



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

APLICACIÓN DE SISTEMAS ACUOSOS DE ALMIDÓN LIPOFÍLICO-  
PROTEÍNA LÁCTEA EN LA FORMACIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE  
EMULSIONES ACEITE EN AGUA

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN ALIMENTOS**

**P R E S E N T A:**

**ERWIN ROSALES HERNÁNDEZ**

**ASESOR: DRA. MARÍA GUADALUPE SOSA HERRERA**

**COASESOR: DRA. LAURA PATRICIA MARTÍNEZ PADILLA**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



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 CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

UNAM  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN



**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

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

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **TESIS**

**Aplicación de sistemas acuosos de almidón lipolífico-proteína láctea en la formación y estabilización de emulsiones aceite en agua**

Que presenta el pasante: **Erwin Rosales Hernández**

Con número de cuenta: **408056144** para obtener el Título de: **Ingeniero 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 ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de marzo de 2013.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	IBQ: Norma Casas Alencaster	
<b>VOCAL</b>	IA. Laura Margarita Cortazar Figueroa	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. María Guadalupe Sosa Herrera	
<b>1er SUPLENTE</b>	IA. Miriam Edith Fuentes Romcro	
<b>2do SUPLENTE</b>	IA. Maritza Rocandio Pineda	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

## Agradecimientos

*A Dios, por darme la vida, la oportunidad y la capacidad de realizar y concluir una carrera profesional. Por ser siempre mi más íntimo compañero y la razón de todos mis logros.*

*A mis padres, por ser mi apoyo, mi impulso y mi fuerza. Por enseñarme el correcto camino de la vida y hacer de mí una persona de provecho. Gracias por todos sus esfuerzos, sus consejos y por estar siempre a mi lado. Soy lo que soy, gracias a ustedes.*

*A mi hermana, por hacer de mis días los más felices. Por apoyarme en todo momento y ser parte de cada uno de mis logros y experiencias.*

*A mis asesoras: Dra. María Guadalupe Sosa Herrera y Dra. Laura Patricia Martínez Padilla, así como al grupo de sinodales que con su esfuerzo, experiencia y dedicación, contribuyeron a la realización de este trabajo y a mi formación como Ingeniero en alimentos.*

*A mi mejor amiga y mi más grande inspiración, Ruth Mariana Paniagua Barrera, por ser mi ejemplo, mi compañera y mi fortaleza. Por compartir los mismos sueños y por alentarme siempre a crecer en todos los aspectos de mi vida.*

*Gracias al Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME), por el proyecto PE101313 denominado: Fortalecimiento de la enseñanza en la determinación de estabilidad de sistemas dispersos en el Taller Multidisciplinario de Reología y Textura de Alimentos, quién proporcionó el apoyo para la realización del presente trabajo.*

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE CUADROS	IX
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
<b>1 - ANTECEDENTES</b>	<b>7</b>
1.1 - Emulsiones	7
1.1.1 - Clasificación	7
1.1.2 - Agentes emulsificantes	10
1.1.3 - Formación de emulsiones	12
1.1.4 - Factores que intervienen en la formación y estabilidad de emulsiones	13
1.1.5 - Estabilidad de emulsiones	16
1.1.6 - Mecanismos de desestabilización	19
1.1.7 - Reología	25
1.1.8 - Reología de emulsiones	29
1.1.9 - Distribución y tamaño de partícula	33
1.1.10 - Determinación de estabilidad	35

1.2 - Proteínas	36
1.2.1- Proteínas lácteas	37
1.2.1.1- Caseinato de sodio	41
1.2.1.2 - Concentrado de suero lácteo	45
1.3 - Polisacáridos	46
1.3.1 - Almidones modificados	51
1.3.2 - Almidón lipofílico	54
1.4 - Interacción proteína-polisacárido	56
1.4.1- Mecanismos de adsorción en la interfase	57
<b>2 - METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN</b>	<b>59</b>
Objetivo general y particulares	59
2.1 - Materiales	60
2.1.1 - Solución disolvente de ácido acético-acetato de sodio	60
2.1.2 - Caseinato de sodio	60
2.1.3 - Concentrado de suero lácteo	61
2.1.4 - Almidón lipofílico	62
2.2 - Métodos	63
2.2.1 - Determinación de humedad de biopolímeros	63
2.2.2 - Determinación de densidad relativa	64
2.2.3 - Determinación de pH	65

2.2.4 - Distribución y tamaño de partícula	65
2.2.5 - Comportamiento al flujo	66
2.2.6 - Tensión superficial dinámica	67
2.2.7 - Estabilidad	69
<b>3 - RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>72</b>
3.1 - Densidad relativa de fases acuosas	72
3.2 - Potencial hidrógeno de fases acuosas	73
3.3 - Distribución y tamaño de partícula	74
3.3.1 - Sistemas acuosos de AL al 10% y 20%	74
3.3.2 - Sistemas acuosos de CSL y CS al 1% y 2%	76
3.3.3 - Mezclas acuosas de CSL y CS al 1% con AL al 10% y 20%	79
3.3.4 - Mezclas acuosas de CSL y CS al 2% con AL al 10% y 20%	81
3.4 - Comportamiento al flujo	85
3.4.1 - Sistemas acuosos de AL al 10% y 20%	85
3.4.2 - Sistemas acuosos de CSL al 1% y 2%	86
3.4.3 - Sistemas acuosos de CS al 1% y 2%	87
3.4.4 - Mezclas acuosas de CSL al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	88
3.4.5 - Mezclas acuosas de CS al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	90

3.5 - Tensión superficial dinámica	93
3.5.1 - Sistemas acuosos de AL al 10%	93
3.5.2 - Sistemas acuosos de CSL y CS al 1% y 2%	94
3.5.3 - Mezclas acuosas de CSL al 1% y 2% con AL al 10%	97
3.5.4 - Mezclas acuosas de CS al 1% y 2% con AL al 10%	98
3.6 - Distribución y tamaño de gota de aceite	101
3.6.1 - Emulsiones de CSL, CS al 1% con AL al 10% y 20%	101
3.6.2 - Emulsiones de CSL, CS al 2% con AL al 10% y 20%	104
3.7- Comportamiento al flujo	107
3.7.1- Emulsiones de CSL al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	107
3.7.2- Emulsiones de CS al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	111
3.8- Estabilidad	116
3.8.1 - Emulsiones de CSL al 1% con AL al 10% y 20%	116
3.8.2 - Emulsiones de CSL al 2% con AL al 10% y 20%	118
3.8.3 - Emulsiones de CS al 1% con AL al 10% y 20%	123
3.8.4 - Emulsiones de CS al 2% con AL al 10% y 20%	125
CONCLUSIONES	131
REFERENCIAS	134

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Pág.</b>
1.1 - Emulsión aceite en agua	8
1.2 - Emulsión agua en aceite	9
1.3 - Emulsión múltiple	9
1.4 - Estructura de un agente emulsificante de bajo peso molecular	10
1.5 - Conformaciones proteínicas en interfase aceite-agua	11
1.6 - Estabilización electrostática	17
1.7 - Estabilización estérica	18
1.8 - Estabilización electrostérica	18
1.9 - Mecanismos de inestabilidad en emulsiones	19
1.10 - Floculación por depleción	22
1.11 - Floculación por capas adsorbidas	23
1.12 - Floculación por puenteo	23
1.13 - Curva de flujo y curva viscosidad para fluidos independientes del tiempo	29
1.14 - Histogramas de distribución de tamaño de gota	34
1.15 - Separación de fases en emulsiones	35
1.16 - Conformación de la micela de caseína	40
1.17 - Estructura del almidón	49
1.18 - Grupo octenil succínico en la estructura del almidón	54
2.1- Regímenes de una curva de tensión superficial dinámica	68

2.2 -	Perfil de retrodispersión de luz con fenómenos de desestabilización en emulsiones aceite-agua	71
3.1 -	Distribución de tamaño de partícula con y sin ultrasonido para sistemas acuosos de AL al 10% y 20%	75
3.2 -	Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido para sistemas acuosos de CSL / CS al 1% y 2%	76
3.3 -	Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido para sistemas acuosos de CSL / CS al 1% y 2%	77
3.4 -	Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido para mezclas de CSL / CS al 1% con AL 10% y 20%	80
3.5 -	Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido para mezclas de CSL / CS al 1% con AL 10% y 20%	81
3.6 -	Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido para mezclas de CSL / CS al 2% con AL 10% y 20%	82
3.7 -	Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido para mezclas de CSL / CS al 2% con AL 10% y 20%	82
3.8 -	Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos de AL al 10% y 20%	85
3.9 -	Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos de CSL al 1% y 2%	86
3.10 -	Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos de CS al 1% y 2%	87
3.11 -	Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para mezclas acuosas de CSL al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	88

3.12 -	Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para mezclas acuosas de CS al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	91
3.13 -	Tensión superficial dinámica para sistema acuoso de AL al 10%	93
3.14 -	Tensión superficial dinámica para sistemas acuosos de CSL / CS al 1% y 2%	94
3.15 -	Tensión superficial dinámica para sistemas acuosos de CSL al 1% y 2% y sus mezclas con AL al 10%	97
3.16 -	Tensión superficial dinámica para sistemas acuosos de CS al 1% y 2% y sus mezclas con AL al 10%	98
3.17-	Comparativo de tensión superficial dinámica para mezclas de CSL / CS 1%, 2%-AL 10%	99
3.18 -	Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido para emulsiones de CSL / CS al 1% con AL 10% y 20%	101
3.19 -	Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido para emulsiones de CSL / CS al 1% con AL 10% y 20%	103
3.20 -	Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido para emulsiones de CSL / CS al 2% con AL 10% y 20%	104
3.21 -	Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido para emulsiones de CSL / CS al 2% con AL 10% y 20%	105
3.22 -	Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones de CSL al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	108
3.23 -	Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones de CS al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	111

3.24 -	Comparativo de viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones de CSL / CS al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	115
3.25 -	Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL 1%-AL 10%	117
3.26-	Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL 1%-AL 20%	118
3.27 -	Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL 2%-AL 10%	119
3.28 -	Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL al 2%-AL 20%	120
3.29 -	Cinética de desestabilización para emulsiones de CSL 1%, 2%-AL 10%, 20%	121
3.30 -	Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CS 1%-AL 10%.	124
3.31 -	Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CS 1%-AL 20%.	125
3.32 -	Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CS 2%-AL 10%	126
3.33-	Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CS 2%-AL 20%	127
3.34-	Cinética de desestabilización para emulsiones de CS 1%, 2%-AL 10%	128

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Pág.</b>
1.1 - Propiedades fisicoquímicas de las caseínas	39
1.2 - Composición química de concentrados de suero lácteo a diferentes porcentajes de proteína pura	45
2.1 - Nomenclatura y descripción de sistemas acuosos y emulsiones	63
3.1- Densidad relativa de sistemas y mezclas acuosas de AL al 10%, 20% y CSL al 1%, 2%	72
3.2 - Densidad relativa de sistemas y mezclas acuosas de AL al 10%, 20% y CS al 1%, 2%	73
3.3 - Potencial hidrógeno de sistemas y mezclas acuosas de AL al 10%, 20% y CSL al 1%, 2%	74
3.4 - Potencial hidrógeno de sistemas y mezclas acuosas de AL al 10%, 20% y CS al 1%, 2%	74
3.5 - Tamaño de partícula con ultrasonido para sistemas acuosos de AL al 10%, 20% y CSL al 1%, 2%	78
3.6 - Tamaño de partícula con ultrasonido para mezclas acuosas CSL/CS al 1%, 2% con AL al 10%, 20%	83
3.7 - Parámetros reológicos para mezclas acuosas de CSL al 1%, 2% con AL al 10%, 20%	90
3.8 - Parámetros reológicos para mezclas acuosas de CS al 1%, 2% con AL al 10%, 20%	92

3.9 -	Tensión superficial al equilibrio para sistemas y mezclas acuosas de AL al 10%, CSL/CS al 1% y 2%	100
3.10 -	Tamaño de partícula con ultrasonido para emulsiones de CSL / CS al 1%, 2% con AL al 10%, 20%	106
3.11 -	Parámetros reológicos para emulsiones de CSL al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	110
3.12 -	Parámetros reológicos para emulsiones de CS al 1% y 2% con AL al 10% y 20%	112
3.13 -	Tiempos de desestabilización y espesor de clarificado para emulsiones de CSL 1%, 2% con AL 10%, 20% al tiempo de 432.2 horas	122
3.14-	Tiempos de desestabilización y espesor de clarificado para emulsiones de CS 1%, 2% con AL 10%, 20% al tiempo de 674.5 horas	129

## **RESUMEN**

La búsqueda de nuevas formas que permitan estabilizar emulsiones en alimentos, así como la mejora de sus características físicas que conlleven a alargar su vida de anaquel, ha sido uno de los principales objetivos de diversos trabajos de investigación. Uno de ellos, es el presente trabajo, cuyo objetivo principal fue establecer el efecto de la combinación de dos proteínas lácteas (concentrado de suero lácteo y caseinato de sodio) con un polisacárido (almidón lipofílico), sobre la formación y estabilización de emulsiones aceite en agua, biopolímeros que gracias a sus propiedades de superficie son empleados en la elaboración de emulsiones y otros sistemas dispersos.

Se determinaron las propiedades como la densidad, el pH, la distribución de tamaño de partícula, el comportamiento al flujo y la tensión superficial dinámica a los sistemas acuosos de proteína láctea, almidón lipofílico y a sus respectivas mezclas. Los sistemas de proteína láctea presentaron comportamientos newtonianos con viscosidad y tamaños de partícula semejantes, siendo los de caseinato de sodio, aquéllos con mayor actividad superficial. Los sistemas de almidón lipofílico mostraron valores de viscosidad y tamaños de partícula mayores en comparación con las proteínas lácteas, así mismo, una menor actividad superficial respecto a las mismas.

Las mezclas de ambas proteínas lácteas con almidón lipofílico, presentaron un comportamiento al flujo de la potencia, siendo las de caseinato de sodio, aquellas mezclas con menor tamaño de partícula, a excepción de las compuestas por caseinato de sodio al 2% y almidón lipofílico al 20%.

En términos de actividad superficial, estas mezclas de caseinato de sodio lograron adsorberse con mayor facilidad en la interfase aceite-agua, sin embargo las de concentrado de suero lácteo-almidón lipofílico, redujeron en mayor medida el valor de la tensión superficial.

Se elaboraron las correspondientes emulsiones aceite en agua en una relación 30/70 (v/v), y se analizaron las distribuciones de tamaño de partícula, comportamiento al flujo y estabilidad.

Las emulsiones compuestas de caseinato de sodio-almidón lipofílico, presentaron tamaños de partícula mayores en comparación con los obtenidos en emulsiones de concentrado de suero lácteo-almidón lipofílico. En este mismo sentido, se presentaron los resultados de viscosidad, cuyo comportamiento al flujo se ajustó a un modelo de Herschel-Bulkley, modelo aplicado a fluidos con características fluidificantes después de excederse un esfuerzo de cedencia necesario para comenzar a fluir. Las emulsiones de concentrado de suero lácteo al 1% con almidón lipofílico al 10%, fueron los únicos sistemas cuyo comportamiento reológico se ajustó al modelo de Carreau-Gahleitner, presentando una viscosidad constante hasta  $0.6 \text{ 1/s}$  aproximadamente, velocidad de cizalla donde se inició la fluidificación.

En términos de estabilidad, se determinó que las emulsiones de caseinato de sodio al 1% y 2% con almidón lipofílico al 20%, fueron las más estables de su conjunto y en comparación con las de concentrado de suero lácteo, esto de acuerdo a los perfiles de transmisión-retrodispersión de luz y a las cinéticas de desestabilización.

## INTRODUCCIÓN

Las emulsiones como dispersiones coloidales, tienen importancia y aplicación en el sector alimenticio, y muchos de los alimentos que a diario consumimos son emulsiones (helados, leche, mantequilla, crema, aderezos, chocolates, entre otros). Para la industria y la investigación en alimentos, siempre ha representado un reto generar y preservar la estabilidad de dichos sistemas, y la búsqueda por mantener ese equilibrio ha sido vital en la generación de nuevos productos y en las investigaciones que se realizan en el área.

Las proteínas y polisacáridos, han sido utilizadas ampliamente en la estabilización de emulsiones aceite en agua, siendo las proteínas lácteas, aquellas con mayor aplicación en esta área. A continuación se describen algunas de las investigaciones realizadas sobre la estabilización de emulsiones aceite en agua, empleando proteínas lácteas y polisacáridos. Dybowska (2008), estudió las propiedades de los concentrados de proteína láctea (80%) en la estabilidad de emulsiones aceite en agua (30/70), aplicando un precalentamiento a la fase acuosa y dispersa (aceite) de la emulsión a cuatro diferentes temperaturas. Las emulsiones cuya fase acuosa careció de tratamiento térmico previo a la homogenización, resultaron inestables, al igual que cuando el aceite se precalentó a temperaturas elevadas.

Sosa-Herrera et al. (2008), estudiaron las propiedades fisicoquímicas y reológicas de emulsiones compuestas por caseinato de sodio y gelana, determinando la distribución y tamaño de partícula de fases acuosas, así como el potencial electrocinético y la tensión en la interfase.

Las emulsiones con aceite al 30% p/p sin gelana, presentaron comportamientos reológicos de tipo newtoniano y valores bajos de viscosidad. En presencia de gelana ( $\leq 0.03\%$ ), el comportamiento reológico fue de tipo fluidificante, habiéndose observado propiedades viscoelásticas, no obstante, el efecto del caseinato de sodio se limitó a cubrir las gotas de aceite, dispersas en la fase continua de la emulsión, ésta formada por la mezcla de polisacárido y agregados de caseína, lo que le confirió estabilidad al sistema ante la floculación y cremado. El comportamiento reológico de estas emulsiones dependió fuertemente del estado estructural del polisacárido en la fase acuosa.

Herceg et al. (2007), estudiaron el efecto de los carbohidratos: glucosa, sacarosa, almidón e inulina al 1% p/v, sobre las propiedades emulsificantes de las proteínas lácteas: concentrado de suero lácteo (60%), aislado de suero lácteo (92%) y  $\beta$ -lactoglobulina (88.55%) al 10% p/v, en emulsiones aceite en agua (30/70). Se determinó que la adición de mono y disacáridos junto con aislado de proteína de suero lácteo y  $\beta$ -lactoglobulina, generó sistemas con excelentes propiedades emulsificantes. Después de la adición de almidón e inulina, el índice de actividad emulsificante en sistemas preparados con aislado de proteína láctea y  $\beta$ -lactoglobulina, decreció significativamente en comparación con los sistemas donde no se adicionaron carbohidratos.

Por su parte, Tesch y Schubert (2002), realizaron estudios sobre el incremento de la viscosidad de la fase continua en emulsiones finas, elaboradas a base de proteína láctea (Lacprodan-60) y proteína de yema de huevo. Para incrementar la viscosidad de la fase continua se emplearon estabilizantes de diferente peso molecular: óxido de lauril etileno, alcohol polivinílico, polietilenglicol y glicerol.

Estos estabilizantes también se emplearon con la finalidad de cambiar las condiciones en las interacciones entre proteínas y gotas de aceite en la emulsión. Los resultados mostraron que mediante la adición de estabilizantes, se logran emulsiones más estables, sin embargo, esto depende en gran medida de la estructura molecular de cada uno.

Casanova et al. (2004), realizaron estudios para determinar el efecto de la adición de iones calcio (0-40 mM  $\text{CaCl}_2$ ), de la concentración de proteína (1-6%) y de la temperatura (4° C y 25° C), sobre la capacidad emulsificante y estabilizante del caseinato de sodio. Los resultados obtenidos mostraron que la capacidad emulsificante de las dispersiones preparadas a ambas temperaturas sin adición de iones calcio, fue muy similar entre sí, sin embargo, en presencia de iones, se produjo la floculación de las gotas, para cantidades de  $\text{CaCl}_2$  superior a un valor de concentración crítica (VCC) de dichos iones, mostrando mayores magnitudes de VCC a 4° C en comparación con los observados a 25° C. Para concentraciones de iones calcio inferiores al VCC, la capacidad emulsificante y estabilizante del caseinato de sodio no fue afectada, y mostró valores comparables a los de emulsiones sin adición de iones calcio. Se estableció que las emulsiones formadas de caseinato de sodio al 3%, a una temperatura de 4° C y 30 mM de  $\text{CaCl}_2$ , pueden ser utilizadas en la elaboración de derivados lácteos enriquecidos con calcio, conservando las capacidades emulsificantes y estabilizantes de dicha proteína.

A pesar del amplio uso que se le ha dado a las proteínas y a los polisacáridos en la formación y/o estabilización de emulsiones, algunas de estas macromoléculas han sido sustituidas o utilizadas en combinación para mejorar y preservar las características de dichas emulsiones (Tesch et al., 2002).

Un ejemplo es el almidón lipofílico, el cual es un polisacárido utilizado como agente emulsificante, y ha sustituido a otros hidrocoloides por su capacidad de proporcionar estabilidad a emulsiones aceite en agua (Murúa et al., 2008), sin embargo, se desconoce el efecto que dicho polisacárido pudiera tener en interacción con otras macromoléculas de naturaleza anfifílica, tales como las proteínas lácteas, de las cuales sobresalen para fines de formación y estabilización de sistemas dispersos, el caseinato de sodio y el concentrado de suero lácteo. En esta investigación, se estudiaron disoluciones de ambas proteínas lácteas en mezcla con almidón lipofílico a diferentes concentraciones y a un pH de 5.4, sobre la estabilidad de emulsiones preparadas en una relación 30/70 (v/v) aceite-agua.

## CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

### **1.1 - EMULSIONES**

Una emulsión es una dispersión coloidal constituida por dos líquidos inmiscibles en los que la fase dispersa se encuentra en forma de pequeñas gotas con diámetros entre 0.1 y 10  $\mu\text{m}$ , distribuidas en una fase continua o dispersante (Dickinson y Stansby, 1988). La fase continua generalmente está conformada por elementos solubles tales como: sales, ácidos, bases, azúcares, tensoactivos, proteínas, polisacáridos y polímeros. En tanto, la fase dispersa puede estar constituida por productos químicos orgánicos tales como: hidrocarburos, grasas y aceites vegetales (Muñoz et al., 2007).

#### **1.1.1 - Clasificación**

Existen diferentes tipos de emulsiones las cuales pueden clasificarse de acuerdo a su tamaño de partícula (Salager, 1988) y a la naturaleza de la fase continua (Larsson, 1997).

- Con base en el tamaño de partícula.

##### *Macroemulsiones*

También llamadas emulsiones. Son sistemas dispersos constituidos por dos fases líquidas no miscibles, una fase acuosa y una oleosa, caracterizadas por presentar coloraciones blanco lechosas a azul blanquecinas. El diámetro de las gotas que conforman la fase dispersa excede del tamaño del micrómetro y su formación es generalmente a través de métodos de dispersión en los que se aplica alta energía mecánica.

### *Microemulsiones*

Son sistemas de agua en aceite con apariencia transparente, las cuales se presentan como soluciones líquidas simples, ópticamente isotrópicas (mantienen propiedades en todas direcciones) y termodinámicamente estables. Presentan partículas con tamaños entre 10 y 50 nm, fluctuando rápidamente dentro del espacio y tiempo.

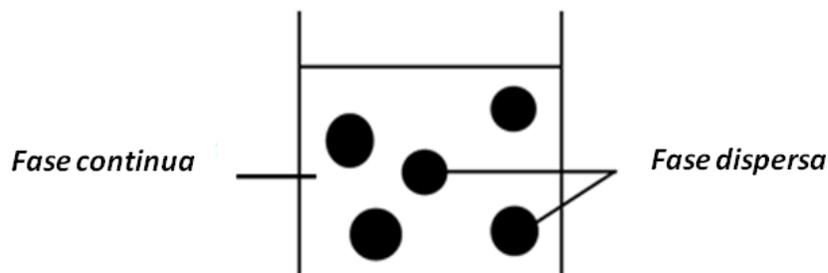
### *Nanoemulsiones*

Se trata de nanoemulsiones cuando las partículas tienen un tamaño de gota dentro del intervalo de 50-500 nm. Debido a este tamaño característico, algunas nanoemulsiones muestran una apariencia transparente o translúcida, sin embargo, esto depende de la distribución del tamaño de gota y del contenido de fase continua.

- Con base en la naturaleza de la fase continua

### *Emulsiones de aceite en agua*

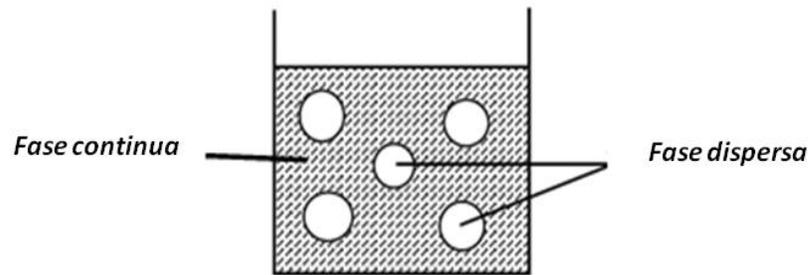
Son sistemas dispersos en los que las gotas de aceite, fase dispersa, se encuentran distribuidas en una fase continua, como se muestra en la Figura 1.1. Algunos ejemplos son: la mayonesa, aderezos, leche, crema y base para helados.



**Figura 1.1- Emulsión aceite en agua (Larsson, 1997)**

### *Emulsiones de agua en aceite*

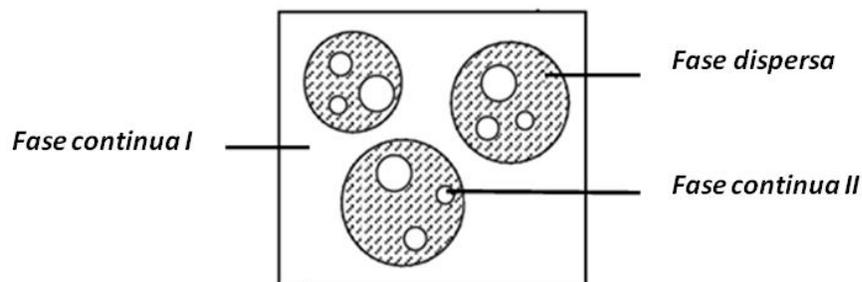
La fase dispersa conformada por gotas de agua, se encuentra inmersa en un medio oleoso (fase continua), como se representa en la Figura 1.2. Este tipo de sistemas son menos comunes y los ejemplos más representativos son: la mantequilla y la margarina.



**Figura 1.2 - Emulsión agua en aceite (Larsson, 1997)**

### *Emulsiones Múltiples*

La Figura 1.3, muestra la conformación de una emulsión múltiple. Estas emulsiones difieren de las dos anteriores debido a que poseen una tercera fase, la cual puede conformar la fase dispersa o la fase continua dependiendo del tamaño de su volumen que ocupe en ese momento. Este tipo de emulsiones tienen aplicaciones particularmente en el campo de los cosméticos y los farmacéuticos.



**Figura 1.3 - Emulsión múltiple (Larsson, 1997)**

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables debido al aumento del área interfacial que presentan, sin embargo, pueden convertirse en cinéticamente estables gracias a la presencia de agentes emulsificantes, que tienen la capacidad de adsorberse en la interfase entre la fase continua y dispersa (Aranberri et al., 2006).

### 1.1.2 - Agentes emulsificantes

Los agentes emulsificantes son moléculas superficialmente activas que se adsorben en la superficie de las gotas de aceite, formando una membrana protectora que retarda la aproximación entre gotas y su posterior agregación. Los agentes emulsificantes se clasifican en dos tipos:

#### a) Agentes emulsificantes de bajo peso molecular

También llamados surfactantes. Son compuestos que contienen una parte hidrófila (afinidad a la parte acuosa) y otra hidrófoba (afinidad a la parte oleosa) como se muestra en la Figura 1.4, localizándose en la interfase aceite-agua y reduciendo la energía libre superficial. Estos compuestos pueden ser catiónicos, aniónicos o no iónicos. Algunos ejemplos son: lípidos polares, glicolípidos, fosfolípidos, monoglicéridos, entre otros (Aranberri et al., 2006).

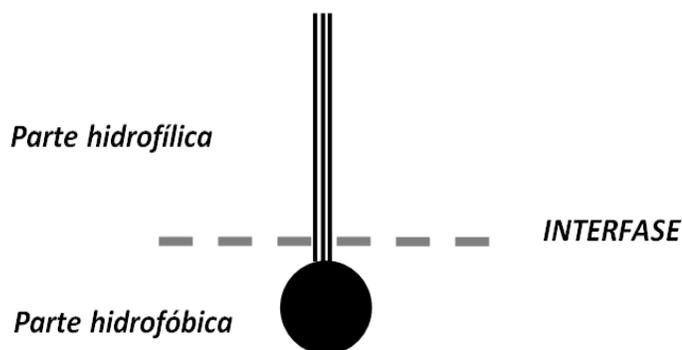


Figura 1.4 - Estructura de un agente emulsificante de bajo peso molecular

## b) Biopolímeros emulsificantes

Dentro de ellos se encuentran principalmente las proteínas, polisacáridos y lipoproteínas. La configuración de una macromolécula adsorbida en una interfase aceite-agua, por ejemplo una proteína, puede dividirse en tres diferentes tipos: filas, lazos y colas (Muñoz et al., 2007; Dickinson, 2003), tal y como se representa en la Figura 1.5.

**Filas:** segmentos de la molécula que están en contacto directo con la interfase.

**Lazos:** todos aquellos segmentos que se encuentran suspendidos en el seno de la fase continua.

**Colas:** terminaciones de la molécula que se encuentran inmersas en la fase continua.

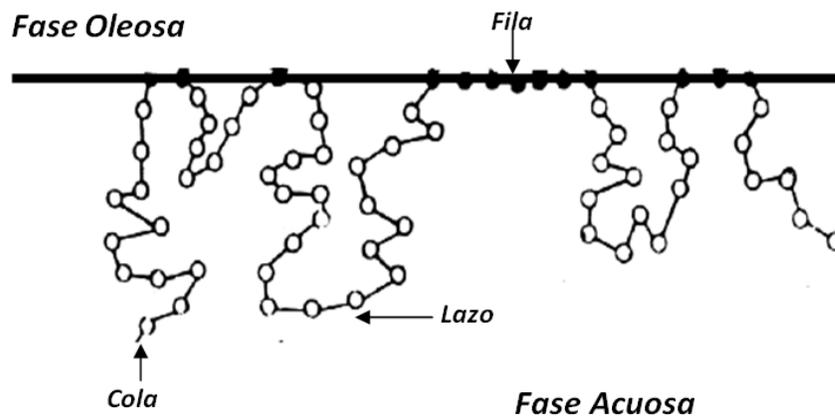


Figura 1.5 - Conformaciones proteínicas en interfase aceite-agua (Badui, 2006).

Para que un agente emulsificante sea efectivo, debe tener la capacidad de disminuir la tensión de la interfase aceite-agua, substancial y rápidamente. Así mismo, debe permitir a la interfase resistir deformaciones de cizalla confiriéndole resistencia, firmeza y elasticidad (Lucassen-Reynders, 1993; Fennema, 2000).

La naturaleza del agente emulsificante, así como la preparación de la emulsión, son algunos de los factores más importantes para conferir estabilidad a dichos sistemas.

### **1.1.3 - Formación de emulsiones**

Una emulsión se obtiene mediante un proceso llamado emulsificación, el cual consiste en la agitación vigorosa de un sistema acuoso y una fase dispersa, a través de equipos generadores de turbulencia. Si el tipo de agitación es tal que las gotas grandes de la fase dispersa son sujetas a un esfuerzo cortante, entonces éstas serán distorsionadas de su forma esférica estable y progresivamente rotas en unidades más pequeñas. Durante el proceso de emulsificación, las moléculas del agente emulsificante se orientan con su parte lipofílica hacia la fase dispersa y la parte hidrofílica extendida en la fase continua, resultando una disminución de la tensión interfacial entre ambos líquidos. Esto permite que uno de ellos, originalmente inmisible, sea disperso en el otro (Hunter, 1994). El tipo de emulsión formada depende de la fuerza de la interacción entre la parte hidrofílica y el sistema acuoso. Una interacción fuerte permite una gran reducción en la tensión superficial del sistema y conforme la tensión superficial se aproxima a cero, la fase continua se “relaja”, pierde su tendencia a formar gotas y se convierte en la fase externa de la emulsión (Setser, 1992).

La formación y estabilidad de dichos sistemas depende fuertemente de ciertos factores tales como el tipo de agente emulsificante, concentración, tamaño de partícula, tensión superficial, entre otros, como a continuación se describe.

#### **1.1.4 - Factores que intervienen en la formación y estabilidad de emulsiones**

##### *a) Agente emulsificante*

Cuando se adiciona un emulsificante a una de las fases de la emulsión, se forma alrededor de cada gota de aceite, una película resistente, firme y elástica. La naturaleza química y la concentración del agente emulsificante poseen decisiva influencia sobre la viscosidad y la estabilidad de la emulsión, dado que forman una barrera mecánica que evita la floculación y coalescencia del sistema (Fennema, 2000; Lissant, 1990). Al adsorberse dichos agentes en la interfase aceite-agua, se producen cambios importantes en las propiedades superficiales de las fases que constituyen la emulsión, generando un sistema con mayor estabilidad.

##### *b) Tensión superficial*

Las fuerzas de atracción que existen entre las moléculas de un líquido son de diferente magnitud, dependiendo de la zona del líquido considerada. Aquéllas ubicadas en el seno del líquido están lo suficientemente cerca para que el efecto de las fuerzas de atracción sea considerable y tienden a equilibrarse. Por el contrario, las moléculas de la zona superficial no están rodeadas completamente por otras moléculas, y por lo tanto están desequilibradas con un efecto neto hacia el seno del líquido. Esta fuerza neta es normal a la superficie y será mayor conforme las moléculas se encuentren más cerca de dicha zona, provocando así una reducción en el área interfacial. A esta fuerza se le denomina tensión superficial, para el caso de interfases aire-agua o tensión interfacial, para aceite-agua (Díaz y Becerra, 2008).

### *c) Efecto de la carga eléctrica*

Al adsorberse en una interfase y formar una película alrededor de cada gota de aceite, el agente emulsificante provoca alteraciones en el potencial eléctrico o momento dipolar en las moléculas que están en contacto directo en la interfase entre el aceite y el agua, este efecto se conoce como la doble capa eléctrica. La doble capa de cargas eléctricas favorece las fuerzas de repulsión entre la gota de aceite y el medio acuoso, esto para mantenerlo suspendido en el seno de la emulsión, incrementando su viscosidad, así como su estabilidad (Freiberg y Larsson, 2000). Cuando una emulsión se rompe, se deforma la simetría de la doble capa eléctrica alrededor de la gota de aceite y se modifica la interacción de las cargas eléctricas, favoreciendo las fuerzas de atracción entre ellas y produciendo la floculación, o en caso más grave, la coalescencia de la emulsión (Lissant, 1990). Estos fenómenos de desestabilización también dependen del tamaño de partícula que se presente en el sistema o de cuan uniforme sea dicha distribución, de tal manera que se propicie la estabilidad o inestabilidad de la emulsión.

### *d) Tamaño de partícula*

El tamaño de la partícula se expresa usualmente como el diámetro de las gotas de aceite, y los valores más pequeños así como los más grandes se les conoce como intervalo de tamaño de las partículas. Las dispersiones que presentan partículas de diámetro pequeño son emulsiones finas (transparentes) o también denominadas micro emulsiones, tal y como se mencionó en el apartado 1.1.1, mientras que las de diámetro más grande se conocen como emulsiones gruesas o simplemente emulsiones (Salager, 2000). El tamaño de partícula depende de tres factores importantes que en su conjunto determinan la estabilidad de una emulsión.

### *1 - Tipo y cantidad de emulsificante*

Cuando la concentración de agente emulsificante es alta, el tamaño de partícula cobra importancia en función del balance de fuerzas hidrodinámicas y fuerzas brownianas, y de lo rígidas o deformables que pueden ser las partículas. Las características químicas que presentan estos emulsificantes, pueden o no coadyuvar a la reducción del tamaño de partícula. Tal es el caso de algunos emulsificantes no iónicos, que al adsorberse reducen dicho tamaño de partícula (Powrie y Tung, 1992).

### *2 - Cantidad de trabajo realizado (homogenización)*

Una disminución de tamaño de gota de la fase dispersa favorece las fuerzas repulsivas, las cuales dependen del área, respecto a las fuerzas atractivas, que dependen del volumen. Es por esta razón que en las emulsiones se trata de fragmentar las partículas hasta un tamaño relativamente pequeño, con el propósito de favorecer las fuerzas repulsivas que aseguran la estabilidad de la emulsión. La creación de una emulsión a partir de dos fases líquidas separadas se denomina *homogenización primaria*, mientras que el proceso de reducción del tamaño de gota en la emulsión se denomina *homogenización secundaria* (McClements, 1999; Salager, 2000).

### *3 - Preparación de la emulsión*

En la preparación de una emulsión, usualmente se agrega la fase oleosa en el sistema acuoso, optimizando la velocidad de adición para asegurar que la fase dispersa (aceite) sea solubilizado totalmente en la fase continua, obteniendo una emulsión con diámetros de gota en un promedio de 5 a 10  $\mu\text{m}$  (Salager, 2000).

#### *e) Potencial hidrógeno (pH)*

El potencial hidrógeno o pH, es un indicador directo de la carga eléctrica y de la estabilidad de la interfase formada, lo que favorecerá o no, las fuerzas de repulsión o atracción entre las gotas de la fase dispersa. Es importante fijar adecuadamente el valor del pH al diseñar una emulsión y evitar la separación de fases por un cambio inadecuado de éste (Lissant, 1990).

#### **1.1.5 - Estabilidad de emulsiones**

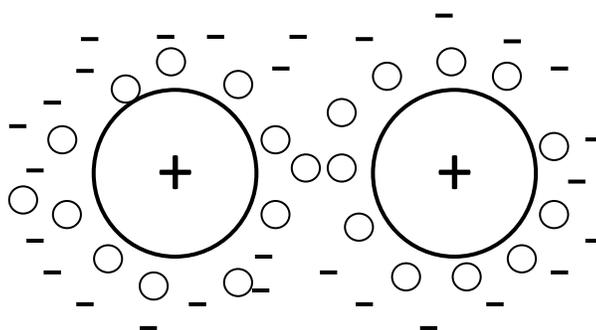
Una emulsión estable es aquella con ningún cambio discernible en la distribución del tamaño de las gotas, en su estado de agregación o en su arreglo espacial dentro del volumen de muestra durante un tiempo de observación. La estabilidad de una emulsión se encuentra dada por la capacidad que ésta posea para resistir cambios en sus propiedades fisicoquímicas con respecto al tiempo (Dickinson, 2003).

#### *Mecanismos de estabilización en emulsiones*

Los mecanismos mediante los cuales se estabiliza una emulsión, son importantes para evitar fenómenos de agregación entre las gotas que conforman la fase dispersa. Dentro de éstos, se encuentran la estabilización *electrostática*, *estérica* y *electrostérica*, los cuales están fuertemente influenciados por el balance de las interacciones que se dan en la superficie de las gotas de aceite, las fuerzas de atracción (fuerzas de Van der Waals) y las de repulsión (provocadas por la doble capa eléctrica) (Piirma, 1992).

***Estabilización electrostática:*** Una partícula con una superficie cargada puede causar una distribución desigual de iones provenientes de la solución formando una doble capa eléctrica sobre su superficie.

Los iones con carga eléctrica opuesta a la de la gota (contraiones) se acumulan cerca de su superficie y a esta distribución se denomina atmósfera iónica. Cuando dos gotas de aceite se aproximan una con otra, sus atmósferas de contraiones interfieren y originan la aparición de fuerzas repulsivas, lo que coadyuva a la estabilización del sistema. La Figura 1.6, representa el mecanismo de estabilización por efecto de la doble capa eléctrica entre dos gotas de aceite.

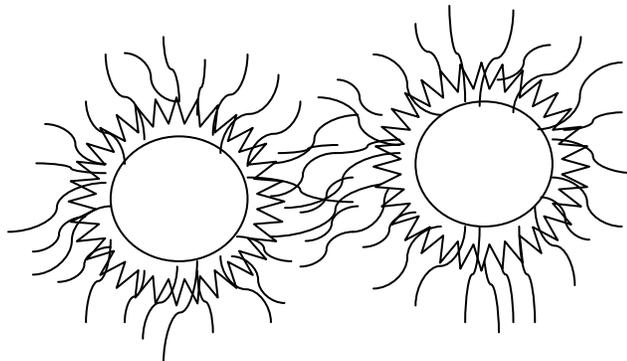


**Figura 1.6 - Estabilización electrostática (Piirma, 1992)**

### ***Estabilización estérica***

Segregación debida a la presencia de cantidades suficientes de biopolímeros en las gotas de aceite, en forma de “tiras desordenadas”, los cuales impiden interacción entre capas a través de efectos osmóticos. Este mecanismo de estabilización está basado en un modelo, el cual explica que cuando dos gotas de aceite se acercan entre sí, los biopolímeros que se encuentran en la superficie, pueden alinearse en forma de tiras desordenadas impidiendo que el área de la región interparticular de cada gota sea ocupada por otra, esto a través de los llamados efectos osmóticos.

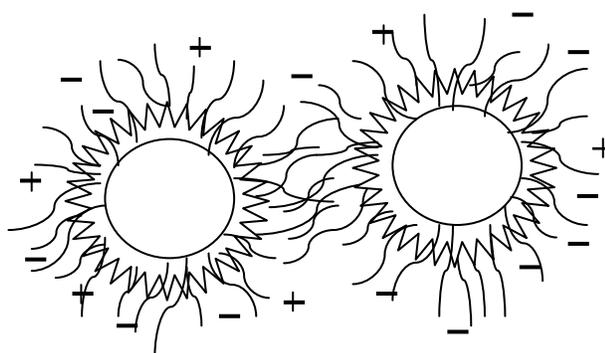
La Figura 1.7, representa el mecanismo de estabilización mediante la interacción de tiras desordenadas de polímeros entre dos gotas de aceite.



**Figura 1.7 - Estabilización estérica (Piirma, 1992)**

### ***Estabilización electrostérica***

Mecanismo físico de segregación, producto de la combinación de efectos estéricos y electrostáticos que proveen de una repulsión efectiva a las superficies de las gotas de aceite. Este fenómeno se presenta en una combinación de surfactantes iónicos y no iónicos en cantidades iguales. La Figura 1.8, representa una estabilización electrostérica por la combinación de efectos electrostáticos y estéricos.



**Figura 1.8 - Estabilización electrostérica (Piirma, 1992)**

Al igual que existen los mecanismos de estabilización, la inestabilidad de emulsiones también presenta mecanismos los cuales propician la separación de las fases que componen dicho sistema, a través de una serie de fenómenos fisicoquímicos como a continuación se presenta.

### 1.1.6 - Mecanismos de desestabilización

Los mecanismos que originan la inestabilidad de una emulsión son: cremado, sedimentación, floculación, coalescencia e inversión de fases (McClements, 1999), como se muestran en la Figura 1.9.

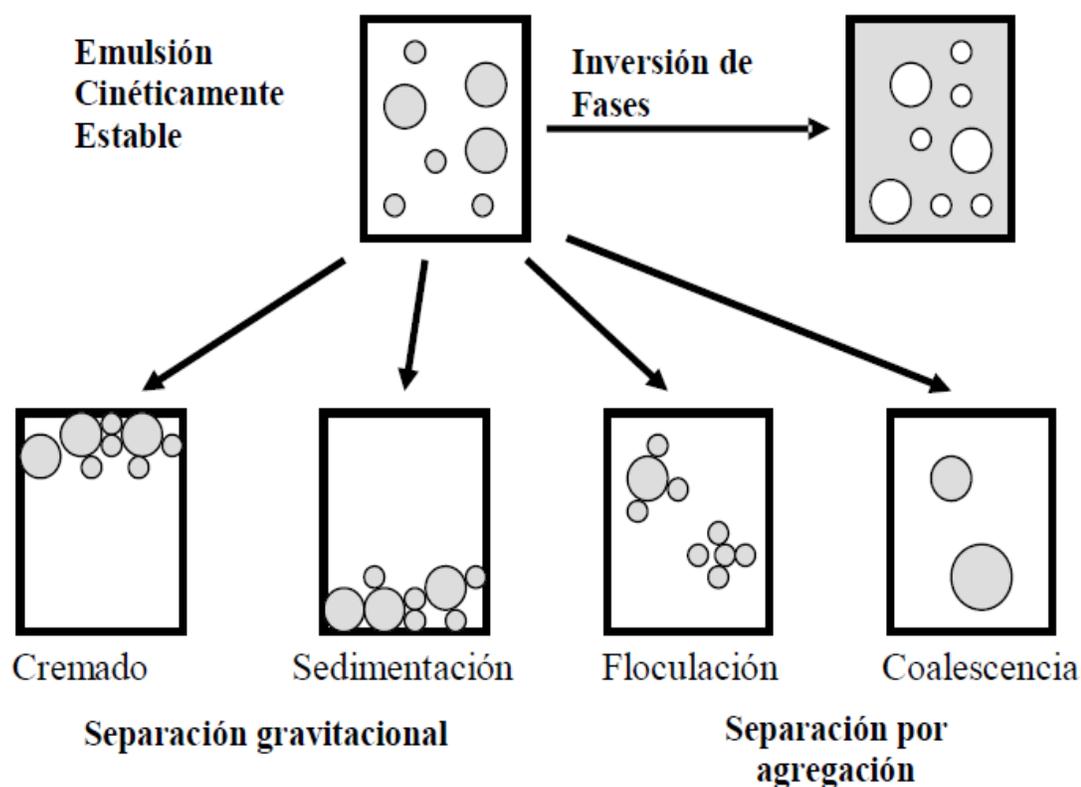


Figura 1.9 - Mecanismos de inestabilidad en emulsiones (McClements, 1999)

### *Cremado*

Mecanismo de separación que por acción de la gravedad, la fase menos densa (fase oleosa) tiende a subir y a acumularse en la superficie sin que exista unión o aglomeración entre las gotas de aceite. Aunque la diferencia de densidades entre la fase continua y dispersa es el factor primario de la separación, existen otros factores que también pueden contribuir a la inestabilidad del sistema tales como: concentración de gotas, polidispersidad y las interacciones entre partículas. El cremado es el fenómeno precursor a la coalescencia (McClements, 1999). Para reducir la posibilidad de cremado, se debe reducir la diferencia de densidades entre las fases, esto puede lograrse mediante la elección de un sistema con densidades similares; agregando agentes espesantes afín a alguna de las fases o incrementando la viscosidad de la fase continua mediante la adición de polímeros de alto peso molecular (Tadros, 2004).

### *Sedimentación*

Es el proceso inverso al fenómeno de cremado el cual consiste en el movimiento de gotas de aceite hacia la parte baja del sistema por una diferencia de densidades entre las fases continua y dispersa, sin que exista cambio alguno en sus tamaños (Tadros, 2004; McClements, 1999).

### *Floculación*

Fenómeno que ocurre cuando las gotas de la fase dispersa forman agregados aislados en el sistema sin llegar a fusionarse y sin haber variación en la distribución del tamaño de gota. El proceso de floculación está controlado por un equilibrio global entre las fuerzas de atracción de Van der Waals y fuerzas repulsivas de tipo estéricas y de hidratación (Aranberri et al., 2006).

En general, las emulsiones aceite en agua estabilizadas con proteínas, son particularmente propensas a la floculación. Un número de mecanismos diferentes puede actuar dependiendo de cómo las moléculas de proteínas interactúan entre ellas, y con otras especies del sistema. La floculación de una emulsión inicialmente estable puede ser inducida por ejemplo, reduciendo el pH hasta el punto isoeléctrico, aumentando la fuerza iónica, por adición de cationes divalentes (especialmente  $\text{Ca}^{+2}$ ), disminuyendo la calidad del solvente, por puentes con un polímero adsorbido o por depleción con un polímero no adsorbido (Aranberri et al., 2006).

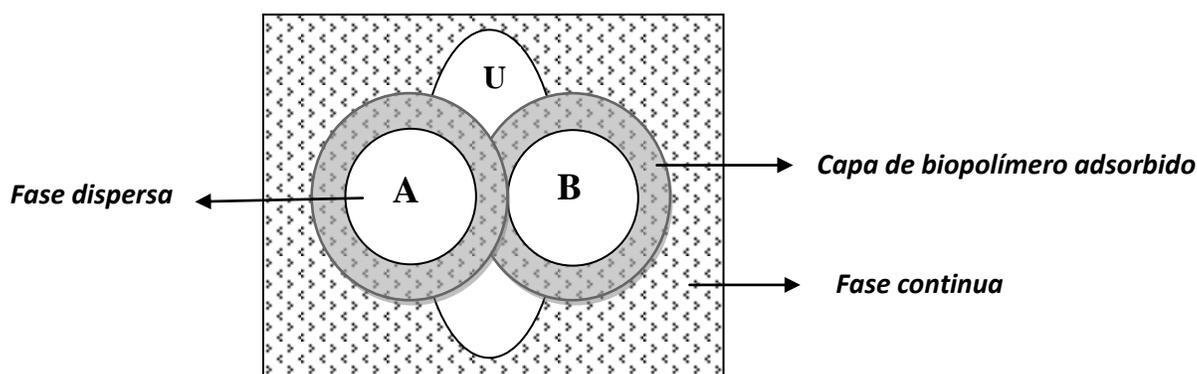
El proceso de floculación se puede producir mediante 3 principales mecanismos:

- a - Floculación por depleción.
- b - Capas de proteína adsorbidas.
- c - Por puenteo (puentes o entrecruzamiento entre gotas).

#### *a - Floculación por depleción*

Fenómeno físico de agregación debido a un exceso de proteína o polisacáridos no adsorbidos en la fase continua de una emulsión, lo que ocasiona un incremento en la fuerza atractiva entre las gotas de aceite, debido a un efecto osmótico asociado con la exclusión de biopolímeros de una región que rodea y separa a cada partícula. El fenómeno de desestabilización por depleción ha sido demostrado en emulsiones estabilizadas con emulsificantes que contienen ya sea un polímero no adsorbente o un exceso en la cantidad de biopolímeros en el sistema (Dickinson, 2003; Tesch y Schubert, 2002).

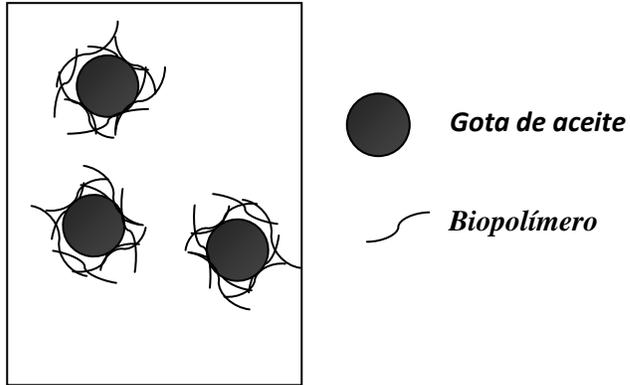
La Figura 1.10, representa el fenómeno de floculación por depleción entre dos gotas de aceite (A y B), las cuales se encuentran rodeadas por una capa de biopolímero adsorbido (zona en gris). Debido a la alta concentración en la fase continua (zona punteada), se produce la agregación de ambas gotas, donde las zonas de biopolímero adsorbido se unen desplazando parte del solvente entre ambas gotas (zona U), diluyendo la concentración del polímero en dicha región y disminuyendo la diferencia de presión osmótica de ambas zonas (zona U y punteada).



**Figura 1.10 - Floculación por depleción (Dickinson, 2003)**

#### *b - Floculación por capas adsorbidas*

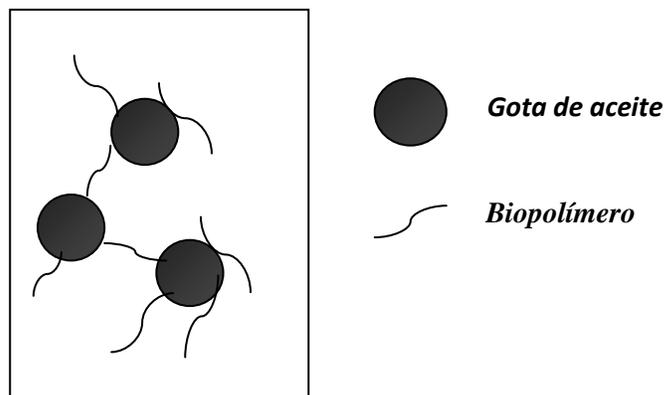
Largas secuencias de residuos no polares de un biopolímero, se pegan muy próximas a la superficie de la gota de aceite formando una capa densamente empaquetada como se aprecia en la Figura 1.11. La floculación aparece cuando alguna clase de unión se forma entre gotas próximas, las cuales pueden ser interacciones electrostáticas entre grupos cargados o interacciones hidrofóbicas entre los grupos no polares que se encuentran sobre las diferentes superficies poliméricas (Dickinson, 2003).



**Figura 1.11 - Flocculación por capas adsorbidas (Dickinson, 2003)**

*c - Flocculación por puenteo*

La Figura 1.12, muestra el fenómeno de flocculación por puenteo, el cual se presenta cuando la cantidad de biopolímero es insuficiente para cubrir completamente las gotas de la fase dispersa, de tal modo que cierta área de la gota con biopolímero adsorbido, pueda encontrar un área libre de polímero en una segunda gota, creando una estructura de puente entre ellas (Dickinson, 2003).



**Figura 1.12 - Flocculación por puenteo (Dickinson, 2003)**

Al considerarse dos diferentes tipos de biopolímeros, (proteína y polisacárido), el fenómeno de floculación por puenteo se presenta cuando las moléculas del polisacárido son capaces de adsorberse, junto con las proteínas, en la superficie de las gotas, formando una película alrededor de ellas y enlazándose mediante puentes de polisacárido (Tesch y Schubert, 2002).

### *Inversión de fases*

La inversión de fases es un proceso mediante el cual una emulsión aceite en agua se transforma en una emulsión agua en aceite o viceversa. Este cambio se produce según dos mecanismos: el primero se basa en la variación de la formulación del sistema y es conocido como *inversión transicional*, aunque pueden existir ciertas excepciones debido al uso de agentes emulsificantes comerciales con impurezas, mezclas de distintos emulsificantes, presencia de cristales líquidos, entre otros. El segundo, es producido por un cambio de la relación aceite-agua y se denomina *inversión catastrófica*. Depende, entre otros factores, de la energía de la agitación, y de la viscosidad de la fase dispersa (aceite) (Celis et al., 2008).

### *Coalescencia*

Fenómeno que se produce cuando las gotas de aceite entran en contacto entre sí y se fusionan formando gotas de mayor tamaño. La velocidad a la que se produce, depende de la velocidad a la que colisionan las gotas y de las propiedades superficiales de las mismas. Los procesos tales como el cremado, floculación, los movimientos brownianos, y la agitación, favorecerán este mecanismo de desestabilización. Una forma de evitar que se produzca un fenómeno de coalescencia es mediante el uso de agentes emulsificantes que pueden ser iónicos o no iónicos.

Los primeros se caracterizan por proporcionar una carga superficial a las gotas, y de este modo se generan fuerzas electrostáticas que se oponen a la colisión entre las mismas. Los no iónicos no pueden incrementar la carga superficial, de modo que estabilizan la emulsión a través de un mecanismo estérico, éstos tienen grandes grupos hidrofílicos los cuales se ubican de forma alejada de la superficie e imponen una barrera para la colisión entre las gotas.

Las proteínas como biopolímeros emulsificantes, tienen la capacidad de formar películas alrededor de las gotas y las propiedades mecánicas de esta película interfacial son las responsables de la resistencia a la coalescencia (Dickinson, 2003).

### **1.1.7 - Reología**

La reología se define como la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia ante la presencia de un esfuerzo. En fluidos, el concepto de viscosidad se basa en la suposición de que los materiales son homogéneos y que en consecuencia pueden ser tratados como sistemas continuos, sin embargo, las emulsiones como sistemas dispersos, exhiben un comportamiento que se desvía fuertemente al observado en fluidos homogéneos (Barnes, 1994; Sherman, 1983).

#### *Clasificación de los fluidos*

Con base a su comportamiento reológico, los fluidos se clasifican en newtonianos y no newtonianos. Los fluidos newtonianos son aquéllos en los que la relación entre el esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla es constante. Por su parte, los fluidos no newtonianos tienen un comportamiento diferente y pueden dividirse en tres grupos (Steffe, 1996).

- a) Aquéllos en los que el esfuerzo de cizalla y la velocidad de cizalla están relacionados por una ecuación no lineal tales como: fluidos plásticos (no Bingham), fluidificantes y espesantes.
- b) Aquéllos en los que el esfuerzo de cizalla es una función de la velocidad de cizalla y del tiempo: fluidos tixotrópicos y reopéticos.
- c) Aquéllos cuyo comportamiento es el resultado de un sistema viscoso-newtoniano y de un sistema elástico: fluidos viscoelásticos.

### *Modelos de flujo*

Los modelos de flujo, son ecuaciones matemáticas que proveen una manera conveniente y concisa de describir el comportamiento reológico de un fluido. Estos modelos pueden ser divididos en comportamientos de flujo independiente del tiempo y en comportamientos dependientes del tiempo. Entre los modelos para comportamientos de flujo independiente del tiempo, sobresalen los mencionados a continuación (Steffe, 1996).

#### *1- Ley de Newton*

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

Para la definición de un fluido newtoniano, el esfuerzo de cizalla ( $\sigma$ ) es directamente proporcional a la velocidad de cizalla ( $\dot{\gamma}$ ) y un único parámetro caracteriza los datos, la viscosidad ( $\eta$ ) expresada en Pa.s.

## 2- Modelo de la potencia

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

El modelo de la potencia describe el comportamiento de fluidos fluidificantes y espesantes a la cizalla, donde “k” es el índice de consistencia en Pa.s<sup>n</sup> y “n” es el índice de comportamiento al flujo, adimensional. El parámetro reológico “n” refleja la proximidad que presenta un fluido al comportamiento newtoniano (n=1) y se tratará de fluidos adelgazantes a la cizalla o fluidificantes a la cizalla cuando n<1 y espesante a la cizalla cuando n>1.

## 3- Modelo plástico de Bingham

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

Se denomina plástico de Bingham a todos aquellos fluidos que para esfuerzos de cizalla inferiores a un valor característico ( $\sigma_0$ ), se comportan elásticamente. Una vez superado este valor, dichos fluidos muestran un comportamiento similar al de un fluido newtoniano. Dos constantes caracterizan a los fluidos de Bingham, el esfuerzo de cedencia ( $\sigma_0$ ) (Pa) y el coeficiente de viscosidad plástica ( $\eta_p$ ) (Pa.s), donde esta última está dada por la pendiente  $d\sigma / d\dot{\gamma}$ .

## 4 - Modelo Herschel-Bulkley

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

Este modelo resulta de la combinación de aspectos teóricos y prácticos del modelo de Bingham y la ley de la potencia. Describe el comportamiento al flujo para fluidos no newtonianos, considerando tres parámetros: Índice de consistencia al flujo (k) en Pa.s<sup>n</sup>, índice de comportamiento al flujo (n), adimensional y el esfuerzo de cedencia ( $\sigma_0$ ) en Pa.

### 5 - Modelo de Ellis

$$\eta = \frac{\eta_0}{1 + \left(\frac{\sigma}{\sigma_{1/2}}\right)^{\alpha-1}}$$

Este modelo se aplica cuando las desviaciones de la ley de la potencia son significativas a bajos valores de velocidad de cizalla. El parámetro  $\eta_0$  es la viscosidad extrapolada a bajos valores de velocidad de cizalla, y los parámetros restantes  $\alpha$  y  $\sigma_{1/2}$  son empíricos. Por su parte,  $\alpha$ , mide el grado de comportamiento adelgazante y  $\sigma_{1/2}$  representa el valor de esfuerzo de corte en el que la viscosidad aparente vale la mitad del valor de  $\eta_0$ . Predice comportamiento newtoniano cuando  $\sigma_{1/2}$  tiende a infinito (Holdsworth, 1993; Chhabra y Richardson, 1999).

### 6 - Modelo de Carreau

$$\eta = \eta_\infty + (\eta_0 - \eta_\infty)[1 + (K_1\dot{\gamma})^2]^{(n-1)/2}$$

El modelo de Carreau representa una desviación del modelo de la potencia y toma en cuenta valores extremos de viscosidad aparente mediante cuatro parámetros empíricos:  $n$  (índice de comportamiento al flujo),  $\eta_0$  (viscosidad a valores bajos de velocidad de cizalla),  $\eta_\infty$  (viscosidad a valores altos de velocidad de cizalla) y  $K_1$  (constante de tiempo), según lo reportado por Holdsworth (1993); Chhabra y Richardson (1999). Como un caso particular, existe un modelo denominado Carreau-Gahleitner, el cual considera los mismos parámetros que el modelo anterior mediante la siguiente ecuación.

$$\eta = \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{(1 + (K_1\dot{\gamma})^2)^n} + \eta_\infty$$

Algunos de estos modelos reológicos, se representan en la Figura 1.13 mediante una curva de flujo (inciso a) y una curva de viscosidad en función a la velocidad de cizalla (inciso b).

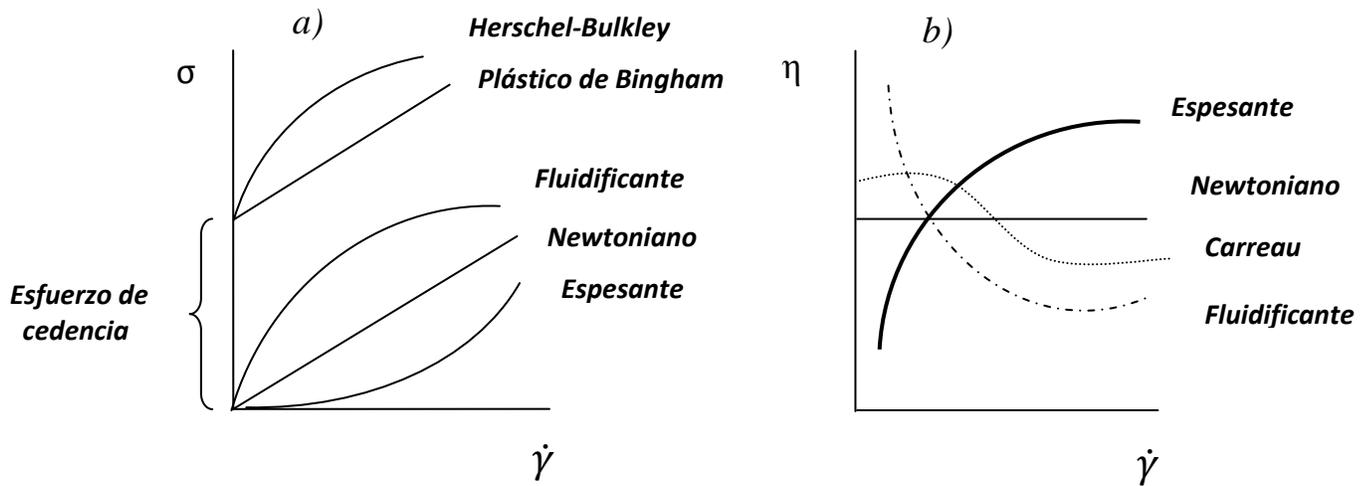


Figura 1.13 - a) Curva de flujo y b) curva de viscosidad para fluidos independientes del tiempo (Steffe, 1996)

### 1.1.8 - Reología de emulsiones

El estudio de las propiedades reológicas de emulsiones es importante desde el punto de vista de la investigación y de su aplicación. A través de estas propiedades complementadas con otras técnicas, se puede obtener información detallada acerca de la estructura de la emulsión, de los estados de agregación de las gotas y de las fuerzas de interacción interparticular. Industrialmente, el estudio de estas propiedades es útil en la descripción de atributos de un producto y en el control de las propiedades de flujo durante las operaciones industriales (Dickinson, 1998). Las principales propiedades físicas que influyen el comportamiento reológico de una emulsión son: el contenido de la fase interna, tamaño, forma y distribución de partícula, propiedades de la fase continua, temperatura, fuerzas interparticulares y los efectos electroviscosos, como a continuación se presenta (Sherman, 1983).

*a) Contenido de fase interna*

El contenido de fase interna, se define como la relación entre el volumen de fase dispersa y el volumen total de dispersión, expresado como fracción o como porcentaje y denotado con el símbolo “ $\phi$ ”. Cuanto mayor es el contenido de fase interna en una emulsión, más complejo es su comportamiento reológico y por lo tanto, su viscosidad se incrementa.

*b) Distribución y tamaño de partícula.*

Existen resultados que muestran la siguiente relación: Cuanto menor es el tamaño de gota en una emulsión, mayor es su viscosidad y cuanto más amplia es la distribución, menor es la viscosidad. Esto debido a la forma en que se arreglan las partículas en el sistema, donde las gotas más pequeñas pueden acomodarse entre los intersticios de las más grandes, reduciendo así las interacciones entre ellas, y por consiguiente, la viscosidad (Salager, 2000).

*c) Forma de las partículas*

La forma de las partículas también tiene una contribución importante en el comportamiento reológico. A medida que dichas partículas se desvían de la forma esférica, el sistema se vuelve más viscoso (Salager, 2000).

*d) Propiedades de la fase continua*

La viscosidad y el comportamiento reológico de la fase continua juegan un papel importante en la viscosidad de las emulsiones. Matemáticamente se ha demostrado que la viscosidad de la emulsión guarda una relación proporcional con la viscosidad de la fase continua (Ramírez et al., 2002).

*e) Temperatura*

El aumento en la temperatura reduce la viscosidad de las emulsiones, sin embargo, también tiene otros efectos tales como la modificación de las propiedades interfaciales, reduciendo o induciendo a fenómenos de floculación y el cambio del contenido de fase interna si la temperatura produce una expansión volumétrica en alguna de las fases.

*g) Fuerzas interparticulares*

Referido a las fuerzas presentes en las moléculas del sistema las cuales pueden ser electrostáticas debido a la presencia de partículas o moléculas cargadas o de tipo London Van der Waals que generan incremento en la viscosidad de la emulsión por efecto de las interacciones.

*h) Efectos electroviscosos*

El efecto electroviscoso se produce en partículas en las que se ha desarrollado una doble capa eléctrica. Existen dos tipos de efectos electroviscosos:

\* *Primer efecto electroviscoso:* cuando se aplica un cizallamiento se distorsiona la doble capa eléctrica produciéndose una distribución desigual de las cargas. Esto tiene como efecto aumentar las fuerzas de fricción interparticular y por ende, la viscosidad.

\* *Segundo efecto electroviscoso:* ocurre cuando las partículas colisionan entre sí, haciendo que las dobles capas eléctricas interactúen, teniendo como resultado la aparición de una elevada fuerza de repulsión, lo cual se refleja en un aumento de viscosidad.

A continuación se presentan algunos resultados de estudios reológicos realizados sobre emulsiones aceite en agua, preparadas y estabilizadas con agentes emulsificantes de bajo y alto peso molecular. Estos estudios mostraron que el comportamiento reológico de una emulsión está ligado fuertemente a la concentración y al tipo de emulsificante empleado, así como a la concentración de la fase dispersa, como se ejemplifica a continuación (Dickinson, 1998).

En presencia de polisacáridos, se han elaborado emulsiones aceite en agua ( $\phi=0.65$ ), empleando goma xantana y goma guar, a una concentración de 0.75%, siguiendo una relación xantana/guar de 0/100, 15/85 y 100/0. Las emulsiones compuestas de 0 xantana/100 guar, resultaron ser sistemas adelgazantes a la cizalla, presentando valores menores de viscosidad a esfuerzos bajos de cizalla, en comparación con las emulsiones de 100 xantana/0 guar, cuyo comportamiento reológico fue el mismo. Las emulsiones de 15 xantana/85 guar, fueron los sistemas con mayores valores de viscosidad en comparación con las anteriores, presentando también un comportamiento reológico de tipo adelgazante a la cizalla.

Otros estudios mostraron el mismo comportamiento adelgazante a la cizalla al emplear goma dextrana al 0.5%, 1% y 10% en emulsiones (30/70), como consecuencia de la formación de una red tipo gel formada por gotas floculadas por depleción, debido a concentraciones no adsorbidas de goma dextrana en la interfase (Dickinson, 1998).

Ante el uso de proteínas lácteas, el caseinato de sodio también ha desempeñado una función importante en la formación y estabilización de emulsiones (30/70) aceite en agua. Estudios han demostrado que en concentraciones de 4, 5 y 6%, los comportamientos reológicos son tipo adelgazante a la cizalla, debido a la presencia de submicelas de caseína no adsorbidas en la interfase, lo que genera floculación entre las gotas de aceite.

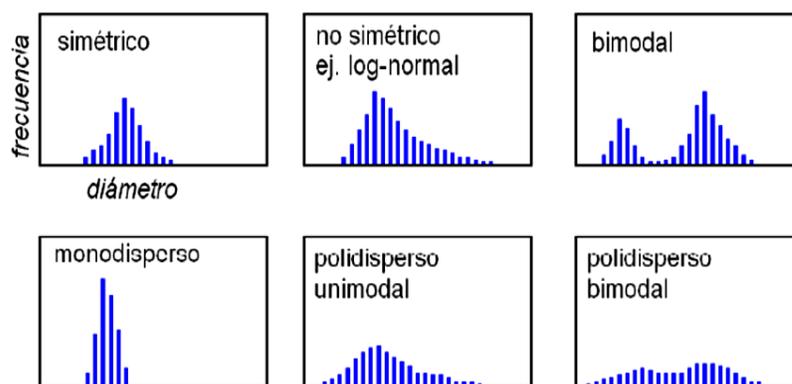
Finalmente, al emplear emulsificantes de bajo peso molecular, como el Tween 20 al 1, 1.3, 1.6 y 2% con concentraciones de aceite al 30, 40, 50 y 60%, se presentó un comportamiento reológico de tipo newtoniano en emulsiones de Tween 20 al 1% y 1.3% con aceite al 30% y 40%, el resto de las emulsiones mostraron adelgazamiento a la cizalla, siendo las de Tween 20 al 2% con aceite al 60%, los sistemas con mayores características adelgazantes.

### **1.1.9 - Distribución y tamaño de partícula**

Las propiedades macroscópicas de una emulsión tales como su viscosidad y estabilidad, pueden relacionarse mediante dos tipos de parámetros, el primero referido al tamaño promedio de partícula, el cual se mide a través del concepto del diámetro equivalente, en el sentido de que es el diámetro que poseerían las gotas de la fase dispersa si todas tuvieran el mismo volumen o la misma área superficial en todo el sistema. El segundo parámetro está en función de una distribución de diámetro de gotas a través de la cual se mide el grado de dispersión de la emulsión (Salager, 2000).

La distribución de tamaño de gota se obtiene a través de un histograma o una curva de distribución, donde se representa la fracción del volumen total que ocupan las gotas de aceite en todo el sistema.

Dichos histogramas pueden ser de tipo simétrico, log normal, bimodal (dos poblaciones de partículas), monodisperso, polidisperso (mayores intervalos de tamaño de partícula), así como polidisperso bimodal, tal y como se ilustran en la Figura 1.14, donde se relaciona el tamaño de partícula expresado en nanómetros o micrómetros con la frecuencia en porcentaje, a la que se encuentran distribuidas las partículas.



**Figura 1.14 - Histogramas de distribución de tamaño de gota (Salager, 2000)**

### *Métodos de determinación de tamaño de gota*

Las propiedades que contribuyen mayormente a las características de una emulsión son principalmente, la distribución de tamaño de gota y la concentración de aceite. La determinación directa de estos parámetros por métodos convencionales de microscopio resulta difícil debido al tamaño pequeño de las gotas que conforman la fase dispersa, sin embargo, existen otros métodos tales como la microscopía electrónica, los cuales presentan una resolución adecuada, no obstante, se provoca una desestructuración de la muestra al momento de su preparación. Otras técnicas comúnmente utilizadas, son la difracción de luz láser y la resonancia magnética nuclear, pero requieren de equipos caros los cuales involucran cierta dificultad para operarlos (Coupland y McClements, 2001).

### 1.1.10 - Determinación de estabilidad

La estabilidad de una emulsión se relaciona en general con la medida del volumen de fases separadas. Después de un tiempo, el sistema se separa típicamente en tres zonas: una zona central que contiene la emulsión y dos fases separadas: la dispersa (coalescida) y la continua (clarificada), como se muestra en la Figura 1.15 (Salager, 2000).

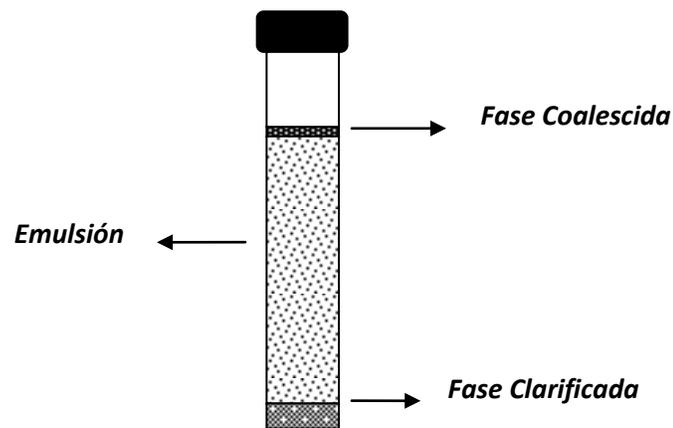


Figura 1.15 - Separación de fases en emulsiones

Existen algunos métodos para determinar la estabilidad de emulsiones basados en la transmisión y retrodispersión de luz. Lo anterior puede traducirse en curvas de inestabilidad, ya sea éste el caso, en función del tiempo, las cuales permiten detectar fenómenos tales como: clarificado, sedimentación, floculación y coalescencia. A través de estas curvas, también se pueden obtener las cinéticas de desestabilización en la emulsión, las cuales muestran el cambio de volumen de fases separadas respecto al tiempo.

## 1.2 - PROTEÍNAS

Las proteínas son biomoléculas formadas principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, cuyas unidades básicas son los aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos (Belitz y Grosch, 1992). Debido a la presencia de cargas que presentan los radicales de los aminoácidos, así como a la rigidez del enlace peptídico, las proteínas adquieren conformaciones en el espacio que les permiten organizarse y desempeñar diversas funciones, estas conformaciones se denominan: estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria (Peretó et al., 1996).

***Estructura primaria:*** Formada por cadenas polipeptídicas cuyo esqueleto está constituido por sucesivos enlaces peptídicos.

***Estructura secundaria:*** Referida al ordenamiento regular y periódico de las proteínas en el espacio a lo largo de su eje. Estos ordenamientos pueden ser en hoja plegada y hélice alfa. Son estabilizadas por fuerzas electrostáticas, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y dipolo-dipolo.

***Estructura terciaria:*** En esta estructura la cadena polipeptídica se dobla sobre sí misma para generar una estructura plegada y compacta.

***Estructura cuaternaria:*** Referida al ordenamiento espacial de subunidades de cadenas polipeptídicas con estructura terciaria.

Las proteínas tienen una serie de propiedades funcionales tales como: solubilidad, viscosidad, gelificación, elasticidad, emulsificación y espumado (Fennema, 2000). En términos de actividad superficial, dicha propiedad no sólo depende de la relación hidrofobicidad/hidrofilicidad, sino de la conformación de la proteína.

En ello se debe considerar la relación de la estabilidad/flexibilidad de la cadena polipeptídica, la adaptabilidad a los cambios en el medio ambiente, así como los patrones de distribución de los grupos hidrofílicos e hidrofóbicos en la superficie de la proteína. En general, las proteínas presentan tres atributos deseables con actividad superficial (Badui, 2006):

- 1.- *Capacidad para adsorberse rápidamente en una interfase.*
- 2.- *Capacidad para desplegarse rápidamente y reorientarse en una interfase formando configuraciones de fila, lazos y colas (apartado 1.1.2).*
- 3.- *Capacidad aún en la interfase para interactuar con moléculas vecinas y formar películas viscoelásticas.*

Las proteínas al ser moléculas anfifílicas, es decir que posean una parte hidrofílica y una parte hidrofóbica, pueden estabilizar sistemas como las emulsiones, al migrar espontáneamente desde la fase acuosa hacia la interfase agua-aceite, puesto que su energía libre es menor en dicha interfase. Para estabilizar una emulsión, los dominios hidrofóbicos de la proteína deben orientarse hacia la fase oleosa o dispersa y los hidrofílicos hacia la fase continua. La facilidad con la que la proteína se despliegue (se desnaturalice) para exponer sus dominios hidrofóbicos, afectará sus propiedades emulsificantes (Wong, 1995).

.

### **1.2.1- Proteínas lácteas**

Las proteínas lácteas, tanto en su forma soluble como dispersa, son de gran valor como ingredientes alimenticios con excelentes características surfactivas y estabilizantes. Las dos principales clases de proteínas lácteas son las caseínas y las proteínas de suero.

En términos de estructura de la capa adsorbida y propiedades mecánicas, es conveniente hacer una distinción entre ellas, ya que las caseínas poseen una estructura desordenada y flexible, mientras que las proteínas del suero tienen una estructura globular y compacta (Dickinson, 2003). Las caseínas representan el 80% del total de proteínas en la leche, y las proteínas del suero o también llamadas seroproteínas, el 20% restante (Badui, 2006; Luquet, 1991; Wong, 1995).

### *Caseínas*

Las caseínas son por definición las fosfoglucoproteínas que precipitan de la leche descremada a pH 4.6 y 20° C. Dentro del grupo de las caseínas, existen cuatro fracciones principales:  $\alpha_s$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ ,  $\gamma$ -caseína (Wong, 1995), de las cuales, el Cuadro 1.1, presenta algunas propiedades fisicoquímicas para cada una de ellas.

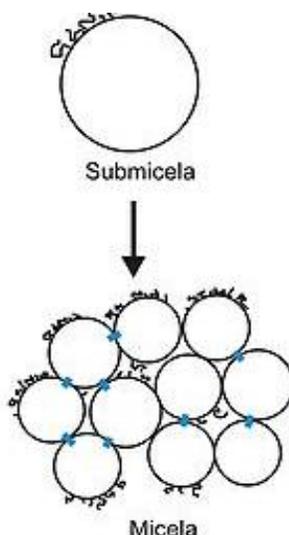
Las fracciones  $\alpha_{s1}$  y  $\alpha_{s2}$ , presentan el mayor porcentaje del total de las caseínas en la leche, seguido por las  $\beta$ -caseínas y finalmente las  $\kappa$ -caseínas. Las fracciones  $\beta$  presentan el mayor peso molecular a diferencia del resto de las fracciones y resultan ser las más hidrófobas de las caseínas, en contraparte, las fracciones  $\alpha_{s2}$ , resultan ser las fracciones con mayores características hidrófilas en comparación con las del resto. Tanto las fracciones  $\alpha_{s1}$  como  $\alpha_{s2}$ , se caracterizan por su baja tendencia a formar agregados y todas las fracciones presentan cargas negativas en valores de pH propios de la leche (6.7-6.8).

**Cuadro 1.1 - Propiedades fisicoquímicas de las caseínas (Charalambous, 1990)**

Caseína	$\alpha_{s1}$	$\alpha_{s2}$	$\beta$	$\kappa$
<i>Porcentaje del total de las caseínas ubicadas en la leche</i>	40-55		25-35	10
<i>Diámetro (nm)</i>	30-300			
<i>Peso molecular (Daltons)</i>	23 600		24 000	18 000 a 19 000
<i>Composición</i>	199 restos aminoácidos con 8 fosfoserilos y 12 restos de carbono.	Rica en residuos catiónicos, es la más hidrófila de todas las caseínas debido a su alto grado de fosforización, 10 a 13 fosfoseril/mol.	Constituida por una sola cadena polipeptídica de 209 restos aminoácidos.	Distribución asimétrica, alto contenido en ácidos aspártico y glutámico; ácida y muy soluble.
<i>Hidrofobicidad</i>	Hidrofobicidad de 1172 calorías por residuo. Alta carga y baja hidrofobicidad; baja tendencia a formar agregados.	Hidrofobicidad de 1111 calorías por residuo. Tienen baja tendencia a formar agregados.	Es la más hidrófoba de las caseínas, 1334 calorías por residuo.	Hidrofobicidad 1310 calorías por residuo.
<i>Grupos fósforo</i>	Una parte muy fosforilada, residuos 41-80, representando la casi totalidad de la carga negativa.	_____	Sus cinco restos fosfoserilo están agrupados en las proximidades del dominio N-Terminal (restos 1-43).	Sus monómeros tienen un solo resto fosfato y entre 0 y 5 cadenas de hidratos de carbono.
<i>Carga eléctrica</i>	Carga negativa de -21 a pH 6.8	Carga negativa de -23 a pH 6.8	Carga negativa de -12 a pH 6.7	Carga negativa de -4 a pH 6.7
<i>Comportamiento frente a iones calcio</i>	Tiende a precipitar en presencia de iones calcio	Gran solubilidad en presencia de iones calcio	No precipita bajo la acción del calcio tan fácil como $\alpha_{s1}$	Es la menos sensible a la precipitación por iones calcio ejerciendo una estabilización a las restantes caseínas.

### *Micela de caseína*

Aproximadamente en la leche normal, el 95% de la caseína se encuentra unida a grupos de fosfato cálcico en forma de complejos esféricos muy hidratados, los cuales se les conoce con el nombre de micelas. Estas micelas poseen diámetros que van desde los 30 a los 300 nm y pueden llegar a pesar  $10^9$  Daltons (Charalambus, 1990; Wong, 1995). La micela de caseína es aproximadamente esférica, aunque no posee una superficie lisa; está constituida de pequeñas unidades llamadas submicelas las cuales contienen principalmente una mezcla de las diferentes fracciones de caseína, predominando en gran medida la  $\alpha_{s1}$  y  $\beta$  caseínas, seguidas de  $\alpha_{s2}$ ,  $\kappa$ , las cuales en conjunto representan 93% de su peso. El 7% restante está constituido por calcio inorgánico (3%), fosfato (3%) y pequeñas cantidades de magnesio, sodio, potasio y citrato. El calcio, el fosfato de calcio coloidal y el citrato, son componentes integrales y colectivamente estabilizan la micela (Luquet, 1991). La Figura 1.16, muestra la conformación de la micela de caseína por subunidades llamadas también submicelas, formando un complejo esférico hidratado.



**Figura 1.16 - Conformación de la micela de caseína (Walstra, 1999)**

Debido a que las caseínas son ricas en ácido glutámico y aspártico, esto les confiere una hidrofobicidad media, ligeramente superior a la de mayoría de las proteínas globulares, lo cual les permite asociarse muy fácilmente en complejos macromoleculares de elevada masa molecular (Coulltate, 1998). Como se mencionó anteriormente, las caseínas son separadas de las demás proteínas de la leche por precipitación ácida a un pH de 4.6, este proceso destruye la estructura micelar de la caseína y después de una neutralización con sales de sodio o calcio, se generan los llamados caseinatos (Casanova et al., 2004). El caseinato de sodio es uno de los ingredientes más versátiles debido a su buena solubilidad, naturaleza surfactante, resistencia al calor y capacidad de retención de agua (Vega, 2006; Casanova et al., 2004).

#### **1.2.1.1- Caseinato de sodio**

El caseinato de sodio es el producto resultante de la mezcla soluble de las caseínas de la leche, obtenido mediante una precipitación ácida a pH 4.6 y posteriormente neutralizada con soluciones alcalinas de sodio (Firouz et al., 2000). Poseen alrededor del 92% de concentración proteínica en base seca.

##### *Propiedades funcionales*

Las propiedades funcionales de los caseinatos, tales como viscosidad, capacidad de gelificación, emulsificación y capacidad de espumado están en función de la propiedad más importante de las proteínas, la solubilidad. Ésta a su vez depende de factores fisicoquímicos de las proteínas tales como el pH, la presencia de iones divalentes, la fuerza iónica, la modificación de sus grupos funcionales, su flexibilidad molecular y composición de aminoácidos.

La naturaleza anfifílica (parte polar y apolar) de las caseínas, como agentes emulsificantes, permite su fuerte adsorción sobre interfases gas-líquido, líquido-líquido y sólido-líquido, con lo cual se genera una reducción significativa de la tensión superficial o interfacial del sistema. Esto permite ahorros importantes de energía en la elaboración de productos como emulsiones, donde las fuerzas superficiales o interfaciales son las responsables de la integridad de la fase a dispersar (Firouz et al., 2000). Durante la elaboración de emulsiones aceite en agua, el caseinato de sodio cumple dos funciones principales: disminuir la tensión interfacial aceite-agua (actúa como emulsificante) y conferir estabilidad coloidal a las gotas recién formadas (actúa como estabilizante). La alta estabilidad coloidal de las emulsiones preparadas con caseinato de sodio, y en general con proteínas, es una de sus mejores características funcionales (Casanova et al., 2004).

La capacidad emulsificante de los caseinatos está determinada por el estado de agregación de las caseínas que lo conforman, el cual puede ser modificado por el potencial hidrógeno, concentración de iones calcio, temperatura y concentración de proteína, entre otros factores fisicoquímicos. Una mayor disminución en la tensión superficial debe reflejarse en una mayor capacidad emulsificante de los caseinatos (medida en términos del volumen de aceite emulsificado por unidad de masa de proteína) (Casanova et al., 2004).

#### *Propiedades de estabilización en emulsiones*

Debido al predominio de prolina en las moléculas de caseinato de sodio, se impide la formación de estructura secundaria, por lo que se trata de moléculas flexibles, además, debido a que los primeros 50 aminoácidos son hidrófobos, tienen una buena afinidad por la fase dispersa (aceite).

Las caseínas  $\alpha$  y  $\beta$ , quienes conforman la mayor proporción de fracciones en el caseinato de sodio, se caracterizan por ser anfifílicas y tienen fuertes tendencias para adsorberse en interfaces aceite-agua, por lo tanto, presentan la capacidad para estabilizar emulsiones de dicha naturaleza. Con  $\beta$  caseínas, se ha demostrado que se adsorben con una región extensa hidrófoba ancladas directamente a la superficie de la fase oleosa y una región hidrofílica que sobresale ampliamente en la fase continua. Para el caso de  $\alpha_{s1}$ , una conformación de lazo, como se ha pronosticado que lo hace, no tiene tal desigualdad pronunciada en la distribución de residuos hidrófobos e hidrófilos en su estructura primaria (Dickinson, 1992).

A valores de pH de la leche ( $\approx 6.7$ ), el caseinato de sodio se puede representar como una capa interna compuesta en su mayoría por residuos hidrófobos, que al penetrar en la interfase toma una configuración lineal, y una capa compuesta por residuos hidrofílicos los cuales se extienden hacia la fase acuosa como lazos o colas (Marinova et al., 2009). Se ha encontrado que las caseínas se adsorben fuertemente a interfases aceite-agua, este fenómeno ocurre durante el proceso de homogenización y evita que las partículas recién formadas coalescan. Los mecanismos conocidos como impedimento estérico y repulsión electrostática, son responsables de brindar al sistema estabilidad a largo plazo (McClements, 2004).

### *Proteínas de suero*

Después de la separación de las caseínas de la leche descremada, el líquido restante es llamado suero y constituye el 90% del volumen de la leche. Se han desarrollado dos procesos que tienen la habilidad de extraer las proteínas del suero preservando su integridad.

Estos procesos son microfiltración, en el cual las proteínas son separadas físicamente por un filtro microscópico e intercambio iónico, en el que las proteínas son extraídas considerando sus cargas específicas (Guyomarc'h et al., 2009; Parra, 2009).

Por su pH se pueden clasificar en tres tipos (López et al., 2000; Parra 2009):

- 1.- Suero dulce:** con un pH mayor a 5.8.
- 2.- Suero medio ácido:** con un pH entre 5.8 y 5.0.
- 3.- Suero ácido:** con un pH menor a 5.0.

Las proteínas de suero constan por lo menos de ocho fracciones diferentes, entre las cuales destacan la  $\beta$ -lactoglobulina, la  $\alpha$ -lactoglobulina, las inmunoglobulinas, la albúmina bovina y las proteasas peptonas. A diferencia de las caseínas, las proteínas del suero son compactas y solubles en un intervalo de pH muy amplio, debido a que su solubilidad pasa a través de un mínimo en su punto isoeléctrico ( $\approx 5.2$ ) (Pongsawatmanit et al., 2006; Parra, 2009). En estado natural no se asocian con las caseína y suelen presentar estructuras globulares, es decir, presentan cadenas polipeptídicas con estructura secundaria plegadas y compactadas en un alto grado de organización (Badui, 2006). La  $\beta$ -lactoglobulina y  $\alpha$ -lactoglobulina forman cerca del 70% del contenido proteínico del suero, siendo la  $\beta$ -lactoglobulina la de mayor porcentaje con el 60%, sin embargo, ambas proteínas son responsables de la hidratación, emulsificación y propiedades espumantes del mismo (Nicorescu et al., 2008). A partir de estas proteínas de suero, productos con alto contenido proteínico pueden ser obtenidos mediante procesos de ultrafiltración, un ejemplo de ellos, es el concentrado de suero lácteo (Sliwinski et al., 2003).

### 1.2.1.2 - Concentrado de suero lácteo

El concentrado de suero lácteo, es el producto del fraccionamiento del suero lácteo a través de métodos como la ultrafiltración, el cual consiste de una membrana semipermeable, que selectivamente permite el paso de materiales de bajo peso molecular como agua, iones y lactosa, mientras que retiene materiales de peso molecular alto como la proteína. El retenido es concentrado por evaporación y liofilización, resultando de este procedimiento un porcentaje del 35% al 90% de proteína pura (Meza et al., 2009). Los concentrados de suero lácteo retienen su funcionalidad en ambientes de pH bajo, alcanzando una buena emulsificación en sistemas altamente ácidos (Johnson, 2006).

El Cuadro 1.2, presenta un comparativo de la composición química de los concentrados de suero lácteo a sus diferentes porcentajes de proteína pura, notándose que con el aumento en dicha concentración, se ven reducidos otros componentes como cenizas, lactosa e inclusive grasa, para obtener un producto de alta composición proteínica.

**Cuadro 1.2 - Composición química de concentrados de suero lácteo (CSL) a diferentes porcentajes de proteína pura (Empresa GEA, Filtration)**

	<b>CSL 35</b>	<b>CSL 50</b>	<b>CSL 65</b>	<b>CSL 80</b>	<b>CSL 85</b>	<b>CSL 90</b>
<b>Concentración (%)</b>	5.56	11.10	23.14	41.90	~50	~55
<b>Proteína real</b>	30.7%	45.3%	60.0%	75.0%	79.7%	88.9%
<b>Nitrógeno no Proteico</b>	2.9%	2.7%	2.4%	1.8%	1.9%	1.1%
<b>Lactosa</b>	52.1%	37.7%	23.3%	9.4%	10.6%	3.8%
<b>Acidez</b>	1.4%	1.1%	0.7%	0.3%	0.3%	0.1%
<b>Cenizas</b>	6.3%	5.5%	4.6%	3.2%	3.2%	1.8%
<b>Grasa</b>	2.6%	3.8%	5.0%	6.2%	0.3%	0.3%
<b>Humedad</b>	4.0%	4.0%	4.0%	4.0%	4.0%	4.0%
<b>TOTAL</b>	<b>100.0%</b>	<b>100.0%</b>	<b>100.0%</b>	<b>100.0%</b>	<b>100.0%</b>	<b>100.0%</b>

### *Propiedades de estabilización en emulsiones*

En general, las proteínas de suero son utilizadas ampliamente en una variedad de alimentos gracias a sus propiedades emulsificantes. Al igual que las proteínas de caseinato de sodio, la capacidad para estabilizar emulsiones aceite en agua, se ve afectada por factores tales como el pH y la fuerza iónica de la fase acuosa (Parra, 2009; Dybowska, 2008).

### **1.3 - POLISACÁRIDOS**

Los polisacáridos, al igual que los oligosacáridos, están formados por unidades de carbohidratos denominados monosacáridos, los cuales se encuentran unidos por enlaces glicosídicos. La hidrólisis ácida conduce a la aparición de los correspondientes monosacáridos, y para el esclarecimiento de su estructura, es de utilidad no sólo la hidrólisis total, sino también parcial, ya sea química o enzimáticamente (Belitz y Grosch, 1992).

Los polisacáridos también son llamados glicanos, y pueden estar formados por unidades de un solo tipo de carbohidrato (homoglicanos), tales como almidón o glucógeno, o de diferentes tipos de unidades de carbohidratos (heteroglicanos) como el caso de algunas gomas. Dichas macromoléculas pueden contener desde 30 unidades de monosacáridos en su estructura, sin embargo, otros de ellos tienen un peso molecular muy elevado debido a la presencia de unos cientos hasta miles de unidades de monosacáridos. A diferencia de las proteínas, cuyas estructuras primarias están codificadas por el genoma, y por ello tienen longitudes específicas, los polisacáridos se forman sin una matriz, por la adición de un monosacárido en particular y residuos de oligosacáridos (Belitz y Grosch, 1992).

Muchos alimentos contienen de forma natural cantidades importantes de polisacáridos, esto debido a que forman parte de su composición química, sin embargo, otras veces han sido añadidos como aditivos para desempeñar ciertas funciones tecnológicas específicas. En este contexto, los polisacáridos ofrecen diversas propiedades que vienen determinadas por cuatro factores vinculados a su composición molecular (Bello, 2000).

a) Tipo y estructura del monosacárido componente

- Hexosas, pentosas, ácidos urónicos
- Configuración (lineal o en anillo)

b) Grupos funcionales presentes en la molécula

- Tipo (carboximetil, hidroxil, ésteres sulfato, fosfato, metilo)
- Localización en la molécula
- Grado de sustitución

c) Estructura de la molécula

- Tipo de enlaces glucosídicos.
- Grado de ramificación
- Grado de polimerización y distribución de unidades básicas

d) Conformación

- Helicoidal
- Micelar
- Asociada

De acuerdo con sus propiedades, los polisacáridos están destinados a desempeñar en la tecnología de alimentos, funciones de espesamiento, gelificación, texturales, emulsificación, retención de agua, entre otros (Bello, 2000). En emulsiones estos compuestos son empleados con el objetivo de estabilizar las gotas de fase dispersa ante el cremado y modificar las propiedades texturales.

La estabilización puede lograrse mediante el aumento de viscosidad de la fase continua o, en el caso de emulsiones concentradas, formando una red tridimensional (Quintana et al., 2002). Uno de los polisacáridos más empleados para fines de estabilización en alimentos, es el almidón; esto gracias a las propiedades fisicoquímicas que presenta y al ser uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza. A través de ciertos procesos, el almidón es modificado químicamente con el objetivo de mejorar sus propiedades funcionales (Belitz y Grosch, 1992).

### *Almidón*

El almidón es una mezcla de dos polisacáridos similares entre sí, la amilosa y la amilopectina; el primero es producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos  $\alpha$  (1,4), que establecen largas cadenas lineales con 200-2500 unidades, es decir, es una  $\alpha$ -D-(1,4) - glucana, cuya unidad repetitiva es la  $\alpha$ -glucosa. Se encuentra en los cereales, los tubérculos y en algunas frutas como polisacárido de reserva energética (Belitz y Grosch, 1992). Tiene la facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal, en la que cada vuelta de la hélice consta de seis moléculas de glucosa (Belitz y Grosch, 1992).

Por su parte, la amilopectina se diferencia de la amilosa en que contiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar a un árbol; las ramificaciones están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces  $\alpha$ -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa. En términos generales el almidón contiene aproximadamente 17-27% de amilosa y el resto de amilopectina (Fernández, 2005; Belitz y Grosch, 1992). La Figura 1.17, esquematiza la conformación de la amilosa y amilopectina con uniones  $\alpha$  (1-4) y  $\alpha$ -D-(1,6), respectivamente.

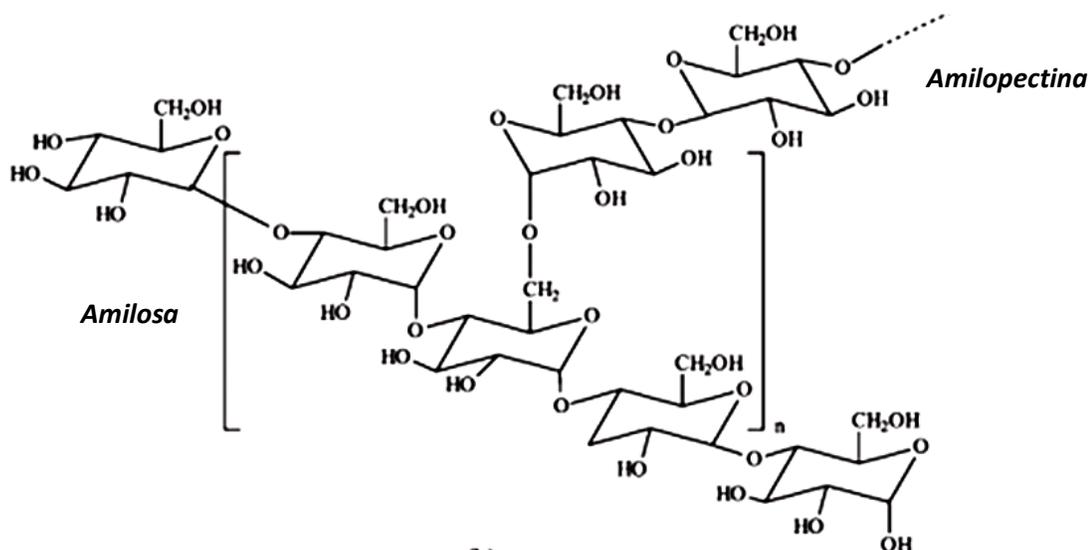


Figura 1.17 - Estructura del almidón (Fernández, 2005)

### *Gránulo de almidón*

El almidón se encuentra en pequeños corpúsculos discretos que reciben el nombre de gránulos. La estructura rígida de los gránulos está integrada por capas concéntricas de amilosa y amilopectina (distribuidas radialmente) que permanecen inalterables durante la molienda, el procesamiento y la obtención de almidones comerciales.

Estos cuerpos son birrefringentes, es decir, tienen dos índices de refracción, por lo cual cuando se irradian con luz polarizada, desarrollan la típica “cruz de malta”, esto se debe a que dentro del gránulo se localizan zonas cristalinas de moléculas de amilosa ordenadas paralelamente a través de puentes de hidrógeno, así como zonas amorfas causadas principalmente por amilopectina, que no tienen la posibilidad de asociarse entre sí o con la amilosa. La birrefringencia se pierde cuando el gránulo alcanza la gelatinización (Badui, 2006; Belitz y Grosch, 1992). Debido a las uniones mediante puentes de hidrógeno entre la amilosa y la amilopectina, se forman complejos, los cuales son los responsables de mantener el gránulo unido, permitiendo así el hinchamiento y solubilización de las moléculas durante el calentamiento de la suspensión acuosa (Fernández, 2005).

### *Gelatinización*

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría debido a que su estructura está altamente organizada y a que presenta una gran estabilidad por las múltiples interacciones que existen con sus dos polisacáridos constituyentes, sin embargo, cuando se calientan, comienza un proceso lento de absorción de agua en las zonas intermicelares amorfas, que son las menos organizadas y las más accesibles, ya que los puentes de hidrógeno no son tan numerosos ni tan rígidos como en las áreas cristalinas. A medida que se incrementa la temperatura, se retiene más agua y el gránulo comienza a hincharse y a aumentar de volumen sin que se presente aumento de viscosidad; una vez que la parte amorfa se ha hidratado completamente, la cristalina inicia un proceso semejante, no obstante, requiere de mayor energía.

Dependiendo de cada tipo de almidón y al llegar a temperaturas cercanas a 65° C, el gránulo alcanza su volumen máximo y pierde tanto su patrón de difracción de rayos X como la propiedad de birrefringencia. Si se administra más calor, el gránulo hinchado, incapacitado para retener el líquido, se rompe parcialmente y la amilosa y amilopectina, fuertemente hidratadas, se dispersan en el seno de la solución. En este punto se pierde la estructura original y la birrefringencia del gránulo, aumentando su viscosidad (Badui, 2006; Belitz y Grosch, 1992).

### *Retrogradación*

El almidón gelatinizado no se encuentra en equilibrio termodinámico. Por lo tanto con el tiempo se produce una progresiva reasociación de las moléculas de almidón. A esta recristalización se le conoce como retrogradación. La retrogradación de la amilopectina es un fenómeno a largo plazo que se produce de forma gradual con el almacenamiento de productos amiláceos, sin embargo, la amilosa se reasocia con mayor rapidez. El almidón retrogradado presenta un estado sólido con una interacción molecular más sencilla, y diferente patrón regional de humedad que el almidón nativo. La naturaleza de los cristales retrogradados depende de la relación amilosa/amilopectina, la fracción lineal de amilopectina y de la temperatura (Garzón, 2006).

### **1.3.1 - Almidones modificados**

Las propiedades de los almidones nativos pueden ser mejoradas por modificación física o química. Estos almidones modificados resultan ser aditivos e ingredientes funcionales, útiles y abundantes en los alimentos procesados.

Los tipos de modificación más frecuente son: entrecruzamiento, estabilización, hidrólisis, pregelatinización, oxidación y sustitución (Belitz y Grosch, 1992).

*a) Entrecruzamiento*

Se produce cuando se hace reaccionar los gránulos de almidón con agentes difuncionales, los cuales reaccionan con dos grupos hidroxilo de distintas moléculas del gránulo. La forma más frecuente de entrecruzamiento es la producción de ésteres fosfato. Este tratamiento permite reforzar el gránulo reduciendo la velocidad y el grado de hinchamiento y su desintegración subsecuente.

*b) Estabilización*

El almidón se somete a reacciones de incorporación de grupos monofuncionales, como hidroxipropilo, fosfato y acetilo. Estos grupos fosfatos adicionados interfieren con la asociación de las moléculas de amilosa a través de enlaces de hidrógeno, permitiendo al almidón permanecer hidratado formando disoluciones limpias y estables. Dichos almidones se hidratan a temperaturas bajas y previenen la gelificación y la sinéresis.

*c) Hidrólisis*

Se utiliza la hidrólisis ácida para romper limitadamente las moléculas de almidón. Esta modificación logra disoluciones menos viscosas, se hidratan a temperaturas bajas, ofreciendo baja resistencia al calor y tiene una menor tendencia a la sinéresis.

#### *d) Pregelatinización*

Modificación física que consiste en el secado de una pasta de almidón en rodillos cuya superficie se encuentra a altas temperaturas. La película seca se separa de la superficie del rodillo y se somete a un proceso de molienda. El almidón pregelatinizado tiene la capacidad de hidratarse en frío y desarrolla funciones de estabilización, retención de humedad y espesante.

#### *e) Esterificación*

Esta modificación se lleva a cabo con anhídridos orgánicos e inorgánicos que reaccionan con los grupos OH y forman uniones ésteres. Entre los más comunes están los derivados fosfato que se producen por calentamiento de 55 a 60° C. Este tipo de almidón presenta menor temperatura de gelatinización, tiene mayor facilidad de hidratación, estabilidad a los ciclos de congelación-descongelación y no presenta retrogradación.

#### *f) Oxidación*

Se efectúa con diferentes agentes químicos, pero el más empleado es el hipoclorito de sodio. La oxidación de algunos grupos OH se hace al azar y da lugar a grupos carboxilo, además de que existe cierto grado de hidrólisis. Debido a lo voluminoso de dichos grupos, se inhibe, por impedimentos estéricos, la unión de cadenas lineales y por consiguiente, la retrogradación.

Un ejemplo de polisacárido modificado, es el almidón lipofílico, el cual ha sido sometido a modificaciones de pregelatinización, estabilización y entrecruzamiento, con la integración de un grupo octenil succínico. La esterificación es otra opción de modificación para la obtención de almidones lipofílicos (Nilsson y Bergenstål, 2006).

### 1.3.2 - Almidón lipofílico

Los almidones nativos y sus productos de hidrólisis son hidrofílicos por naturaleza, sin embargo, esta naturaleza puede ser cambiada mediante modificaciones con anhídrido n-octenil-succínico (n-OSA). Dichos almidones modificados, contienen las cadenas laterales del anhídrido n-octenil-succínico hidrofóbico (Figura 1.18), el cual imparte una capacidad emulsificante a la molécula de almidón (Shogren et al., 2000; Tesch et al., 2002).

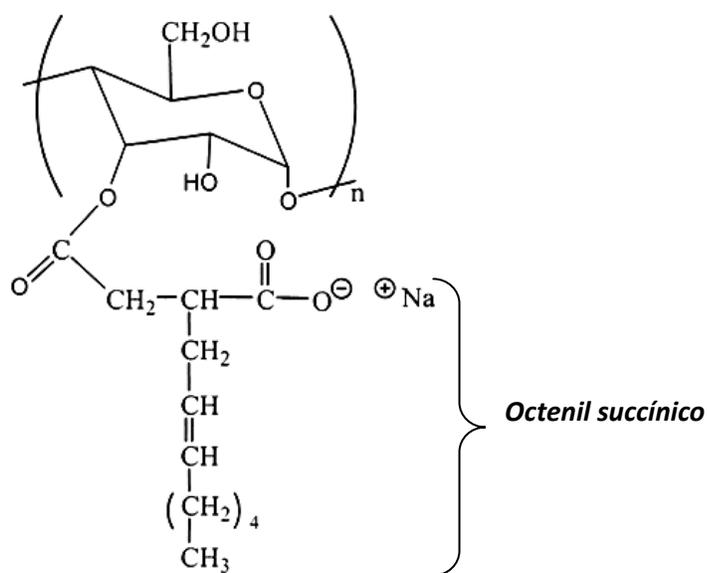


Figura 1.18 - Grupo octenil succínico unido a la unidad de glucosa en la cadena de almidón (Shogren et al., 2000)

Los ésteres de almidón lipofílico son preparados comercialmente por reacción básica de anhídrido de alquencil succínico con el almidón granular en suspensión acuosa. La sustitución puede ocurrir en las posiciones 2, 3 y 6 de los carbonos de la unidad de glucosa.

Con la incorporación de grupos hidrofóbicos alquénil en una molécula de almidón normalmente hidrofílica, el almidón modificado adquiere propiedades de superficie activa, las cuales son útiles para estabilizar emulsiones aceite en agua (Murúa et al., 2008; Shogren et al., 2000).

### *Propiedades de emulsificación*

El almidón lipofílico posee una porción soluble en agua (correspondiente a la amilopectina), la cual se orienta alrededor de las gotas de aceite en la emulsión para protegerlas de la oxidación y reaglomeración con otras gotas, esto gracias a su capacidad para formar películas fuertes en la interfase agua-aceite. La porción de octenil succínico, interactúa con el aceite o con los componentes liposolubles, reduciéndose la tensión superficial entre ambas fases (Tesch et al., 2002; Shogren et al., 2000).

Además de sus propiedades superficiales, el almidón lipofílico también ha sido empleado para aumentar la viscosidad en emulsiones, proporcionándoles estabilidad. Como aditivo, en el área de encapsulación de sabores, aceites y vitaminas y en productos culinarios tales como los aderezos bajos en grasa (Murúa et al., 2008).

La composición de muchas emulsiones alimenticias incluye proteínas (emulsionantes) y polisacáridos (estabilizantes), biopolímeros que conjuntamente controlan la consistencia y textura del producto (Muñoz et al., 2007), por lo tanto, las interacciones que puedan generarse entre ambas macromoléculas, tienen importancia en la formación de posibles complejos que puedan coadyuvar a la estabilidad de un sistema disperso.

## 1.4 - INTERACCIÓN PROTEÍNA-POLISACÁRIDO

Las proteínas y polisacáridos presentes en una formulación pueden interactuar de formas diferentes según sus respectivas estructuras químicas y el resto de la composición. Estas interacciones pueden ser atractivas o repulsivas. Las interacciones repulsivas pueden dar lugar a la cosolubilidad de proteínas y polisacáridos para soluciones muy diluidas, o bien puede darse un sistema inestable, donde las mezclas de biopolímeros tienden a la segregación. En contraparte, pueden ocurrir fenómenos de acomplejamiento entre los biopolímeros, debido a interacciones electrostáticas atractivas entre los parches cargados positivamente de la proteína y las cargas negativas del polisacárido. Tanto sistemas asociativos como repulsivos, pueden ser solubles o insolubles. Éstos últimos conducen a una separación de fases a través de ciertos fenómenos denominados: *coacervación compleja* e *incompatibilidad termodinámica* (Gaspoz, 2008; Grinberg y Tolstoguzov, 1997).

### *1 - Coacervación compleja*

Consiste en la separación espontánea de un sistema en dos fases líquidas. La fase más concentrada en biopolímeros es llamada *coacervado* y la otra fase constituía principalmente por disolvente, es llamada *solución en equilibrio*. La coacervación compleja puede ser causada por la interacción de dos biopolímeros con cargas opuestas, esto originado en condiciones donde se favorece dicha atracción, es decir, a valores de pH por debajo del punto isoelectrico (pI) de la proteína y a valores bajos de fuerza iónica.

Las interacciones atractivas también pueden presentarse como resultado de otras interacciones químicas entre grupos laterales de biopolímeros, algunas de esas interacciones pueden ser: interacciones iónicas, dipolares, Van der Waals, puentes de hidrógeno, hidrofóbicas, entre otras. Las atracciones más fuertes pueden ocurrir entre los grupos positivamente cargados de la proteína ( $\text{pH} < \text{pI}$ ) y polisacáridos aniónicos, especialmente a bajas fuerzas iónicas, en tanto, las atracciones débiles se dan entre grupos no cargados o negativamente cargados de las proteínas ( $\text{pH} > \text{pI}$ ) con polisacáridos (Dickinson, 2003).

## *2 - Incompatibilidad termodinámica*

Consiste en la separación espontánea de dos fases pero a diferencia del caso anterior, una fase es predominante en proteína y la otra en polisacárido. Generalmente, la incompatibilidad termodinámica se favorece a valores altos de fuerza iónica y/o valores de pH mayores al pI de la proteína (Grinberg y Tolstoguzov, 1997).

### **1.4.1- Mecanismos de adsorción en la interfase**

Los productos alimenticios pueden estar compuestos y estabilizados por agentes emulsificantes de distinta naturaleza tales como proteínas y polisacáridos, sin embargo, ambos pueden adsorberse a la interfase de una emulsión, mediante tres diferentes mecanismos como se presenta a continuación (Muñoz et al., 2007).

#### *a) Adsorción competitiva*

La interfase consiste en una monocapa homogénea formada por el emulsificante el cual baja en mayor medida la tensión interfacial, siendo capaz de desplazar a otros con propiedades interfaciales menores.

*b) Adsorción asociativa*

La interfase está formada por una monocapa compuesta por varios emulsificantes, siendo su naturaleza por lo tanto de manera heterogénea.

*c) Adsorción secuencial*

Se forman multicapas por adsorción de una capa de emulsificante sobre otra de un emulsificante distinto.

Las propiedades macroscópicas de productos alimenticios tales como flujo, estabilidad y textura, no sólo dependen de las propiedades de los componentes individuales, sino que también de las interacciones que puedan presentarse entre ellos (De Kruif y Tuinier, 2001). En este aspecto radica la importancia de su estudio en sistemas como las emulsiones aceite en agua, estabilizadas por polisacáridos y proteínas.

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

### *Objetivo general*

Establecer el efecto de la combinación de almidón lipofílico con caseinato de sodio o concentrado de suero lácteo, sobre la formación y estabilización de emulsiones aceite en agua, a través de las propiedades fisicoquímicas y del comportamiento al flujo de la fase continua a pH 5.4, así como de su emulsión correspondiente.

### *Objetivo particular 1*

Evaluar el efecto de la concentración y tipo de proteína láctea en mezcla con almidón lipofílico en medio acuoso, sobre el tamaño y distribución de partícula; así como su tensión superficial dinámica, determinados en un analizador de tamaño de partícula y un tensiómetro de gota colgante, respectivamente.

### *Objetivo particular 2*

Determinar el comportamiento al flujo de mezclas acuosas de proteína láctea y almidón lipofílico, así como de sus emulsiones respectivas, mediante la aplicación de pruebas rotacionales en cizalla estacionaria.

### *Objetivo particular 3*

Caracterizar la estabilidad de emulsiones aceite-agua (30/70) elaboradas con mezclas acuosas de proteína láctea-almidón lipofílico, mediante el análisis de distribución y tamaño de partícula así como la cinética de separación de fases.

## **2.1 - MATERIALES**

### **2.1.1 - Solución de ácido acético-acetato de sodio**

El objetivo de emplear esta solución a pH 5.4, fue prevenir la precipitación de las proteínas lácteas en medio acuoso, debido al carácter ácido del almidón lipofílico (Shogren et al., 2000), y a las altas concentraciones empleadas en la experimentación. De esta manera, la solución amortiguó el cambio drástico de pH en las fases acuosas, evitando la precipitación proteínica.

Se preparó una solución de ácido acético marca J.T. Baker, S.A. de C.V., México, con un peso molecular de 60.1 g/mol con un valor de pKa de 4.8 a 25° C y acetato de sodio trihidratado ( $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) cristal, marca J.T. Baker, S.A. de C.V., México, con un peso molecular de 136.08 g/mol.

#### *Condiciones de preparación*

Se preparó la solución de ácido acético a una concentración 0.2 M, equivalente a 11.55 mililitros de ácido acético en 1000 mililitros de agua. Para el caso de la solución de acetato de sodio, se preparó también a una concentración de 0.2 M, equivalente a 16.4 gramos de acetato de sodio no hidratado ó 27.2 gramos de acetato de sodio trihidratado en 1000 mililitros de agua. Un volumen de 8.8 mililitros de ácido acético con 41.2 mililitros de acetato de sodio a las concentraciones ya mencionadas en 100 mililitros de agua, generan una solución a pH 5.4, siendo esta relación la base para la preparación del volumen total requerido.

### **2.1.2 - Caseinato de sodio**

Se empleó caseinato de sodio marca Nutrer S.A. de C.V., con un porcentaje de humedad del  $7.3\% \pm 0.2$ .

### *Preparación de la muestra*

El caseinato de sodio en polvo fue hidratado en una solución de ácido acético y acetato de sodio a pH 5.4 mediante la relación peso/peso en base seca de las concentraciones de proteína a utilizar (1% y 2%). El proceso de hidratación se realizó a temperatura de  $23 \pm 2^\circ \text{C}$  en un agitador de propelas de la marca IKA RW 20 Digital, a una velocidad de rotación de 700 rpm por un tiempo de 15 minutos. Debido a la formación de espuma durante la dispersión, se reposó el sistema acuoso por un tiempo de 30 minutos y se almacenó en refrigeración. La solubilidad de la proteína se alcanzó después de 24 horas. Esto se determinó mediante una prueba preliminar de viscosidad en función a la velocidad de cizalla. Transcurridas las 24 horas después de su preparación, los valores de viscosidad tendieron a ser semejantes en dos pruebas realizadas, dando un indicio de que dicha proteína se solubilizó y que algunos de los aglomerados formados lograron disolverse.

### **2.1.3 - Concentrado de suero lácteo 34 %**

Se empleó concentrado de suero lácteo ESP-WPC 34-0001, Hegart de México S.A. de C.V., y distribuido por DILAC S.A de C.V., con un porcentaje de humedad del  $3.07\% \pm 0.04$ .

### *Preparación de la muestra*

El concentrado de suero lácteo en polvo se hidrató en solución de ácido acético y acetato de sodio a pH 5.4, mediante una relación peso/peso en base seca a temperatura de  $23 \pm 2^\circ \text{C}$ . Las concentraciones empleadas fueron al 1% y 2%.

Para la hidratación del concentrado de suero lácteo, se aplicó una velocidad de rotación de 700 rpm en el agitador de propelas de marca IKA RW 20 Digital por un tiempo de 15 minutos, y un reposo posterior en refrigeración de 24 horas con el objetivo de lograr la solubilidad de la proteína.

#### **2.1.4 - Almidón lipofílico**

Se empleó almidón pregelatinizado, estabilizado y entrecruzado de maíz waxy E 1422 (Adipado acetilado de dialmidón), de Cargill Texturizing Solutions y Makymat S.A. de C.V. como distribuidor comercial. Presentó un porcentaje de humedad del  $8.27\% \pm 0.04$ . El almidón lipofílico en polvo se hidrató en una solución de ácido acético y acetato de sodio a pH 5.4, a una temperatura de  $23 \pm 2^\circ \text{C}$ , empleando concentraciones de 10% y 20% en una relación peso/peso en base seca. Se aplicó una velocidad de agitación de 950 rpm en un agitador de propelas IKA RW 20 Digital por un tiempo de 20 minutos. Posteriormente, el sistema acuoso se almacenó 24 horas bajo refrigeración antes de su uso, para lograr su solubilidad.

#### *Elaboración de mezclas*

Se elaboraron las mezclas de almidón lipofílico-concentrado de suero lácteo así como almidón lipofílico-caseinato de sodio, donde cada sistema acuoso se preparó al doble de concentración y se mezclaron en proporciones iguales.

#### *Elaboración de emulsiones*

Las emulsiones se elaboraron mediante la dispersión de la fase oleosa (aceite de soya marca Nutrioli) sobre el medio acuoso que contenía las proteínas lácteas y almidón lipofílico, siguiendo la relación 30/70 (v/v), aceite-agua.

Para su elaboración, se utilizó un agitador de alta velocidad de la marca SILVERSON L4R y el proceso de homogenización se llevó a cabo a una velocidad de 3500 rpm por un tiempo de 5 minutos. Tanto la fase dispersa como la fase continua se mantuvieron a temperatura de 25° C antes de ser sometidas a homogenización.

El Cuadro 2.1, presenta la descripción de los sistemas acuosos elaborados, así como de las emulsiones formadas mediante la mezcla de proteína láctea y almidón lipofílico.

**Cuadro 2.1- Nomenclatura y descripción de sistemas acuosos y emulsiones**

<b>Nomenclatura</b>	<b>Descripción</b>
AL 10%	Almidón lipofílico al 10%
AL 20%	Almidón lipofílico al 20%
CSL 1%	Concentrado de suero lácteo al 1%
CSL 2%	Concentrado de suero lácteo al 2%
CS 1%	Caseinato de sodio al 1%
CS 2%	Caseinato de sodio al 2%
CSL 1%-AL 10%	Concentrado de suero lácteo 1%-Almidón lipofílico 10%
CSL 1%-AL 20%	Concentrado de suero lácteo 1%-Almidón lipofílico 20%
CSL 2%-AL 10%	Concentrado de suero lácteo 2%-Almidón lipofílico 10%
CSL 2%-AL 20%	Concentrado de suero lácteo 2%-Almidón lipofílico 20%
CS 1%-AL10%	Caseinato de sodio 1%-Almidón lipofílico 10%
CS 1%-AL 20%	Caseinato de sodio 1%-Almidón lipofílico 20%
CS 2%-AL 10%	Caseinato de sodio 2%-Almidón lipofílico 10%
CS 2%-AL 20%	Caseinato de sodio 2%-Almidón lipofílico 20%

## **2.2 - MÉTODOS**

### **2.2.1- Determinación de humedad de biopolímeros**

Para la determinación de la humedad, se empleó una termobalanza, modelo MB45, marca OAHUS, Flornam Park N.Y., E.U.

### *Principio de funcionamiento*

El equipo funciona sobre la base del principio termogravimétrico. Al comienzo de la medida, la termobalanza determina el peso de la muestra y a continuación se calienta rápidamente por medio de la unidad halógena desecadora y la humedad se evapora. Durante la operación de desecación, el equipo determina continuamente el peso de la muestra y presenta el resultado (Delgado-Reyes, 2012b).

### *Procedimiento*

Para la determinación de humedad por termobalanza, la cantidad de muestra fue aproximadamente de un gramo, aplicando una temperatura de proceso de 95° C y eligiendo un sistema de operación en base al tipo de muestra empleada. Tras un tiempo de proceso, se obtuvieron los porcentajes de humedad final para cada biopolímero, realizando tres repeticiones. Estos valores de humedad se emplearon en la determinación de las cantidades de biopolímero al momento de elaborar los sistemas acuosos.

### **2.2.2 - Determinación de densidad**

Para la determinación de densidad se empleó un dispositivo denominado densímetro DA-110M marca Mettler-Toledo.

### *Principio de funcionamiento*

Un tubo de vidrio vacío vibra a una determinada frecuencia, esta frecuencia cambiará al llenar el tubo con la muestra, cuanto mayor sea la masa de la muestra, menor será la frecuencia, la cual se mide y se convierte en densidad (Delgado-Reyes, 2012a).

### *Procedimiento:*

Se midió la densidad de los sistemas acuosos a  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  mediante su inyección a un capilar dentro del equipo, evitando la presencia de burbujas de aire ocluido, hasta lograr su entrada a  $\frac{3}{4}$  partes del bulbo que retiene el líquido. Se obtuvieron los valores de densidad relativa para cada sistema acuoso, realizando tres repeticiones y obteniendo los valores de media y coeficiente de variación.

### **2.2.3 - Determinación de pH**

#### *Principio de funcionamiento*

La medición de pH se realizó empleando un potenciómetro de la marca Conductronic pH 120, cuyo principio de funcionamiento se fundamenta en el registro de la actividad de los iones hidrógeno mediante el uso de un electrodo (Sandoval-Ruiz, 2012).

#### *Procedimiento*

Se llevó a cabo la calibración del equipo a través de una solución amortiguadora a pH 4.0 y a una temperatura de  $25 \pm 1^\circ \text{C}$ . Las muestras de sistemas acuosos se mantuvieron a la misma temperatura y una vez calibrado el equipo, se determinó el valor de pH. Se realizaron 3 repeticiones para cada sistema y se obtuvieron los valores de medida y coeficiente de variación.

### **2.2.4 - Distribución y tamaño de partícula**

La determinación de la distribución y tamaño de partícula se llevó a cabo en un equipo denominado analizador de partícula Cilas 930, E.U.

### *Principio de funcionamiento*

Una fuente de luz láser se filtra para generar un haz de rayos paralelos. Las partículas pasan a través del haz y difractan la luz. El resultado es un patrón de luces de intensidad variable y de ángulos que dependen de la cantidad de las partículas. La luz dispersada se colecta y se enfoca sobre detectores, donde las señales son recibidas en un equipo de computadora para producir una distribución de tamaños de partícula (Beristain, 2012).

### *Procedimiento*

Fases acuosas y emulsiones fueron sometidas a análisis de distribución y tamaño de partícula. El volumen de muestra necesario para la prueba dependió de la naturaleza de cada sistema, en base a su grado de obscuración, manteniéndose en un intervalo de 5 a 30. Esta obscuración se define como la cantidad de energía perdida del haz de láser por difracción, al momento de su incidencia con la muestra (Bolaños-Reynoso et al., 2001). Mediante un programa computarizado, se indicó la naturaleza y composición de la muestra a analizar, aplicando un proceso sin y con ultrasonido. Para este último caso, sólo se aplicó durante la prueba. Tanto sistemas acuosos como emulsiones, se mantuvieron a una temperatura alrededor de 25° C antes de la prueba y se obtuvieron las curvas de distribución y tamaño de partícula, realizando tres repeticiones. Para su análisis, se eligió la curva más representativa.

### **2.2.5 - Comportamiento al flujo**

La caracterización reológica de los sistemas acuosos, así como de las emulsiones, se llevó a cabo en un reómetro MCR 301 Physica, Anton Paar, Austria, utilizando una geometría de cono (1°) y placa de 75 mm de diámetro, (CP 75-1).

### *Principio de funcionamiento*

Se transfiere cantidad de movimiento en la muestra contenida entre un cono y una placa, desde el cono que gira a una velocidad de rotación, hasta la parte de la placa que contiene la muestra. Se mide el par de torsión o torque del motor, requerido para moverla y se transforma a esfuerzo de cizalla por una constante, dependiendo de la geometría utilizada. La velocidad de rotación se transforma en velocidad de cizalla con la constante de proporcionalidad respectiva, que también depende de las dimensiones de la geometría (Martínez-Padilla, 2012).

### *Procedimiento*

Fases acuosas y emulsiones se sometieron a prueba de cizalla estacionaria en diferentes intervalos de velocidad de cizalla, dependiendo del tipo de sistema a analizar. Para emulsiones, se aplicaron velocidades en un intervalo de 0.1 a 400 1/s y para sistemas acuosos de 10 a 300 1/s a una temperatura controlada de 25° C con tres repeticiones realizadas. En cada caracterización, se obtuvieron dos ciclos de ascenso-descenso, con el objetivo de disgregar aglomerados y determinar posible dependencia con el tiempo. Para sistemas acuosos, se analizó la primera curva de flujo en descenso, tras haberse disgregado posibles aglomerados en la primera curva de ascenso. Para emulsiones, se analizó la primera en ascenso, al considerarse la curva más representativa del comportamiento al flujo.

#### **2.2.6 - Tensión superficial dinámica**

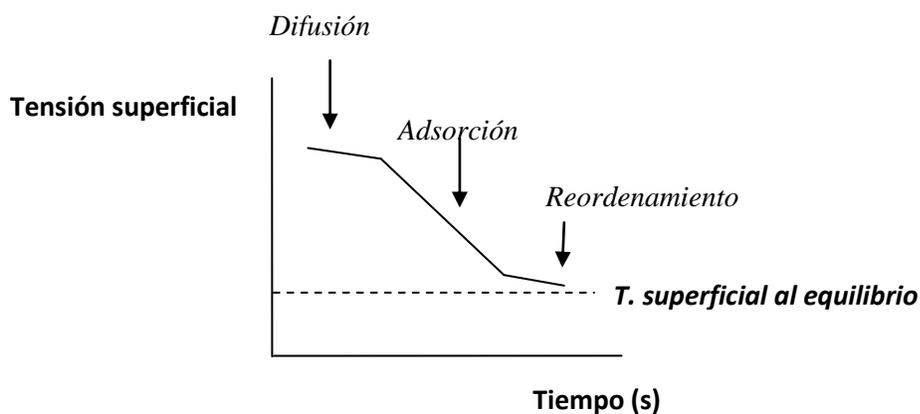
La determinación de tensión superficial se llevó a cabo en un tensiómetro de gota colgante marca PAT1-Sinterface Technologies, Alemania.

### *Principio de funcionamiento*

La forma de la gota de un líquido depende de un balance entre fuerzas gravitacionales y superficiales. Las fuerzas superficiales favorecen la forma esférica de la gota y las fuerzas gravitacionales tienden a ocasionar una elongación. La forma de equilibrio adoptada por la gota está determinada por su volumen, densidad y tensión superficial (Sosa-Herrera, 2012).

### *Procedimiento:*

Los sistemas acuosos fueron sometidos a prueba de tensión superficial especificando condiciones de tiempo de duración, densidad del sistema acuoso y del aire, así como el volumen de la gota generada (10 dl), el cual se mantuvo constante. Se obtuvieron curvas de tensión superficial en función del tiempo, realizando dos pruebas para cada sistema y analizando la más representativa. En la misma curva se determinó el valor de tensión superficial al equilibrio cuando la tendencia de ésta fue constante en función al tiempo. Una curva de tensión superficial dinámica, puede estar conformada por los siguientes regímenes: Difusión, adsorción y reordenamiento, tal y como se muestra en la Figura 2.1.



**Figura 2.1 - Regímenes de una curva típica de tensión superficial dinámica, presentada por biopolímeros adsorbidos en una interfase aceite-agua**

El régimen de difusión, también llamado periodo de inducción, corresponde a la etapa donde las moléculas de biopolímero migran o se difunden desde la fase continua hacia la interfase aceite-agua con una adsorción inicial, esto ocurre durante los primeros segundos de prueba. El régimen de adsorción, se relaciona con una saturación de biopolímeros en la interfase, cuyas moléculas sufren cambios conformacionales tras su adsorción, orientando sus grupos hidrofílicos e hidrofóbicos a sus correspondientes fases. La tensión superficial en esta etapa, presenta su mayor descenso.

Finalmente, el tercer régimen, corresponde a una reducción de la tensión superficial de manera más lenta en comparación con la etapa de adsorción. Este fenómeno es debido al continuo cambio conformacional en las moléculas adsorbidas inicialmente y a la agregación de nuevas a la interfase, las cuales también logran un ligero cambio estructural. Esto puede conducir a la formación de una red amorfa tipo gel en la interfase (Beverung et al., 1999).

### **2.2.7 - Estabilidad**

Para esta prueba se empleó un equipo Turbiscan Classic MA 2000, Formulacion, Francia.

#### *Principio de funcionamiento*

Es un analizador de barrido vertical que permite cuantificar la estabilidad e inestabilidad de sistemas dispersos y de emulsiones concentradas. Consiste en un cabezal de lectura que se mueve a lo largo de una celda de vidrio de fondo plano, que toma lecturas de luz transmitida o retrodispersa cada 40  $\mu\text{m}$  a una longitud de 80 mm del tubo que contiene la muestra.

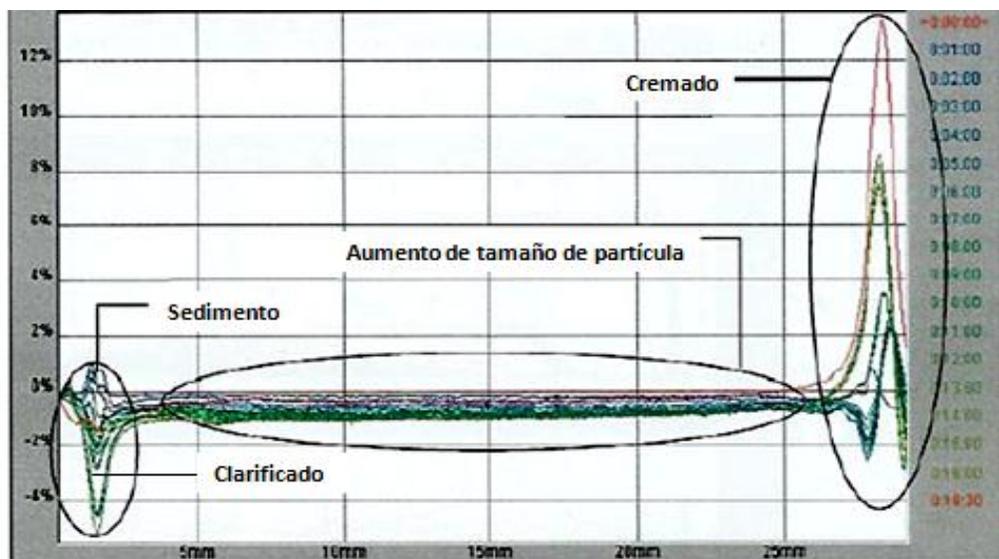
El barrido se puede repetir con una frecuencia programable para obtener una huella digital macroscópica de la muestra. El cabezal de lectura usa una fuente de luz pulsada de infrarrojo cercano y un detector de transmisión recoge la luz transmitida a través de la disolución en el tubo de la muestra a  $0^\circ$ , en tanto que un detector de retrodispersión recibe la luz retrodispersa sobre la muestra a  $135^\circ$  (González-Sánchez, 2012).

### *Procedimiento*

Se almacenaron 20 mililitros de emulsión en tubos especiales para turbiscán, los cuales fueron sometidos a un escaneo con luz láser a una temperatura de  $20^\circ\text{C}$  dos veces por día, transcurriendo 5 horas entre uno y otro. El tiempo total de escaneo fue de 5 meses. Se obtuvieron los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz en función al tiempo, realizando tres repeticiones por cada muestra, posteriormente, se obtuvieron las cinéticas de desestabilización, mediante los resultados de los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz, relacionando el espesor de la zona clarificada, respecto al tiempo de desestabilización.

Para el caso de emulsiones, en un perfil de transmisión y retrodispersión de luz, pueden identificarse algunos fenómenos de inestabilidad como: sedimentación, cremado, clarificación, floculación y coalescencia. Los primeros dos están relacionados con la migración de gotas de aceite hacia la superficie (cremado) o a la base (sedimentación) de la muestra. El clarificado generalmente resulta como una consecuencia de la migración de partículas y de gotas de aceite hacia la superficie de la muestra. Por su parte, la floculación y coalescencia, están ligados con el cambio en el tamaño de gota de la emulsión.

La Figura 2.2, muestra un perfil de retrodispersión de luz, el cual esquematiza los fenómenos de desestabilización anteriormente descritos. La escala en eje horizontal representa la longitud del tubo que contiene la muestra, expresado en milímetros. La escala en eje vertical, el porcentaje de retrodispersión de luz en un plano positivo o negativo. Cada una de las curvas es un escaneo en función del tiempo, las cuales en conjunto, muestran la evolución de la desestabilización de la emulsión respecto al tiempo.



**Figura 2.2 - Perfil de retrodispersión de luz con fenómenos de desestabilización en emulsiones aceite en agua (Guía Turbiscan MA, 2000).**

## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Fases acuosas

#### **3.1- DENSIDAD RELATIVA**

Los valores de densidad relativa se requirieron para la determinación de la tensión superficial dinámica.

El Cuadro 3.1, presenta los resultados de densidad relativa para sistemas acuosos de CSL al 1%, 2%, AL al 10%, 20% y sus respectivas mezclas. Como se esperaba, los valores de densidad relativa incrementaron conforme la concentración de ambos biopolímeros (concentrado de suero lácteo y almidón lipofílico) aumentaba, esto de acuerdo a la cantidad de sólidos en el sistema. Los coeficientes de variación obtenidos fueron menores a uno, por lo que se consideraron resultados repetibles.

**Cuadro 3.1 - Densidad relativa de sistemas y mezclas acuosas de almidón lipofílico (AL) al 10%, 20% y concentrado de suero lácteo (CSL) al 1%, 2%**

<b>Sistema</b>	<b>Densidad relativa</b>	<b>C.V. (%)</b>
AL 10%	1.050	0.01
AL 20%	1.100	0.02
CSL 1%	1.008	0.01
CSL 2%	1.012	0.01
CSL 1%-AL 10%	1.050	0.01
CSL 1%-AL 20%	1.104	0.01
CSL 2%-AL 10%	1.060	0.005
CSL 2%-AL 20%	1.106	0.006

Para mezclas acuosas de CS-AL a sus diferentes concentraciones, también se mostró un aumento en los valores de densidad relativa con el incremento en la concentración de ambos biopolímero, como se muestra en el Cuadro 3.2.

**Cuadro 3.2 - Densidad relativa de sistemas y mezclas acuosas de almidón lipofílico (AL) al 10%, 20% y caseinato de sodio (CS) al 1%, 2%**

<b>Sistema</b>	<b>Densidad relativa promedio</b>	<b>Coefficiente de variación (%)</b>
AL 10%	1.050	0.01
AL 20%	1.100	0.02
CS 1%	1.008	0.04
CS 2%	1.010	0.015
CS 1%-AL 10%	1.050	0.025
CS 1%-AL 20%	1.102	0.0052
CS 2%-AL 10%	1.057	0.0054
CS 2%-AL 20%	1.112	0.0051

### **3.2- POTENCIAL HIDRÓGENO (pH)**

Para los mismos sistemas acuosos presentados, se determinó el valor de pH, cuyos resultados se muestran en los Cuadros 3.3 y 3.4 para sistemas acuosos de CSL-AL y de CS-AL, respectivamente. Debido a que fueron elaborados con una solución de ácido acético-acetato de sodio a pH 5.4, los sistemas de CSL y CS mostraron valores cercanos a dicho pH.

Al presentar almidón lipofílico en alguna de sus concentraciones, las mezclas de CSL-AL y CS-AL, registraron valores de pH por debajo de 5.4, lo que se atribuyó a la presencia de un grupo carboxílico presente en la parte hidrófoba del polisacárido, el cual presenta un carácter de tipo ácido (Krstonošić et al., 2010), influyendo sobre los valores de pH en las mezclas acuosas.

**Cuadro 3.3 - Potencial hidrógeno (pH) de sistemas y mezclas acuosas de almidón lipofílico (AL) al 10%, 20% y concentrado de suero lácteo (CSL) al 1%, 2%**

<b>Sistema</b>	<b>pH promedio</b>	<b>Coefficiente de variación (%)</b>
AL 10%	4.97	0.23
AL 20%	4.93	0.23
CSL 1%	5.40	0.11
CSL 2%	5.30	0.11
CSL 1%-AL 10%	5.10	0.30
CSL 1%-AL 20%	4.90	0.12
CSL 2%-AL 10%	5.14	0.11
CSL 2%-AL 20%	4.99	0.12

**Cuadro 3.4 - Potencial hidrógeno (pH) de sistemas y mezclas acuosas de almidón lipofílico (AL) al 10%, 20% y caseinato de sodio (CS) al 1%, 2%**

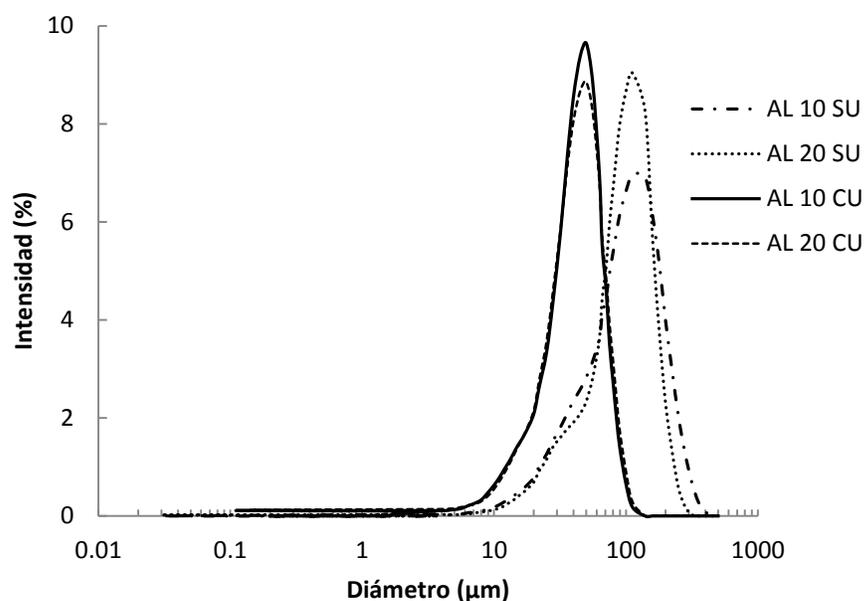
<b>Sistema</b>	<b>pH promedio</b>	<b>Coefficiente de variación (%)</b>
AL 10%	4.97	0.23
AL 20%	4.93	0.23
CS 1%	5.39	0.11
CS 2%	5.48	0.11
CS 1%-AL 10%	5.22	0.11
CS 1%-AL 20%	5.01	0.23
CS 2%-AL 10%	5.27	0.11
CS 2%-AL 20%	5.14	0.19

### **3.3- DISTRIBUCIÓN Y TAMAÑO DE PARTÍCULA**

#### **3.3.1 - Sistemas acuosos de almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

La Figura 3.1, muestra la distribución de tamaño de partícula para sistemas acuosos de almidón lipofílico (AL) al 10% y 20% con y sin ultrasonido. Sin ultrasonido, ambos sistemas mostraron curvas de tipo monomodal, con intervalos de tamaño de partícula semejantes entre sí. Las densidades poblacionales difirieron de acuerdo a la concentración empleada.

Al aplicar ultrasonido, se provocó una disgregación de aglomerados de partículas mediante la aplicación de ondas de baja longitud, sin embargo, las distribuciones permanecieron monomodales con partículas de menor tamaño, en comparación con las curvas sin ultrasonido.



**Figura 3.1 - Distribución de tamaño de partícula con y sin ultrasonido (CU/SU) para sistemas acuosos de almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

El tamaño de partícula para estos sistemas de almidón lipofílico, probablemente correspondió a posibles agregados de gránulos rotos (quizá por causas de la preparación comercial), los cuales tras aplicar ultrasonido, se disgregaron en tamaños de partícula menores, pero aún con presencia de agregados, según lo reportado por Yusoff y Murray (2011). Estos autores reportan valores de tamaño de partícula alrededor de 51 µm y con homogeneización, de 26 µm, empleando concentraciones menores. Después de aplicar homogeneización, se reportó que el tamaño de partícula correspondió aún a la presencia de agregados en el sistema.

### 3.3.2 - Sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo y caseinato de sodio al 1% y 2%

Para sistemas de concentrado de suero lácteo (CSL) y caseinato de sodio (CS), la Figura 3.2, muestra la distribución comparativa de tamaño de partícula al 1% y 2%, sin ultrasonido. Ambos sistemas acuosos presentaron curvas de tipo monomodal, semejantes de acuerdo al tipo de proteína empleada, sin embargo, se lograron apreciar diferencias en los intervalos de tamaño de partícula, así como en la población de cada moda, respecto a las concentraciones. Estas poblaciones de partículas pudieron corresponder a la formación de agregados, tanto de caseinato de sodio como de suero de leche, debido a que el pH en ambos sistemas, se acercó al punto isoeléctrico de las proteínas (5.2 para CSL y 4.6 para CS), condiciones bajo las cuales se favorece su agregación (Perrechil y Cunha, 2010; Wong, 1995).

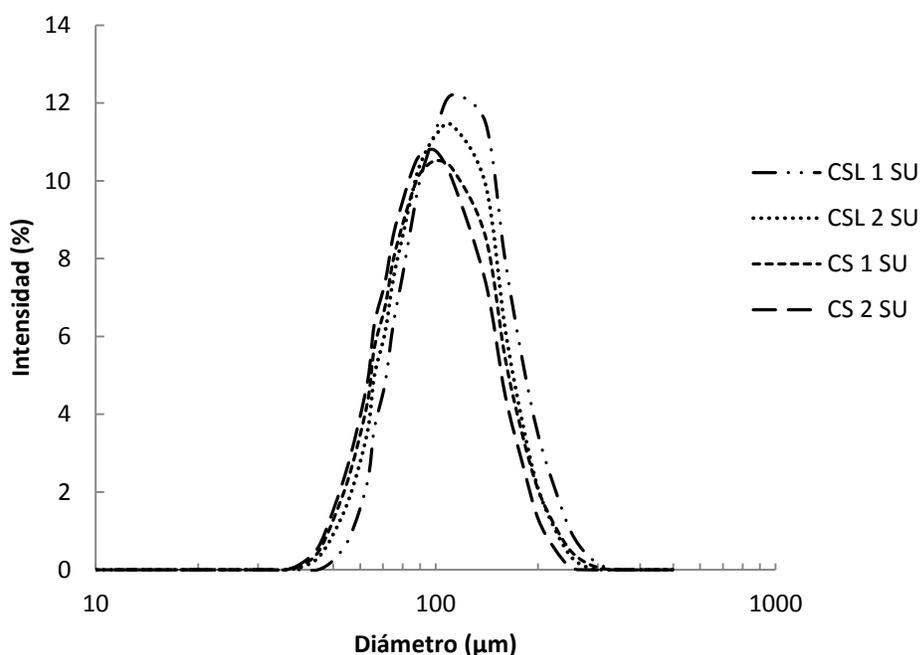
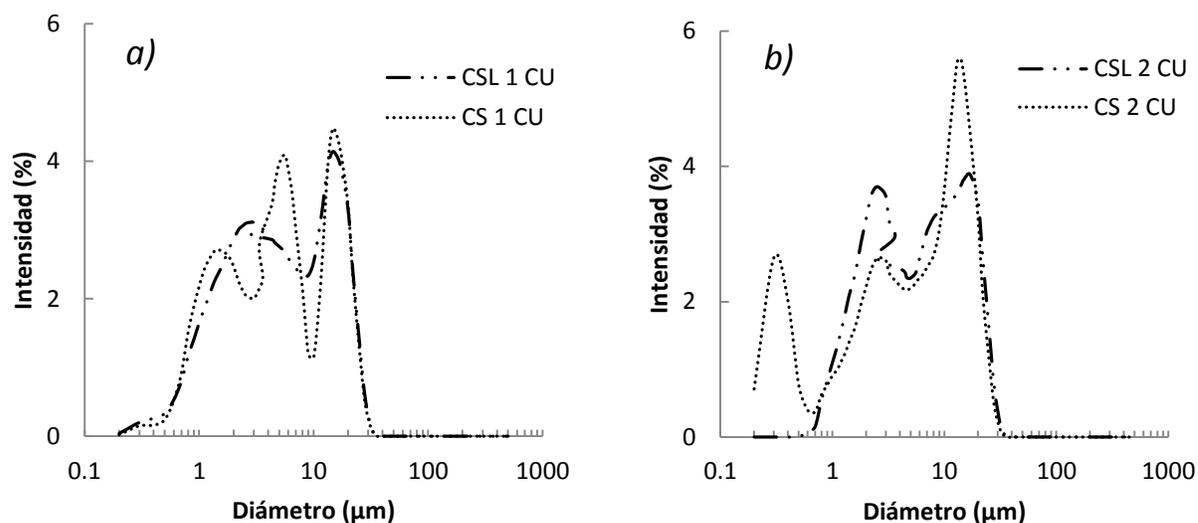


Figura 3.2 - Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido (SU) para sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) / caseinato de sodio (CS) al 1% y 2%

Las Figuras 3.3a y 3.3b, presentan un comparativo de las curvas de distribución, para los mismos sistemas acuosos de CSL y CS al 1% y 2%, aplicando ultrasonido.



**Figura 3.3 - Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido (CU) para: a) Sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) y caseinato de sodio (CS) al 1%, b) Sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) y caseinato de sodio (CS) al 2%**

En la Figura 3a, se muestran las distribuciones de tipo bimodal y multimodal para los sistemas de CSL y CS al 1%, respectivamente. Estos mismos comportamientos se presentaron para los sistemas de CSL y CS al 2%, mostrados en la Figura 3.3b. Como se puede observar, la distribución de tamaño de partícula en ambos tipos de sistemas, fue de tipo polidisperso, resultados mostrados también en otros estudios con proteínas de origen lácteo (De Kruif y Holt, 2003). Esta polidispersidad pudo ser un reflejo de un sistema en donde la asociación entre partículas se realizó sin un estricto empaquetamiento (De Kruif y Holt, 2003).

Para el caso específico del caseinato de sodio, cuando éste se reconstituye en agua, las moléculas de caseína presentan una fuerte tendencia a asociarse entre sí, esto mediante interacciones hidrofóbicas, formando complejos denominados micelas, lo que explica probablemente la aparición de curvas multimodales en la distribución de tamaño de partícula, al aplicar ultrasonido.

El Cuadro 3.5, muestra los valores de tamaño de partícula con ultrasonido, para sistemas acuosos de almidón lipofílico, concentrado de suero lácteo y caseinato de sodio a sus diferentes concentraciones, los cuales correspondieron a los puntos máximos de la curva de distribución ( $P_{1,2,3}$ ) o bien, las modas poblacionales de la distribución.

**Cuadro 3.5 - Tamaño de partícula con ultrasonido para sistemas acuosos de almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%, concentrado de suero lácteo (CSL) y caseinato de sodio (CS) al 1% y 2%**

<b>Sistema acuoso</b>	<b>P<sub>1</sub> (µm)</b>	<b>P<sub>2</sub> (µm)</b>	<b>P<sub>3</sub> (µm)</b>
AL 10%	50	-----	-----
AL 20%	50	-----	-----
CSL 1%	3.2	15	-----
CSL 2%	2.6	17	-----
CS 1%	1.6	5.6	15
CS 2%	0.3	3	14

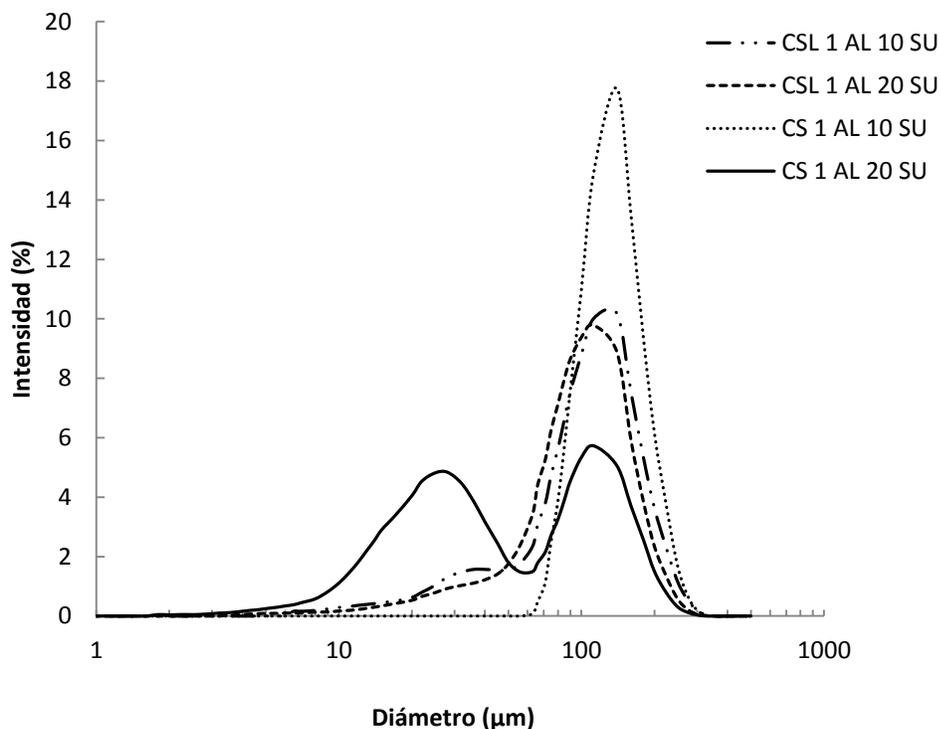
Como se observó, los sistemas de AL a sus dos concentraciones, presentaron una sola moda poblacional ( $P_1$ ), con partículas de mayor tamaño en comparación con las de sistemas de proteínas lácteas, cuyas distribuciones presentaron más de una moda. La variación en la concentración de almidón lipofílico no presentó cambios en el tamaño de partícula.

Los sistemas de CSL al 1% y 2%, presentaron dos modas poblacionales en su distribución, con tamaños de partícula en  $P_1$  y  $P_2$ , siendo relativamente mayores en sistemas de CSL al 2%. El comportamiento bimodal en ambos sistemas acuosos, probablemente se debió a la presencia de agregados, aún después del ultrasonido.

Para el caso de sistemas acuosos de caseinato de sodio, los tamaños de partícula variaron respecto a la concentración de proteína empleada, siendo relativamente mayores al 1% en comparación con los obtenidos al 2%. Como ya se mencionó, la distribución multimodal de estos sistemas, pudo deberse a la presencia de complejos micelares de caseína.

### **3.3.3 - Mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo/caseinato de sodio al 1% con almidón lipofílico al 10% y 20%**

Una vez elaboradas las mezclas de CSL-AL y CS-AL a sus diferentes concentraciones, se determinó la distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido, cuyas curvas se muestran en la Figura 3.4. Las mezclas de CSL 1%-AL 10%, presentaron una curva de distribución bimodal, donde la mayor concentración de partículas se obtuvo en el intervalo de 60 a 300  $\mu\text{m}$ , aproximadamente. Las mezclas de CSL 1%-AL 20%, mostraron claramente una curva monomodal, semejante a las de CSL 1%-AL 10%. Para el caso de mezclas de CS 1%-AL 10%, se mostró una distribución monomodal con una población de partículas en el intervalo de 60 a 300  $\mu\text{m}$ . Finalmente, las emulsiones de CS 1%-AL 20%, presentaron una curva bimodal con la mayor polidispersidad en relación con las mezclas anteriores.



**Figura 3.4 - Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido (SU) para mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo (CSL) / caseinato de sodio (CS) al 1% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

Ante la disgregación de aglomerados por efecto del ultrasonido, el tamaño de partícula de las mezclas se redujo en comparación con los resultantes sin ultrasonido. Las mezclas de CSL 1%-AL 10%, mantuvieron su distribución bimodal, con tamaños de partícula alrededor de 50 μm en el punto máximo de la curva (Figura 3.5a). En esta misma Figura, se muestra la curva bimodal para mezclas de CS 1%-AL 10%, la cual presentó un intervalo de tamaño de partícula menor en relación a las de CSL 1%-AL 10%. Semejante a lo anterior, se observó para mezclas de CSL 1%-AL 20% y CS 1%-AL 20% de la Figura 3.5b, pero con distribuciones de tipo monomodal y multimodal, respectivamente.

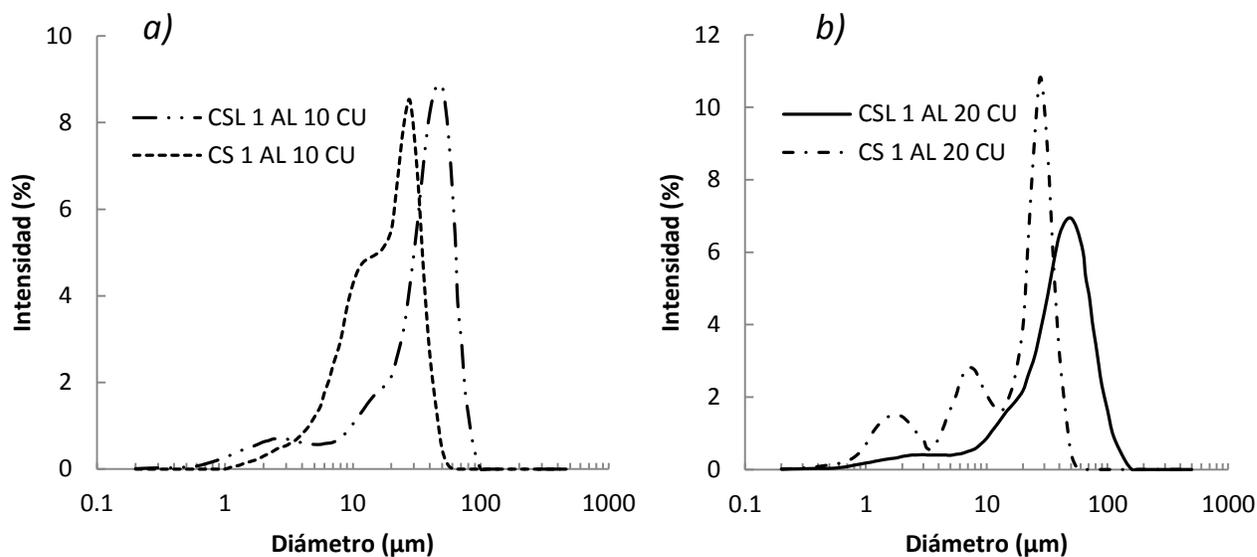
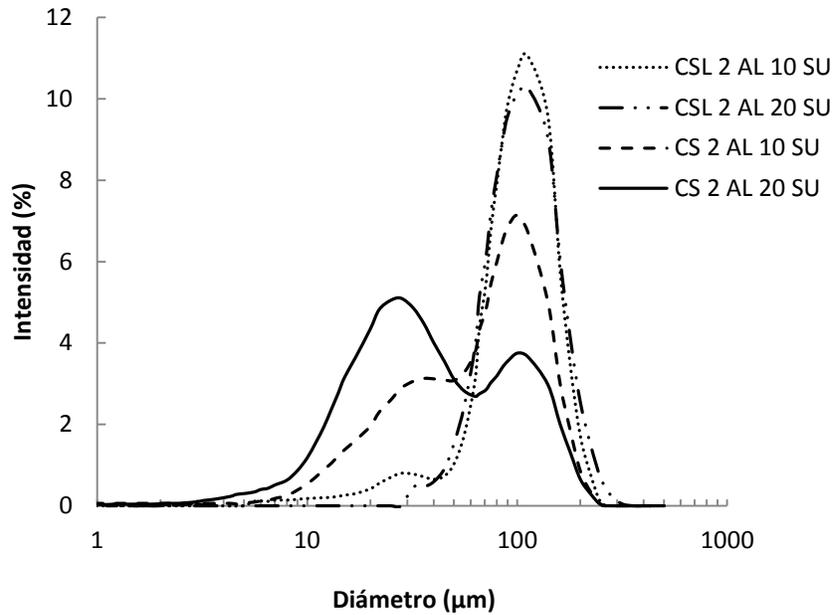


Figura 3.5 - Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido (CU) para: a) Mezclas acuosas de CSL / CS al 1% con AL al 10%, b) Mezclas acuosas de CSL / CS al 1% con AL al 20%

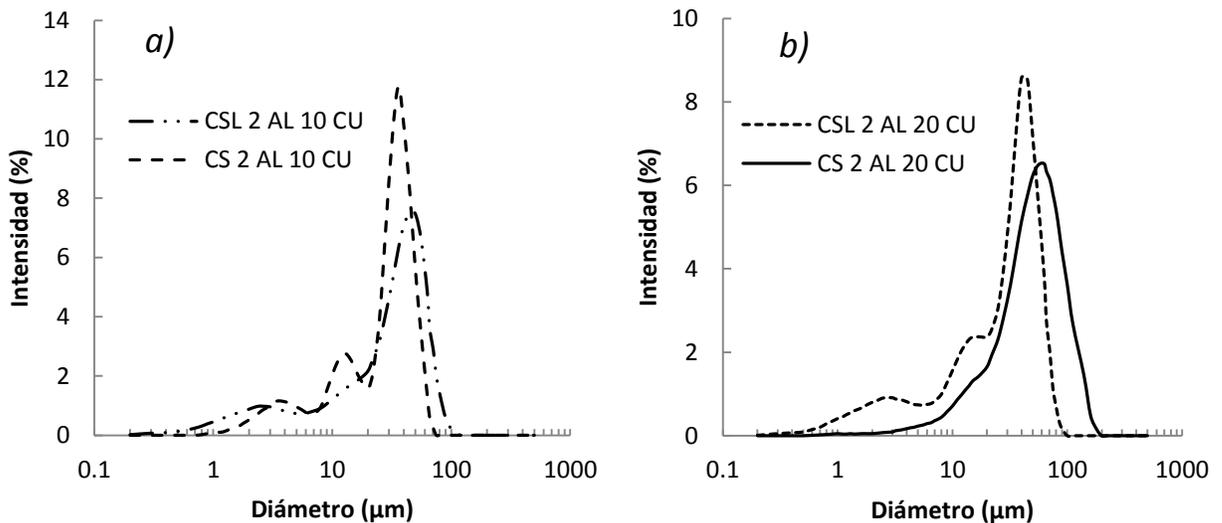
### 3.3.4 - Mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo/caseinato de sodio al 2% con almidón lipofílico al 10% y 20%

Para sistemas acuosos en mezcla de CSL / CS al 2% con AL al 10% y 20%, la Figura 3.6, presenta un comparativo de la distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido. Las mezclas de CSL-AL, presentaron las curvas con mayor población de partículas en el intervalo de 40-300 μm aproximadamente, así como los mayores tamaños de partícula, en comparación con las de CS-AL, cuyas curvas fueron claramente bimodales. Estas últimas mezclas presentaron los intervalos de partícula más amplios y se caracterizaron por ser sistemas polidispersos. Cabe mencionar que las mezclas de CS 2%-AL 10%, presentaron la mayor población de partículas en el intervalo de 50 a 250 μm, mientras que las de CS 2%-AL 20%, en el intervalo de 3 a 70 μm, por lo tanto, al incrementar la concentración de AL, el tamaño de partícula de la mezcla tendió a disminuir.



**Figura 3.6 - Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido (SU) para mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo (CSL) / caseinato de sodio (CS) al 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

La Figura 3.7, muestra la distribución de tamaño de partícula para las mismas mezclas acuosas descritas anteriormente, en presencia de ultrasonido.



**Figura 3.7 - Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido (CU) para: a) Mezclas acuosas de CSL / CS al 2% con AL al 10%, b) Mezclas acuosas de CSL /CS al 2% con AL al 20%**

En la Figura 3.7a, se mostró que tras aplicar ultrasonido, las mezclas de CSL 2%-AL 10%, presentaron una distribución de tipo bimodal, mientras que las de CS 2%-AL 10%, de tipo multimodal. Al emplear almidón lipofílico al 20%, las mezclas de CS al 2% (Figura 3.7b), mostraron una distribución con un intervalo de partículas de mayor tamaño, en comparación con las mezclas de CSL 2%-AL 20%. Esto se atribuyó probablemente a la presencia de complejos formados por ambos biopolímeros (CS y AL), interaccionando entre sí.

El Cuadro 3.6, presenta los resultados de tamaño de partícula para mezclas de CSL-AL y CS-AL a sus diferentes concentraciones, correspondientes a los puntos máximos de las curvas de cada distribución ( $P_{1,2,3}$ ).

**Cuadro 3.6 - Tamaño de partícula con ultrasonido para mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo (CSL) / caseinato de sodio (CS) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

<b>Mezcla acuosa</b>	<b>P<sub>1</sub> (µm)</b>	<b>P<sub>2</sub> (µm)</b>	<b>P<sub>3</sub> (µm)</b>
CSL 1%-AL 10%	2.6	50	-----
CSL 1%-AL 20%	2.6	50	-----
CSL 2%-AL 10%	2.6	50	-----
CSL 2%-AL 20%	3	17	45
CS 1%-AL 10%	13	28	-----
CS 1%-AL 20%	2	8	28
CS 2%-AL 10%	3.6	14	36
CS 2%-AL 20%	63	-----	-----

Las primeras tres mezclas compuestas de CSL-AL, presentaron el mismo tipo de distribución y tamaño de partícula, por lo que el uso de las diferentes concentraciones de biopolímeros, no generó un efecto diferenciable sobre el tamaño de partícula, pero sí sobre el tipo de población presentada.

Para el caso de mezclas de CS-AL, en general se mostraron distribuciones de tipo mono, bi y multimodal, con diferentes tamaños de partícula en función a la concentración empleada de biopolímero. Cabe mencionar que aquellas compuestas de CS 2%-AL 20%, fueron las únicas en presentar un distribución de tipo monomodal con el mayor tamaño de partícula, en comparación con las del resto.

De acuerdo a estos resultados, es probable que para ambos tipos de mezclas (CSL-AL y CS-AL), pudieran haberse presentado interacciones entre ambos biopolímeros, ya que las moléculas de proteína en disolución se encontraron a un pH por debajo de su punto isoeléctrico, 5.2 (CSL) y 4.6 (CS), presentando regiones cargadas positivamente, lo que pudo dar origen a una interacción de tipo electrostático con moléculas de almidón lipofílico con cargas negativas, esto debido a la incorporación de un grupo carboxilo al momento de su preparación (Shogren et al., 2000). Para el caso de caseinatos, algunos estudios (Sosa-Herrera et al., 2008; De Kruif y Tuinier, 2001), han reportado la presencia de interacciones electrostáticas entre dicha proteína y otros polisacáridos.

Al comparar los resultados de tamaño de partícula para mezclas de CSL-AL y CS-AL, se observó que éstas últimas presentaron valores relativamente menores en comparación con las de concentrado de suero lácteo, a excepción de los sistemas de CS 2%-AL 20%. Lo anterior puede justificarse en términos de conformación molecular de cada proteína láctea en solución, siendo las proteínas de concentrado de suero lácteo, que por su estructura globular, reflejaron un tamaño mayor de partícula, en comparación con las de caseinato de sodio, las cuales presentan una estructura de mayor desorden y flexibilidad.

### 3.4 - COMPORTAMIENTO AL FLUJO

#### 3.4.1 - Sistemas acuosos de almidón lipofílico al 10 y 20%

La Figura 3.8, presenta la variación de la viscosidad para sistemas acuosos de almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%, respecto a la velocidad de cizalla.

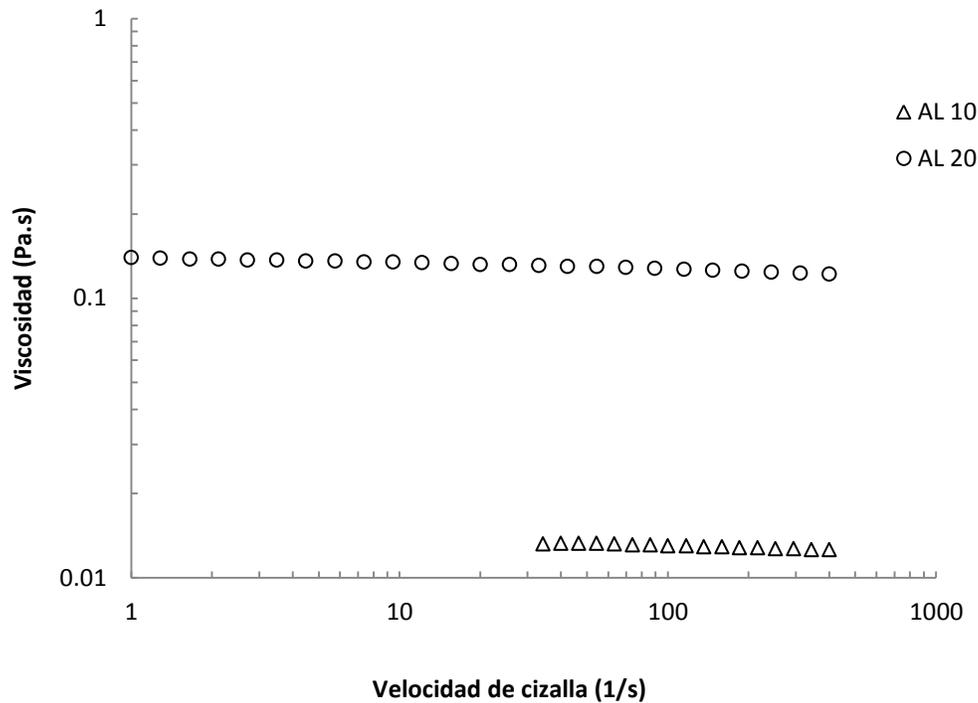


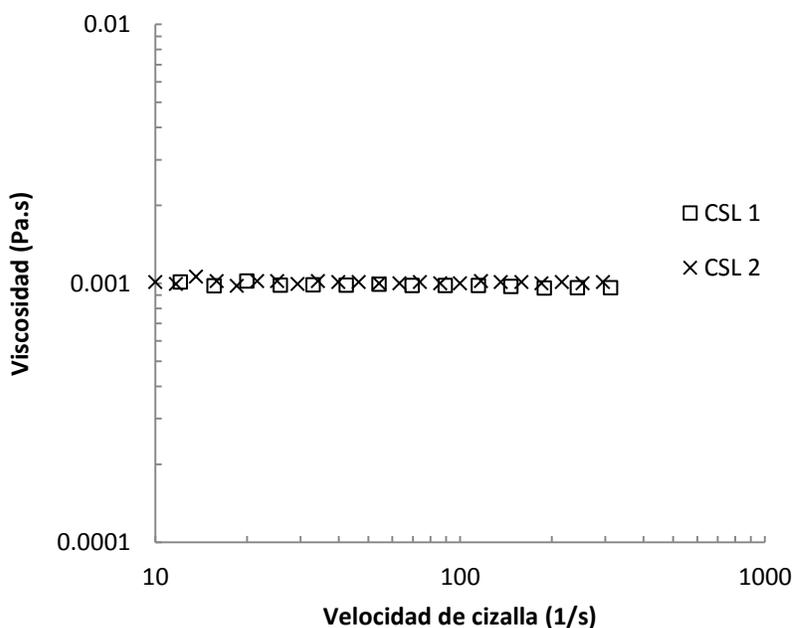
Figura 3.8 - Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos de almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%

Ambos sistemas acuosos presentaron un comportamiento de viscosidad constante en función a la velocidad, una vez llegado al equilibrio. Al incrementar la velocidad de cizalla, la viscosidad de los sistemas presentó un ligero descenso. Esto se percibió mayormente en los sistemas de almidón lipofílico al 20% y se atribuyó a la presencia de aglomerados de biopolímero, cuya reacción ante una velocidad de cizalla, resultó en un flujo de tipo fluidificante (pseudoplástico).

A bajas velocidades de cizalla, los aglomerados sufren deformaciones en su estructura, conforme la velocidad de cizalla incrementa, dichos aglomerados se disgregan en partículas de menor tamaño, provocando un decremento en la fricción entre partículas y una disminución de la viscosidad en el sistema (Braun y Rosen, 2000). Al emplear dos concentraciones de almidón lipofílico, la Figura 3.8, muestra claramente la diferencia de viscosidades entre una y otra, observándose un notable aumento en la viscosidad de los sistemas, con el incremento en la concentración del 10% al 20%.

### 3.4.2- Sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo al 1% y 2%

La Figura 3.9, muestra la variación de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% y 2%.



**Figura 3.9 - Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% y 2%**

En ambos casos, la viscosidad se mantuvo constante en todo el intervalo de velocidad de cizalla y se ajustó a la ley de Newton. Las rectas obtenidas se superpusieron, presentando viscosidades de 0.001 Pa.s, resultados ligeramente mayores en comparación con los del agua a la misma temperatura (0.0009 Pa.s). La diferencia de viscosidades entre un sistema y otro, debió visualizarse debido a que se manejaron dos concentraciones diferentes de CSL, sin embargo, este efecto se atribuyó a la sensibilidad del instrumento de medida.

### 3.4.3 - Sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1% y 2%

Para sistemas de caseinato de sodio (CS) al 1% y 2%, la viscosidad en función a la velocidad de cizalla se mantuvo constante en todo el intervalo de velocidad, donde el efecto de la concentración sobre la viscosidad de los sistemas se logró apenas apreciar (Figura 3.10).

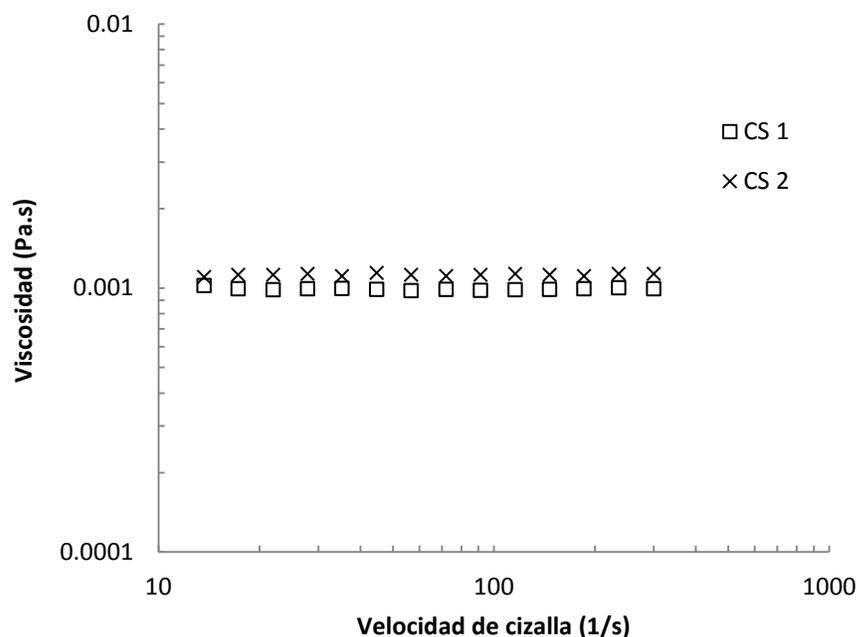
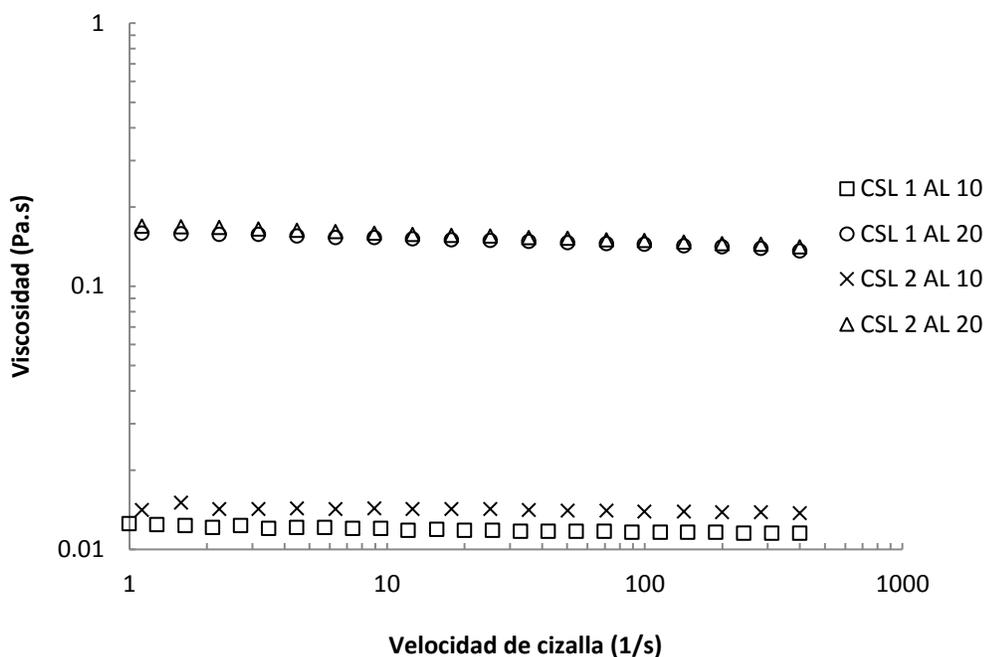


Figura 3.10 - Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para sistemas acuosos de caseinato de sodio (CS) al 1% y 2%

Debido a la viscosidad constante, estos sistemas se ajustaron a la Ley de Newton, obteniéndose viscosidades de 0.0010 y 0.0013 Pa.s respectivamente, con índices de correlación de 0.998 y 0.999, en cada una de las curvas.

### 3.4.4 - Mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo al 1% y 2% con almidón lipofílico al 10% y 20%

La Figura 3.11, muestra la variación de la viscosidad en función de velocidad de cizalla para mezclas acuosas de CSL 1%, 2% con AL 10% y 20%. Cada una de ellas presentó comportamientos de viscosidad constante a velocidades bajas de cizalla, sin embargo, al aumentar dicha velocidad, la viscosidad tendió a decrecer, por lo que los datos obtenidos fueron ajustados a un modelo de la potencia, presentados en el Cuadro 3.7.



**Figura 3.11 - Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

Como se muestra en la Figura 3.11, las mezclas acuosas con almidón lipofílico al 10%, obtuvieron viscosidades menores en comparación con las de almidón lipofílico al 20%. El efecto de la concentración de CSL al 1% y 2% en mezcla con AL al 10%, fue claramente evidente sobre la viscosidad, hecho que no se presentó en mezclas con almidón lipofílico al 20%, superponiéndose las rectas. Este fenómeno se debió probablemente a la alta concentración de almidón lipofílico empleada (20%), lo que ya no permitió que las concentraciones de CSL mostraran algún efecto sobre la viscosidad de las mezclas.

Los sistemas acuosos de almidón lipofílico al 10% y 20%, dominaron el comportamiento al flujo de las mezclas, debido a la tendencia que presentó la viscosidad a disminuir con el aumento de velocidad de cizalla, así mismo, a la magnitud de la viscosidad que presentaron las mezclas, semejante a la de los sistemas de almidón lipofílico a sus dos concentraciones.

El Cuadro 3.7, presenta los parámetros reológicos del modelo de la potencia: índice de comportamiento al flujo ( $n$ ) e índice de consistencia ( $k$ ), para sistemas acuosos de AL al 10% y 20%, así como para mezclas de CSL 1%, 2% con AL 10% y 20%. Cabe mencionar que los sistemas de CSL al 1% y 2% no se incluyeron en el Cuadro 3.7, por haberse considerado como fluidos newtonianos, presentando viscosidades de 0.001 Pa.s para ambos casos, como ya se mencionó anteriormente.

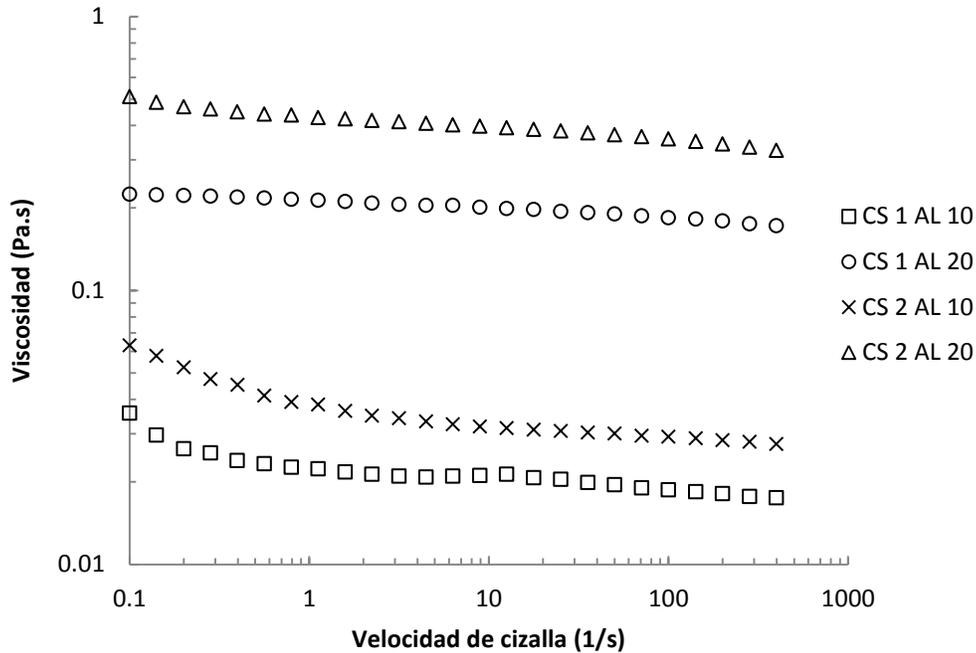
**Cuadro 3.7 - Parámetros reológicos para mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1%, 2% con almidón lipofílico (AL) al 10%, 20%**

<b>Sistema</b>	<b>n</b>	<b>k (Pa.s<sup>n</sup>)</b>	<b>R</b>
AL 10%	0.99	0.01	0.999
AL 20%	0.98	0.14	0.999
CSL 1%-AL 10%	0.99	0.012	0.999
CSL 1%-AL 20%	0.98	0.15	0.999
CSL 2%-AL 10%	0.99	0.014	0.999
CSL 2%-AL 20%	0.97	0.16	0.999

Los resultados mostraron que el índice de comportamiento al flujo (n) fue muy cercano a la unidad y que dichos valores disminuyeron ligeramente conforme la concentración del sistema acuoso o de las mezclas, iba aumentando, esto como una característica de su naturaleza pseudoplástica. Los valores del índice de consistencia (k) aumentaron conforme las concentraciones en los sistemas acuosos incrementaban, tal y como se esperaba, con base a la cantidad de sólidos presentes.

### **3.4.5 - Mezclas acuosas de caseinato de sodio al 1% y 2% con almidón lipofílico al 10% y 20%**

La Figura 3.12, presenta la variación de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla, para mezclas acuosas de caseinato de sodio (CS) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) 10% y 20%. Aquéllas compuestas de CS 1%-AL 10%, presentaron un comportamiento de viscosidad con tendencia a disminuir ante el incremento de la velocidad de cizalla. Esta disminución en la viscosidad se atribuyó de igual manera al fenómeno de disgregación de aglomerados por efecto del cizallamiento, provocando un descenso en la viscosidad del sistema.



**Figura 3.12 - Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para mezclas acuosas de caseinato de sodio (CS) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

Las mezclas acuosas de CS 2%-AL 10%, presentaron valores de viscosidad más altos en comparación con los sistemas de CS 1%-AL 10%, debido al aumento en la concentración de caseinato de sodio. Lo mismo sucedió para los sistemas de CS 1%-AL 20% y CS 2%-AL 20%, observándose claramente el efecto de las concentraciones de ambos biopolímeros sobre la viscosidad de las mezclas.

El comportamiento al flujo en las cuatro mezclas, fue dominado por los sistemas de almidón lipofílico a sus dos concentraciones, al igual que para el caso de mezclas de CSL-AL, esto debido a la tendencia de la viscosidad a disminuir con el incremento en la velocidad de cizalla, así como a la magnitud de la viscosidad presentada en las mezclas, semejante a la obtenida en los sistemas de almidón lipofílico.

El Cuadro 3.8, presenta los parámetros reológicos del modelo de la potencia: índice de comportamiento al flujo (n) e índice de consistencia (k), para sistemas acuosos de caseinato de sodio al 1%, 2% con almidón lipofílico al 10% y 20%.

**Cuadro 3.8 - Parámetros reológicos para mezclas acuosas de caseinato de sodio (CS) al 1%, 2% con almidón lipofílico (AL) al 10%, 20%**

<b>Sistema</b>	<b>n</b>	<b>k (Pa.s<sup>n</sup>)</b>	<b>R</b>
AL 10%	0.99	0.01	0.999
AL 20%	0.98	0.14	0.999
CS 1% AL 10%	0.96	0.02	0.999
CS 1% AL 20%	0.95	0.23	0.999
CS 2% AL 10%	0.93	0.04	0.999
CS 2% AL 20%	0.92	0.47	0.998

Los resultados indicaron que los valores de índice de comportamiento al flujo (n) también fueron disminuyendo conforme la concentración de los sistemas acuosos iba aumentando (tanto caseinato de sodio como almidón lipofílico). En tanto que los valores de índice de consistencia (k), aumentaron al incrementar la concentración de las mezclas acuosas.

Las mezclas de CS-AL, mostraron mayores valores de viscosidad en comparación con los de CSL-AL. Esto puede ser justificado con base a los resultados de tamaño de partícula ya mostrados anteriormente, al haber presentado las mezclas de caseinato de sodio, menores tamaños de partícula en comparación con las de concentrado de suero lácteo, a excepción de las mezclas de CS 2%-AL 20%. Al presentar partículas de menor tamaño, el número de interacciones partícula-partícula se incrementa y por consiguiente, la viscosidad del sistema también incrementa (Malvern, 2010).

### 3.5 - TENSION SUPERFICIAL DINAMICA

#### 3.5.1 - Sistemas acuosos de almidón lipofílico al 10%

La Figura 3.13, muestra la variación de la tensión superficial en función del tiempo, para el sistema acuoso de almidón lipofílico (AL) al 10%, en un tiempo de 1800 segundos de prueba. De acuerdo con la descripción de adsorción de proteínas, en esta curva se observó un periodo de difusión hasta los 40.13 segundos de prueba, tiempo considerado como el requerido para que cierta cantidad de almidón lipofílico se difundiera desde el seno de la fase acuosa hacia la interfase, y así comenzar con la reducción de la tensión superficial (Beverung et al., 1999). Después de este tiempo, un cambio de pendiente en la curva supuso el inicio de la etapa de adsorción en la interfase, donde los grupos hidrofílicos e hidrofóbicos de las moléculas de almidón lipofílico, se orientaron a sus correspondientes fases, reduciendo la tensión superficial.

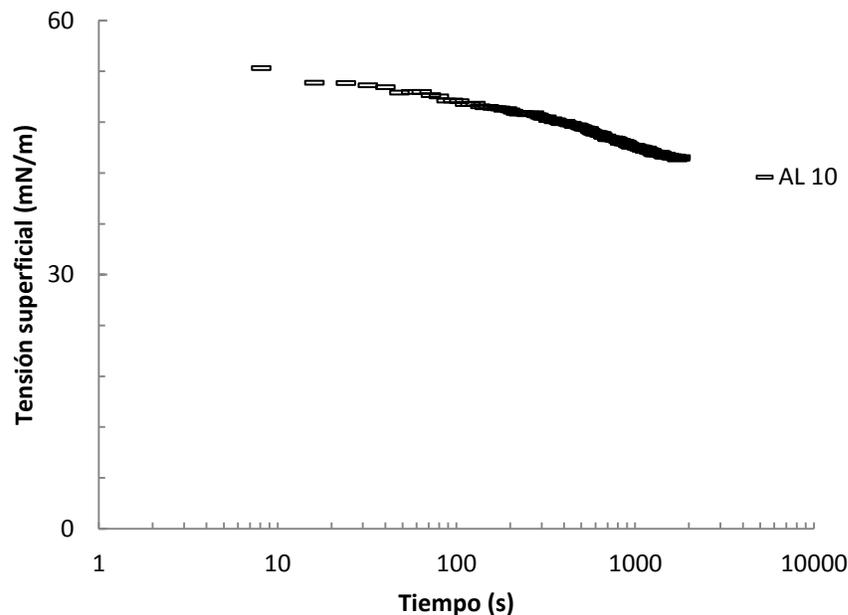


Figura 3.13 - Tensión superficial dinámica para sistema acuoso de almidón lipofílico (AL) al 10%

Cabe mencionar que la curva de tensión superficial dinámica para sistemas acuosos de almidón lipofílico al 20%, no se mostró debido a que la formación de la gota no se logró en ninguno de los capilares del tensiómetro. La formación de la gota está determinada por el equilibrio entre la tensión superficial y la fuerza de gravedad, por lo tanto, la alta concentración de moléculas de almidón lipofílico que compitieron al mismo tiempo por la interfase aire-agua, no permitieron que dicha tensión superficial se redujera, generándose una constante contracción de la gota, apenas formada en el capilar.

### 3.5.2 - Sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo y caseinato de sodio al 1% y 2%

Para sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) y caseinato de sodio (CS) al 1% y 2%, la Figura 3.14, presenta la variación de la tensión superficial respecto al tiempo, en una prueba de 1800 y 2000 segundos, respectivamente.

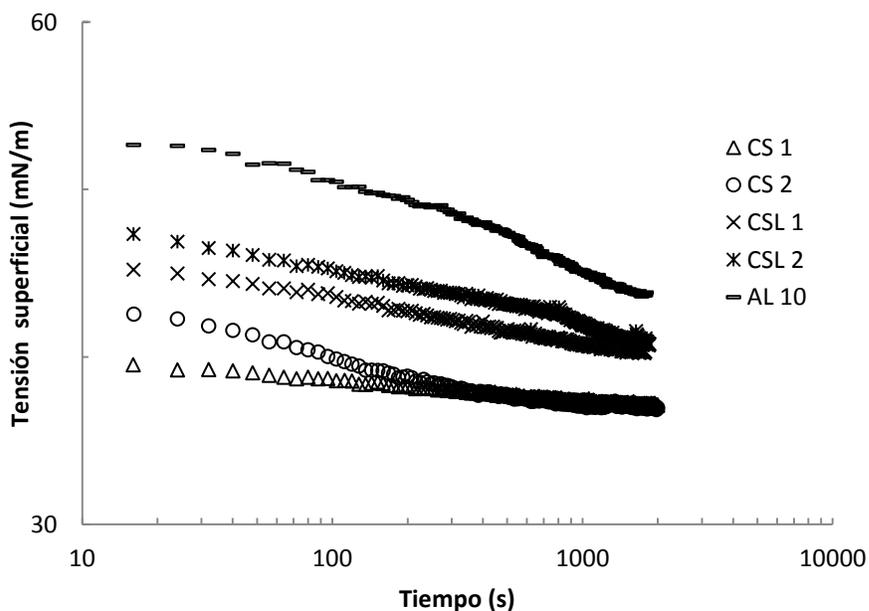


Figura 3.14 - Tensión superficial dinámica para sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) / caseinato de sodio (CS) al 1% y 2%

En esta Figura, se mostró una vez más la cinética de adsorción del sistema acuoso de almidón lipofílico al 10%, como un comparativo con las curvas de adsorción de proteínas. Para sistemas de CSL, se observó que al emplear una concentración del 1%, se redujo en mayor medida el valor de la tensión superficial, al presentar valores por debajo de los obtenidos en sistemas de CSL al 2%. De esta misma forma ocurrió para los sistemas de caseinato de sodio (CS), pero sólo durante los primeros 400 segundos de prueba, ya que pasado este tiempo, las curvas de ambos sistemas se superpusieron. Este comportamiento en ambas proteínas, se atribuyó al hecho de que probablemente la presencia de una capa de proteína en la interfase, generó un impedimento electrostático para las moléculas de proteína aún no adsorbidas, debido a la orientación preferencial de los grupos proteínicos cargados hacia la fase continua, provocando de esta manera, que las moléculas no adsorbidas requirieran de una energía cinética mayor para superar dicho impedimento, comprimir las ya adsorbidas en la interfase y adsorberse finalmente (Phillips et al., 1994).

Los sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) a sus dos concentraciones, resultaron ser los sistemas con menor actividad superficial en comparación con los de caseinato de sodio (CS), ya que para estos últimos, la disminución de la tensión superficial fue mayor. Esto puede explicarse en términos de conformación proteínica, ya que los sistemas de CSL están compuestos en un mayor porcentaje de  $\beta$ -lactoglobulina, la cual es una proteína globular no flexible con enlaces intermoleculares fuertes (Parra, 2009; Dickinson, 1994; Muñoz et al., 2007), razón por la cual los fenómenos de difusión, desdoblamiento y por lo tanto adsorción, se volvieron más lentos.

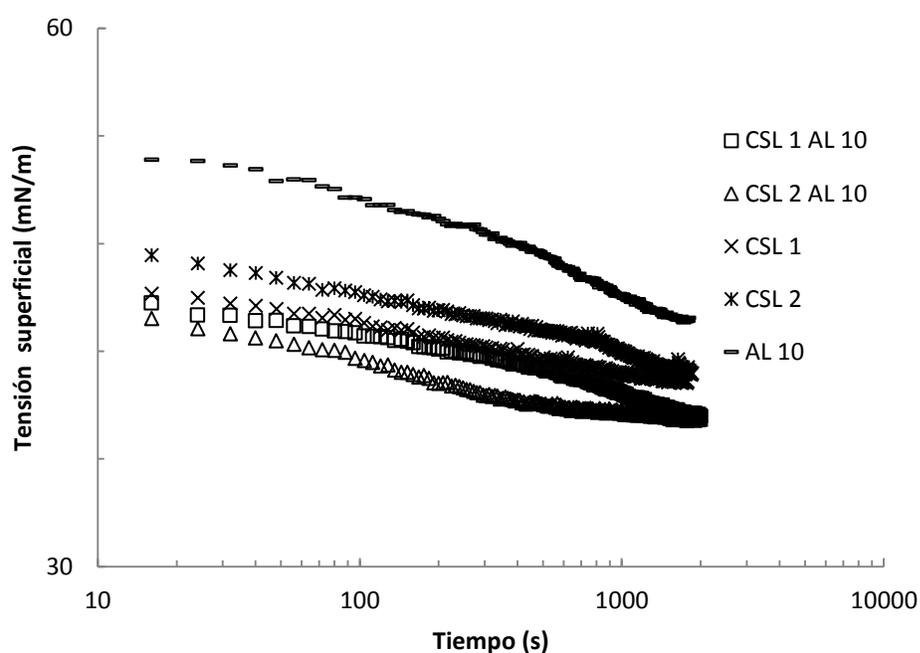
Por su parte, las moléculas más flexibles y sin enlaces intermoleculares tales como la  $\beta$ -Caseína, presente en mayor proporción en los sistemas de caseinato de sodio (Beverung et al., 1999; Dickinson, 1994; Muñoz et al., 2007), alteran más rápidamente su conformación y por lo tanto, sus grupos polares y apolares se orientan con mayor rapidez a sus respectivas fases. Esto, como lo menciona Beverung et al. (1999), puede ser debido a la fuerte adsorción de las terminaciones hidrofóbicas de la molécula de  $\beta$ -Caseína hacia la fase dispersa, dejando las hidrofílicas (cargadas negativamente), suspendidas en la fase continua en forma de lazos y colas.

Otra posible razón a dicho fenómeno, pudiera deberse al porcentaje de proteína pura que cada sistema acuoso presentó, siendo los de caseinato de sodio, aquéllos con mayor porcentaje proteínico ( $\approx 92\%$ ) en comparación con los de concentrado de suero lácteo (34%), diferencia que pudo manifestarse en las propiedades superficiales de cada sistema.

Las cinéticas de adsorción en ambas proteínas lácteas, no mostraron una etapa de difusión, ya que la reducción de la tensión superficial ocurrió de manera inmediata. Así mismo, se mostró la diferencia en la reducción de la tensión superficial entre proteínas lácteas y almidón lipofílico, siendo las proteínas, aquéllas con mayor capacidad para disminuir la tensión superficial. Dentro de ellas y como ya se mencionó, los sistemas de caseinato de sodio, redujeron con mayor rapidez la tensión superficial en comparación con las de concentrado de suero lácteo.

### 3.5.3 - Mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo 1% y 2% con almidón lipofílico al 10%

La Figura 3.15, muestra el gráfico comparativo de la tensión superficial dinámica para sistemas acuosos de CSL al 1% y 2%, así como sus mezclas con almidón lipofílico al 10%, cuyos datos se obtuvieron en un tiempo de 2000 segundos de prueba. En la misma Figura, se integró una vez más la cinética de adsorción para sistemas acuosos de AL al 10%, como comparativo.



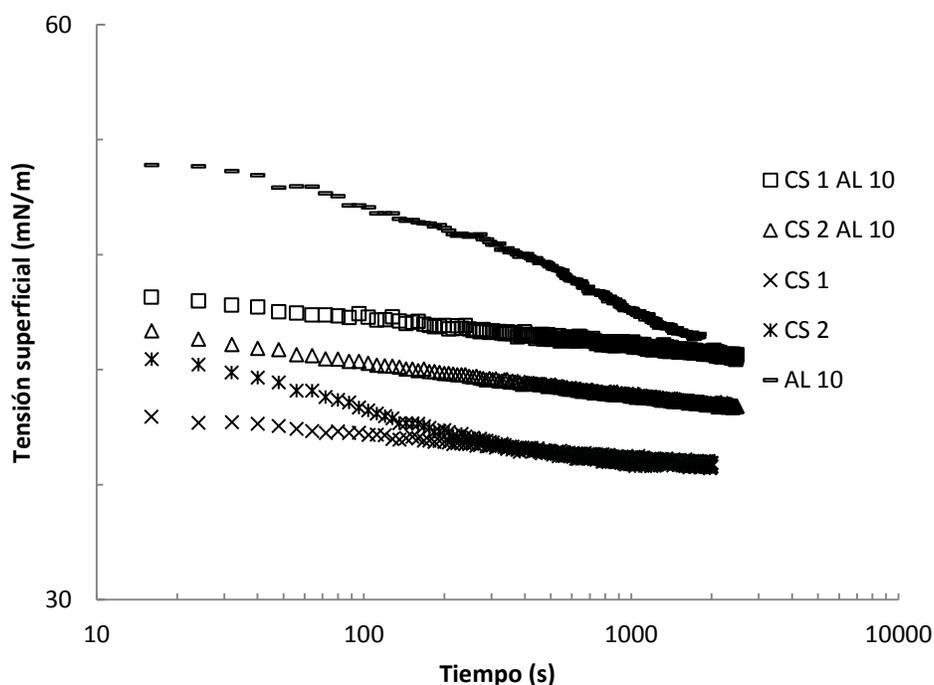
**Figura 3.15 -Tensión superficial dinámica comparativa para sistemas acuosos de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% y 2%, así como para sus mezclas con almidón lipofílico (AL) al 10%**

Ambas mezclas de CSL-AL, presentaron los valores de tensión superficial dinámica más bajos en comparación con los obtenidos en sistemas de concentrado de suero lácteo.

Al 1% de CSL, se observó que la curva de adsorción logró casi superponerse con la de mezclas de CSL 1%-AL 10%, sin embargo, éstas últimas lograron reducir mayormente la tensión superficial al final de la prueba. Se consideró que la presencia de almidón lipofílico en las mezclas de CSL-AL, generó un efecto favorable en la reducción de la tensión superficial, ya que dichos valores fueron menores en comparación con los sistemas de CSL a sus dos concentraciones.

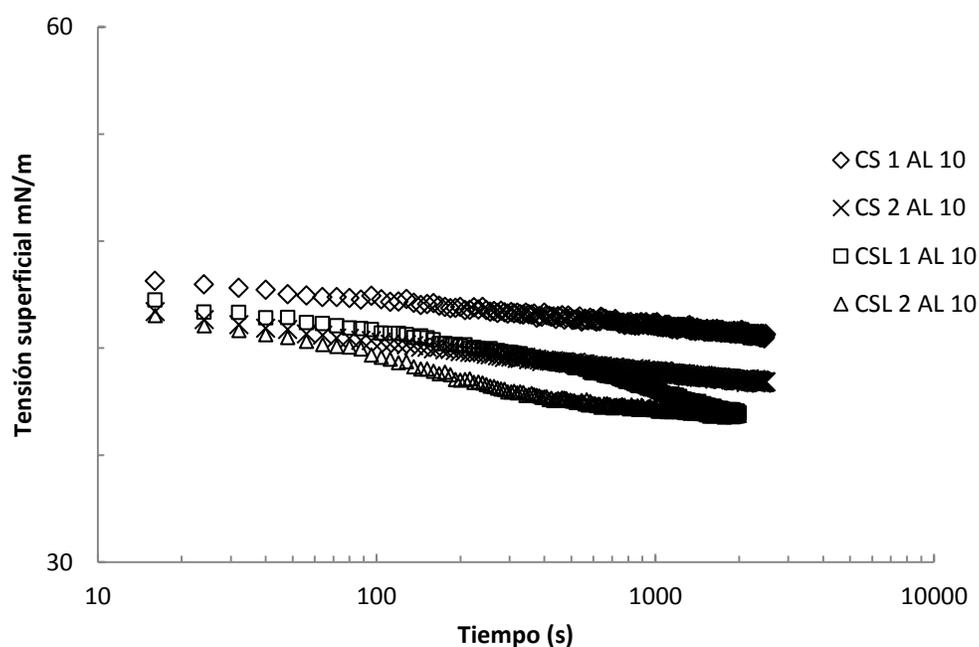
### 3.5.4 - Mezclas acuosas de caseinato de sodio al 1% y 2% con almidón lipofílico al 10%

Para sistemas acuosos de CS al 1%, 2% y sus mezclas acuosas con almidón lipofílico al 10%, la Figura 3.16, presenta la variación de la tensión superficial en función del tiempo, en una prueba de 2500 segundos.



**Figura 3.16 - Tensión superficial dinámica para sistemas acuosos de caseinato de sodio (CS) al 1% y 2%, así como para sus mezclas acuosas con almidón lipofílico (AL) al 10%**

Como se observó en la Figura 3.16, las mezclas de CS-AL no presentaron etapas de difusión y reordenamiento en sus cinéticas de adsorción, reduciendo la tensión superficial desde los primeros segundos de prueba y reflejando la rapidez con que dichas moléculas lograron adsorberse en la interfase. A pesar de ello, estas mezclas no lograron reducir en mayor medida la tensión superficial en comparación con los sistemas de proteína sola, por lo tanto, la presencia del almidón lipofílico probablemente, lejos de contribuir con el caseinato de sodio en la reducción de la tensión superficial, generó una competencia con él por la interfase, esto al presentarse las cinéticas de la mezcla en el intervalo medio de valores de tensión superficiales entre ambas macromoléculas. Al hacer un comparativo entre las curvas de adsorción para mezclas de CSL-AL y CS-AL, se visualizó que definitivamente, las primeras, lograron reducir en mayor medida la tensión superficial en comparación con las mezclas de CS-AL, como se muestra en la Figura 3.17.



**Figura 3.17 - Comparativo de tensión superficial dinámica para mezclas de caseinato de sodio (CS) / concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10%**

El Cuadro 3.9, presenta los valores de tensión superficial al equilibrio, para los sistemas y mezclas acuosas anteriormente estudiadas. Estos valores se obtuvieron una vez que la curva de adsorción presentó una tendencia a ser constante respecto al tiempo. Se observó que los sistemas acuosos de caseinato de sodio a sus dos concentraciones, alcanzaron valores de tensión superficial menores en comparación con los de concentrado de suero lácteo y almidón lipofílico a sus respectivas concentraciones. Los sistemas de CSL y CS al 1% y 2%, presentaron valores semejantes de tensión superficial al equilibrio, debido a que sus curvas de adsorción tendieron a superponerse al final de la prueba. Para mezclas acuosas de CSL-AL, éstas presentaron valores menores de tensión superficial al equilibrio en comparación con los de CS-AL, aún así, dichos resultados en ambos tipos de mezclas fueron cercanos.

**Cuadro 3.9 - Tensión superficial al equilibrio para sistemas y mezclas acuosas de almidón lipofílico (AL) al 10%, concentrado de suero lácteo (CSL) / caseinato de sodio (CS) al 1% y 2%**

<b>Sistema</b>	<b>Tensión superficial al equilibrio (mN/m)</b>
AL 10%	43.9
CSL 1%	40.8
CSL 2%	40.7
CS 1%	37.0
CS 2%	37.0
CSL 1%-AL 10%	38.2
CSL 2%-AL 10%	38.2
CS 1%-AL 10%	42.8
CS 2%-AL 10%	40.1

Una vez realizadas las fases acuosas y determinadas sus pruebas, se elaboraron las emulsiones aceite en agua, en una relación 30/70 (v/v), de las cuales se obtuvieron los resultados de distribución de tamaño de gota, comportamiento al flujo y el estudio de su estabilidad respecto al tiempo.

## Emulsiones

### 3.6- DISTRIBUCIÓN Y TAMAÑO DE GOTA DE ACEITE

#### 3.6.1 - Emulsiones de concentrado de suero lácteo/caseinato de sodio al 1% con almidón lipofílico al 10% y 20%

La Figura 3.18a, presenta la distribución de tamaño de gota sin ultrasonido, para emulsiones de CSL 1%-AL 10% y CS 1%-AL 10%. En tanto, la Figura 3.18b, muestra las curvas para las mismas emulsiones, pero con almidón lipofílico al 20%.

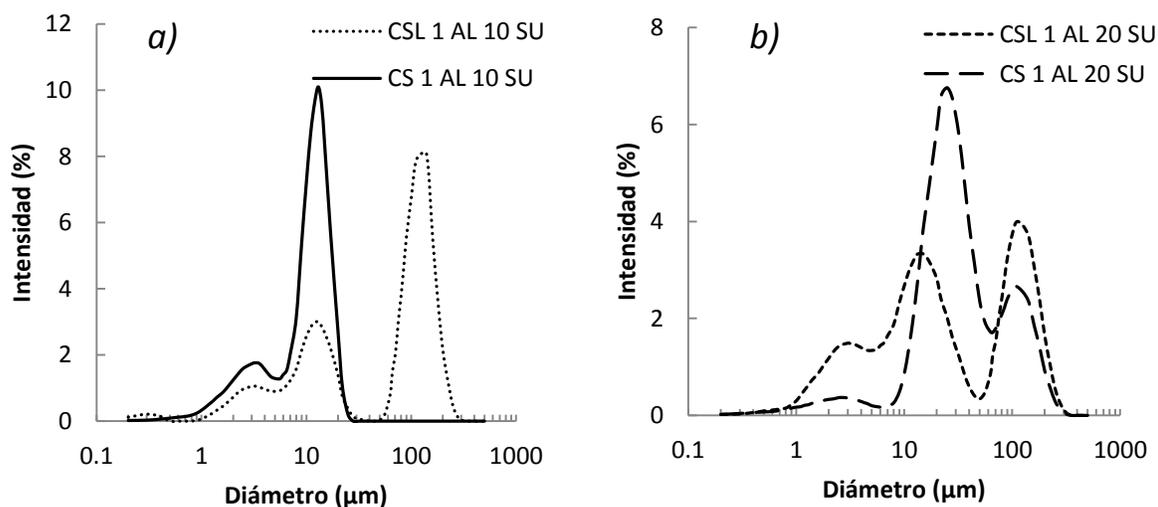
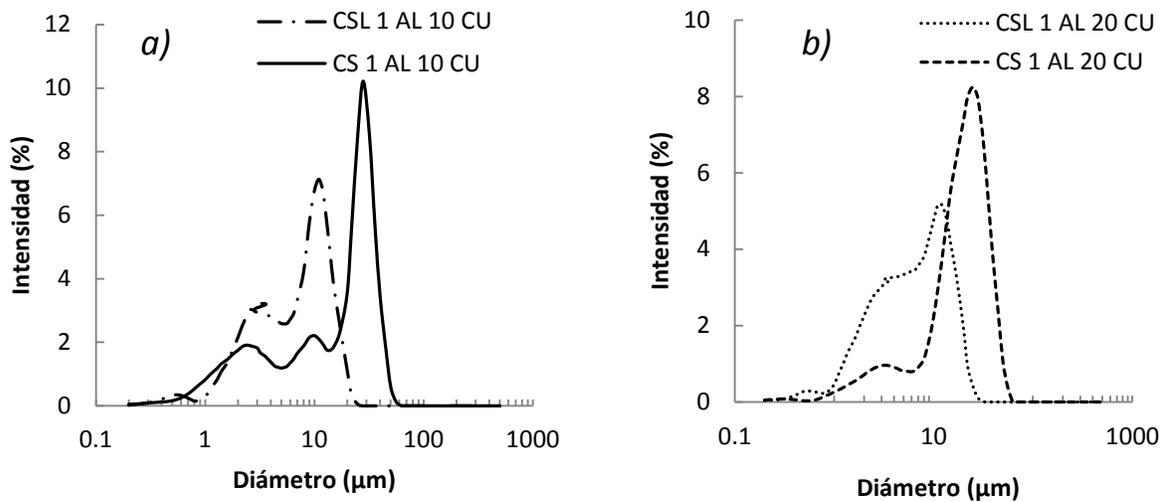


Figura 3.18 - Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido (SU) para: a) Emulsiones de CSL / CS al 1% con AL al 10%, b) Emulsiones de CSL / CS al 1% con AL al 20%

En presencia de almidón lipofílico al 10%, las emulsiones de concentrado de suero lácteo, mostraron una distribución de tipo multimodal, con gotas de aceite de mayor tamaño en comparación con las de CS 1%-AL 10%, cuya curva de distribución fue bimodal. Al incrementar la concentración de almidón lipofílico al 20%, ambas emulsiones presentaron distribuciones multimodales, con un grado semejante de polidispersidad (Figura 3.18b). Cabe mencionar que aquéllas compuestas de CS 1%-AL 20%, mostraron una mínima población de gotas en el intervalo de 0.5 a 10  $\mu\text{m}$ , las cuales probablemente correspondieron a aglomerados de biopolímeros no adsorbidos, suspendidos en la fase continua de la emulsión.

Las emulsiones de caseinato de sodio, mostraron distribuciones con mayor homogeneidad en su tamaño de gota, en comparación con las de concentrado de suero lácteo. Por ejemplo, el intervalo de tamaño de gota para las emulsiones de CS 1%-AL 10%, resultó menor en relación con las de CSL a las mismas concentraciones, esto sucedió también para las mismas emulsiones pero con almidón lipofílico al 20%, lo que pudo ser debido a la mayor facilidad de adsorción que presentan las moléculas de caseinato de sodio en la interfase aceite-agua, debido a su estructura molecular flexible, en comparación con las de CSL. Esto les permite orientar sus grupos hidrofílicos e hidrofóbicos a sus respectivas fases de manera más rápida, logrando la formación de gotas de menor tamaño con una distribución más homogénea.

Tras aplicar ultrasonido, la Figura 3.19a, muestra la distribución de tamaño de gota para las emulsiones de CSL, CS 1%-AL 10%, en tanto, la Figura 3.19b, presenta las curvas para las mismas emulsiones, pero con AL al 20%.



**Figura 3.19 - Distribución y tamaño de partícula con ultrasonido (CU) para: a) Emulsiones de CSL / CS al 1% con AL al 10%, b) Emulsiones de CSL / CS al 1% con AL al 20%**

La Figura 3.19a, mostró distribuciones de tipo bimodal para las emulsiones de CSL 1%-AL 10% y multimodal, para las de CS 1%-AL 10%. Las primeras emulsiones presentaron una reducción considerable en los intervalos de tamaños de gota, en comparación con los obtenidos sin ultrasonido, sin embargo, las emulsiones de CS 1%-AL 10% mostraron un mayor intervalo de tamaño de gota en relación con la curva sin ultrasonido. Con el aumento en la concentración de almidón lipofílico al 20% (Figura 3.9b), las emulsiones de CSL y CS, presentaron distribuciones bimodales, siendo las de caseinato de sodio, aquéllas con un mayor intervalo de tamaño de gota. Para ambos tipos de sistemas, el efecto del ultrasonido provocó que los intervalos de tamaño de gota se redujeran en comparación con los obtenidos sin ultrasonido, esto probablemente debido a una desestructuración de aglomerados de gotas de aceite, unidas mediante cadenas poliméricas de carácter hidrofílico.

Dichas estructuras llegan a interactuar entre sí, formando un complejo de aglomerados sensibles al ultrasonido. Estos fenómenos pueden ser relacionados con procesos de floculación por puenteo, donde las gotas de aceite se unen entre sí mediante puentes de polisacárido e interacciones de conformaciones proteínicas hidrofílicas.

### 3.6.2 - Emulsiones de concentrado de suero lácteo/caseinato de sodio al 2% con almidón lipofílico al 10% y 20%

La Figura 3.20a, muestra la distribución de tamaño de gota sin ultrasonido (SU) para emulsiones de CSL, CS 2%-AL 10%, con distribuciones multimodales e intervalos de tamaño de gota semejantes en ambos sistemas. Para las mismas emulsiones, pero con almidón lipofílico al 20%, la Figura 3.20b muestra las distribución de tamaño de gota, con curvas bimodales polidispersas, semejantes entre sí.

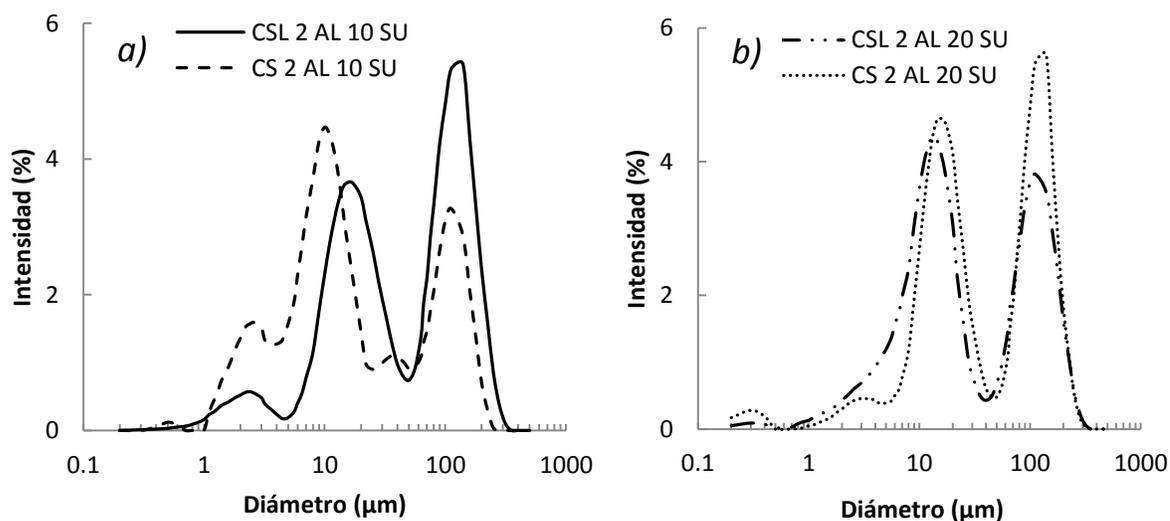
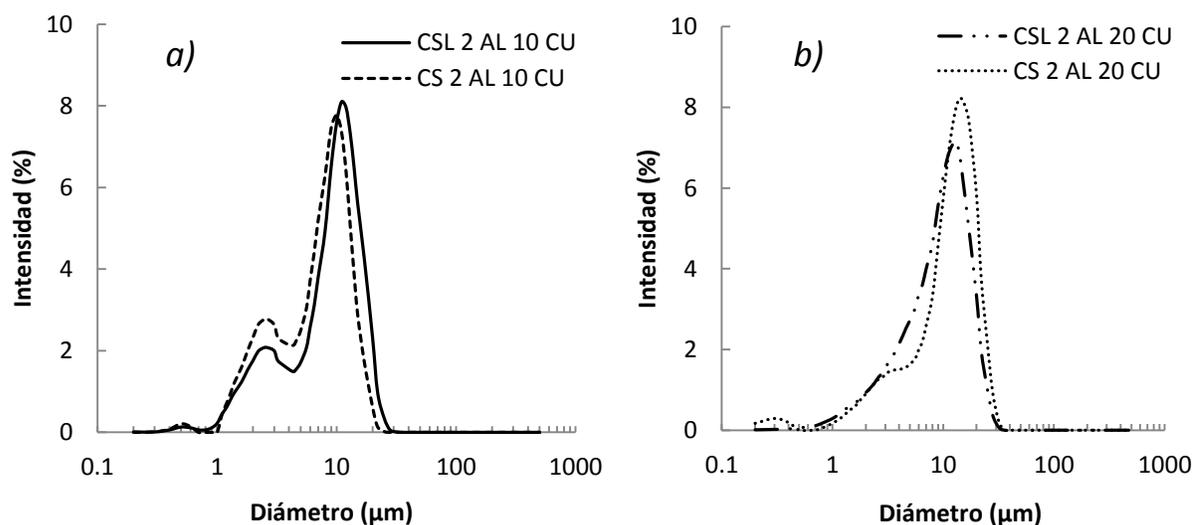


Figura 3.20 - Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido (SU) para: a) Emulsiones de CSL / CS al 2% con AL al 10%, b) Emulsiones de CSL / CS al 2% AL al 20%

Principalmente, con el aumento en la concentración de caseinato de sodio al 2%, se notó un aumento en el intervalo y tamaño de gota para emulsiones con AL al 10% (Figura 3.20a). Probablemente, dicha concentración proteínica fue suficiente para cubrir las gotas de aceite, de acuerdo a su tamaño presentado. Las emulsiones de CSL 2%-AL 10% de la misma Figura 3.20a, así como las de la Figura 3.20b, no mostraron cambios importantes en los intervalos de tamaño de gota, con el aumento de concentración proteínica al 2%.

Al aplicar ultrasonido, los intervalos de tamaño de gota para las mismas emulsiones en cuestión, se redujeron considerablemente en comparación con las curvas sin ultrasonido. Las Figuras 3.21a y b, muestran claramente dicho efecto, donde además, se observan distribuciones más homogéneas con menor polidispersidad y semejantes al emplear una misma concentración de almidón lipofílico.



**Figura 3.21 - Distribución y tamaño de partícula con ultrasonido (CU) para: a) Emulsiones de CSL / CS 2% con AL al 10%, b) Emulsiones de CSL / CS 2% con AL al 20%**

Para estas emulsiones, la formación de agregados formados por gotas de aceite, también se atribuyó a posibles fenómenos de floculación por puenteo, cuyos enlaces por puentes de polisacárido e interacciones proteínicas, lograron romperse por efecto del ultrasonido.

El Cuadro 3.10, presenta los resultados de tamaño de gota con ultrasonido, correspondientes al punto máximo de las curvas de distribución ( $P_{1,2,3}$ ), para emulsiones de CSL-AL y CS-AL a sus diferentes concentraciones.

**Cuadro 3.10 -Tamaño de partícula con ultrasonido para emulsiones compuestas de CSL / CS al 1%, 2% con almidón lipofílico al 10% y 20%**

<b>Emulsión</b>	<b>P<sub>1</sub> (µm)</b>	<b>P<sub>2</sub> (µm)</b>	<b>P<sub>3</sub> (µm)</b>
CSL 1%-AL 10%	2.6	10	-----
CSL 1%-AL 20%	2.6	14	-----
CSL 2%-AL 10%	2	11	-----
CSL 2%-AL 20%	12	-----	-----
CS 1%-AL 10%	2	8	28
CS 1%-AL 20%	3.6	25	-----
CS 2%-AL 10%	2.2	10	-----
CS 2%-AL 20%	13	-----	-----

Como se observa, las emulsiones de CSL-AL, presentaron tamaños y distribuciones de gota semejantes entre sí. Las emulsiones de CSL 2%-AL 20%, sólo presentaron una sola moda, pero su tamaño de gota en  $P_2$  fue semejante al de las tres primeras emulsiones. Para estos mismos sistemas, se mostró una relación donde, al aumentar la concentración de almidón lipofílico, el tamaño de gota también incrementó, esto visualizado principalmente en las modas poblacionales con mayor tamaño de gota.

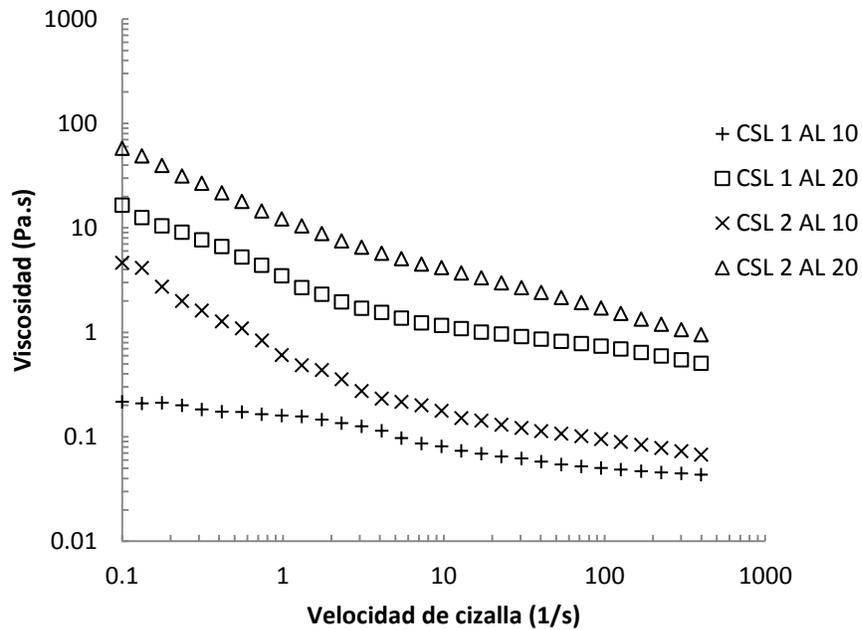
Para emulsiones de CS-AL, se observó una mayor diferencia en las distribuciones y tamaños de gota respecto a las concentraciones empleadas. Se visualizó que con el incremento en la concentración de la proteína, el tamaño de las partículas se redujo considerablemente, probablemente debido a que a dicha concentración y junto con el efecto del almidón lipofílico, se logró una mayor efectividad en la cobertura de la superficie de las gotas de aceite, coadyuvando a su estabilización en la emulsión.

Al comparar los resultados de tamaño de gota para ambos tipos de emulsiones, se observó que los sistemas de CSL 1%-AL 10% y 20%, presentaron gotas de menor tamaño en comparación con las de CS-AL a las mismas concentraciones. Para el resto de las emulsiones de CSL-AL, cuyos tamaños de gota fueron ligeramente mayores a los de caseinato de sodio, la presencia de posibles asociaciones proteínicas en la interfase y sus posibles interacciones con almidón lipofílico, aún después del ultrasonido, pudieran considerarse como una razón del aumento en el tamaño de gota.

### **3.7- COMPORTAMIENTO AL FLUJO**

#### **3.7.1 - Emulsiones de concentrado de suero lácteo al 1% y 2% con almidón lipofílico al 10% y 20%**

La Figura 3.22, presenta el comportamiento de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%. Las emulsiones compuestas de CSL 1%-AL 10%, presentaron los valores más bajos de viscosidad en comparación con el resto de las emulsiones, cuyas concentraciones de biopolímeros fueron mayores.



**Figura 3.22 - Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

Al aumentar la concentración de biopolímero, la viscosidad en función a la velocidad de cizalla, también aumentó. Ramírez et al. (2002), mencionaron que cuanto más concentrado sea un sistema, más complejo será su comportamiento reológico y por lo tanto, mayor será su viscosidad.

Estas emulsiones se ajustaron al modelo reológico de Herschel-Bulkley, modelo aplicado para fluidos con características fluidificantes, que requirieron de un esfuerzo de cedencia necesario para comenzar a fluir (Campanella et al., 1994; Dybowska, 2008), habiéndose obtenido coeficientes de correlación entre 0.996 y 0.998. Cabe mencionar que el comportamiento al flujo en emulsiones de CSL 1%-AL 10%, no se ajustó al modelo de Herschel-Bulkley, sino que de mejor manera, al modelo de Carreau-Gahleitner.

La característica fluidificante, para las emulsiones que se ajustaron al modelo de Herschel-Bulkley, pudo haberse presentado como una consecuencia de la unión de gotas de aceite, unidas por fuerzas atractivas de London-Van der Waals o por procesos de floculación-defloculación, formando agregados o flóculos, los cuales retuvieron una cierta cantidad de fase continua y con el incremento en la velocidad de cizalla, dicha estructura logró romperse, disminuyendo la viscosidad del sistema (Campanella et al., 1994). Estas emulsiones no presentaron dependencia con el tiempo de cizallamiento, ya que el bucle de histéresis en un gráfico de velocidad de cizalla contra esfuerzo de cizalla, no fue evidente. La ausencia de esta dependencia, muchas veces indica que los fenómenos de floculación son reversibles, esto es, que los flóculos pueden volverse a formar cuando la velocidad de cizalla se vea reducida (Campanella et al., 1994; Braun y Rosen, 2000).

A pesar de que cada una de las emulsiones presentaron valores de viscosidad diferentes a velocidades bajas de cizalla, se observó que a una misma concentración de almidón lipofílico, variando la de concentrado de suero lácteo, se presentaron valores de viscosidad semejantes cuando el cizallamiento finalizó, esto como un efecto de la disgregación de flóculos o agregados presentes en las emulsiones. Esto pudo corroborarse mediante los valores de tamaño de gota al aplicar ultrasonido, resultando valores relativamente semejantes entre una emulsión y otra.

El Cuadro 3.11, presenta los parámetros reológicos para emulsiones de concentrado de suero lácteo (CSL) con almidón lipofílico (AL), a sus diferentes concentraciones empleadas. Los índices de correlación fueron de 0.980 para emulsiones de CSL 1%-AL 10% y 0.997 para las restantes.

**Cuadro 3.11 - Parámetros reológicos para emulsiones de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

<b>SISTEMA</b>	<b><math>\sigma_0</math> (Pa)</b>	<b>n</b>	<b>k (Pa.s<sup>n</sup>)</b>	<b>K<sub>1</sub> (s)</b>	<b><math>\eta_0</math> (Pa.s)</b>	<b><math>\eta_\infty</math> (Pa.s)</b>
CSL 1%-AL 10 %	-----	0.16	-----	1.80	0.20	9.6E-9
CSL 1%-AL 20 %	1.40	0.79	1.80	-----	-----	-----
CSL 2%-AL 10 %	0.47	0.8	0.25	-----	-----	-----
CSL 2%-AL 20%	4.15	0.66	6.10	-----	-----	-----

Para cada una de las emulsiones, se presentan los valores de esfuerzo inicial ( $\sigma_0$ ), índice de comportamiento al flujo (n) e índice de consistencia (k), a excepción de las emulsiones de CSL 1%-AL 10%, las cuales como ya se mencionó, se ajustaron a un modelo de Carreau-Gahleitner, mostrando un valor constante de viscosidad ( $\eta_0$ ) hasta 0.6 1/s, aproximadamente. En un tiempo de 1.8 segundos ( $K_1$ ), se inició la fluidificación, donde la viscosidad disminuyó debido a la disgregación de los flóculos presentes en la emulsión. El valor de índice de comportamiento al flujo en esta zona fue 0.16 y cerca de los 60 1/s, la viscosidad tendió a ser constante una vez más ( $\eta_\infty$ ). Las emulsiones que fueron ajustadas al modelo de Herschel-Bulkley, mostraron un aumento en el esfuerzo de cedencia conforme las concentraciones de CSL y AL incrementaron, esto quizá debido a la mayor probabilidad de formación de enlaces entre las gotas de aceite, donde la magnitud del valor de cedencia dependió de la fuerza requerida para romperlos (Braun y Rosen, 2000). Para estas mismas emulsiones, los valores de índice de comportamiento al flujo disminuyeron con el aumento en la concentración de las emulsiones y los valores de índice de consistencia aumentaron de acuerdo a la cantidad de sólidos presentes en el sistema.

### 3.7.2 - Emulsiones de caseinato de sodio al 1% y 2% con almidón lipofílico al 10% y 20%

La Figura 3.23, presenta la variación de la viscosidad en función a la velocidad de cizalla, para emulsiones de caseinato de sodio (CS) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%. El efecto de la concentración tanto de proteína (CS) como de polisacárido (AL), se hizo evidente sobre la viscosidad de cada sistema, siendo las emulsiones de CS 1%-AL 10% las que presentaron los valores más bajos en comparación con los sistemas de mayor concentración. Para emulsiones de caseinato de sodio con almidón lipofílico al 20%, la variación de la concentración proteínica, no generó un efecto diferenciable en las curvas de viscosidad, logrando casi superponerse una con otra. Ante esto, se consideró que el almidón lipofílico al 20%, dominó el comportamiento de la viscosidad de dichas emulsiones.

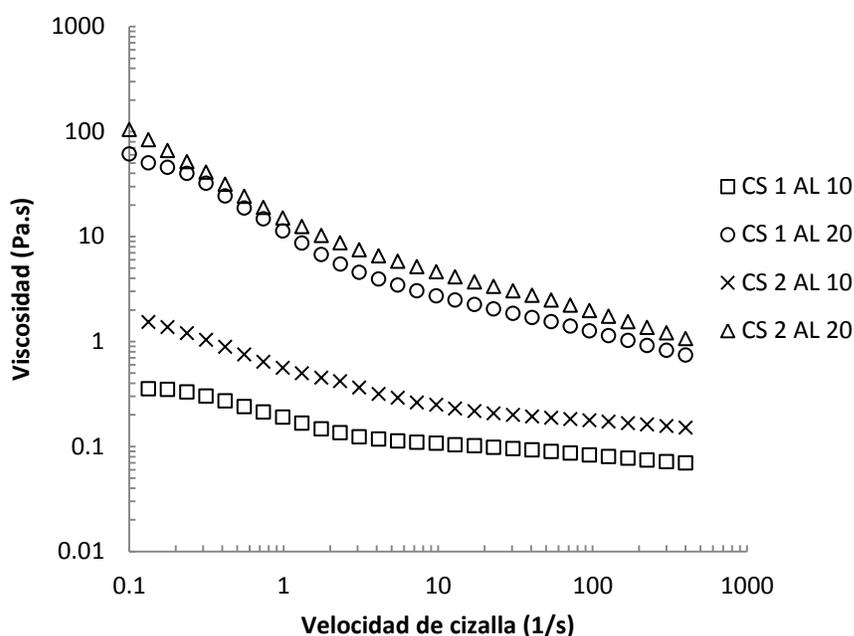


Figura 3.23 - Viscosidad en función de la velocidad de cizalla para emulsiones de caseinato de sodio (CS) al 1% y 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%

Estas emulsiones también se ajustaron a un modelo de Herschel-Bulkley, donde aquellas compuestas de CS 1%-AL 10% y CS 2%-AL 10%, no presentaron dependencia con el tiempo de cizallamiento, sin embargo, las de CS 1%-AL 20% y CS 2%-AL 20% presentaron un bucle de histéresis en un gráfico de velocidad de cizalla contra esfuerzo de cizalla, donde probablemente, pudo haberse presentado una desestructuración del sistema de manera parcial, ya que una vez reducida la velocidad de cizalla, la viscosidad de las emulsiones fue menor en comparación a como era inicialmente a la misma velocidad. Considerando que los flóculos comienzan a unirse después de la ruptura estructural, la velocidad a la cual esto ocurre, afecta el tiempo requerido para que la viscosidad alcance los niveles previos. Al presentarse un comportamiento reológico de tipo tixotrópico, la velocidad de agrupamiento de agregados es mas lenta, caracterizándolos como sistemas dependientes del tiempo de cizallamiento (Braun y Rosen, 2000).

El Cuadro 3.12, muestra los parámetros reológicos para emulsiones compuestas de caseinato de sodio (CS) con almidón lipofílico (AL) a sus diferentes concentraciones, ajustadas a un modelo de Herschel-Bulkley.

**Cuadro 3.12 - Parámetros reológicos para emulsiones de caseinato de sodio (CS) al 1% y 2% y almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

<b>SISTEMA</b>	<b><math>\sigma_0</math> (Pa)</b>	<b>n</b>	<b>k (Pa.s<sup>n</sup>)</b>	<b>R</b>
CS 1%-AL 10%	0.04	0.90	0.12	0.999
CS 1%-AL 20%	7.14	0.74	3.98	0.996
CS 2%-AL 10%	0.17	0.87	0.25	0.998
CS 2%-AL 20%	8.67	0.71	6.55	0.995

Al haber presentado características fluidificantes, los índices de comportamiento al flujo decrecieron con el aumento en la concentración de sus biopolímeros y las viscosidades incrementaron debido al aumento de sólidos en los sistemas. Cada sistema requirió de un esfuerzo de cedencia para comenzar a fluir, el cual incrementó conforme las concentraciones de los biopolímeros aumentaban. No se descartó la presencia de aglomerados de gotas de aceite, formados por fenómenos de floculación por puenteo, debido a una posible interacción de cadenas hidrofílicas de almidón lipofílico y caseína.

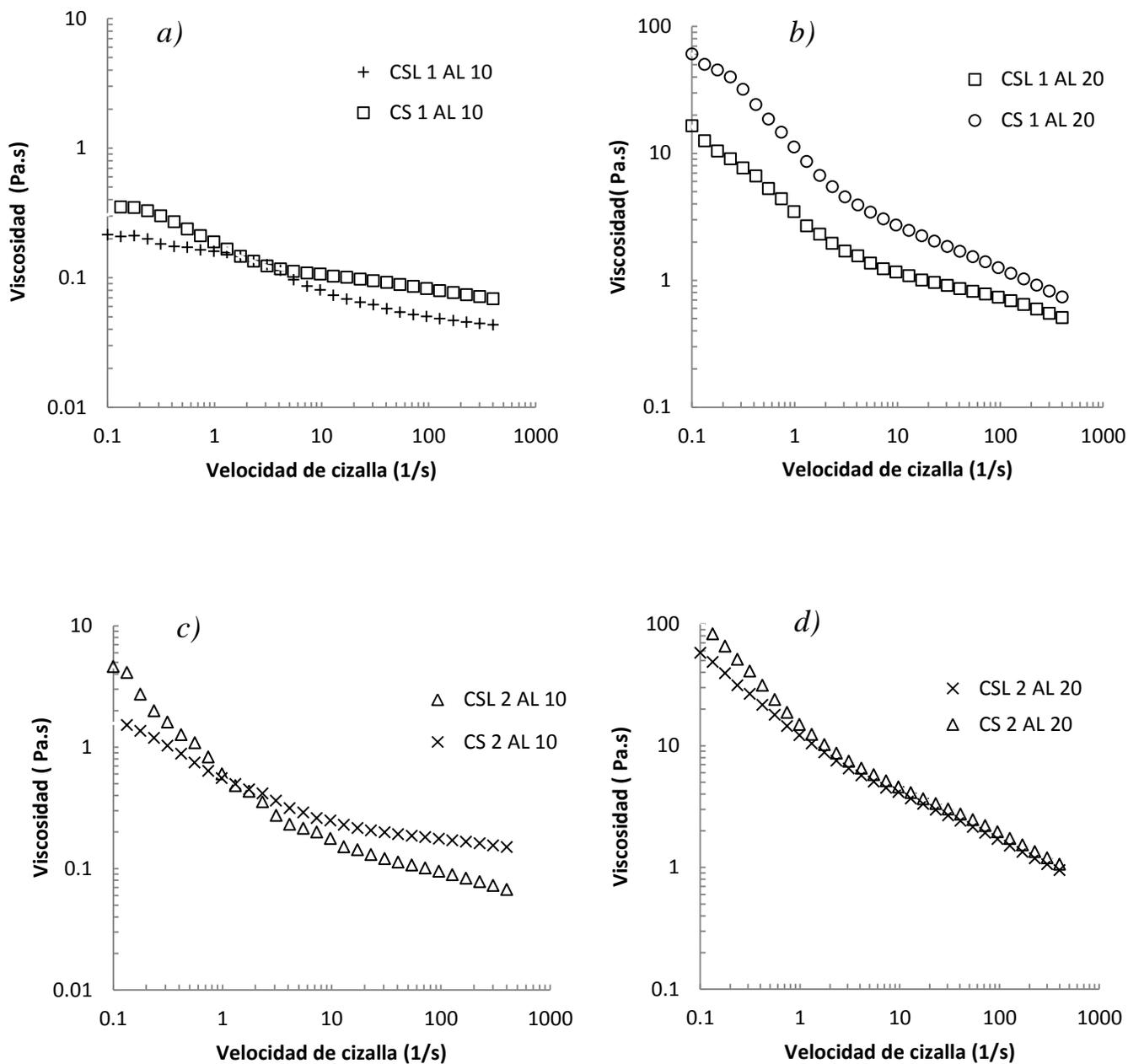
Haciendo una comparación de los resultados obtenidos de viscosidad en emulsiones de CSL-AL y CS-AL a sus diferentes concentraciones (Cuadros 3.11 y 3.12), se observó que estas últimas presentaron valores de viscosidad por arriba de los obtenidos en emulsiones de CSL-AL. Dentro de estas mismas, las emulsiones de CSL 1%-AL 10% y CS 1%-AL 10%, no pudieron compararse debido a los diferentes modelos reológicos aplicados en cada caso.

Los resultados de esfuerzo de cedencia en emulsiones de CS-AL, resultaron ser mayores en comparación con los de CSL-AL, a excepción de las de CS 2%-AL 10%. Estos esfuerzos mayores de cedencia se atribuyeron probablemente a la presencia de interacciones fuertes entre la proteína y el polisacárido en la interfase, así como en la fase continua de la emulsión. Dichas interacciones, probablemente pudieron ser de tipo electrostático, debido a las cargas positivas de la proteína y a las cargas negativas del polisacárido, o bien, de tipo estérico, por interacciones de cadenas hidrofílicas de ambos biopolímeros.

Al comparar las curvas de viscosidad en función a la velocidad de cizalla para emulsiones de CSL-AL y CS-AL (Figura 3.24), se observó que a pesar del uso de una proteína y otra, así como de las diferentes viscosidades que cada sistema presentó a velocidades bajas de cizalla, algunas emulsiones alcanzaron valores de viscosidad cercanos entre sí, al final del cizallamiento.

Se compararon las emulsiones compuestas de CSL 1%-AL 10% con las de CS 1%-AL 10% (Figura 3.24a), así como las de CSL 1%-AL 20% con aquéllas de CS 1%-AL 20% (Figura 3.24b), las emulsiones de CSL 2%-AL 10% con las de CS 2%-AL 10% (Figura 3.24c) y finalmente, las de CSL 2%-AL 20% con las emulsiones de CS 2%-AL 20% (Figura 3.24d). La comparación de las Figuras 3.24b y d, mostraron que al finalizar el cizallamiento ( $400 \text{ s}^{-1}$ ), las emulsiones de cada Figura, alcanzaron valores de viscosidad semejantes, al tender coincidir cada una de sus curvas.

Para las emulsiones de la Figura 3.24d, se mostró que los parámetros reológicos de índice de consistencia (k) y comportamiento al flujo (n) fueron semejantes, por lo que se puede concluir para este caso, que el uso de una u otra proteína láctea al 2% con AL al 20%, generó un efecto poco diferenciable en la reología de dichas emulsiones y que el uso de cualquiera de ellas, mostrará resultados semejantes en términos de flujo, a las mismas condiciones usadas.



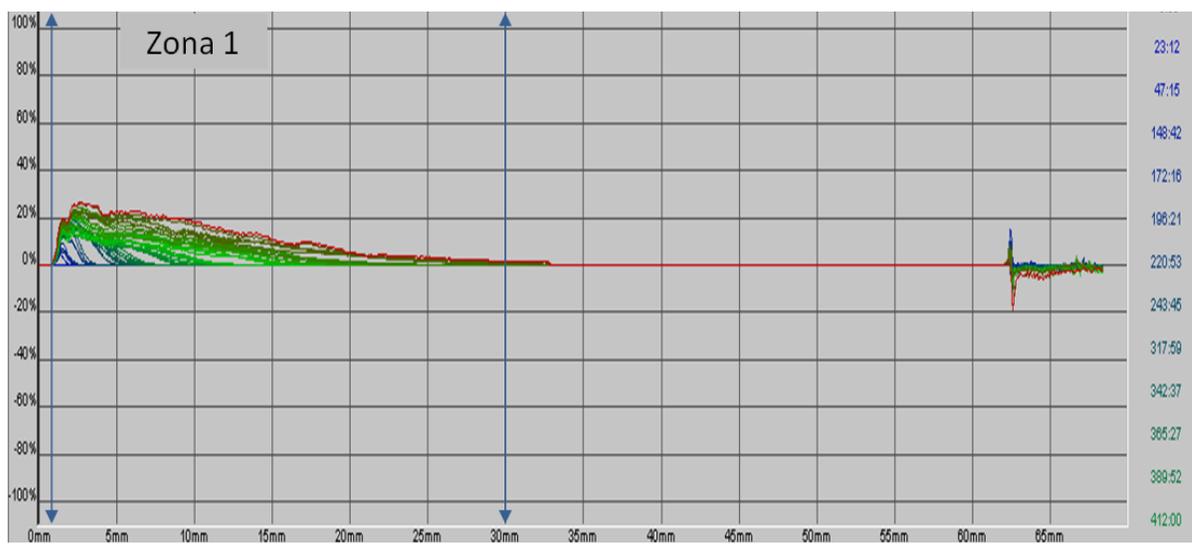
**Figura 3.24 - Curvas comparativas de viscosidad en función a la velocidad de cizalla para emulsiones compuestas: a) CSL 1%-AL 10% y CS 1%-AL 10%, b) CSL 1%-AL 20% y CS 1%-AL 20%, c) CSL 2%-AL 10% y CS 2%-AL 10%, d) CSL 2%-AL 20% y CS 2%-AL 20%**

### 3.8 - ESTABILIDAD

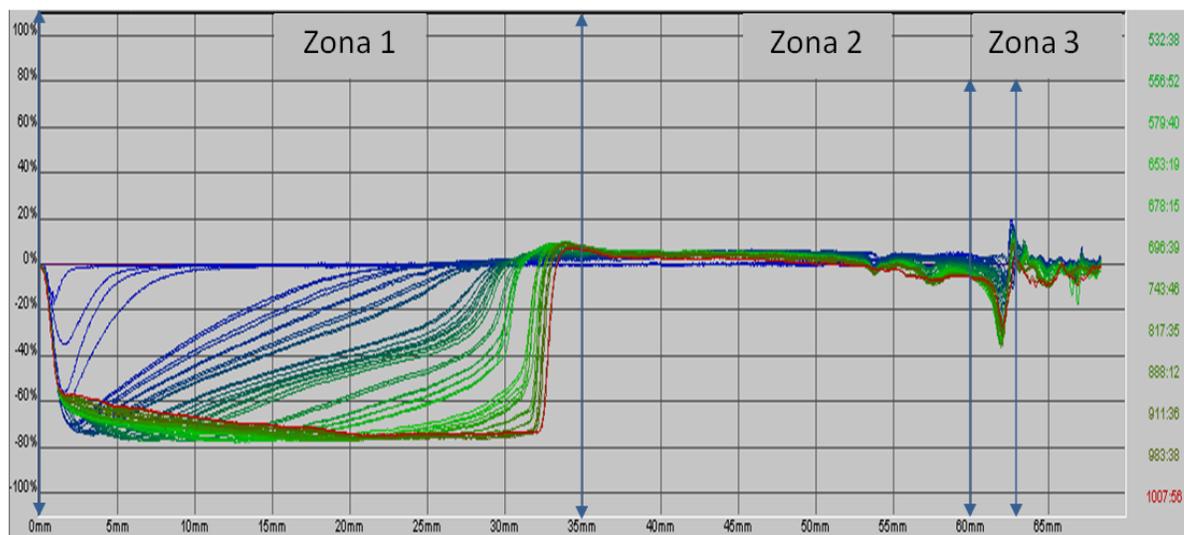
#### 3.8.1 - Emulsiones de concentrado de suero lácteo (CSL) al 1% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%

Las Figuras 3.25, presenta los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz en referencia cero para emulsiones compuestas de CSL 1%-AL 10%, delimitando los fenómenos de inestabilidad en zona baja (1), media (2) y alta (3), del tubo que contenía la emulsión. En ambos perfiles, la zona 1 mostró un aumento en la transmisión y una disminución de la retrodispersión, presentándose un clarificado, cuyo espesor incrementó en función al tiempo. En el perfil de retrodispersión se observó una tendencia al cambio en el tamaño de gota, próximo a zona 3, como una consecuencia de la desestabilización del sistema. En esta misma zona, un segundo clarificado de espesor mínimo fue evidente, el cual probablemente pudo ser una fracción de fase dispersa de la emulsión, localizada en la superficie de la muestra, una vez ocurrida la desestabilización.

*Delta transmisión CSL 1%-AL 10%*



### *Delta retrodispersión CSL 1%-AL 10%*

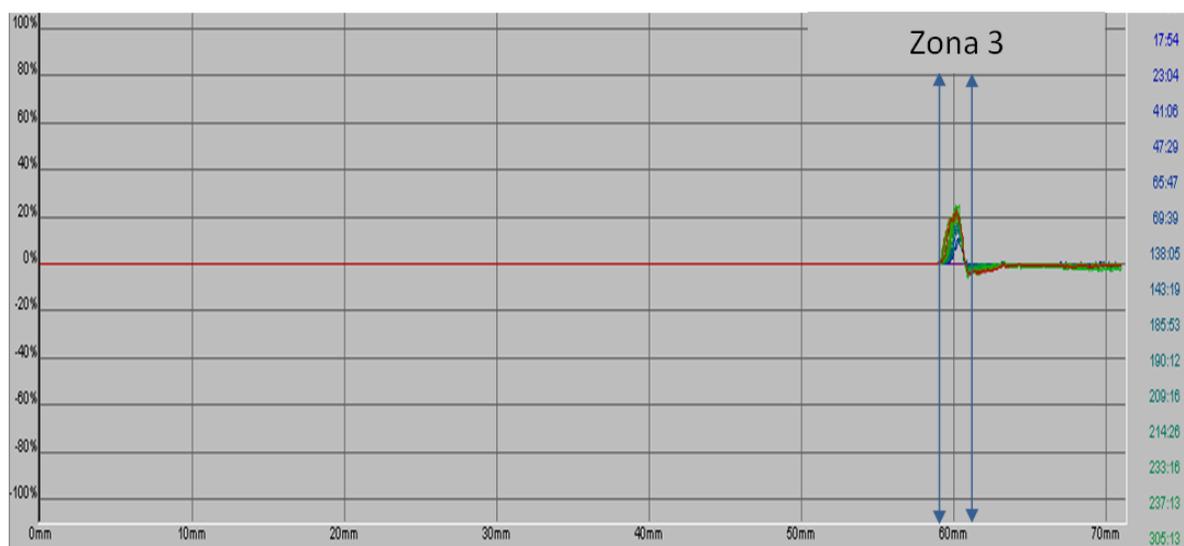


**Figura 3.25 - Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL 1%-AL 10%**

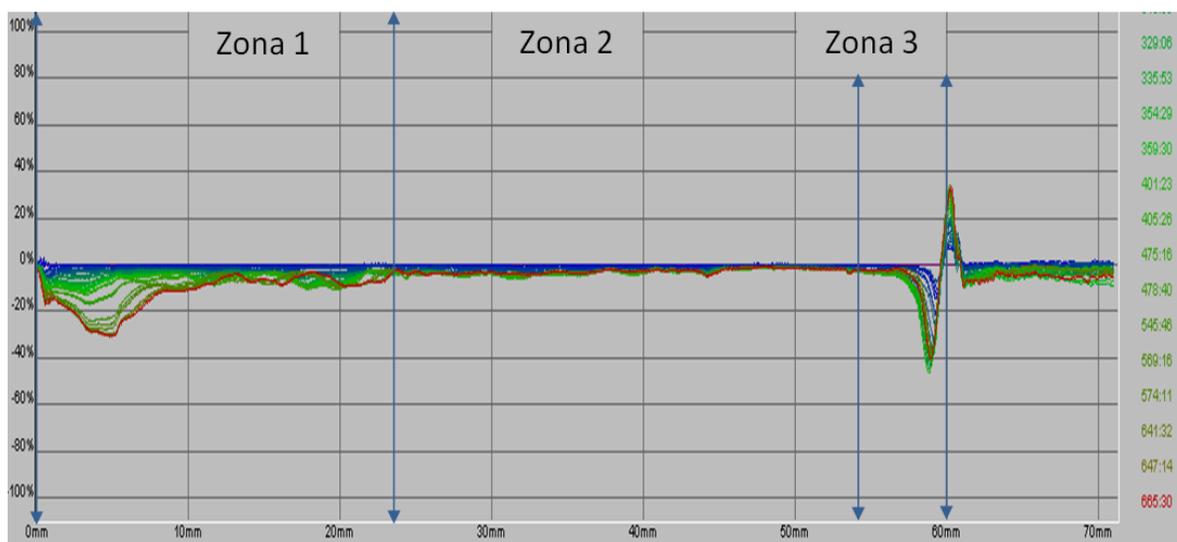
Para emulsiones de CSL 1%-AL 20%, la Figura 3.26 muestra los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz en referencia cero, donde los fenómenos de desestabilización se muestran más claramente en retrodispersión. En la zona 1 de este perfil, se observó un fenómeno de clarificado, a través de una disminución de la retrodispersión, cuyo espesor incrementó en función del tiempo, hasta que la desestabilización de la emulsión tendió a ser constante. En la zona 2, no se visualizó un cambio en el tamaño de gota, al superponerse las curvas de cada escaneo sobre la línea de referencia cero y al igual que las emulsiones de CSL 1%-AL 10%, se observó una delgada capa clarificada en la superficie de la muestra en zona 3.

A simple vista, el primer clarificado (zona 1), no presentó una apariencia completamente transparente, sino turbia, quizá debido a esto, este fenómeno no se apreció claramente en el perfil de transmisión.

### *Delta transmisión CSL 1%-AL 20%*



### *Delta retrodispersión CSL 1%-AL 20%*



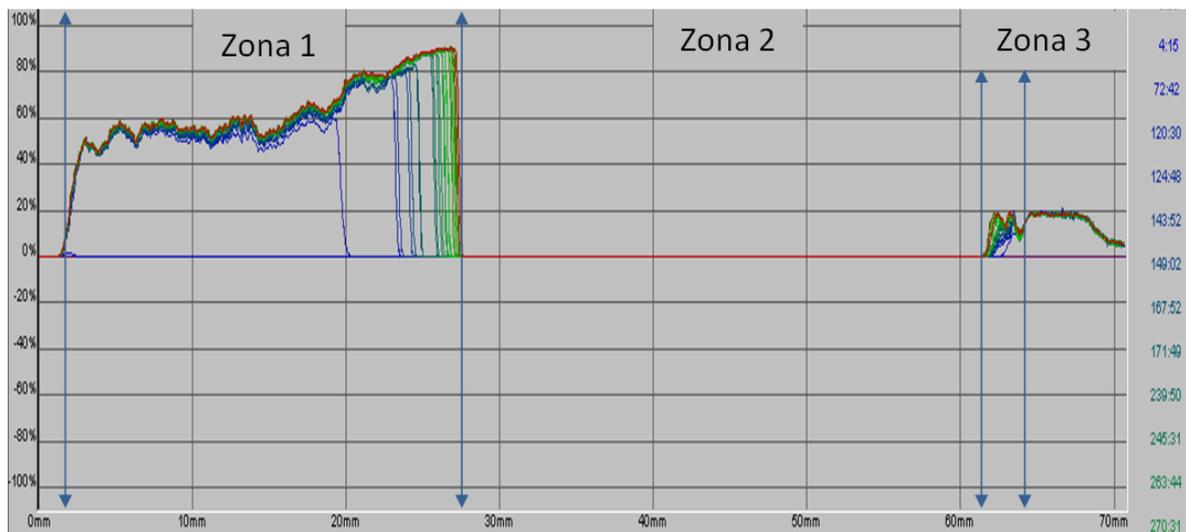
**Figura 3.26 - Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL 1%-AL 20%**

### **3.8.2 - Emulsiones de concentrado de suero lácteo (CSL) al 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%**

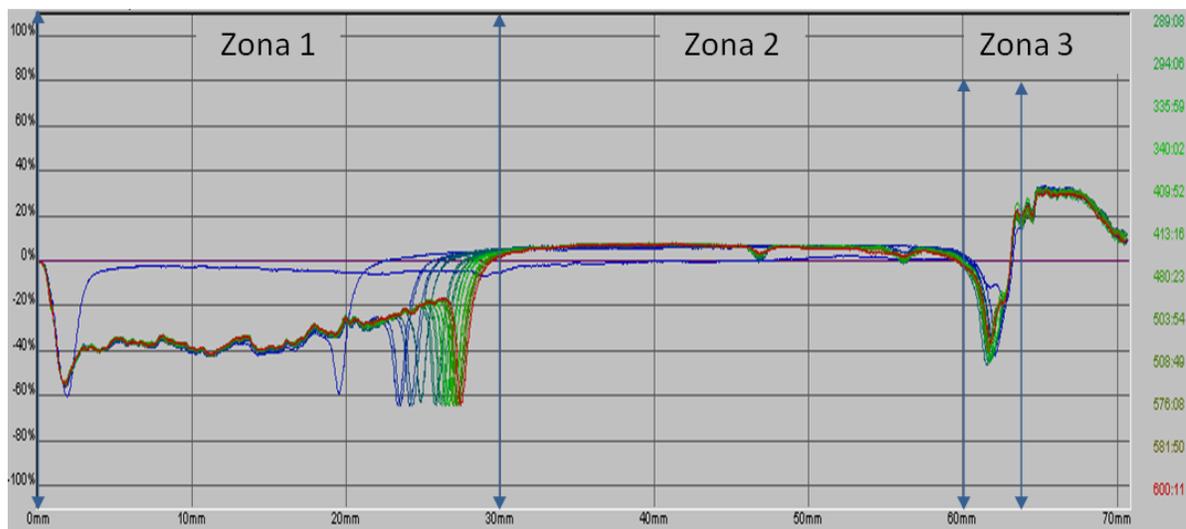
Las Figuras 3.27 y 3.28, muestran los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL 2%-AL 10% y 20%, respectivamente.

Ambos tipos de emulsiones, presentaron fenómenos de desestabilización semejantes a los mostrados anteriormente, visualizándose claramente en los dos tipos de perfiles en referencia cero y delimitándose en zonas de acuerdo a la altura del tubo.

*Delta transmisión CSL 2%-AL 10%*

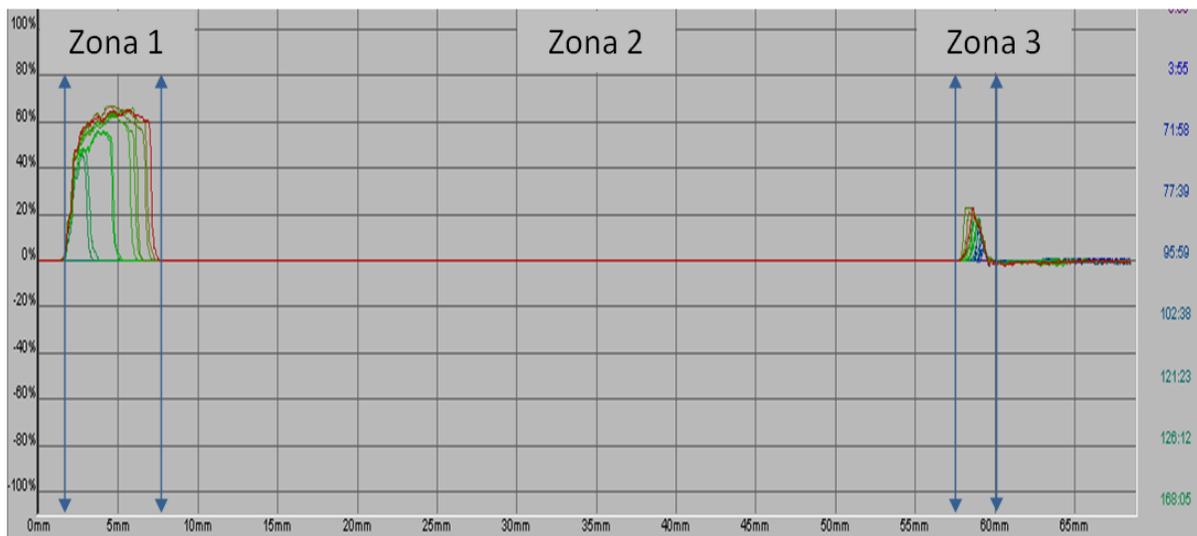


*Delta retrodispersión CSL 2%-AL 10%*

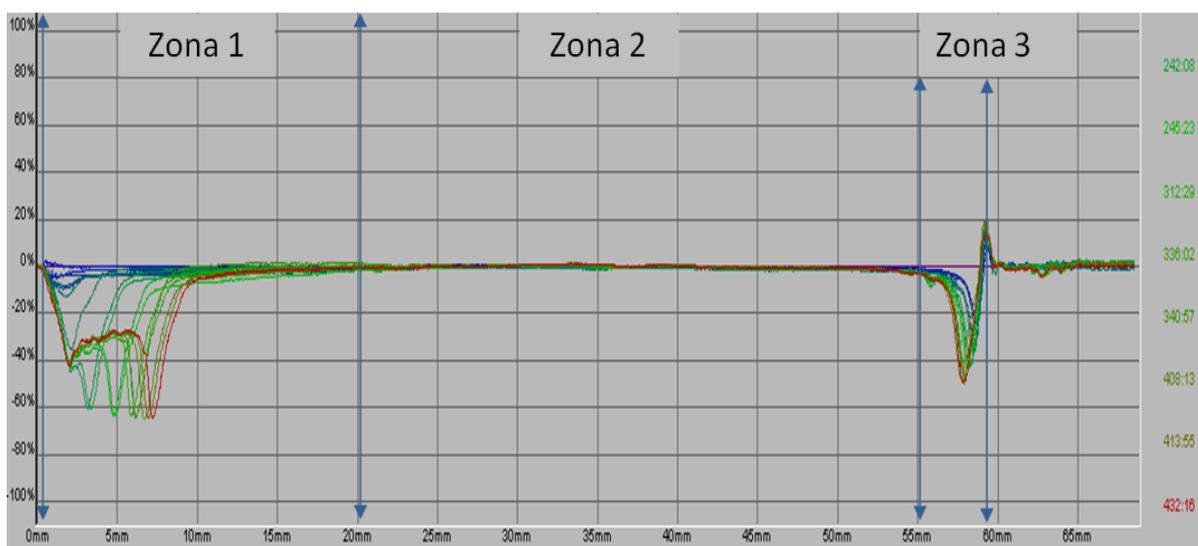


**Figura 3.27 - Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL 2%-AL 10%**

### *Delta transmisión CSL 2%-AL 20%*

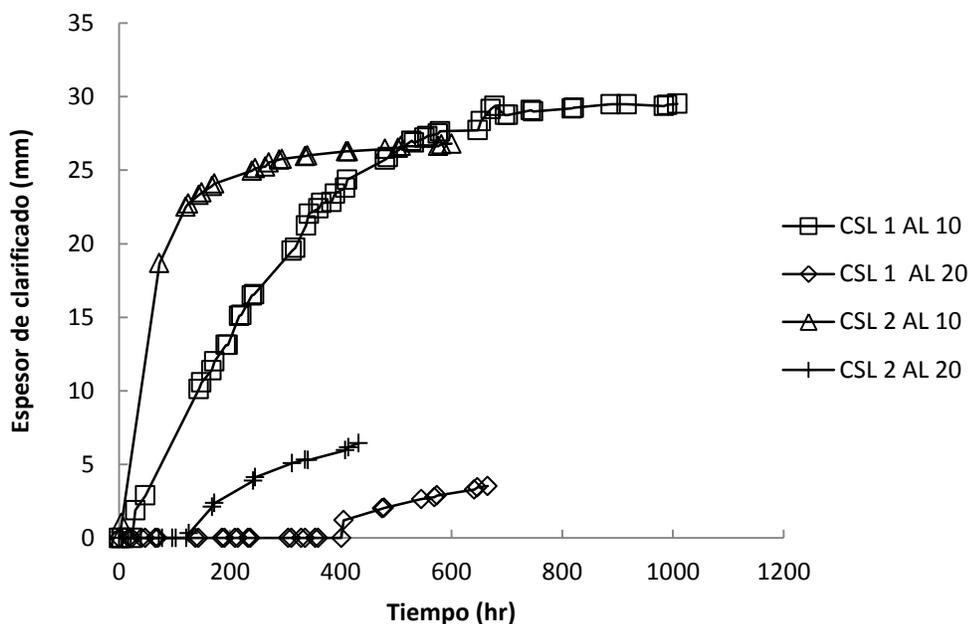


### *Delta retrodispersión CSL 2%-AL 20%*



**Figura 3.28 - Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CSL 2%-AL 20%**

La Figura 3.29, presenta un comparativo de las cinéticas de desestabilización para las emulsiones de CSL-AL a sus diferentes concentraciones, mostrándose la desestabilización de los sistemas, con base en el aumento del espesor de clarificado de la zona 1, en función del tiempo.



**Figura 3.29 - Cinéticas de desestabilización en zona 1 para emulsiones de CSL 1%, 2%-AL 10% y 20%**

Las emulsiones de CSL 1%-AL 20%, presentaron el mayor tiempo estabilidad antes de comenzar el clarificado y el menor espesor del mismo, en comparación con las emulsiones restantes. Las de CSL 2%-AL 20%, también presentaron un tiempo importante de estabilidad con un espesor de clarificado por arriba del obtenido en las emulsiones de CSL 1%-AL 20%. Con base a estos resultados, se consideró que el almidón lipofílico al 20% coadyuvó de manera importante a la estabilidad de dichos sistemas. Para emulsiones de CSL 1%-AL 10% y CSL 2%-AL 10%, el clarificado se presentó en un tiempo corto en comparación con las mencionadas anteriormente. Las de CSL 2%-AL 10%, presentaron una mayor rapidez de desestabilización, en relación con las emulsiones de CSL 1%-AL 10%. Finalmente, éstas últimas mostraron un mayor espesor de clarificado, cuando la desestabilización del sistema tendió a ser constante.

El Cuadro 3.13, presenta los resultados de tiempo inicial de desestabilización (T.I) y espesor de clarificado (E.C.) para las mismas emulsiones de CSL-AL a sus diferentes concentraciones. Cabe mencionar que los valores de E.C., fueron tomados al tiempo de 432.3 horas, tiempo de referencia correspondiente al lapso de prueba con menor duración en las emulsiones presentadas. Para este caso, correspondió a las emulsiones de CSL 2%-AL 20%. Lo anterior fue debido a que no todos los sistemas alcanzaron el mismo tiempo total de escaneo con base al orden de su preparación. Estos datos representan los fenómenos de inestabilidad mostrados en los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz, así como en las cinéticas de desestabilización de cada emulsión.

**Cuadro 3.13 - Tiempos de desestabilización y espesor de clarificado para emulsiones de CSL 1%, 2%-AL 10%, 20% al tiempo de 432.3 horas**

<b>Emulsión</b>	<b>T.I. (hr)</b>	<b>E.C. (mm)</b>
CSL 1%-AL 10%	23:12	24.4
CSL 1%-AL 20%	400:46	2
CSL 2%-AL 10%	4:15	26.3
CSL 2%-AL 20%	121:38	6.4

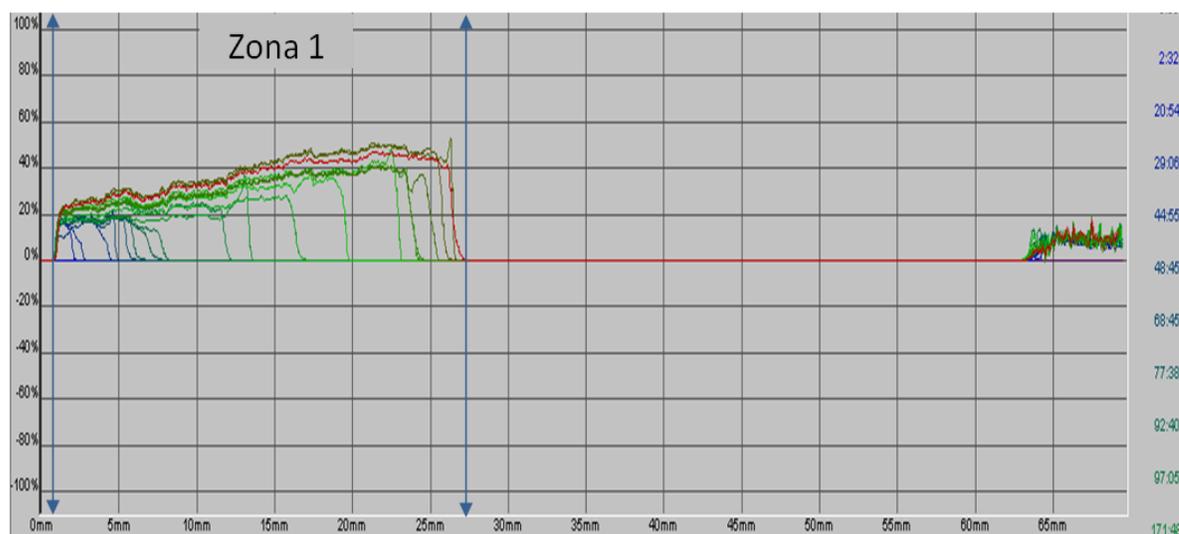
Como se analizó en la Figura 3.29, correspondiente a las cinéticas de desestabilización, el Cuadro 3.13, muestra que las emulsiones de CSL 1%-AL 20%, presentaron el mayor tiempo de estabilidad antes de iniciarse el clarificado (T.I.), así como el menor espesor de clarificado (E.C), en comparación con el resto de las emulsiones. Las de CSL 2%-AL 20%, también presentaron un tiempo importante de estabilidad y se consideraron como las emulsiones más estables, seguidas de las de CSL 1%-AL 20%.

Por su parte, las emulsiones de CSL 2%-AL 10%, resultaron ser las más inestables de su conjunto, con el mayor espesor de clarificado y el menor tiempo de estabilidad. Las de CSL 1%-AL 10%, también se consideraron como sistemas inestables respecto al tiempo.

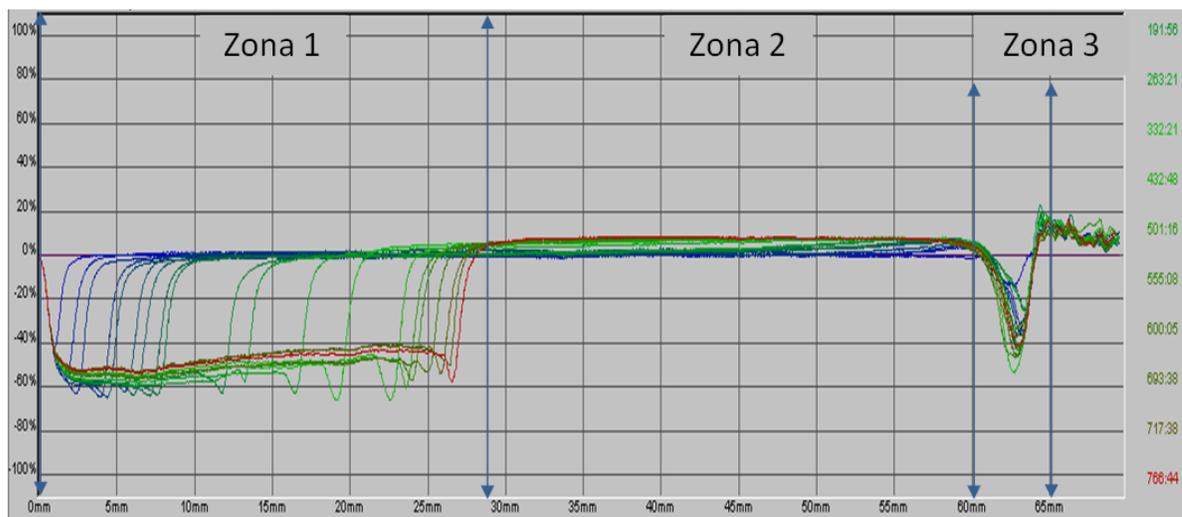
### 3.8.3 - Emulsiones de caseinato de sodio (CS) al 1% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%

Para emulsiones de caseinato de sodio al 1% y almidón lipofílico al 10%, la Figura 3.30, presenta los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz en referencia cero, mediante los cuales se observó un clarificado en la zona baja del tubo (zona 1), cuyo espesor incrementó en función del tiempo. En retrodispersión, zona 2, se observaron fenómenos de cambio en el tamaño de gota, al no incidir las rectas de escaneo sobre la línea de referencia cero, estos fenómenos pudieron estar relacionados con procesos de floculación. Finalmente, un segundo clarificado en la zona 3 del perfil en retrodispersión, se observó debido a la misma desestabilización del sistema.

*Delta transmisión CS 1%-AL 10%*



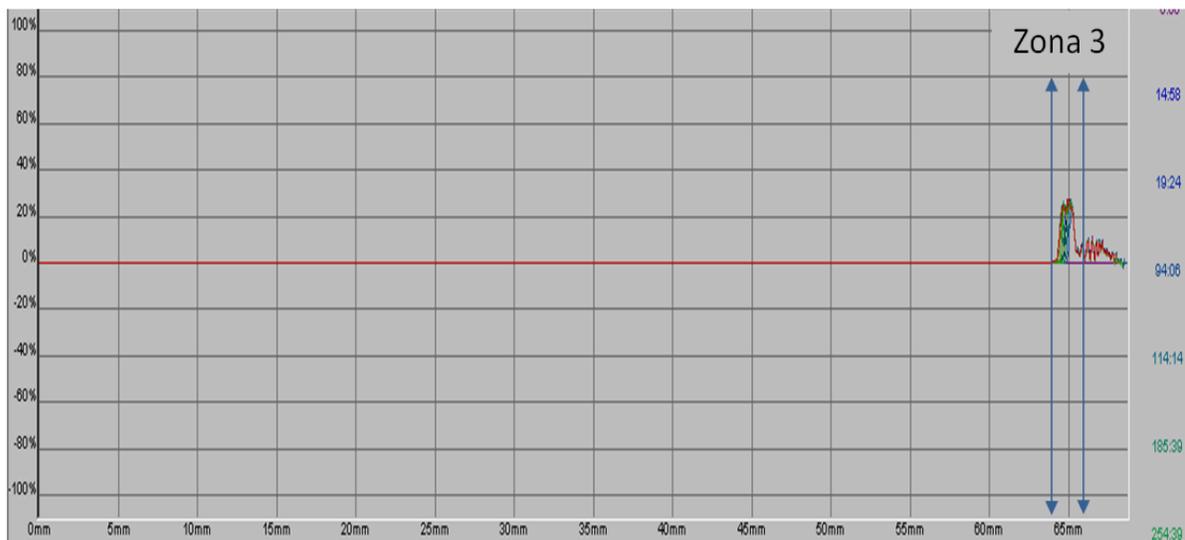
### *Delta retrodispersión CS 1%-AL 10%*



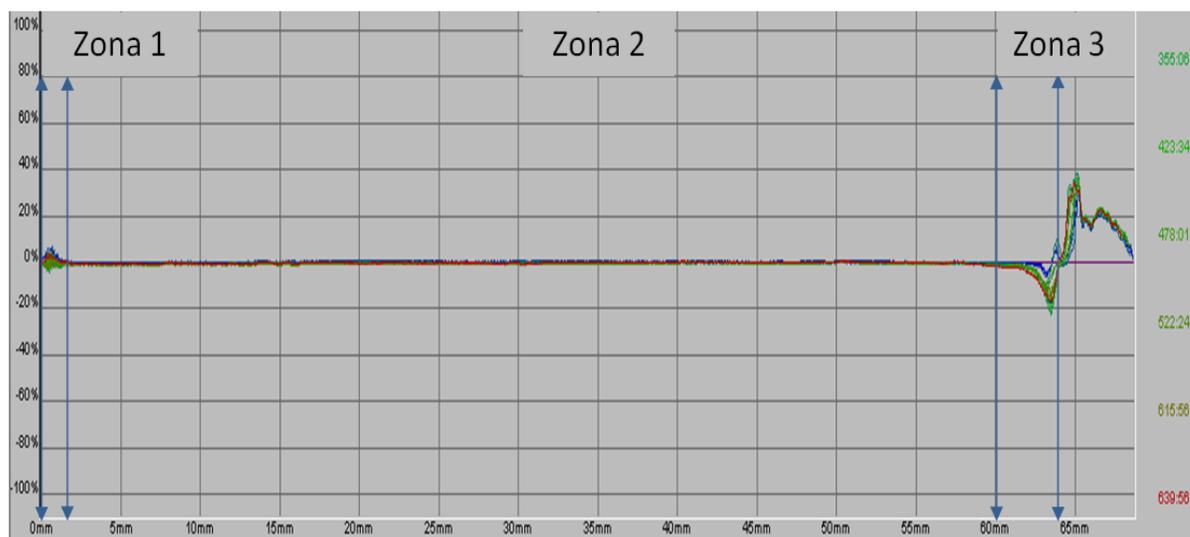
**Figura 3.30 - Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CS 1%-AL 10%**

Para emulsiones de CS 1%-AL 20%, la Figura 3.31, muestra los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz en referencia cero, presentando fenómenos mínimos de desestabilización, como a continuación se muestra.

### *Delta transmisión CS 1%-AL 20%*



### *Delta retrodispersión CS 1%-AL 20%*



**Figura 3.31 - Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CS 1%-AL 20%**

En transmisión, sólo se observó un clarificado en zona 3, sin presencia de otros fenómenos importantes, sin embargo, en retrodispersión, un pico en plano positivo, apenas visible, supuso la presencia de un probable sedimento en la zona baja (zona 1) del tubo que contenía la emulsión. Esto pudo ser el inicio de un proceso de desestabilización del sistema, sin embargo, tras 640 horas después de su elaboración, dichos fenómenos no parecieron incrementar de manera importante.

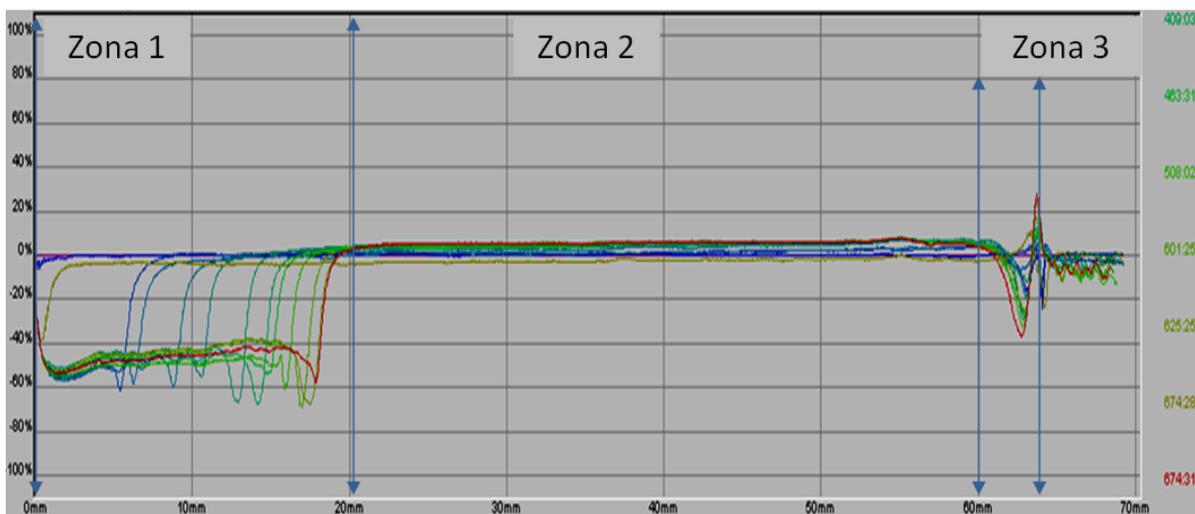
#### **3.8.4 - Emulsiones de caseinato de sodio (CS) al 2% con almidón lipofílico (AL) al 10% y 20%.**

Para emulsiones de CS 2%-AL 10%, la Figura 3.32, muestra los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz en referencia cero, observándose una separación de fases, delimitadas en diferentes zonas de acuerdo a la longitud del tubo que contenía la emulsión.

### *Delta transmisión CS 2%-AL 10%*



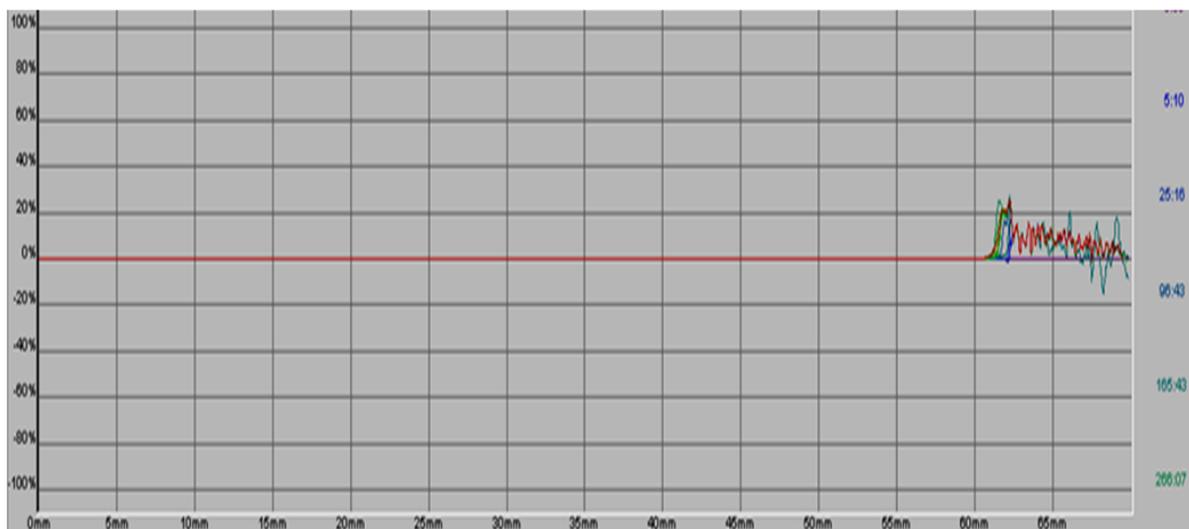
### *Delta retrodispersión CS 2%-AL 10%*



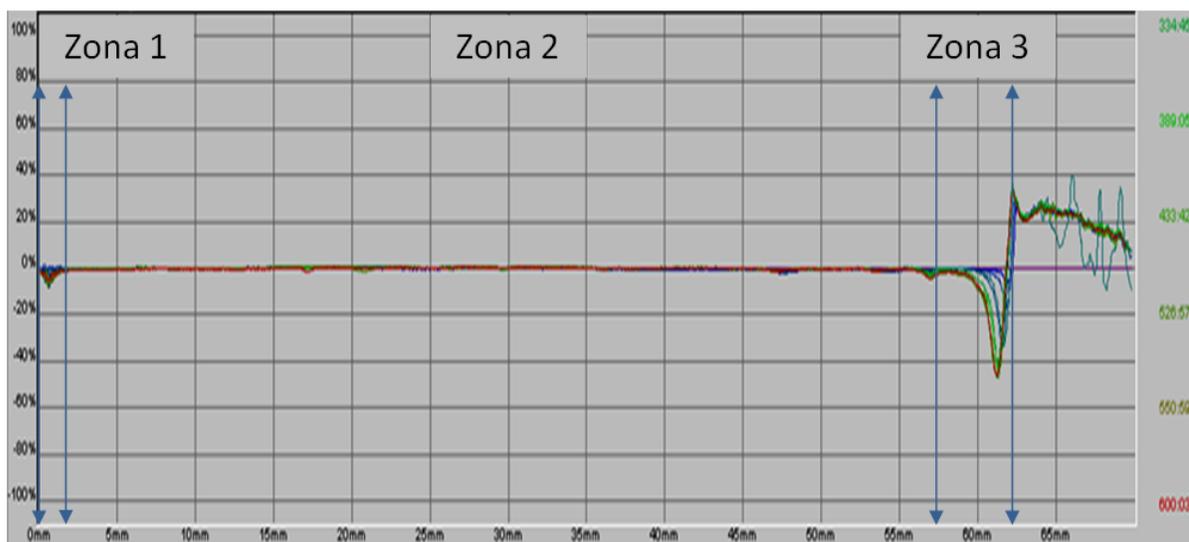
**Figura 3.32 - Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CS 2%-AL 10%**

Por su parte, la Figura 3.33, presenta los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz en referencia cero para emulsiones de CS 2%-AL 20%, mostrándose, al igual que para emulsiones de CS 1%-AL 20%, fenómenos de desestabilización mínimos en comparación con otros casos analizados.

### *Delta transmisión CS 2%-AL 20%*



### *Delta retrodispersión CS 2%-AL 20%*

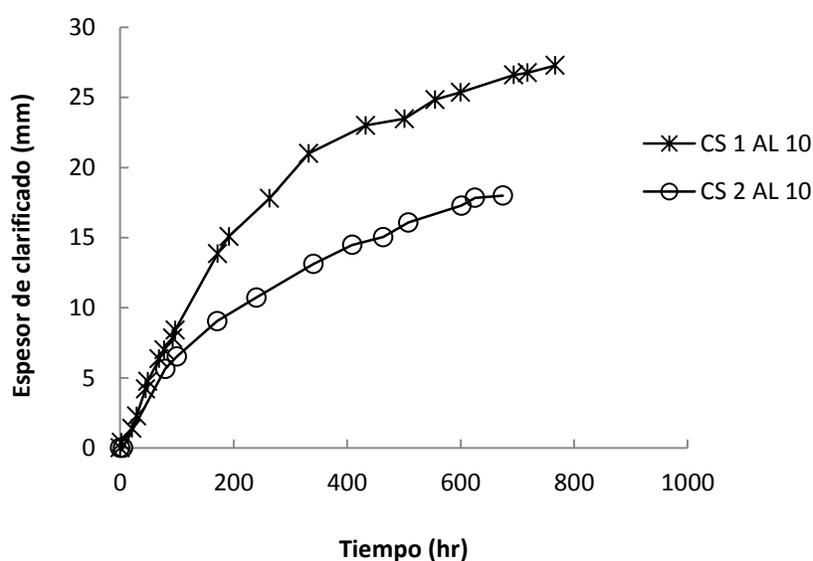


**Figura 3.33 - Perfil transmisión y retrodispersión de luz para emulsiones de CS 2%-AL 20%**

En el perfil de retrodispersión, fueron más claros algunos fenómenos de desestabilización respecto al tiempo, al presentarse un pequeño pico en plano negativo, probablemente como un indicio de un proceso inicial de separación.

Este posible proceso de desestabilización también se reflejó por la presencia de un segundo clarificado en zona 3 del tubo, sin embargo, hasta un tiempo de 600 horas después de su preparación, no se observaron fenómenos de cambio en el tamaño de gota. En comparación con las emulsiones de CS 1%, 2%-AL 10%, se consideraron emulsiones estables respecto al tiempo.

La Figura 3.34, presenta un comparativo de las cinéticas de desestabilización para las emulsiones de CS 1%-AL 10% y CS 2%-AL 10%, las cuales resultaron ser las más inestables de su conjunto respecto al tiempo.



**Figura 3.34 - Cinéticas de desestabilización en zona 1 para emulsiones de CS 1%, 2%-AL 10%**

Tomando un tiempo de referencia 674.5 horas, los sistemas de CS 2%-AL 10%, presentaron un menor espesor de clarificado, en comparación con las emulsiones de CS 1%-AL 10%, resultados corroborados con los datos de tiempo inicial de clarificado (T.I.) y espesor de clarificado (E.C.), presentados en el Cuadro 3.14.

El tiempo inicial de desestabilización para las emulsiones de CS 2%-AL 10% comenzó después de aproximadamente dos horas, en comparación con las de CS 1%-AL 10%. Los valores de espesor de clarificado a un tiempo de 674.5 horas, mostraron que las emulsiones de CS 2%-AL 10%, presentaron un menor grado de desestabilización, con el menor espesor de clarificado.

**Cuadro 3.14 - Tiempos de desestabilización y espesor de clarificado para emulsiones de CS 1%, 2%-AL 10% al tiempo de 674.5 horas**

<b>Emulsión</b>	<b>T.I. (hr)</b>	<b>E.C. (mm)</b>
CS 1%-AL 10%	2.32	26.6
CS 2%-AL 10%	4.53	18

A pesar de los mínimos fenómenos de desestabilización que presentaron las emulsiones de CS 1%-AL 20% y CS 2%-AL 20%, se consideraron como los sistemas de mayor estabilidad respecto al tiempo, en comparación con las emulsiones de su conjunto y con las de CSL-AL a sus diferentes concentraciones.

Como se analizó en el apartado de distribución y tamaño de partícula, las mezclas de CS 1%-AL 20% presentaron partículas con tamaños relativamente menores en comparación con el resto de las mezclas de CS-AL y con las de CSL-AL a sus diferentes concentraciones. Esto probablemente, coadyuvó a que dichas mezclas presentaran mayores valores de viscosidad por efecto de las interacciones partícula-partícula, lo que permitió que al formarse las emulsiones, las gotas de aceite presentaran una mayor estabilidad ante los fenómenos de floculación y coalescencia.

Para ambos tipos de emulsiones (CS 1%-AL 20% y CS 2%-AL 20%), la presencia de almidón lipofílico al 20%, le confirió estabilidad a las gotas de aceite, debido a la viscosidad proporcionada por la concentración empleada del polisacárido.

En términos de actividad superficial, las mezclas de CS-AL, redujeron la tensión superficial de manera inmediata, una vez adsorbidos los biopolímeros en la interfase aceite-agua, lo que también contribuyó probablemente al efecto positivo de la estabilización de dichas emulsiones.

## **CONCLUSIONES**

Las mezclas acuosas de concentrado de suero lácteo-almidón lipofílico (CSL-AL), presentaron distribuciones y tamaños de partícula semejantes tras aplicar un proceso de ultrasonido, por lo que probablemente, el uso de las diferentes concentraciones de biopolímeros, no generó un efecto diferenciable sobre dicha propiedad. En general, estos sistemas se caracterizaron por ser polidispersos, presentando distribuciones de tipo bimodal y multimodal. Para el caso de mezclas de caseinato de sodio-almidón lipofílico (CS-AL), después de aplicar ultrasonido, se presentaron tamaños de partícula menores en comparación con las de CSL-AL, a excepción de las mezclas de CS 2%-AL 20%. Al aplicar ultrasonido en ambos tipos de mezclas, se observó una reducción en el tamaño de partícula por disgregación de aglomerados, mostrándose distribuciones más homogéneas.

En términos de actividad superficial, las mezclas acuosas de CS 1%-AL 10% y CS 2%-AL 10%, lograron reducir la tensión superficial con mayor rapidez en comparación con las mezclas de CSL-AL a las mismas concentraciones. El efecto sobre dicha reducción se presentó como una competencia entre ambos biopolímeros por la interfase, tal y como lo mostraron las cinéticas de adsorción. Para el caso de mezclas de CSL-AL a sus diferentes concentraciones, el mayor efecto sobre la reducción de la tensión superficial se atribuyó a los sistemas de CSL al 1% y 2%. Dichas mezclas lograron reducir en mayor medida la tensión superficial en comparación con las de CS-AL, en función al tiempo.

Las mezclas acuosas de CSL-AL y CS-AL se ajustaron a un modelo de la potencia, presentando estas últimas, mayores valores de índice de consistencia, probablemente debido a su menor tamaño de partícula, lo que generó un incremento en las interacciones partícula-partícula, aumentando el valor de la viscosidad. Estas mismas mezclas de CS-AL, presentaron mayores características adelgazantes a la cizalla, en comparación con las de CSL-AL.

Se elaboraron emulsiones aceite en agua, en una relación 30/70 (v/v) ajustándolas a un modelo de Herschel-Bulkley, a excepción de las emulsiones de CSL 1%-AL 10%, las cuales fueron ajustadas al modelo de Carreau-Gahleitner. Dentro de los sistemas ajustados al modelo de Herschel-Bulkley, aquéllos compuestos de CSL-AL, no presentaron dependencia con el tiempo de cizallamiento y los valores de índice de consistencia estuvieron por debajo de los obtenidos en emulsiones de CS-AL. Este mismo comportamiento se presentó en las mezclas acuosas y correspondió a lo que se ha reportado con base a la relación que puede guardar la viscosidad de la fase continua con la de emulsiones. Cabe mencionar que las emulsiones de CS 1%-AL 20% y CS 2%-AL 20% fueron las únicas en presentar dependencia con el tiempo de cizallamiento.

La mayor estabilidad en función del tiempo, la presentaron las ya mencionadas emulsiones de CS 1%-AL 20% y CS 2%-AL 20%, de acuerdo a los perfiles de transmisión y retrodispersión de luz, así como a las cinéticas de desestabilización.

Estas emulsiones de CS 1%-AL 20% y CS 2%-AL 20%, presentaron mayores tamaños de gota en comparación con las de CSL-AL a las mismas concentraciones, sin embargo, se atribuyó que el efecto de posibles interacciones estéricas o electrostáticas entre el caseinato de sodio con el almidón lipofílico, coadyuvó a la estabilización de las gotas de aceite en la emulsión, además que las mezclas acuosas de CS-AL presentaron mayor viscosidad en relación con las de concentrado de suero lácteo, evitando posibles fenómenos de floculación y coalescencia en las gotas de aceite de la emulsión.

## REFERENCIAS

- Aranberri, I.B.P., Binks, J.H., Clint, P.D.I. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. *Revista Iberoamericana de polímeros*, 7(3), 211-231.
- Badui, D.S. (2006). *Química de los alimentos*. 4ª ed. Pearson Education. México.
- Barnes, H.A. (1994). *Rheology of Emulsions. Colloid and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 91, 89-95.
- Belitz, H.D., Grosch, W. (1992). *Química de los alimentos*. 4ª ed., Springer, Berlín, Alemania.
- Bello, G.J. (2000). *Ciencia Bromatológica. Principios generales de los alimentos*. Diaz de Santos, Madrid, España.
- Beristain, F. (2012). *Guía rápida de operación granulómetro CILAS 930. Laboratorio de propiedades reológicas y funcionales en alimentos (LAPRYFAL) FESC, UNAM*.
- Beverung, C.J., Radke, C.J., Blanch, H.W. (1999). Protein adsorption at oil / water interface: characterization of adsorption kinetics by dynamic interfacial tension measurements. *Biophysical Chemistry*, 81, 59-80.
- Bolaños-Reynoso, E., Moncada-Abaunza, D.A., Rodríguez-Cervantes, O.A., Quintana-Hernández, P.A. (2001). Análisis del efecto de agitación en un analizador de tamaño de partícula. *Información tecnológica*, 12(6), 134-137.
- Braun, B.D., Rosen, M.Y. (2000). *Rheology Modifiers Handbook*. William Andrew Publishing, New York, E.U.

- Campanella, O.H., Doward N.M., Singh H. (1994). A study of rheological properties of concentrated food emulsions. *Journal of Food Engineering*, 25, 427-440.
- Casanova, Y., Herley F., Cardona, T., Sara, C. (2004). Emulsiones O/W estabilizadas con caseinato de sodio: efecto de los iones calcio, concentración de proteína, y temperatura. *Vitae, Redalyc*, 11, 13-19.
- Celis, M.T., Manchego, L., Contreras, M., Vejar, F., Márquez, L., Briceño, M., Salager, J. (2008). Efecto del polímero carboximetil celulosa de sodio sobre la inversión de emulsiones. *Ciencia e Ingeniería*, 29, 115-122.
- Charalambous, G. (1990). Protein adsorption and protein-lipid interaction at the air-aqueous solution interface. *Journal of Food Engineering*, 103, 91-103.
- Chhabra, R.P., Richardson, J.F. (1999). *Non-newtonian flow in the process industries-Fundamentals and Engineering Applications*. Butterworth-Heinemann, Massachusetts, E.U.
- Coulltate, T.P. (1998). *Manual de Química y Bioquímica de los Alimentos*. 3ª ed., Acribia. Zaragoza, España.
- Coupland, J.N., McClements D.J. (2001). Droplet size distribution in food emulsions: comparison of ultrasonic and light scattering methods. *Journal of Food Engineering*, 50, 117-120.
- De Kruif, C.G., Holt, C. (2003). Casein micelle structure, functions and interactions. En: *Advanced dairy chemistry. Proteins*. (Fox, P.F., McSweeney P.L.H. ed.) 233-276. Kluwer Academic, New York, E.U.
- De Kruif, C.G., Tuinier, R. (2001). Polysaccharide protein interactions. *Food Hydrocolloids*, 15, 555-563.

- Delgado-Reyes, V. (2012*a*). Guía rápida de operación Densímetro (DA-110M). Laboratorio de propiedades reológicas y funcionales en alimentos (LAPRYFAL) FESC, UNAM.
- Delgado-Reyes, V. (2012*b*). Guía rápida de operación Termobalanza (MB45). Laboratorio de propiedades reológicas y funcionales en alimentos (LAPRYFAL) FESC, UNAM.
- Diaz, C.J., Becerra, O.L. (2008). Tensión superficial, importancia en las mediciones en la metrología de densidad con un valor de incertidumbre aceptable. Centro Nacional de Metrología, Querétaro, México.
- Dickinson, E. (1992). An Introduction to Food Colloids. Oxford University, Oxford. E.U. Dekker, Inc. New York. E.U.
- Dickinson, E. (1994). Protein-stabilized emulsions. *Journal of Food Engineering*, 59-74.
- Dickinson, E. (1998). Rheology of emulsions-The relationship to structure and stability. En: *Modern Aspects of Emulsion Science*. (Binks, P.B.ed.). 146-170. Royal Society of Chemistry, Cambridge, R.U.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25-39.
- Dickinson, E., Stansby, G., (1988). *Advances in Food Emulsions and Foams*. Elsevier Applied Science, London, New York. E.U.
- Dybowska, E.B. (2008). Properties of milk protein concentrate stabilized oil-in-water emulsions. *Journal of Food Engineering*, 88, 507-513.
- Dybowska, E.B. (2011). Whey protein-stabilized emulsion properties in relation to thermal modification of the continuous phase. *Journal of Food Engineering*, 104, 81-88.
- Fennema, O.R., (2000). *Química de los Alimentos*. 2<sup>a</sup> ed., Acribia. España.

- Fernández, S.J.M. (2005). Hidratos de carbono y su aprovechamiento. *Ampliación de tecnología de los alimentos*, 1-38.
- 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.
- Freiberg, S.E., Larsson, K. (2000). *Food Emulsion*. MerceL Dekker, Inc. New York., E.U.
- Garzón, S.M de L. (2006). Almidón retrogradado para uso en compresión directa/Caracterización y pregelatinización del almidón de chayote. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(1), 18-28.
- Gaspoz, J. (2008). Diseño de biomateriales por coacervación de proteínas de suero lácteo y alginato de sodio: efecto del pH y fuerza iónica. Instituto de tecnología de alimentos.
- GEA Filtration. (2012). Empresa de sistemas de filtración por membranas de flujo cruzado y membranas de reemplazo. Wisconsin, E.U.
- Gonzales-Sánchez, J. (2012) Guía rápida de operación Turbiscan MA 2000. Laboratorio de propiedades reológicas y funcionales en alimentos (LAPRYFAL) FESC, UNAM.
- Grinberg, V.Y., Tolstoguzov, V.B. (1997). Thermodynamic incompatibility of proteins and polisaccharides in solutions. *Food Hydrocolloids*, 11, 145-148.
- Guyomarc'h, F., Nono, M., Nicolai, T., Durand, D. (2009). Heat-Induced aggregation of whey proteins in the presence of  $\kappa$ -casein or sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 23, 1103-1110.
- Herceg, Z., Režek, A., Lelas, V., Krešic, G., Franetović., M. (2007). Effect of carbohydrates on the emulsifying, foaming, and freezing properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, 79, 279-286.

- Holdsworth, S.D. (1993). Rheological model used for prediction of the flow properties of food products: a literature review. *Institution of Chemical Engineers* 71. Part C: 139-179.
- Hunter, R.J. (1994). *Foundation of Colloid Science* Oxford University, Oxford. E.U.
- Johnson, B.R. (2006). Los concentrados de proteína de suero y sus aplicaciones en productos bajos en grasa. *Mundo Lácteo y Cárnico*, 24-28.
- Krstonošić, V., Dokić, L., Nicolić, I., Dapčević, T., Hadnadev, M. (2010). Influence of the sodium dodecyl sulphate (SDS) concentration on the disperse and rheological characteristics of oil-in-water emulsions stabilized by octenil succinic anhydride modified starch-SDS starch. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 77, 83-94.
- Larsson, K. (1997). *Food and Science Technology*. Marcel Dekker, Inc. New York. E.U.
- Lissant, K.J. (1990). *Emulsions and emulsion technology*. Surfactant Science Serie. Dekker, New York. E.U.
- López, M., Saron, C., Lerayer, A., Sgarbieri, V. (2000). Use of bovine whey permeate and lactulose as potencial enhancers of the MRS and modified MRS media for the cultivation of species of probiotic bacteria. *Food Technology*, 10, 35-41.
- Lucassen-Reynders, E.H. (1993). *Colloids Surfaces and Food Structure*. Marcel Dekker, New York. E.U.
- Luquet, F.M. (1991). *Leche y productos lácteos*. Acribia, Zaragoza, España.
- Malvern. (2010). *Diez manera de controlar la reología cambiando las propiedades de la partícula (Tamaños, potencia Z y forma)*. Malvern Instruments Limited, R.U.

- Marinova, K.G., Alargova, R.G., Denkov, N.D., Velev, O.D., Petsev, D.N., Ivanov, I.B., Borwankar, R.P. (2009). Charging of oil-water interfaces due spontaneous adsorption of hydroxyl ions. *Langmuir*, 12, 2045-2051.
- Martínez-Padilla, L.P. (2012). Guía rápida de operación reómetro MCR 301. Laboratorio de propiedades reológicas y funcionales en alimentos (LAPRYFAL) FESC, UNAM.
- McClements, D.J. (1999). *Food Emulsion: Principles, Practice ad Techniques*. CRC Press. Florida. E.U.
- McClements, D.J. (2004). *Food emulsions. Principles, practices and the techniques*. Press, New York. E.U.
- Meza, B.E., Verdini, R.A., Rubiolo, A.C. (2009). Viscoelastic behaviour of heat-treated whey protein concentrate suspensions. *Food Hydrocolloids*, 23, 661-666.
- Muñoz, J., Alfaro, M.C., Zapata, I. (2007). Avances en la formulación de emulsiones. *Revista Grasas y Aceites*, 58 (1), 64-73.
- Murúa, P., Beristain-Guevara, B., Martínez-Bustos, F. (2008). Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 91, 380-386.
- Nicorescu, I. C. Loisel, Riaublanc A., Vial C., Djelveh G., Cuvelier G., Legrand J. (2008). Effect of dynamic heat treatment on the physical properties of whey proteins foams. *Food Hydrocolloids*, 23(4), 1209-1219.
- Nilsson, I., Bergenståhl, B. (2006). Adsorption of hydrophobically modified starch at oil/water interfaces during emulsification. *Langmuir*, 22, 8770-8776.

- Parra, R. (2009). Lactosuero: Importancia en la industria de alimentos. *Revista de la Facultad Nacional Agraria* 62(1), 4967-4982
- Peretó, J., Sendra, R., Pamblanco, M., Bañó, C. (1996). *Fundamentos de bioquímica*. Universidad de Valencia, Valencia, España.
- Perrechil, F.A., Cunha, R.L. (2010). Oil – in – water emulsions estabilized by sodium caseinate: Influence of pH, high pressure homogenization and locus bean gum addition. *Journal of Food Engineering*, 97, 441-448.
- Phillips, L.G., Whitehead, D.M., Kinsella, J.E. (1994). *Structure-function properties of food proteins*. Academic Press, Inc. California, E.U.
- Piirma, I. (1992). *Polymeric Surfactants*. Marcel Dekker, New York. E.U.
- Pongsawatmanit, R., Harnsilawat, T., McClements D.J. (2006). Influence of alginate, pH and ultrasound treatment on palm oil-in-water emulsions stabilized by beta-lactoglobulin. *Colloids and Surfaces. A Physicochemical and Engineering Aspects*, 287, 59- 67.
- Powrie W.D., Tung, M.A. (1992). *Food Dispersions. Principles of Food Science, Food Chemistry*. Marcel Dekker, New York. E.U.
- Quintana, J.M., Califano, A.N., Zaritzky, N.E., Partal, P. (2002). Effect of salt on the rheological properties of low-in-fat O/W emulsions stabilized with polysaccharides. *Food Science and Technology International*, 8(4), 213-221.
- Ramírez, M., Bullón, J., Andérez, J., Mira, I., Salager, J.L. (2002). Drop size distribution bimodality and its effect on O/W emulsion viscosity. *Journal Dispersion Science Technology*, 23, 309-321.
- Salager J.L. (1988). In *Encyclopedic of Emulsion Technology*, Marcel Dekker, New York, E.U.

- Salager, J.L. (2000). Emulsion properties and related know-how to attain them. *Pharmaceutical Emulsions and Suspensions*. Marcel Dekker, New York, E.U.
- Sandoval-Ruiz, A. (2012). Guía rápida de operación potenciómetro (pH 120). Laboratorio de propiedades reológicas y funcionales en alimentos (LAPRYFAL) FESC, UNAM.
- Setser, C.S. (1992). Water and food dispersions. In *Food Theory and Applications*. 2<sup>a</sup> ed., McMillan Publishing Company, E.U.
- Sherman, P. (1983). Rheological Properties of Emulsions. *Encyclopedia of Emulsions*. Marcel Dekker, New York, E.U.
- Shogren, R.L., Viswanathan, A., Felker, F., Gross, R.A. (2000). Distribution of octenyl succinate groups in octenyl succinic anhydride modified waxy maize starch. *National Center for Agricultural Utilization Research Service*, 52, 196-204.
- Sliwinski., E.L., Lavrijsen, B.W.M., Vollenbroek, J.M., Van der Stege, H.J., Van Boekel, M.A.J.S., Wouters, J.T.M. (2003). Effects of spray drying on physicochemical properties of milk protein-stabilised emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31, 219-229.
- Sosa-Herrea, M.G. (2012). Guía rápida de operación tensiómetro de gota colgante (PAT1-SINTERFACE). Laboratorio de propiedades reológicas y funcionales en alimentos (LAPRYFAL) FESC, UNAM.
- Sosa-Herrera, M.G., Berli, C.L.A., 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.
- Steffe, F.J. (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering.*, 2<sup>a</sup> ed., Freeman Press. Michigan, E.U.

- Tadros, Th. (2004). Application of rheology for assessment and prediction of the long-term physical stability of emulsions. *Journal of Food Engineering*, 227-258, 108-109.
- Tesch, S., Gerhards, C., Schubert, H. (2002). Stabilization of emulsion by OSA starches. *Journal of Food Engineering*, 54, 167-174.
- Tesch, S., Schubert, H. (2002). Influence of increasing viscosity of the aqueous phase on short-term stability of protein stabilized emulsions. *Journal of Food Engineering*, 52, 305-312.
- Turbiscan MA. (2000). Manual virtual de operación Turbiscan MA 2000. Formulacion, Ramonville-St. Agne, Francia.
- Vega, C. (2006). Sobre las propiedades emulsificantes de las caseínas. *Revista Mundo Lácteo y Cárnico*, 34(2), 14-17.
- Walstra, P. (1999). Caseins sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal*, 9(1), 189-192.
- Wong, D.W.S. (1995). *Química de los alimentos: Mecanismos y teoría*. Acribia, Zaragoza, España.
- Yusoff, A., Murray, B.S. (2011). Modified starch granules as particle-stabilizers of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 25, 42-55.
- .