 2002).

Se puede observar en la distribución del tamaño de partícula (Cuadro 3 y 4) que este efecto es más pronunciado cuando aumenta la viscosidad, en ambos casos también incrementa el potencial zeta al estar en mezcla, debido a que la carga adquiere más fuerza (la repulsión entre las cargas).





a)



b)

Figura 21. (a) Curva de flujo comparativa de la mezcla caseinato (C) 2% con goma arábica (A) 5 y 10%, y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla.

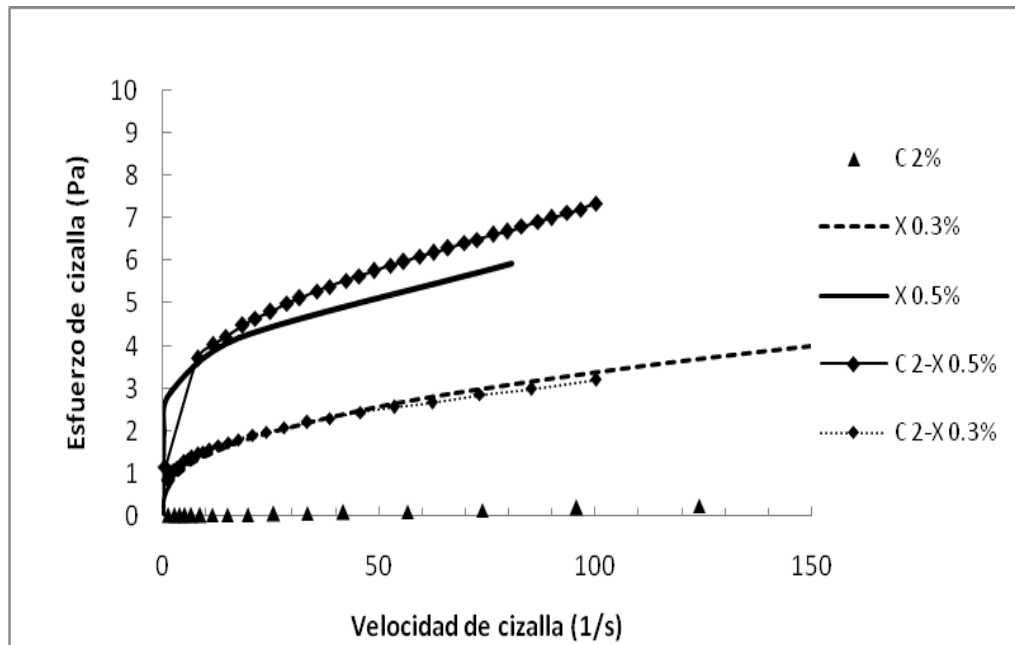
*Cuadro 10. Parámetros reológicos de las mezclas de hidrocoloides*

Mezcla, $\dot{\gamma}$ ( $s^{-1}$ ) 1-100		Conc. (%)	Tipo de fluido	$\eta$ (Pa.s)	k (Pa.s <sup>n</sup> )	n	r <sup>2</sup>
Proteína	Polisacárido						
Caseinato de sodio	Xantana	(2, 0.3)	Potencia	-	0.22	0.33	0.991
Caseinato de sodio	Xantana	(2, 0.5)	Potencia	-	0.79	0.29	0.998
Suero de leche	Xantana	(2, 0.3)	Potencia	-	0.75	0.32	0.999
Suero de leche	Xantana	(2, 0.5)	Potencia	-	1.85	0.30	0.997
Caseinato de sodio	Goma arábica	(2, 5)	Newtoniano	0.0052	-	-	0.999
Caseinato de sodio	Goma arábica	(2, 10)	Newtoniano	0.0110	-	-	0.999
Suero de leche	Goma arábica	(2, 5)	Newtoniano	0.0019	-	-	0.996
Suero de leche	Goma arábica	(2, 10)	Newtoniano	0.0033	-	-	0.998

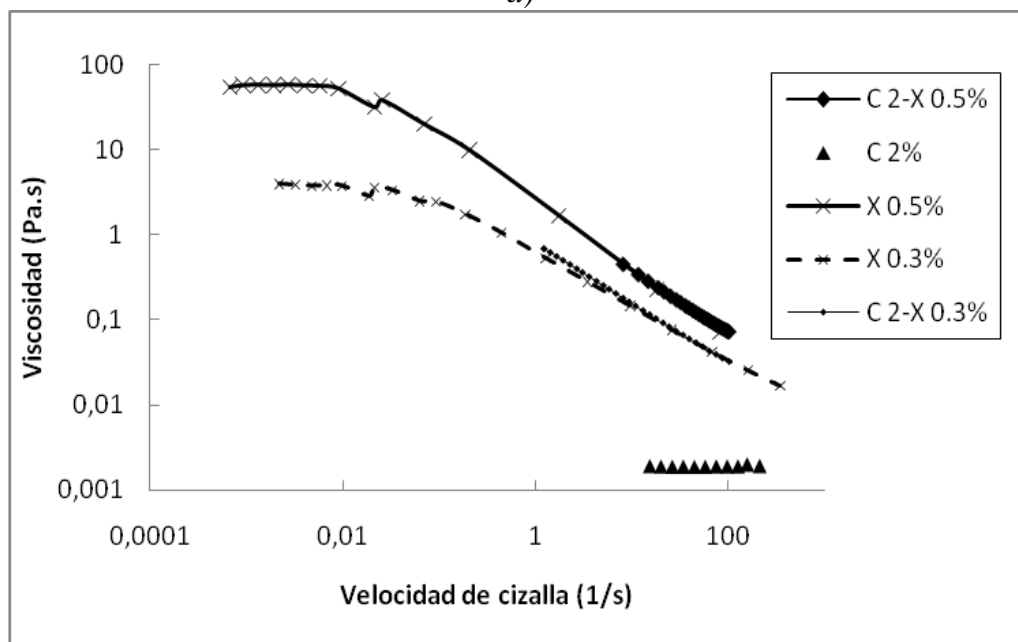
En la Figura 22-a se muestran las mezclas del caseinato de sodio al 2% y la xantana a dos concentraciones y los componentes individuales, como ya se había mencionado anteriormente la xantana a las 2 concentraciones experimentales se ajustan al modelo de Carreau; sin embargo, cuando está en mezcla con el caseinato de sodio en el intervalo de velocidad de cizalla estudiado se comporta como un fluido de la potencia, cuyos valores del índice de consistencia (n) e índice del comportamiento al flujo (k) se encuentran reportados en el Cuadro 10, donde el valor de n para las dos concentraciones de polisacárido en la mezcla es menor a uno, lo que indica que es un fluido fluidificante, éste disminuye conforme aumenta la concentración de la goma haciéndolo más fluidificante a la cizalla debido a que hay más moléculas de xantana enlazadas en el medio, el valor de k a menor concentración de xantana es de 0.22 Pa.s<sup>n</sup> y aumenta el valor a 0.79 Pa.s<sup>n</sup> conforme aumenta la concentración de xantana estos valores muestran principalmente la alta viscosidad de la xantana presente en la mezcla, debido a que los valores de n y k son similares a la mezcla suero de leche con xantana.

Dado que el polisacárido presente forma dobles hélices, tiene una estructura más compleja dominando el sistema cuando está en mezcla con caseinato, se observa mejor en la curva de viscosidad y como la proteína láctea esta muy por debajo de los demás, ya sea en mezcla o de forma individual. Esto se observa mejor con el tamaño de partícula donde la xantana domina y los pequeños cambios son debidos a la proteína, al igual que en el potencial zeta siendo éste más cercano al de la xantana.

A diferencia de la mezcla con caseinato de sodio donde no se aprecian cambios en la viscosidad proporcionales al aumento de la concentración total de los hidrocoloides, lo que lleva a pensar en una probable interacción que puede estar relacionada con la distribución del tamaño de partícula observado, donde se aprecia una mayor dispersión.



a)

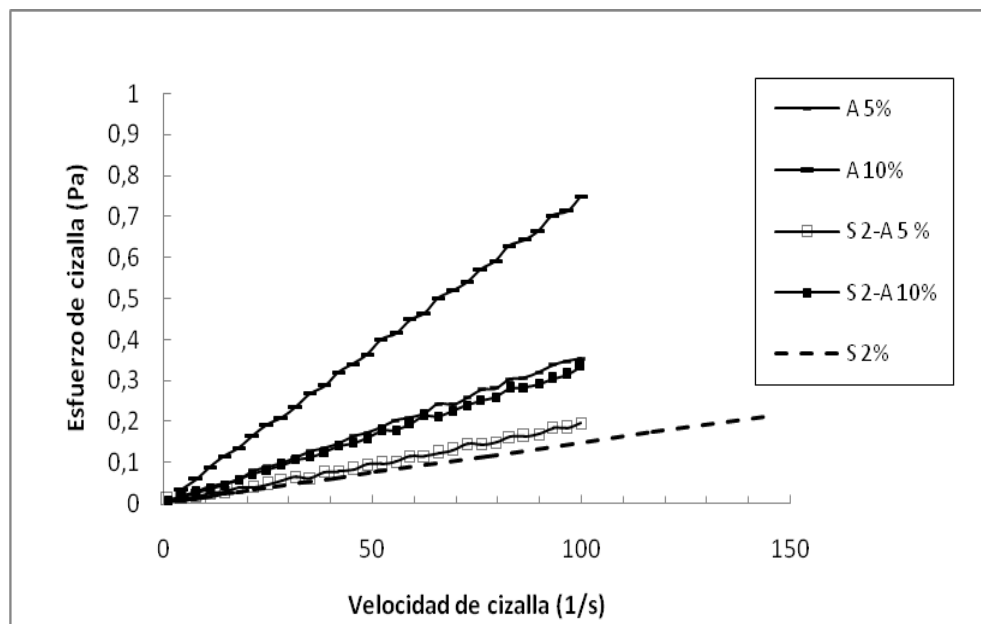


b)

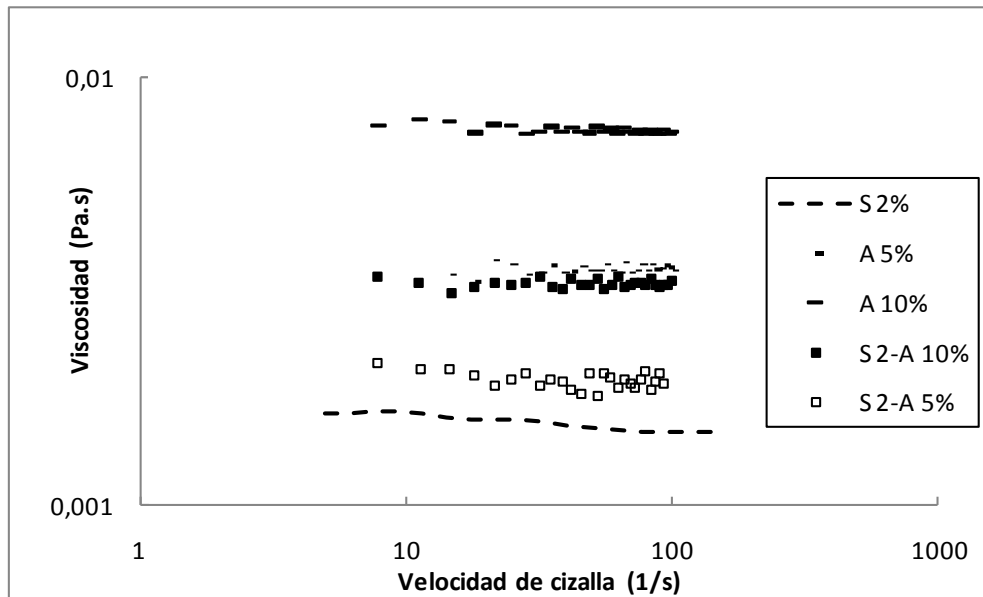
Figura 22. (a) Curva de flujo comparativa de la mezcla caseinato (C) 2% con xantana (X) 0.3 y 0.5%, y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla.

Al igual que los componentes individuales, en la Figura 23 se muestra que las mezclas de suero de leche con la goma arábica a las dos concentraciones tiene un comportamiento newtoniano.

Esto empata con los resultados del tamaño de partícula, ya que entre mayor sea la concentración de la goma mayor es el tamaño de partícula, mientras que el suero de leche presentó las partículas de menor tamaño.



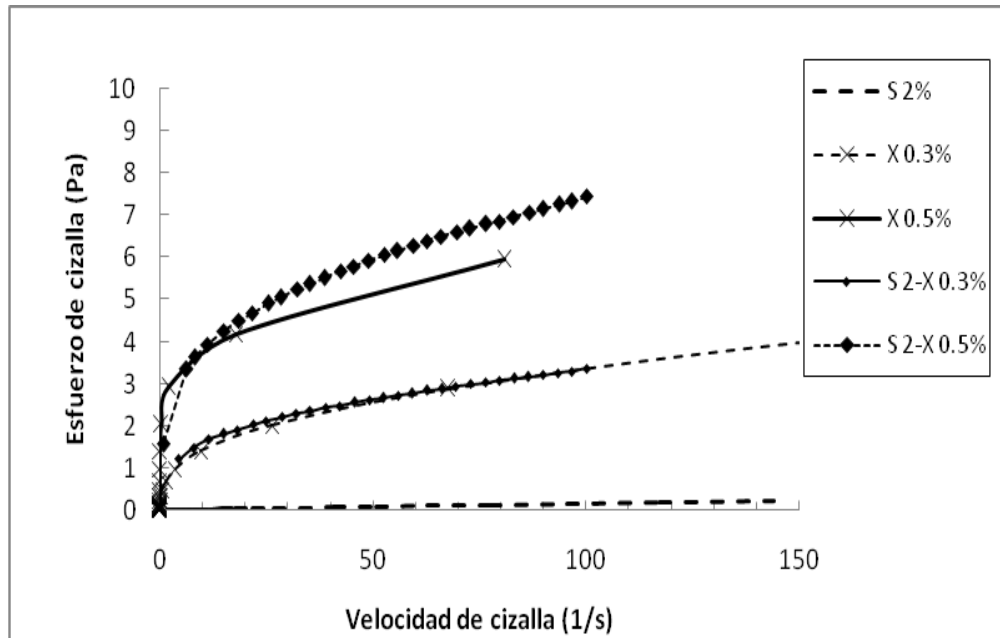
a)



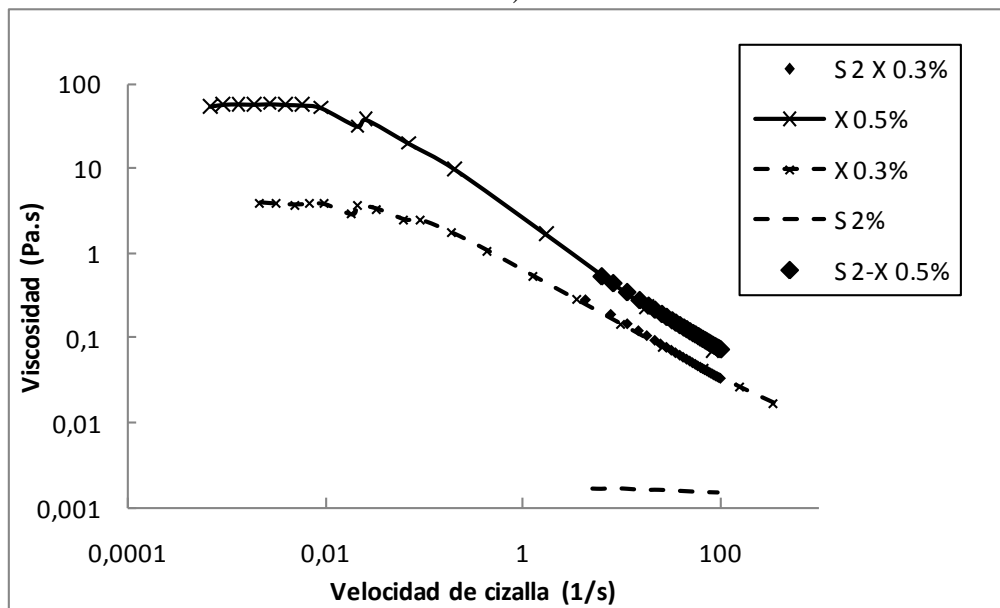
b)

Figura 23. (a) Curva de flujo comparativa de la mezcla suero de leche (S)2% con goma arábica (A) 5 y 10%, y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla.

Las mezclas con xantana, como se muestra en la Figura 24, presentan comportamiento no newtoniano, ajustándose a modelos de la potencia, sucede lo mismo que con el caseinato de sodio dominando de igual forma la goma presente, a pesar que la goma domina en el comportamiento reológico, en la distribución de tamaño de partícula la goma aparentemente pierde su estructura no observándose las estructuras de dobles hélices como cuando se caracterizó individualmente. Sin embargo, cuando la xantana a la menor concentración en mezcla con el suero de leche se observan ligeramente, cabe recalcar que la concentración de la goma en este caso si marca una diferencia de tamaño de partícula como se observó con anterioridad.



a)



b)

Figura 24. (a) Curva de flujo comparativa de la mezcla suero de leche (S) 2% con xantana (X) 0.3 y 0.5%, y los componentes individuales en medio acuoso. (b) Curva de viscosidad respectiva en función de la velocidad de cizalla.

## CONCLUSIONES

El análisis de las nanopartículas formadas por la mezcla de proteínas lácteas y polisacáridos de diferente naturaleza estudiados por diferentes técnicas experimentales entre las que se encuentran la distribución del tamaño de partícula, el potencial zeta y la tensión superficial para obtener la adsorción en interfase, así como también la caracterización del comportamiento al flujo, pueden servir como un estudio global de los sistemas en medio acuoso desde un aspecto macromolecular y a nivel de nanopartículas.

En el presente estudio, se analizó la influencia que tiene la naturaleza del polisacárido ante la presencia de proteínas lácteas, pudiéndose concluir que las proteínas lácteas presentan comportamiento newtoniano, en el caso del caseinato de sodio está compuesto por agregados cuya distribución de tamaño de partícula es pequeño (327 nm), en comparación con la xantana y la goma arábiga, monomodal y polidisperso, se asume que la viscosidad se debe a los agregados presentes; en cambio, el suero de leche presenta una viscosidad menor, debido a que existen partículas promedio de menor tamaño de 309 nm, que es menor al comportamiento del caseinato de sodio, ya que la distribución del tamaño de partícula es aún más polidisperso presentando inclusive un comportamiento bimodal, que puede ser atribuido a la estructura secundaria de la proteína del suero a diferencia del caseinato de sodio, cuya estructura secundaria de las caseínas que la integran no está bien definida y la hace más flexible.

Las caseínas tienen su estructura macromolecular tan particular, éstas poseen estructura estable y una gran hidrofobicidad superficial, cuya estructura está dissociada y desplegada naturalmente al mismo tiempo que una hidrofobicidad global relativamente elevada con una separación neta de las zonas muy hidrófilas y muy hidrófobas de la



cadena polipeptídica, por lo que se adsorben con mayor facilidad que los demás hidrocoloides estudiados.

En cuanto a los polisacáridos, la goma arábiga a pesar de la alta concentración presenta también comportamiento newtoniano, debido a que es un polisacárido muy ramificado haciéndolo soluble en medio acuoso, siendo la viscosidad mayor que las proteínas, el tamaño de partícula presenta un tamaño mayor a los demás hidrocoloides, esto se debe a que entre mayor sea la concentración de la goma arábiga el tamaño de partícula aumenta, mostrando un comportamiento bimodal, la goma arábiga interacciona entre sí disminuye el valor potencial zeta.

La goma arábiga presentó el periodo de inducción que permanece constante por un tiempo determinado, sin embargo llega al régimen II, donde existe una disminución considerable en la tensión superficial conforme el tiempo transcurre, comparado con las proteínas, la goma tiene un cambio de pendiente más pronunciado por lo que este último se tarda en adsorberse.

La xantana a diferencia de los otros hidrocoloides, muestra un comportamiento no newtoniano y fluidificante a la cizalla, ajustándose al modelo de Carreau, el comportamiento se da a las dos concentraciones estudiadas, si aumenta la concentración la viscosidad aumenta, debido a la conformación de la xantana, la cual se caracteriza por tener dobles hélices formando estructuras cuyo tamaño promedio es de 5811 nm y aumentando casi el doble al aumentar la concentración a 0.5%. La xantana mantiene la tensión superficial constante comportándose como el agua pura, por lo que no se adsorbe.

En las mezclas del caseinato de sodio y la goma arábiga, se conservó el carácter newtoniano, la viscosidad aumentó al estar en mezcla con la proteína, sobre todo a mayor concentración de la goma, donde las partículas de menor tamaño oponen mayor resistencia al flujo dado que la viscosidad de las mezclas aumenta en comparación con los componentes solos. En ambos casos también se incrementó el potencial zeta al estar en mezcla, debido a que la carga adquiere más fuerza.

La goma arábiga tiende a dominar el tamaño de partícula sobretodo a concentración de 10%, cuando se encuentra en mezcla con el caseinato de sodio, debido a que este último interfiere en las moléculas de la goma.

Las mezclas del caseinato de sodio al 2% y la xantana a dos concentraciones se comportan como fluidos de la potencia sin importar la concentración de la xantana; sin embargo, si afecta en la viscosidad. Dado que la xantana forma dobles hélices tiene una estructura más compleja dominando el sistema cuando está en mezcla con caseinato, donde la xantana domina el tamaño de las nanopartículas formadas al igual que en el potencial zeta siendo éste más cercano al de la xantana.

A menor concentración del polisacárido, el caseinato de sodio puede promover la asociación de moléculas de la xantana, atribuyéndolo a la concentración de la proteína que en comparación con la del polisacárido, es mayor existiendo una coacervación; sin embargo, cuando se incrementa la concentración del polisacárido, los agregados que forma el caseinato de sodio intervienen en la formación de las dobles hélices, por lo que se le atribuye a que existe una incompatibilidad termodinámica. Esta mezcla presenta curvas bimodales siendo de mayor tamaño al aumentar la concentración del polisacárido, la adsorción en mezcla disminuyó con la presencia del polisacárido, debido a que el último no tiene la tendencia a la adsorción en interfase aire-agua.

La mezcla suero de leche y la goma arábica presentaron comportamiento newtoniano aumentando la viscosidad conforme aumenta la concentración del polisacárido; sin embargo, a diferencia de la mezcla con el caseinato de sodio, esta última es más débil debido a que interacciona más, ya que es una molécula anfifílica. La goma arábica al estar en mezcla con el caseinato aumenta proporcionalmente la viscosidad de acuerdo al aumento en la concentración total de hidrocoloides, se observó en el tamaño de partícula que este efecto es más pronunciado cuando aumenta la viscosidad, generando un aumento en el valor promedio de tamaño de partícula de 449 a 1697 nm.

Al incrementar la concentración del polisacárido, la adsorción de la mezcla es menor y por lo tanto llegan a la concentración de adsorción crítica con mayor concentración de ambos, que por sí sola la proteína, eso significa que la microestructura de la emulsión que se formó a nivel macro está en función de la concentración del polisacárido y no tanto de la proteína láctea.

Las mezclas del suero de leche y la xantana mostraron comportamiento no newtoniano, ajustándose a modelos de la potencia. Sucede lo mismo que con el caseinato de sodio dominando de igual forma la goma presente, a pesar que la goma domina en el comportamiento reológico, en la distribución de tamaño de partícula la goma aparentemente pierde su estructura no observándose las dobles hélices como cuando se caracterizó individualmente; sin embargo, cuando la xantana a la menor concentración en mezcla con el suero de leche sí se observan ligeramente, donde la concentración de la goma en este caso si marca una diferencia de tamaño de partícula. La mezcla llega a la concentración de adsorción crítica con menor concentración que al aumentar la concentración de xantana a 0.5%, es decir, que se adsorbe la mezcla con mayor facilidad a menor concentración de xantana, debido a que ésta no se adsorbe por sí sola, por lo tanto interfiere menos con la adsorción del suero.

En el potencial zeta de la goma arábica al estar en mezcla ya sea con caseinato de sodio o con suero de leche, es mayor en comparación con los sistemas individuales, sin embargo en el caso de las mezclas de proteína con xantana el valor del potencial zeta es más cercano al de la goma. En el caso de la goma arábica esto se puede atribuir a cambios conformacionales en la proteína que modifican la doble capa eléctrica, en el caso de la xantana se pudiera atribuir a que ésta es la que domina el sistema y su potencial electrocinético se ve atenuado por la presencia de proteína. La diferencia en el comportamiento del potencial zeta de los polisacáridos en mezcla con proteínas se atribuye a la naturaleza de cada uno de ellos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamson, A. W., Gast, A.P. (1997). *Physical chemistry of surfaces*. John Wiley & Sons Inc, 465-499.
- Badui, D. S. (1993). *Química de los alimentos*. 3 ed. Alhambra mexicana. México.
- BeMiller, J. N. (1988). *Gums and stabilisers for the food industry*. DC: IRL Press. Washington, 4-5.
- Benichou, A., Aserin, A., Lutz, R., Garti, N. (2007). Formation and characterization of amphiphilic conjugates of whey protein isolate (WPI)/xanthan to improve surface activity. *Food hydrocolloids*, 21, 379-391.
- Brookhaven Instruments Corporation (1994). *Instruction manual for zetaPlus*, Zeta potencial analizar (<http://riman.rutgers.edu/SOP/ZetaPlus%20Manual.pdf>).
- Butt, J., Berger, R., Bonaccorso, E., Chen, Y., Wang, J. (2006). Impact of atomic force microscopy on interface and colloid science. *Advances in colloid and interface science*, 133, 91-104.
- Cheftel, J. C., Cuq J.L., Lorient. D. (1989). *Proteínas alimentarias*. Acribia. España.
- Charalambus, G. (1990). *Food emulsifiers*. Elsevier science. New York.
- Coulltate, T.P. (1998). *Manual de química y bioquímica de los alimentos*. Acribia. España.
- Cubero, N., Monferrer, A., Villarta, J. (2002). *Tecnología de alimentos: Aditivos alimenticios*. Grupo mundi-prensa. España.
- De Kruif, C., Weinbreck, F., Vries, R. (2004). Complex coacervation of protein and anionic polysaccharides. *Colloid interface science*, 9, 340-349.
- Dickinson, E., Galazka V. B. (1989). Emulsifying behaviour of gum arabic. part 1: effect of the nature of the oil phase on the emulsion droplet-size distribution. *Carbohydrate polymers*, 14, 373-383.
- Dickinson, E. (1995). Emulsion stabilization by polysaccharides and protein polysaccharide complexes. *Food polysaccharides and their applications*, 501-515.

- Dickinson, E., McClements, D. J. (1996). *Advances in food colloids*. United Kingdom. Glasgow: Chapman and Hall, 98.
- Dickinson, E. (1999). Interfacial ageing effect on the rheology of a heat-set protein emulsion gel. *Food hydrocolloids*, 13, 363-369.
- Dickinson, E. (2000). Creaming and rheology of oil-in-water emulsions containing sodium dodecyl sulfate and sodium caseinate. *Journal of colloid and interface science*, 224, 148-154.
- Dickinson, E. (2002). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food hydrocolloids*, 17, 25-39.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39.
- Doublier, J. L., Garnier, C., Renard, D., Sanchez, C. (2000). Protein-polysaccharide interactions. *Current opinion in colloid and interface science*, 5, 202–214.
- Dror, Y., Cohen, Y., Yerushalmi-Rozen, R. (2006). Structure of gum arabic in aqueous solution. *Journal of Polymer Science*, 44, 3265-3271.
- Euston, S., Hirst, R., Hill, J. (1999). The emulsifying properties of  $\beta$ -lactoglobulin genetic variants a, b and c. *Colloids and surfaces*, 12, 193-202.
- Euston, S., Horne, D. (2005). Simulating the self association of caseins. *Food hydrocolloids*, 19, 379-386.
- Firouz, J., Yukio, K., Varghese, A., Massimo, F.M. (2000). Soluble protein fractions from pH and heat treated sodium caseinate: physicochemical and functional properties. *Food research international*, 33, 637-647.
- Fox, P., McSweeney, P. (1998). *Dairy chemistry and biochemistry*. Blackie academic & professional, an imprint of Chapman & Hall, London.
- Girard, M., Turgeon, S. L., Paquin, P. (2002). Emulsifying properties of whey protein-carboxymethylcellulose complexes. *Journal of food science*, 67, 113-119.

- Glicksman, M. (1981). *Gum technology in the food industry*. Academic press inc. New York.
- Grinberg, V., Tolstoguzov, V. (1997). Thermodynamic incompatibility of proteins and polysaccharides in solution. *Food hydrocolloids*, 11, 145-158.
- Hemar, Y., Tamehana, M., Munro, P. A., Singh, H. (2000). Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixture of commercial milk protein products and xanthan gum. *Food hydrocolloids*, 15, 565-574.
- Huang, X., Kakuda, Y., Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food hydrocolloids*, 15, 533-542.
- Lewis, M. (1993). *Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado*. Acribia. España
- McClements, D. (1999). *Food emulsions: Principles, practice, and techniques*. Press, New York.
- Morris, V.J. (2005). Is nanotechnology going to change the future of food technology. *international review of food science and technology*, 3, 16-18.
- Moughal, K. I., Munro, P. A., Singh, H. (2000). Suspension stability and size distribution of particles in reconstituted, commercial calcium caseinates. *International dairy journal*, 10, 683-690.
- Neirynecka, K. N., Lent, K. V., Dewettinck, P. V. (2006). Influence of pH and biopolymer ratio on sodium caseinate—guar gum interactions in aqueous solutions and in O/W emulsions. *Food hydrocolloids*, 21, 862–869.
- Norde, W. (2003). Proteins at solid surfaces. *Physical chemistry of biological interfaces*. 115-136.
- Nussinovitch, A. (1997). *Hydrocolloid applications*. London. Blackie academic.
- Perrechil, F.A., Braga, A.L.M., Cunha, R.L. (2009). Interactions between sodium caseinate and LBG in acidified systems: rheology and phase behavior. *Food hydrocolloids*, 3, 1-9.

- Saggun, R., Coupland J.N. (2004). Rheology of xanthan/sucrose mixtures at ultrasonic frequencies. *Food engineering*, 65, 49-53.
- Sánchez, O. (2004). Fundamentos de la interfase y la ciencia coloidal. *Laboratorio de física de sistemas dispersos*. Departamento de física, CUJAE.
- Sandoval, L., Montellano, L. (2003). Potencial zeta como una herramienta para determinar la aglomeración de las partículas en la reducción del volumen del iodo a disponer. *Instituto de tecnología del agua*. Juitepec, Morelos.
- Sinterface (2011). *Drop and bubble shape tensiometer PAT-1*, Most modern method to measure the surface and interfacial tensión of liquid (<http://www.sinterface.com/pat1.html>).
- Sosa-Herrera, M.G., Berli, C., Martínez-Padilla, L.P. (2008). Physicochemical and rheological properties of oil-in-water emulsions prepared with sodium caseinate/gellan gum mixtures. *Food hydrocolloids*, 22, 934-942.
- Spinelli, J., Kiick, L., Furst, M. (2008). The role of heparin self-association in the gelation of heparin-functionalized polymers. *Biomaterials*, 29, 1299-1306.
- Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P. (1999). Adsorption behavior of sodium and calcium caseinates in oil-in-water emulsions. *International dairy journal*, 9, 337-341.
- Srinivasan, D., Razumovsky, L. (2002). Competitive adsorption and thermodynamic incompatibility of mixed of  $\beta$ -casein and gum arabic at the air-water interface. *Food hydrocolloids*, 7, 355-363.
- Sun, C., Gunasekaran, S., Richards, M. P. (2006). Effect of xanthan gum of physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food hydrocolloids*, 21, 555-564.
- Sworn, G. (1995). Gellan gum fluid gels. *Food hydrocolloids*, 9, 265-271.



- Syrbe, A., Bauer, W. J., & Klostermeyer, H. (1989). Polymer science concepts in dairy systems – an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International dairy journal*, 8(3), 179–193.
- Thurston, G., Pope, G. (1981). Shear rate dependence of the viscoelasticity of polymer solutions. II. Xanthan gum. *Journal of non-newtonian fluid mechanics*, 9, 69-78.
- Tiu, C., Moussa, T., Carreau, P. (1995). Steady and dynamic shear properties of non-aqueous drag-reducing polymer solutions. *Rheologica acta*, 34, 586-600.
- Tolstoguzov, V. (1991). Functional properties of food proteins and role of protein polysaccharide interaction (Review). *Food hydrocolloids*, 4, 468.
- Tomberg, E. (1978). The application of the drop volume technique to measurements of the adsorption of proteins at interfaces. *Journal of colloid interface science*, 64, 391-402.
- Toshiro, K., Atsuko, M., Shigeru, S. (2008). pH-Dependent interaction between sodium caseinate and xanthan gum. *Carbohydrate polymers*, 75, 719-723.
- Ye, A., Flanagan, J., Singh, H. (2006). Formation of stable nanoparticles via electrostatic complexation between sodium caseinate and gum arabic. *Biopolymers*, 82,121-133.
- Ye, A. (2008) a. Interfacial composition and stability of emulsions made with mixtures of commercial sodium caseinate and whey protein concentrate. *Food chemistry*, 110, 946-952.
- Ye, A. (2008) b. Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications-a review. *International journal of food science and technology*, 43, 406-415.
- Walstra, P. (1999). Casein sub-micelles: do they exist?. *International dairy journal*, 9, 189-192.
- Walstra, P., Geurts, T., Noomen, A., Jellema, A. (1999). Dairy technology: principles of milk propiets and processes. *Marcel dekker*, 727.

- Ward, A.J., Regan, L.H. (1980). Pendant drop studies of adsorbed films of bovine serum albumin. I. Interfacial tensions at the isooctane-water interface. *Journal colloid inter-face science*, 389-394.
- Weinbreck, F., Nieuwenhuijse, H., Robijn, G.W. y De Kruif, C.G. (2004). Complexation of whey proteins with carrageenan. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52, 3550-3555.
- Wong, D. (1995). *Química de alimentos: mecanismo y teoría*. Acribia, España.