



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Estabilidad y reología de emulsiones de caseinato  
de sodio en mezcla con glucomanano de konjac

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

MARCELA OSNAYA BECERRIL

ASESORAS:

DRA. LAURA PATRICIA MARTÍNEZ PADILLA

DRA. MA. GUADALUPE SOSA HERRERA

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO 2019



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**



**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: I.A LAURA MARGARIA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Tesis y Examen Profesional**

**Estabilidad y reología de emulsiones de caseinato de sodio en mezcla con glucomanano de konjac.**

Que presenta la pasante: **Marcela Osnaya Becerril**

Con número de cuenta: **411090315** para obtener el Título de la carrera: **Ingeniería 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 HABLARÁ EL ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de Febrero de 2018.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Laura Patricia Martínez Padilla	
<b>VOCAL</b>	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Virginia Agustina Delgado Reyes	
<b>1er. SUPLENTE</b>	I.A. Verónica Romero Arreola	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Dr. Martín Ramón Porras Godínez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

## AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

El éxito requiere retos, obstáculos y derrotas ocasionales para que cuando consigas el objetivo pueda convertirse en un éxito glorioso.

*A mis padres Marcela Becerril y Francisco Javier Osnaya por su apoyo incondicional, por brindarme la fuerza de seguir adelante, por su gran corazón y capacidad de entrega.*

*A mis hermanos Ivonne, Susana, Javier por facilitar este proceso con su apoyo y amor, a Mónica mi estrella, mi guía hacia el camino correcto.*

*A mis asesoras Laura Patricia Martinez y Guadalupe Sosa por su paciencia, tiempo y dedicación.*

*Y, por último, pero no menos importante a Adolfo Santos por haber caminado junto a mí, por estar siempre cuando más lo necesite, sin ti no hubiera llegado hasta donde estoy.*

<b><u>Índice</u></b>	<b>Página</b>
Resumen	1
Introducción	2
Capítulo I. Antecedentes	
1.1 Emulsiones	5
1.2 Estabilidad de emulsiones	9
1.3 Factores que afectan la estabilidad	14
1.4 Reología de emulsiones	16
1.4.1 Factores que afectan la reología de emulsiones	20
1.5 Hidrocoloides en emulsiones	23
1.5.1 Caseinato de sodio	23
1.5.1.1 Propiedades funcionales	26
1.5.2 Glucomanano de konjac	28
1.5.2.1 Propiedades funcionales	29
Capítulo II. Metodología de la investigación	
2.1 Objetivos	38
2.2 Materiales y Métodos	38
2.2.1 Materiales	38
2.2.2 Preparación de los sistemas acuosos	39
2.2.3. Elaboración de emulsiones	40
2.2.4 Métodos	41
2.2.4.1. Determinación de pH	41
2.2.4.2. Distribución y tamaño de partícula	41
2.2.4.3. Propiedades reológicas	43
2.2.4.3.1. Pruebas oscilatorias	43
2.2.4.3.2. Pruebas rotacionales	44
2.2.4.3.3 Estabilidad	45
2.2.5 Análisis estadístico	46

Capítulo III. Resultados y discusión	47
3.1.1 pH	47
3.1.2. Distribución y tamaño de partícula	48
3.1.3. Propiedades reológicas	57
3.1.3.1 Propiedades viscoelásticas	57
3.1.3.2. Propiedades de flujo	69
3.1.4 Estabilidad	80
Conclusiones	87
Referencias	89

## **Índice de cuadros**

1.1	Influencia de diferentes parámetros sobre el mecanismo de gelificación del glucomanano de konjac.	33
1.2	Velocidad y tiempo de agitación para disoluciones de glucomano de konjac a diferentes concentraciones.	39
3.1	pH de sistemas acuosos y emulsiones de glucomanano de konjac (GMK) solo y en mezcla con caseinato de sodio (NaCas) a 25 °C.	48
3.2	Modas de sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas 1%.	51
3.3	Modas de emulsiones sin ultrasonido y con ultrasonido de GKM en presencia y ausencia de NaCas 1%.	55
3.4	Tiempo característico de sistemas acuosos homogeneizados y sin homogeneizar de mezclas de GMK y NaCas 1%.	63
3.5	Parámetros a, b, c y d de sistemas acuosos homogeneizados de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1%, sistemas acuosos sin homogeneizar y emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%.	69
3.6	Esfuerzo de cedencia de emulsiones de GMK a diferentes concentraciones y NaCas 1%	75
3.7	Parámetros reológicos de sistemas acuosos homogeneizados y sin homogeneizar de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1% y emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%.	79
3.8	Tiempo de inicio del proceso de inestabilidad de clarificado de emulsiones de GMK solo y en mezcla con NaCas 1%	85
3.9	Parámetros de cinéticas lineales (a, m) y sigmoidales (a, b, c) de emulsiones de GMK solo y en mezcla con NaCas 1%, en el clarificado.	86

## **Índice de figuras**

1.1	Procesos importantes durante la formación de la emulsión. Los límites de las gotas se indican con líneas delgadas y el emulsificante con trazos gruesos y puntos.	9
1.2	Procesos de inestabilidad de emulsiones.	11
1.3	Comportamiento viscoelástico de emulsiones.	17
1.4	Relación de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de las gotas de una emulsión.	18
1.5	Viscosidad en función de la velocidad de cizalla comparando la morfología de los flóculos de una emulsión.	19
1.6	Subunidad de micela de caseína.	25
1.7	Estructura química del glucomanano de konjac.	29
1.8	Efecto de la adición de álcalis sobre la cadena molecular del GMK	30
1.9	Mecanismo de gelificación del glucomanano de konjac.	32
3.1	Distribución de tamaño de partícula de mezclas de GMK y NaCas en medio acuoso.	49
3.2	Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas 1%.	50
3.3	Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido de emulsiones de GMK y NaCas.	53
3.4	Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido de emulsiones de GMK y NaCas.	53
3.5	Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas 1%.	54
3.6	Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas 1%.	54
3.7	Barrido de deformación que delimita la zona viscoelástica lineal de GMK a diferentes concentraciones.	58



3.8	Módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de sistemas acuosos de GMK a diferentes concentraciones.	59
3.9	Módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de mezclas de GMK a diferentes concentraciones y NaCas en fase acuosa.	61
3.10	Módulos ( $G'$ ) y ( $G''$ ) en función de la frecuencia angular de mezclas de GMK a diferentes concentraciones y NaCas en sistemas acuosos homogeneizados.	62
3.11	Módulos ( $G'$ ) y ( $G''$ ) en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de emulsiones de mezclas de GMK a diferentes concentraciones y NaCas.	64
3.12	Módulos ( $G'$ ) y ( $G''$ ) en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de sistemas acuosos sin homogeneizar, homogeneizados y emulsiones (GMK 0.25% y NaCas al 1%).	65
3.13	Módulos ( $G'$ ) y ( $G''$ ) en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados y emulsiones (GMK 1% y NaCas al 1%).	66
3.14	Relación de los módulos $G'$ y $G''$ en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de sistemas acuosos sin homogeneizar, homogeneizados y emulsiones (GMK 0.25%, 1% y NaCas al 1%).	67
3.15	Viscosidad de sistemas acuosos en función de la velocidad de cizalla de GMK a 25°C.	71
3.16	Viscosidad de sistemas acuosos en función de la velocidad de cizalla de mezclas de GMK y NaCas 1% a 25°C.	72
3.17	Viscosidad de sistemas acuosos homogeneizados en función de la velocidad de cizalla de mezclas de GMK y NaCas 1% a 25°C.	73
3.18	Esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla de emulsiones de mezclas GMK y NaCas a 25°C.	74

3.19	Viscosidad de emulsiones en función de la velocidad de cizalla. GMK y NaCas 1% a 25°C.	76
3.20	Viscosidad de sistemas acuosos homogeneizados y sin homogeneizar y emulsiones, en función de la velocidad de cizalla de 0.25% y 1% GMK y NaCas 1% a 25 °C.	77
3.21	Curvas de transmisión y retrodispersión de luz de emulsiones en función de la altura del tubo, a) 0.25% , b) 0.5% y c) 1% GMK solo y emulsión de c) NaCas 1%.	81
3.22	Curvas de transmisión y retrodispersión de luz de emulsiones en función de la altura del tubo, a) 0.25%, b) 0.5% y b)1% GMK con NaCas al 1%.	82
3.23	Cinética de la zona de clarificado de emulsiones de GMK.	84
3.24	Cinética de la zona de clarificado de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%.	84

## Resumen

Se estudiaron sistemas de glucomanano de konjac (GMK) y caseinato de sodio (NaCas) de forma individual y en mezcla, tanto en medio acuoso como en emulsiones aceite en agua con 30% de aceite puro de canola, se modificó la concentración de GMK 0.25%, 0.5%, 0.75% y 1%, y se mantuvo constante el NaCas al 1%. Estas concentraciones fueron seleccionadas con la finalidad de generar alternativas para la aplicación del glucomanano de konjac en emulsiones alimentarias. Se determinó la distribución del tamaño de partícula de los sistemas acuosos y emulsiones, así como la reología empleando cizalla rotacional y cizalla oscilatoria. Adicionalmente se evaluó la estabilidad de las emulsiones. En las disoluciones acuosas de GMK-NaCas se observó un aumento del tamaño de partícula al incrementar la concentración de GMK, mientras que, en la muestra a base de NaCas solo, se obtuvo una sola población de agregados de caseína. En las emulsiones, el tamaño de partícula disminuyó en función de la concentración de GMK y presentando agregados de glóbulos que, al disgregarse por la acción de ultrasonido, mostraron tamaños promedio de 2.57 a 5.17  $\mu\text{m}$ , dependiendo de la concentración de GMK empleado. Los sistemas acuosos de GMK presentaron comportamiento viscoelástico predominantemente fluido, por el contrario, las emulsiones mostraron un predominio del módulo de almacenamiento sobre el de pérdida; en condiciones de flujo, presentaron una viscosidad constante a bajas velocidades de cizalla y un comportamiento fluidificante en altas concentraciones del GMK. Sin embargo, las disoluciones acuosas de GMK presentaron una mayor viscosidad en comparación con las mezclas de GMK y NaCas. Además, las emulsiones desarrollaron mayor viscosidad que los sistemas acuosos correspondientes, en la zona de baja velocidad de cizalla, característica de fluidos estructurados (red tridimensional formada entre los agregados de glóbulos) lo que indica que el caseinato de sodio interfiere en las cadenas de polisacárido. La estabilidad de las emulsiones se incrementó en las mezclas de GMK-NaCas observándose únicamente clarificación después de 29,288 minutos cuando la concentración de GMK fue igual o superior a 0.75%, confirmando la posibilidad de utilizar el GMK como un aditivo en emulsiones con NaCas.

## INTRODUCCIÓN

Los sistemas alimenticios pueden ser dispersiones como espumas, suspensiones, geles o emulsiones (aceite en agua, agua en aceite o múltiples) que son clasificados como coloides alimenticios, los cuales contienen ingredientes funcionales, entre ellos, hidrocoloides y surfactantes que son utilizados para el control de la estabilidad y estructura, modificando la textura y las propiedades reológicas, así como para alargar la vida útil (Dickinson, 2003).

Una clase importante de coloides alimentarios son las emulsiones simples como las de tipo aceite en agua, tales como aderezos para ensaladas, base para helados o refrescos. En este caso las emulsiones son dispersiones de dos líquidos inmiscibles, donde uno de los líquidos se encuentra disperso en pequeños glóbulos dentro del otro (Belitz y Grosh, 1997).

Las emulsiones están constituidas de tres partes, la fase dispersa u oleosa, la fase continua o acuosa y la interfase, cada una de las cuales puede ser altamente compleja, por lo que es importante su estudio de forma individual y globalmente (Dalgheish, 2006). Además, las emulsiones son sistemas inestables que en última instancia evolucionan a la separación de las fases; sin embargo, se pueden convertir en sistemas cinéticamente o termodinámicamente estables (Mc Clements, 1999) debido a la presencia de sustancias anfifílicas que disminuyen la tensión en la interfase (surfactantes) y sustancias espesantes (hidrocoloides) que confieren estabilidad a los glóbulos recién formados, convirtiéndolos en sistemas complejos debido a la interacción de estos ingredientes (Dalgheish, 2006).

Los surfactantes son agentes de superficie activa que están constituidos de una o más zonas que tienen afinidad por la fase polar (hidrofílicas) y una o más zonas que

tienen afinidad por la zona no polar (lipofílicas). En emulsiones, las proteínas suelen ser los agentes de superficie activa de elección. En este sentido, una de las proteínas lácteas que ha sido altamente empleada en la elaboración de emulsiones alimentarias es el caseinato de sodio debido a su solubilidad, naturaleza surfactante, resistencia a alta temperatura y capacidad de retención de agua (Dickinson, 2006., Stewart *et al.*, 2004); está compuesta de cuatro fosfoproteínas ( $\alpha_{S1-}$ ,  $\alpha_{S2-}$ ,  $\beta$ - y  $\kappa$ -caseína), las cuales forman micelas en medio acuoso (Dalglish, 1997).

La estabilidad del caseinato de sodio está asociada con los fenómenos de repulsión electrostática y estérica, así como con la capacidad de formar emulsiones, mediante la adsorción en interfase (Martínez-Padilla *et al.*, 2011), sin embargo, se obtienen emulsiones inestables debido a la floculación, cremado o coalescencia de glóbulos (Stewart *et al.*, 2004).

Por lo anterior, se han adicionado hidrocoloides espesantes como la goma xantana favoreciendo principalmente las interacciones estéricas y electrostáticas entre los glóbulos de aceite, proporcionando mayor estabilidad (Cheryl y Mc Clements, 2014). Esto se debe a que son biopolímeros hidrófilos de alto peso molecular y pueden actuar como estabilizantes de sistemas dispersos debido a que proporcionan un aumento en la viscosidad de la fase continua (Dickinson, 2003).

Uno de los polisacáridos que ha tenido poca aplicación en dispersiones coloidales y en mezcla con caseinato de sodio es el glucomanano de konjac a pesar de ser un polisacárido que proporciona alta viscosidad y beneficios potenciales bioactivos (Cubero *et al.*, 2002), por lo que se busca ampliar su incursión en sistemas alimenticios; está constituido de enlaces glucosídicos  $\beta$ -1-4 de D-manosa y D-glucosa, la cadena principal es lineal y tiene asociados grupos acetilo en unidades de D-glucosa, debido a sus grupos carbonilo e hidroxilo es soluble en agua, esta solubilidad aumenta con la presencia de grupos acetilo ya que inhibe la formación de puentes de hidrógeno (Alonso-Sande *et al.*, 2009).

Considerando que la estabilidad y la microestructura de los sistemas alimenticios no dependen sólo de las propiedades fisicoquímicas de las proteínas y polisacáridos solos, sino también de la naturaleza, fuerza de la interacción entre la proteína y el polisacárido empleados (de Kruif y Tuinier., 2001), y que el GMK es un polisacárido bifuncional poco estudiado como estabilizante de emulsiones, en esta investigación se propone estudiar el efecto del GMK, biopolímero funcional, solo y en mezcla con caseinato de sodio, proteína con superficie activa, sobre los cambios en las propiedades fisicoquímicas y reológicas de sus disoluciones acuosas, a partir de lo cual se podrá delimitar las condiciones bajo las cuales favorecerán la estabilidad de emulsiones, generando alternativas para la aplicación de los mismos en dispersiones alimentarias.

## CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

### 1.1 Emulsiones

Una emulsión es una dispersión de dos líquidos inmiscibles, donde uno de los líquidos se encuentra disperso en pequeñas gotas de 0.1 a 1000  $\mu\text{m}$  de diámetro (Belitz y Grosh, 1997). La sustancia que forma las gotas en una emulsión se le conoce como fase dispersa o interna, mientras que a la sustancia que compone al líquido dispersante es llamada fase continua o externa (Mc Clements, 1999).

Las emulsiones pueden ser clasificadas de acuerdo con la naturaleza de las fases dispersa y continua y al tamaño de partícula. En función a la naturaleza de la fase continua y dispersa, se encuentran las emulsiones aceite en agua, cuyo sistema está constituido por glóbulos de aceite dispersos en una fase acuosa (ej. mayonesa, leche, crema láctea, salsas y sopas tipo crema), las emulsiones agua en aceite las cuales consisten de glóbulos de agua dispersos en una fase oleosa (ej. margarina, mantequilla) (Mc Clements, 1999); y las emulsiones múltiples que son sistemas complejos y polidispersos, ya que en un mismo sistema existen simultáneamente emulsiones aceite en agua y emulsiones agua en aceite, donde los glóbulos en una emulsión múltiple contienen partículas más pequeñas en su interior (Rajesh *et al.*, 2012).

En función al tamaño de partícula se encuentran las nanoemulsiones, microemulsiones, miniemulsiones y macroemulsiones. Tanto las nanoemulsiones como las microemulsiones pueden tener glóbulos de tamaño menores a 0.1  $\mu\text{m}$  pero las microemulsiones son dispersiones termodinámicamente estables, mientras que las nanoemulsiones son dispersiones termodinámicamente inestables, este tipo de dispersión presenta una apariencia gris semitransparente y cuando el diámetro del glóbulo se encuentra por debajo de 0.03  $\mu\text{m}$ , la apariencia de las dispersiones coloidales tiende a ser transparente (Mc Clements, 2012).

Las miniemulsiones tienen un diámetro de aproximadamente 0.1-1  $\mu\text{m}$  con característica óptica azul blanquecina. Las macroemulsiones por su lado, tienen tamaño de partícula de 1  $\mu\text{m}$ -1000  $\mu\text{m}$  con apariencia blanquecina (Cheryl y Mc Clements, 2014; Belitz y Grosch., 1997).

El presente estudio fue enfocado a emulsiones aceite en agua las cuales están constituidas por tres fases, que presentan diferentes propiedades fisicoquímicas, la fase dispersa u oleosa, la fase continua o acuosa y la interfase. Se pueden adicionar diferentes ingredientes a cada una de las fases, su compatibilidad dependerá de la polaridad que existe entre ellos, por lo que las moléculas no polares tienden a ser localizadas en la fase oleosa, moléculas polares en la fase acuosa y moléculas anfifílicas en la interfase (Mc Clements, 1999).

*Dentro de las partes que integran una emulsión se encuentran:*

a) La fase oleosa de una emulsión está constituida por materiales químicos orgánicos, como grasas, aceites vegetales o lípidos naturales modificados químicamente como las grasas hidrogenadas. Estos materiales orgánicos están constituidos principalmente por triglicéridos los cuales aportan a una emulsión compuestos bioactivos lipófilos debido a que son moléculas no polares, entre los ingredientes liposolubles se encuentran las vitaminas antioxidantes, colorantes (carotenos), conservadores, tensoactivos y aceites esenciales (Muñoz *et al.*, 2007).

b) En la fase acuosa se encuentran las moléculas polares y pueden contener una variedad de componentes solubles como minerales, ácidos, bases, conservadores, vitaminas, azúcares, tensoactivos, proteínas y polisacáridos, estos últimos empleados como estabilizantes o espesantes, principalmente. Los estabilizantes, espesantes y/o gelificantes pueden modificar las propiedades de la fase acuosa, esto se debe a que cuando un soluto se introduce en agua pura, las interacciones entre las moléculas del agua son alteradas modificando propiedades como densidad, viscosidad, pH, entre otros, esos cambios dependen de las características del soluto (Mc Clements, 1999).



La acción principal de un polisacárido como espesante o gelificante es modificar la viscosidad de la fase acuosa o formar una red tridimensional y encapsular los glóbulos, disminuyendo la unión de éstos evitando la formación de agregados (Jaideep, 2009).

La formación de una disolución concentrada o formación de un gel en la fase continua se ve influenciada por la concentración de polisacárido y las propiedades del mismo. A concentraciones muy altas, las interacciones entre polímeros son más importantes que las interacciones polímero-disolvente. Es decir, o hay una fuerte competencia por el agua entre macromoléculas cercanas o se produce una estructura basada en entrelazamientos físicos temporales entre las macromoléculas, que ocupan todo el volumen consiguiendo gelificar la fase continua, es decir, no sólo aumenta la viscosidad sino también se manifiestan propiedades viscoelásticas (Muñoz *et al.*, 2007).

Los espesantes y gelificantes contribuyen a la estabilidad de la emulsión favoreciendo principalmente las interacciones estéricas y electrostáticas entre los glóbulos. Como ejemplos de espesantes y gelificantes se encuentran los polímeros sintéticos hidrófilos y polisacáridos como goma xantana, almidones, goma guar, y recientemente el glucomanano de konjac (Muñoz *et al.*, 2007).

c) La interfase es la capa límite que separa la fase acuosa y oleosa, esta capa consiste en una mezcla de tensoactivos, moléculas de aceite y agua con otros componentes que pueden estar presentes como iones minerales, polisacáridos y antioxidantes, esta región sólo ocupa un pequeño volumen de todo el sistema y puede tener influencia en las propiedades fisicoquímicas, reológicas, y de estabilidad (Cheryl y McClements, 2014).

Los tensoactivos son sustancias anfifílicas, es decir, están constituidas de una o más zonas que tienen afinidad por la fase polar (hidrofílicas) y una o más zonas que tienen afinidad por la zona no polar (lipofílicas), pueden ser moléculas de bajo y alto

peso molecular. Los tensoactivos de bajo peso molecular se clasifican en catiónicos, aniónicos y no iónicos de acuerdo con la naturaleza de su porción hidrófila, ya que puede llevar una carga positiva, negativa o no presentar carga, algunos de ellos son monoacilgliceroles, “spans”, “tweens” y fosfolípidos.

Entre los tensoactivos de alto peso molecular se encuentran las macromoléculas como las proteínas que tienden a adsorberse rápidamente en la interfase favoreciendo la formación de glóbulos con un menor consumo de energía y por tanto la formación de la emulsión al reducir la tensión en la interfase, incrementando así, las fuerzas de repulsión y la estabilidad. En las emulsiones alimentarias las proteínas suelen ser los agentes tensoactivos de elección. Una de las proteínas lácteas que ha sido altamente empleada en la elaboración de emulsiones es el caseinato de sodio debido a su propiedad emulsificante.

### **Proceso de elaboración de emulsiones**

Durante la elaboración de emulsiones la fase oleosa y la fase acuosa son sometidas a un proceso de pre-homogeneización el cual consiste en mezclar las dos fases formando una emulsión, posteriormente se requiere de una homogeneización la cual consiste en reducir el tamaño de los glóbulos de una preexistente emulsión. Este proceso emplea un dispositivo mecánico como un homogeneizador. El proceso se puede llevar a cabo empleando agitación mecánica a altas velocidades o utilizando altas presiones, de aproximadamente 200-300 bar (Ye y Singh, 2001). Cuando se emplean velocidades de 2000 rpm se pueden tener diámetros de partícula de 2  $\mu\text{m}$ . Durante el proceso se debe controlar que la temperatura no exceda de 75 °C, para evitar el aumento de tamaño de los glóbulos (Mc Clements, 1999).

En la Figura 1.1 se muestran los procesos que tienen lugar durante la formación de la emulsión. Además de la ruptura de los glóbulos Figura 1.1a, el emulsionante tiene que ser transportado a las nuevas interfaces creadas Figura 1.1b. El emulsionante no es transportado por difusión sino por convección, el transporte es muy rápido, la

intensa turbulencia (o elevado gradiente de velocidad) determina frecuentes colisiones entre glóbulos. Si los glóbulos no están en ese momento suficientemente recubiertos por el tensoactivo, pueden coalescer de nuevo, Figura 1.1d.

Estos procesos tienen sus propias escalas de tiempo que dependen de diversas circunstancias, es decir, todos los procesos ocurren numerosas veces incluso durante un paso a través de la homogenización y alcanzan un estado estacionario en el que la ruptura y coalescencia terminan equilibrándose (Fennema, 2000).

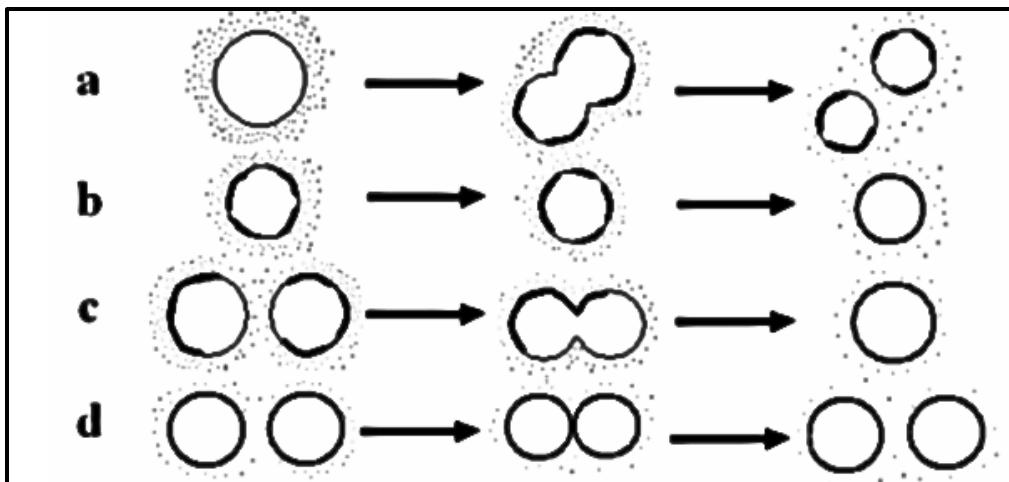


Figura 1.1 Procesos importantes durante la formación de la emulsión. Los límites de las gotas se indican con líneas delgadas y el emulsificante con trazos gruesos y puntos.

## 1.2 Estabilidad de emulsiones

Las emulsiones son sistemas inestables. Es importante distinguir entre la estabilidad cinética y estabilidad termodinámica. Termodinámicamente se dice que se llevará a cabo el proceso de emulsificación, y cinéticamente se refiere a la velocidad a la que se formará la emulsión. La inestabilidad termodinámica se demuestra al agitar aceite y agua puros contenidos en un recipiente. La emulsión ópticamente opaca que se forma inicialmente por agitación, con el tiempo se separa hasta que forma una capa de aceite en la superficie del agua. El origen de esta inestabilidad se debe a un cambio en la energía libre del sistema antes y después de la emulsificación.

El cambio de energía libre asociada con la formación de la emulsión determina si es o no una emulsión termodinámicamente estable, pero no da ninguna indicación de la velocidad a la que las propiedades de una emulsión cambian con el tiempo, el tipo de cambios que se producen, o el mecanismo físico (s) responsable de estos cambios.

La estabilidad cinética de emulsiones sólo puede entenderse con referencia a su naturaleza dinámica. Los glóbulos en una emulsión están en un estado continuo de movimiento y chocan con frecuencia unos con otros, debido a su movimiento browniano, la gravedad, o fuerzas externas aplicadas (Mc Clements, 1999).

### **Procesos de inestabilidad**

Aunque las emulsiones son termodinámicamente inestables muchas de ellas permanecen cinéticamente estables, la escala de tiempo puede variar desde unos pocos segundos a años, lo que implica que la estabilidad es también un concepto relativo. La inestabilidad puede involucrar un número de procesos los cuales toman lugar simultáneamente o consecutivamente, dependiendo de las condiciones. Las principales formas en las cuales una emulsión puede llegar a ser inestable es el cremado, sedimentación, floculación y coalescencia (Binks, 1998).

En la Figura 1.2 se muestra un diagrama ilustrativo de los principales procesos de inestabilidad que pueden observarse en una emulsión. La Figura 1.2a representa el estado metaestable antes de cualquier proceso de inestabilidad. Los glóbulos pueden ser polidispersos y en sistemas reales el movimiento se genera por cambios térmicos en la fase continua (movimiento browniano) (Binks, 1998).

La Figura 1.2b representa a la floculación, la cual es un proceso donde los glóbulos se agregan, sin ruptura de la capa de la interfase, la floculación por lo general conduce a una mayor formación de crema debido a que los flóculos se elevan más rápido que los glóbulos individuales debido a que su tamaño es mayor (Binks, 1998).

La velocidad de floculación se estima a partir del producto de un factor de frecuencia (que tan frecuente los glóbulos se encuentran los unos a los otros) y el factor probabilidad (duración de la estancia en contacto), el primero puede ser determinado bajo flujo de cizalla, mientras que el segundo depende de la energía de interacción. Tres términos se consideran normalmente en el cálculo de la energía de interacción como una función de la distancia entre los glóbulos: atracción de Van der Waals (depende del diámetro del glóbulo) repulsión electrostática (depende principalmente del potencial de superficie del glóbulo, diámetro del glóbulo, fuerza iónica de la fase continua) y repulsión estérica debido a que sobresalen cadenas flexibles (depende de la densidad de superficie y de la longitud de estas cadenas) (Binks, 1998).

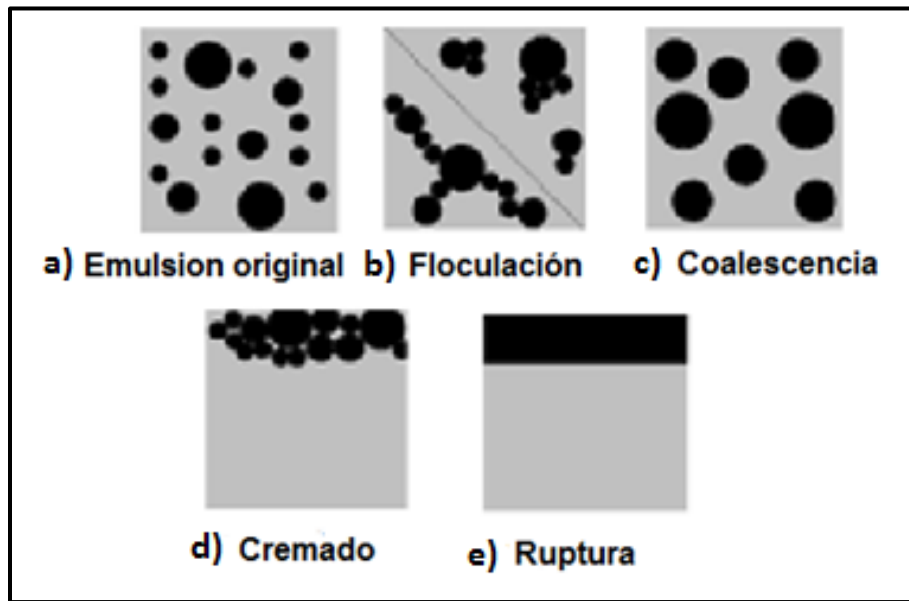


Figura 1.2 Procesos de inestabilidad de emulsiones (Binks, 1998).

Como se observa en la Figura 1.2b la floculación se divide en dos secciones, para mostrar que los glóbulos se pueden condensar en agregados discretos llamados flóculos, o estar conectados en una estructura simple extendida (o red) que llena el espacio. La morfología de los glóbulos depende de un número de factores, incluyendo la concentración de glóbulos, su tamaño y la fuerza de la floculación. En general, la floculación puede ser revertida por el aporte de energía en menor

cantidad que la requerida para dispersar los glóbulos en la emulsión inicial (Binks, 1998).

Las emulsiones pueden ser floculadas por la adición de polímeros. Excluyendo esos casos donde la adición de un polímero afecta directamente las fuerzas de Van der Waals o electrostáticas, el proceso de floculación, inducido por polímero se puede llevar por dos mecanismos; por puenteo o agotamiento.

La floculación por puenteo es la más fácil de visualizar. Esto ocurre cuando la superficie de los glóbulos es atraída por la adición de polímeros ocurriendo adsorción de polímero en la superficie del glóbulo. Cuando el polímero adicionado es insuficiente para cubrir completamente a la superficie del glóbulo, pueden ocurrir encuentros entre gotas orientados de tal manera que un área de polímero adsorbido sobre un glóbulo se encuentra con un área libre de polímero en un segundo glóbulo. Bajo esas circunstancias las moléculas poliméricas ya adsorbidas a un glóbulo pueden posteriormente adsorber a un segundo glóbulo, creando un puente polimérico (Binks, 1998).

Una emulsión estable inicialmente puede exhibir un tipo diferente de floculación por puenteo si un polímero adsorbido añadido más tarde, interactúa para formar enlaces directos entre glóbulos adyacentes. Esta situación se produce en emulsiones estabilizadas con proteínas que contienen hidrocoloides donde la interacción proteína-polisacárido en la superficie de las gotas es atractiva.

En contraste a la floculación por puenteo, el agotamiento ocurre cuando la adición de polímeros no puede adsorberse en la superficie del glóbulo. Bajo esas condiciones existe una capa alrededor de los glóbulos donde la concentración de polímero es saturada.

El cremado, por su parte, mostrado en la Figura 1.2d es el movimiento de glóbulos de aceite bajo la fuerza de gravedad para formar una capa concentrada en la parte

superior, pero sin cambios en la distribución de tamaño de la gota. Inicialmente, un gradiente de concentración de glóbulos se desarrolla en dirección vertical, seguido por la aparición de un límite entre una capa de crema superior y una capa de emulsión inferior empobrecido. La formación de crema surge de la acción de la gravedad por glóbulos de menor densidad que la fase continua, dicho fenómeno es reversible ya que una ligera agitación reestablece la distribución uniforme original de los glóbulos (Binks, 1998).

El cremado de una emulsión diluida puede ser inhibido por reducción del tamaño promedio del glóbulo, reduciendo la diferencia de densidad de las fases o por incremento de la viscosidad de la fase continua. Una región de alta concentración se debe a un tamaño de glóbulo mayor. Esos glóbulos se acumulan más rápido en la superficie, ocupando una gran proporción de la fracción volumen. Los glóbulos más pequeños se mueven hacia abajo (arrastrado con fluido de fase continua) desde la parte superior de la emulsión aumentando la concentración en un nivel inferior (Binks, 1998).

La coalescencia observada en la Figura 1.2c, es el proceso donde dos o más gotas se fusionan para formar una gota única más grande y es irreversible (Mc Clements, 1999). Para que se produzca la coalescencia las fuerzas entre la superficie de gota deben ser tales que la película de la fase continua pueda llegar a ser lo suficientemente delgada para que se rompa, por lo que ocurre después de la floculación (Binks, 1998). La coalescencia conduce finalmente a la separación de las dos fases en dos capas distintas. La velocidad de la coalescencia es determinada por la resistencia a la ruptura de la interfase (Aranberri *et al.*, 2006).

Un estado de equilibrio para emulsiones mostrado en la Figura 1.2e es la completa separación de las fases. Este proceso es conocido como ruptura de la emulsión y puede tomar desde pocos minutos hasta años para que ocurra, dependiendo de la composición y estructura de la emulsión (Binks, 1998).

### **1.3 Factores que afectan la estabilidad**

La estabilidad de una emulsión depende en gran medida de su composición y estructura así como de las condiciones del medio ambiente durante su vida útil (Mc Clements, 1999), entre los factores que aceleran los procesos de inestabilidad se encuentran: la densidad de la fase dispersa, la fracción de la fase dispersa, el tamaño del glóbulo, la reología de la fase continua, la temperatura, la carga eléctrica de los glóbulos, el espesor de la capa de interfase y la fuerza iónica o pH en la fase acuosa (Dickinson y Ritzoulis, 2000).

*Densidad de la fase dispersa.* Una mayor diferencia de densidad entre fases influye en su separación gravitacional. Las fuerzas gravitacionales que actúan en un glóbulo causan que se muevan en una dirección determinada, ya sea hacia arriba o hacia abajo, dependiendo de la densidad relativa de partículas en la fase continua (Mc Clements, 1999).

*Fracción de la fase dispersa.* Entre mayor es la concentración de glóbulos, el mecanismo de cremado es más lento. La velocidad de separación gravitacional puede retardarse aumentando la concentración de los glóbulos, en una fracción de volumen de fase dispersa lo suficientemente grande se impide el movimiento de los glóbulos porque éstos se encuentran estrechamente juntos (Mc Clements, 1999).

*Tamaño del glóbulo.* Influye en el proceso de cremado, por lo tanto, la separación puede ser retardada disminuyendo el tamaño de los glóbulos, mediante alteraciones en las condiciones de homogenización o en la formulación de la emulsión por ejemplo en el tipo y concentración de emulsionante y estabilizante.

*Reología de la fase continua.* El incremento de la viscosidad en la fase continua disminuye la velocidad de movimiento los glóbulos, esto se debe a la adición de sustancias espesantes y gelificantes que forman agregados de partículas o una red tridimensional entre moléculas que atrapan los glóbulos impidiendo su movimiento y evitando la separación (Gallegos *et al.*, 2004).



*Fuerza iónica o pH.* En la fase acuosa la modificación de fuerza iónica y el pH pueden alterar la magnitud de las interacciones entre las moléculas presentes, siendo más susceptibles a la formación de agregados. El pH es uno de los factores más importantes que define las propiedades en la interfase ya que determina la ionización de las moléculas en la superficie, modificando en la interfase el espesor y la carga eléctrica.

*El espesor de la capa de interfase.* Determina la magnitud de repulsión estérica entre los glóbulos. La floculación puede ser inhibida si es mayor la fuerza de repulsión estérica que las fuerzas de atracción como interacciones de Van der Waals o hidrófobas.

*Carga eléctrica de los glóbulos.* Los glóbulos de una emulsión que presentan carga tienden a moverse más lentamente que las que no presentan carga. Esto por dos razones: en primer lugar, por las fuerzas electrostáticas repulsivas entre los glóbulos, que presentan carga similar, lo que significa que no pueden llegar a estar juntos como los glóbulos no cargados. Por lo tanto, conforme el glóbulo se mueve hacia arriba, hay una posibilidad de que los glóbulos adyacentes se vean atrapados en el flujo descendente de la fase continua; y en segundo lugar los contraiones que rodean un glóbulo se mueven más rápidamente que el glóbulo en sí, lo que provoca un desequilibrio en la carga eléctrica que se opone al movimiento del glóbulo. La magnitud y la carga del glóbulo dependerán del tipo y concentración de moléculas adsorbidas a la superficie, además del medio donde se encuentran dispersas (Mc Clements, 1999).

*Temperatura.* La variación en la temperatura provoca un cambio en la viscosidad modificando el tamaño de partícula y por ende la inestabilidad en la emulsión (Cheryl y Mc Clements, 2014; Demet y Mc Clements, 2006). La temperatura debe controlarse durante el procesamiento y sobre todo cuando se emplean proteínas como estabilizantes de la emulsión, un aumento en la temperatura durante el

proceso de emulsificación, inducida por la severa aplicación de energía mecánica, afecta la hidrofobicidad de proteínas favoreciendo las interacciones entre los glóbulos y causando la coalescencia, dando lugar a glóbulos más grandes y distribuciones de tamaño más amplias (Gallegos *et al.*, 2004).

#### **1.4 Reología de emulsiones**

La reología de las emulsiones proporciona información importante para mejorar y optimizar los procesos de producción debido a que se puede inferir su organización estructural e interacción entre componentes; por ejemplo, medidas de viscosidad en función de la velocidad de cizalla pueden proporcionar información sobre la fuerza de las interacciones coloidales entre las gotas.

Las propiedades reológicas de la emulsión dependen de su composición química, además de factores físicos como el diámetro promedio de partícula, la distribución de tamaño de partícula, la fracción volumen de aceite, la naturaleza de la capa interfacial y la naturaleza de las fuerzas entre los glóbulos (Mc Clements, 1999). La definición reológica de una emulsión es una dispersión de partículas deformables en una fase continua. Esto incluye sistemas con partículas dispersas multilamelares en una fase continua que puede ser newtoniana o no newtoniana.

Debido a las propiedades no newtonianas de la fase continua se pueden obtener emulsiones no newtonianas, las cuales podrían simplemente ser debidas a un exceso del emulsificante o a la presencia de un espesante generando sistemas con fuertes interacciones entre las partículas que por instancia son altamente floculadas (Petsev, 2004). Por lo tanto, el comportamiento reológico varía ampliamente, desde un comportamiento newtoniano de una emulsión diluida, hasta el viscoelástico altamente complejo de emulsiones concentradas presentando propiedades tanto viscosas como elásticas (Mc Clements, 1999).

Las pruebas que comúnmente se emplean para su caracterización reológica están basadas en medidas bajo cizalla estacionaria (rotacional y oscilatoria) (Mc Clements, 1999).

En el comportamiento bajo cizalla oscilatoria se pueden presentar emulsiones diluidas y concentradas. En emulsiones diluidas los módulos de almacenamiento o elástico ( $G'$ ) y de pérdida o viscoso ( $G''$ ) en función de la frecuencia, suelen presentar el tipo de comportamiento representado con el módulo  $G'$  más bajo que el módulo  $G''$ , pero con la posibilidad de que sea mayor para frecuencias más altas (Figura 1.3); las emulsiones con concentraciones más altas de fase dispersa presentan un tipo de comportamiento donde los módulos  $G'$  y  $G''$  con respecto a la frecuencia son menos dependientes y el módulo  $G'$  es mayor que el módulo  $G''$  (Petsev, 2004).

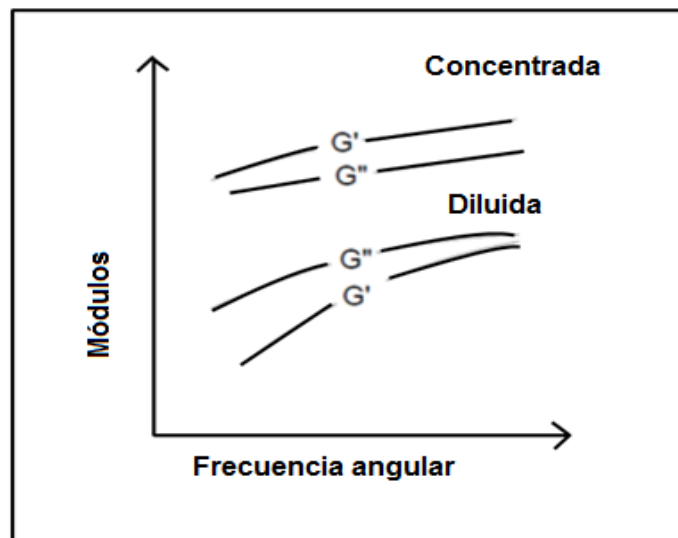


Figura 1.3 Comportamiento viscoelásticos de emulsiones (Potoev, 2004).

En el comportamiento bajo cizalla rotacional se pueden presentar emulsiones diluidas, deformables y floculadas. Para emulsiones diluidas cuando se tienen bajas velocidades de cizallamiento las partículas giran libremente en todas las direcciones, pero a medida que la velocidad de cizallamiento aumenta, se vuelven más y más alineados con el campo de flujo. Esto causa una reducción en la

viscosidad con el aumento de la velocidad de cizalla Figura 1.4 (Mc Clements, 1999).

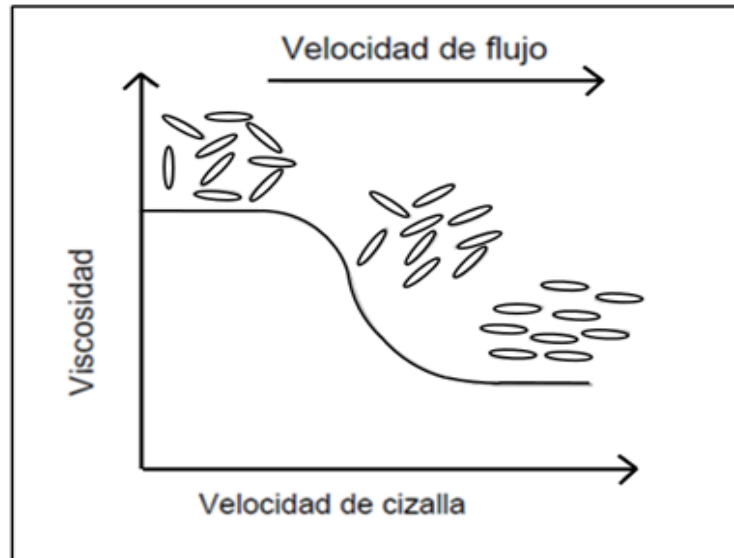


Figura 1.4 Relación de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de las gotas de una emulsión (Mc Clements, 1999).

Como fue mencionado, la reología de emulsiones está relacionada con su estabilidad. Sin embargo, incluso emulsiones finas (glóbulos muy pequeños) pueden ser floculadas hasta cierto punto y esta floculación puede tener un efecto predominante en la estructura de la emulsión y la reología.

Las manifestaciones más evidentes de floculación por agotamiento se presentan con una mayor velocidad de cremado, un comportamiento no-newtoniano debido a la formación de agregados reversibles y redes de gel de emulsiones débiles, así como un comportamiento fluidificante debido a la red de flóculos por agotamiento de los glóbulos derivado de altas concentraciones de polisacárido no adsorbido o bien por la presencia de proteína no adsorbida en la interfase (Binks, 1998).

Por otra parte, la presencia de flóculos por puenteo implica comportamiento no newtoniano y reduce la estabilidad a largo plazo con respecto a la formación de cremado y coalescencia. Las emulsiones diluidas y concentradas pueden ser

floculadas. En una emulsión diluida, cuando se tienen bajas velocidades de cizalla, las fuerzas hidrodinámicas no son lo suficientemente grandes como para interrumpir los enlaces que mantienen entre sí a las partículas, por lo que los flóculos actúan como partículas con una forma y tamaño fijos, lo que resulta en una viscosidad constante. A medida que aumenta la velocidad de cizalla, las fuerzas hidrodinámicas se vuelven lo suficientemente grandes como para causar que los glóbulos se deformen y eventualmente se disrumpan. El cizallamiento causa una deformación en los glóbulos alargándolos y alineándolos, generando una disminución en la viscosidad. La disrupción de los flóculos disminuye su fracción volumen eficaz y por lo tanto contribuye también a una disminución en la viscosidad. La viscosidad alcanza un valor constante a altas velocidades de cizalla, porque los flóculos están completamente separados de manera que sólo permanecen glóbulos individuales o porque el número de glóbulos floculados se mantiene constante, ya que la velocidad de formación de los flóculos es igual a la de la desorganización de los mismos (Figura 1.5) (Mc Clements, 1999).

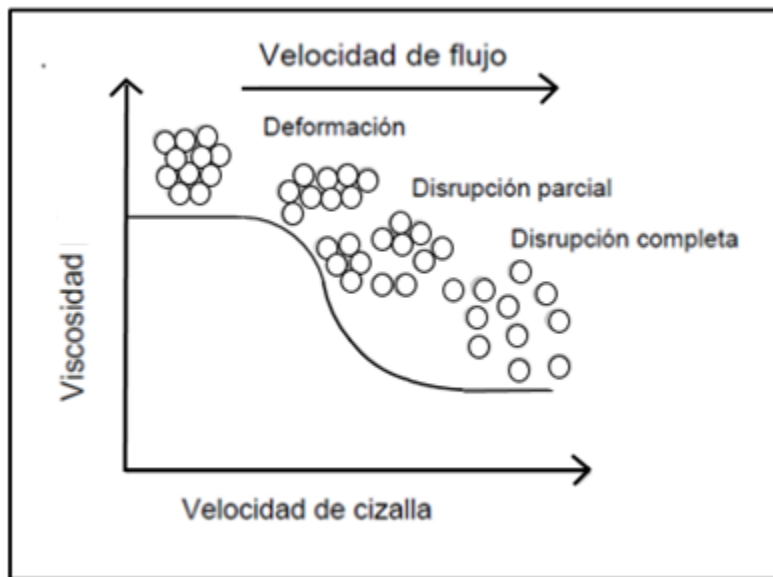


Figura 1.5 Viscosidad en función de la velocidad de cizalla comparando la morfología de los flóculos de una emulsión (Mc Clements, 1999).

Sin embargo, para emulsiones concentradas la viscosidad de la emulsión aumenta a medida que el tamaño de los flóculos aumenta. A concentraciones suficientemente

altas de glóbulos, la floculación puede conducir a la formación de una red tridimensional, donde mientras más abierta sea la estructura de los glóbulos dentro de los flóculos, menor será el valor de la fracción volumen del glóbulo donde se forma la red. La formación de redes provoca una suspensión de partículas que exhiben características viscoelásticas (Mc Clements, 1999).

La red de glóbulos de agregados actúa como un sólido a bajas velocidades de cizalla debido a que las fuerzas aplicadas no son suficientes para superar las fuerzas que mantienen los glóbulos juntos. Una vez aplicado un esfuerzo crítico o de cedencia, los enlaces entre los glóbulos se interrumpen por lo que los glóbulos pueden fluir.

Si alguno de los enlaces es capaz de reformarse durante el proceso de cizallamiento, la emulsión exhibe un comportamiento viscoelástico. Al aumentar el cizallamiento, la ruptura de enlaces es superior a la de la formación de enlaces y la emulsión actúa como un líquido. En consecuencia, una emulsión que contiene agregados de glóbulos a menudo tiene un límite elástico, debajo del cual actúa como un sólido elástico y sobre la cual actúa como un líquido. Por encima del límite de elasticidad, la emulsión a menudo exhibe un fuerte comportamiento adelgazante a la cizalla a medida que más flóculos se deforman y se rompen (Mc Clements, 1999).

#### **1.4.1 Factores que afectan la reología de emulsiones**

La reología de emulsiones es fundamental debido principalmente a su relación con la estabilidad. Por lo tanto, un gran número de parámetros que influyen en la estabilidad de la emulsión también afectan su reología (Gallegos *et al.*, 2004).

En general, la reología de las emulsiones depende principalmente de la fracción volumen de la fase dispersa, distribución de tamaño de partícula y la fase continua, todos ellos son influenciados por las condiciones de procesamiento como son: aporte de energía durante emulsificación, tiempo de residencia, la aplicación de tratamientos térmicos, la eficiencia del mezclado, entre otros (Gallegos *et al.*, 2004)

*Fracción volumen de la fase dispersa.* La viscosidad de una emulsión crece con el aumento de la fracción volumen de la fase dispersa. Una baja concentración de los glóbulos puede causar un incremento lineal entre la viscosidad y la fracción volumen, sin embargo, su funcionalidad cambia de forma proporcional a concentraciones más elevadas. Por encima de la concentración crítica de la fracción volumen, los glóbulos se agrupan de forma tan estrecha que no pueden fluir fácilmente formando emulsiones con propiedades viscoelásticas. Básicamente la dependencia de la viscosidad con respecto a la fracción volumen es determinada por la naturaleza de las interacciones coloidales entre los glóbulos (Gallegos *et al.*, 2004).

*Distribución de tamaño de partícula.* El efecto de este parámetro en la reología de una emulsión depende de la fracción volumen de la fase dispersa y de la naturaleza de las interacciones coloidales, donde la viscosidad aumenta rápidamente cuando hay una distancia de separación crítica entre los glóbulos y hay un menor tamaño de partícula, esto se debe al efecto de la capa del emulsificante, efecto del movimiento browniano y efectos de la interacción de las partículas. Distribuciones de tamaño de gota estrechas significa un pobre aglomerado mientras que una amplia distribución significa un buen aglomerado presentando viscosidades más bajas para el mismo volumen de fase dispersa. Los efectos del tamaño se deben a la interacción coloidal significativa entre partículas, es decir, cuando los glóbulos son considerablemente más pequeños que 1  $\mu\text{m}$  (Petsev, 2004).

Sin embargo, muchas emulsiones tienen tamaños por encima de éste, y cualquier efecto de carga que puedan producir efectos similares son insignificantes. Dos razones podrían ser propuestas: primero que la deformabilidad de las partículas disminuye con el tamaño del glóbulo y en segundo lugar la anchura de la distribución de tamaño del glóbulo por lo general también disminuye con el tamaño de este (Petsev, 2004).

*Fase continua.* Se deben considerar dos propiedades principales, la primera es la viscosidad de la fase continua. La viscosidad de la emulsión es directamente proporcional a la viscosidad de la fase continua. La adición de emulsionantes y espesantes en exceso, su naturaleza y concentración en particular, su solubilidad y distribución en ambas fases afectan la viscosidad. El papel que desempeña el emulsificante es producir en los glóbulos un cierto espesor y elasticidad afectando el volumen de la emulsión por que el radio incrementa y la elasticidad genera una deformación del glóbulo (Mc Clements, 1999).

El tipo de emulsificante también determina la posibilidad de floculación, si existe repulsión insuficiente entre los glóbulos se lleva a cabo la agregación causada por las fuerzas de atracción de Van der Waals. También la coalescencia es controlada en gran parte por el tipo de emulsificante, esto a su vez altera la distribución de tamaño de partícula lo que conduce a un cambio en la reología, la formación de partículas más grande lleva a la reducción de la viscosidad y cuando se presenta una interacción proteína-polisacárido en la interfase puede estar asociada con la floculación por puenteo o estabilidad estérica. La presencia de un hidrocoloide no adsorbente puede afectar la formación de crema mediante la inducción de floculación por agotamiento, produciendo también un cambio en su comportamiento reológico (Petsev, 2004).

La segunda propiedad es la polaridad y el pH que afectan la carga de los glóbulos y por lo tanto su repulsión. La viscosidad de la emulsión está directamente relacionada con la magnitud de las fuerzas de repulsión y atracción, a valores de pH por encima del punto isoeléctrico, está relacionado con una disminución de la viscoelasticidad de la interfase (Jaideep, 2009).

La influencia del pH se encuentra dominada por la cercanía al punto isoeléctrico, en donde las interacciones electrostáticas tienden a desaparecer. A valores de pH alejados del punto isoeléctrico, se obtienen por lo general menores tamaños de glóbulos y mayores propiedades viscoelásticas (Bengoechea *et al.*, 2008).



## **1.5 Hidrocoloides en emulsiones**

Los hidrocoloides son un grupo de polímeros de cadena larga fácilmente dispersa, completa o parcialmente soluble y propensa a hincharse en agua, los hidrocoloides cambian las propiedades físicas de la solución permitiendo la formación de geles, espesantes, emulsificantes, recubrimientos y estabilizantes (Phillips y Phillips, 2000).

Los hidrocoloides son clasificados como polisacáridos total o parcialmente solubles y como proteínas (Li y Nie, 2015). Los polisacáridos ampliamente empleados en la industria alimentaria son la pectina, gomas como arábica, tragacanto, guar, grenetina entre otros, uno de los polisacáridos poco empleado es el glucomanano de konjac (Jin *et al.*, 2014).

Las proteínas son ingredientes esenciales en la industria alimentaria, no sólo debido a su valor nutritivo, sino también a sus propiedades funcionales. Estas propiedades son resultado de las interacciones fisicoquímicas entre los componentes del sistema, los más utilizados son los interfaciales tales como los espumantes y/o emulsionantes. Las emulsiones estabilizadas por proteínas, requiere que la molécula de proteína alcance primero a la interfaz agua / lípido para luego desplegar sus grupos hidrofóbicos e interconectar fase lipídica (Cabra *et al.*, 2008). Dentro de las proteínas más empleadas en la industria alimentaria se encuentran la proteína de suero y el caseinato de sodio (Li y Nie, 2015)

### **1.5.1 Caseinato de sodio**

Las proteínas de la leche, especialmente los caseinatos, se emplean como ingredientes en una amplia gama de emulsiones alimenticias (Srinivasan *et al.*, 1999). El caseinato de sodio ha sido ampliamente utilizado en la preparación de emulsiones debido a sus excelentes propiedades funcionales y nutricionales. Sin embargo, las emulsiones estabilizadas únicamente con caseinato de sodio son sensibles a la desestabilización en condiciones ácidas (Liu *et al.*, 2016).

El 80% del total de proteína en la leche son caseínas. Las caseínas están constituidas por un complejo de proteínas fosforiladas que coagulan en la leche a un pH de 4.6 (punto isoeléctrico) o cuando se encuentran bajo la acción de enzimas como la renina, existen diferentes tipos de caseínas: la  $\alpha$ -caseína, la  $\beta$ -caseína y la  $\kappa$ -caseína. Estas caseínas están compuestas por cadenas heterogéneas de 20 aminoácidos (Liang *et al.*, 2014), forman estructuras complejas donde las fracciones  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\kappa$  se asocian y forman polímeros que en presencia de calcio y fosfatos se unen y forman agregados heterogéneos llamados micelas que quedan dispersos en suspensión coloidal.

El tamaño de las micelas de caseína está limitado por  $\kappa$ -caseína, ya que forma un polielectrolito en la superficie de la micela causando un impedimento estérico de la capa de  $\kappa$ -caseína junto con repulsión electrostática inhibiendo la agregación de las micelas en la leche. La modificación del pH de la leche, ya sea por adición de ácidos o fermentación láctica provoca la destrucción de las micelas y neutraliza su carga eléctrica, teniendo como consecuencia que las micelas se agreguen entre sí y precipiten produciéndose una descalcificación parcial (Gonzalez-Jordan *et al.*, 2015).

La precipitación ácida de las caseínas destruye su estructura micelar y después de una neutralización con sales de sodio se obtiene el caseinato de sodio. El caseinato sódico contiene hasta el 90% de proteína (Vega, 2006). Está compuesto de  $\alpha$ s<sub>1</sub>,  $\alpha$ s<sub>2</sub>,  $\beta$  y  $\kappa$ -caseína en una proporción en peso aproximada de 4:1:4:1, respectivamente (Casanova y Cardona, 2004), Figura 1.6.

Las propiedades superficiales del caseinato de sodio son determinados por la predominante  $\beta$ -caseína. El polipéptido  $\beta$ -caseína tiene 209 residuos de aminoácidos; los primeros 50 aminoácidos son hidrófilos, mientras que los 159 restantes son hidrofóbicos (Marinova *et al.*, 2009).

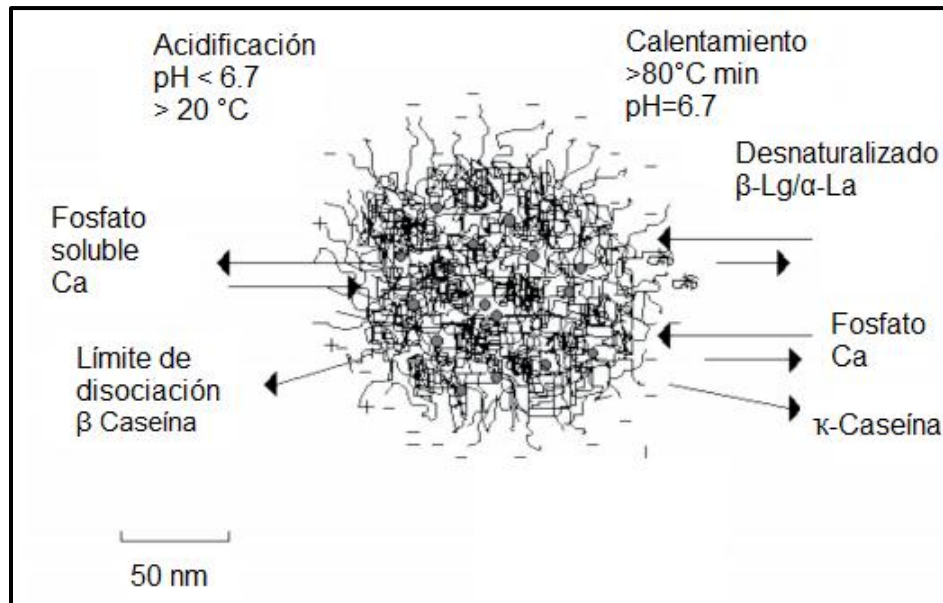


Figura 1.6 Subunidad de micela de caseína (Ferrandini *et al.*, 2006).

Las caseínas son proteínas ampliamente utilizadas en alimentos debido a su gran valor nutricional y propiedades emulsificantes, tienen un efecto de interfase complejo sobre la oxidación de lípidos. Luego de saturar la interfase, las proteínas a altas concentraciones permanecen en la fase acuosa y pueden retardar la oxidación de los lípidos. La membrana proteínica que rodea los glóbulos de grasa puede restringir la penetración y difusión de radicales iniciadores a la fase lipídica. A ciertas concentraciones, cuando las proteínas están dispersas en la fase acuosa pueden asociarse a radicales libres o ser preferencialmente oxidadas, retardando la oxidación de lípidos.

Las proteínas pueden inhibir la oxidación en emulsiones por varios mecanismos: generando repulsión electrostática, formando una barrera física que evita la difusión de radicales libres o reduciendo hidroperóxidos a través de los aminoácidos que presentan grupos sulfhidrilo en su cadena lateral. Los grupos fosfato unidos al aminoácido serina en la caseína se comportan como secuestrantes de radicales libres (Tommar y Nicolai, 2015).

### 1.5.1. 1. Propiedades funcionales

El caseinato de sodio es una proteína altamente empleada como emulsificante en el proceso de alimentos debido a su solubilidad, naturaleza tensoactiva, resistencia al calor y capacidad de retención de agua (Thomar y Nicolai, 2015).

El caseinato de sodio se compone generalmente de cuatro fosfoproteínas ( $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ ,  $\beta$ -, y  $\kappa$ -caseína) de las cuales las tres primeras pueden adsorbese rápidamente en la interfase líquido-líquido por sus regiones hidrófobas e hidrófilas, proporcionando estabilidad a largo plazo debido a una estabilización electrostática y estérica, disminuyendo la tensión de la interfase.

Los valores de tensión interfacial para disoluciones de caseinato de sodio muestran valores entre 8 y 22 mN m<sup>-1</sup>. Cuando se tiene una baja relación de caseinato-aceite en emulsiones, no hay suficiente proteína presente para saturar la interfase, presentando inestabilidad debida a la floculación. Por el contrario, en altas relaciones de caseinato- aceite, el exceso (no adsorbido) de proteína forma pequeños agregados de caseínas (submicelas) lo que puede conducir a la inestabilidad causada por el proceso de floculación o cremado. La estabilidad se alcanza a concentraciones intermedias de caseinato, permitiendo la completa saturación de la proteína en la interfase (Stewart *et al.*, 2004).

Para una emulsión preparada a pH neutro con caseinato de sodio como el único agente emulsionante, los polímeros adsorbidos que contribuyen principalmente a la estabilidad coloidal son  $\alpha_{S1}$ -caseína y  $\beta$ -Caseína. Valores de pH cercanos al punto isoeléctrico conducen a un aumento en el grado y la fuerza de la agregación de las proteínas.

Las emulsiones a base de caseinato de sodio son altamente susceptibles a la floculación por adición de iones calcio (Dickinson, 2006), ya que propician la interacción intermolecular de las caseínas debido a la presencia de grupos fosfoserinos en las proteínas, los cuales producen fuertes enlaces iónicos con estos

iones divalentes. Si la concentración relativa de iones calcio con respecto a la proteína en solución es baja, los agregados de caseínas generados son de bajo peso molecular y permanecen en suspensión, sin embargo, un incremento de la concentración de iones calcio por encima de un valor crítico, generará la formación de macro-agregados que posteriormente precipitan (Casanova y Cardona., 2004).

El comportamiento reológico del caseinato de sodio en medio acuoso se ve influenciado por el pH, la temperatura, la concentración de proteína, y la adición de iones calcio. Thomar *et al.* (2014), estudiaron el comportamiento reológico del caseinato de sodio al 5% a 20 °C realizando pruebas de cizalla rotacional y oscilatoria, donde la viscosidad fue independiente de la velocidad de cizalla presentándose como un fluido newtoniano, el comportamiento dinámico del caseinato de sodio presentó valores de  $G'$  y  $G''$  con una elevada dependencia sobre la frecuencia, el módulo  $G''$  fue superior al módulo  $G'$  sin embargo, a elevadas frecuencias hubo intersección de los módulos.

En un estudio reológico mediante pruebas dinámicas de emulsiones de caseinato de sodio a diferentes valores de pH, Chen *et al.* (1999) emplearon un barrido de frecuencia de intervalos entre  $10^{-3}$  a 10 Hz y 0.5% de deformación. El módulo de almacenamiento,  $G'$ , fue mayor que  $G''$  a valores de pH de 3.2 y 5.8. Tanto el módulo  $G'$  como el módulo  $G''$  alcanzaron valores máximos a pH cercanos al punto isoeléctrico del caseinato de sodio el cual es de 4.6, por lo que a frecuencias bajas y pH ligeramente inferior al su punto isoeléctrico predomina el módulo  $G'$ .

Por otro lado, se realizó un estudio reológico del caseinato de sodio a una concentración de 2% en presencia de goma arábica al 5 y 10% a 25 °C. La viscosidad de la mezcla aumentó en función a la concentración de goma arábica, debido a que la viscosidad es independiente de la velocidad de cizalla, el comportamiento a ambas concentraciones de goma arábica fue de un fluido newtoniano (Martínez-Padilla *et al.*, 2011).

### 1.5.2 Glucomanano de konjac

El glucomanano de konjac es un polisacárido obtenido del tubérculo de la planta originaria del este asiático *Amorphophallus konjac*, perteneciente a la familia *Araceae*, su empleo es principalmente en Japón y China (Cubero *et al.*, 2002), la planta tiene aproximadamente un metro y medio de altura, posee numerosas flores rojas reunidas en una inflorescencia espadiforme y envueltas por una bráctea rojo-púrpura denominada espata, las células de konjac se encuentran dentro del parénquima, el tamaño del tubérculo incrementa cada año (Phillips y Williams, 1996).

Cuando la harina de konjac es obtenida por pulverización se obtiene el 60-80% del peso seco del tubérculo (Nishinari, *et al.*, 1992) y un 30-50% mediante su secado, trituración, molienda, extracción y purificación con etanol (González *et al.*, 2004). El glucomanano de konjac de alto peso molecular, Figura 1.7 consta de enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4, de D-manosa y D-glucosa con una relación de 1.6:1 (Kato y Matsuda, 1969), la cadena principal es lineal y tiene asociados, de una forma aleatoria, grupos acetilos, 1 por cada 19 unidades de glucosa, los cuales son responsables de favorecer la solubilidad en agua.

La aplicación de diferentes producciones tecnológicas genera cantidades diferentes de grupos acetilo en la cadena del glucomanano (European Commission, 2001). Además, cada 50-60 unidades de monosacárido existen ramificaciones de la cadena principal, unidas mediante enlaces  $\beta$ -1,3 y cada una de ellas formada por 11-16 monosacáridos (González, *et al.*, 2004).

El peso molecular oscila entre  $5 \times 10^4$  a  $2 \times 10^9$  g/mol, dependiendo de las diferentes especies, zonas productoras, tecnología de procesamiento y el tiempo de almacenamiento (European Commission, 2001).

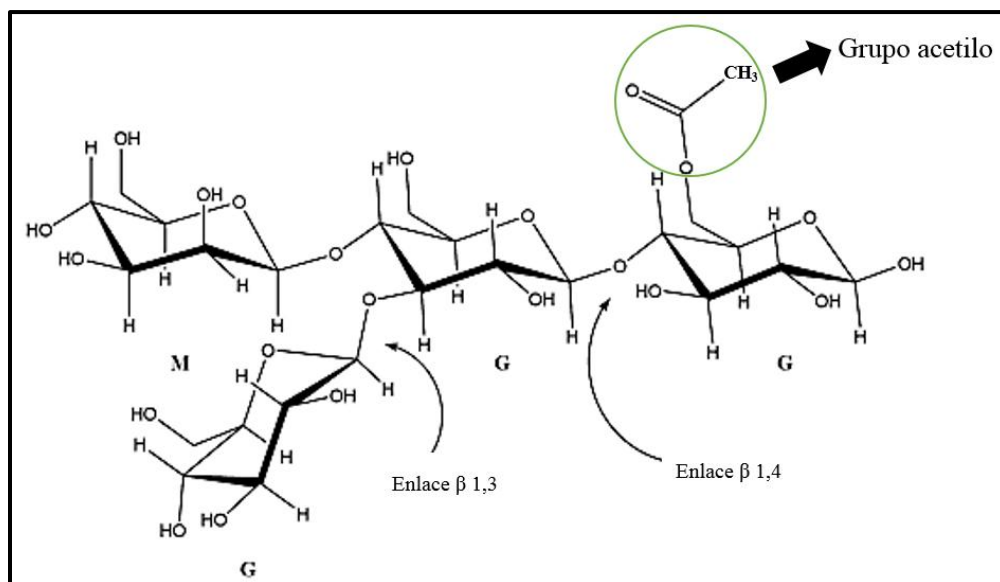


Figura 1.7. Estructura química del glucomanano de konjac (Nishinari *et al.*, 1992).

### 1.5.2.1. Propiedades funcionales

El glucomanano de konjac es un polisacárido soluble en agua (molécula hidrofílica) por los abundantes grupos hidroxilo y acetilos, debido a que estos últimos inhiben la formación de enlaces intramoleculares de hidrógeno incrementando su solubilidad (Alonso-Sande *et al.*, 2009).

Un estudio hecho por Koroskenyi y McCarthy (2001) sobre el efecto de la acetilación del glucomanano en la absorción de agua fue reportado por Zhang y Feng-Ging (2014), encontrando que el konjac tuvo alta absorción en agua, cerca de 105.4 g/g (agua/konjac), mientras que en konjac totalmente acetilado fue de 1.0 g/g. El grado de acetilación del glucomanano es inducido por la adición de álcalis, generando diferentes propiedades en el medio que se encuentra. Los mecanismos que se presentan en la modificación de su estructura se describen en la Figura 1.8, en donde, en primer lugar, la desacetilación del glucomanano presenta una disminución de solubilidad en agua obteniendo un menor grado de extensión de la cadena molecular.

En segundo lugar, la carga negativa de la cadena molecular es más grande cuando hay un efecto inductivo de álcali. El álcali es una especie de reactivo nucleófilo que induce a los electrones en movimiento a acercarse al átomo de oxígeno del grupo hidroxilo por lo que la fuerza de repulsión electrostática entre la cadena molecular ionizada y el ion hidroxilo, impide la expansión de la cadena molecular en la solución. Como resultado hay una competencia entre el efecto inductivo del álcali y la hidratación de agua.

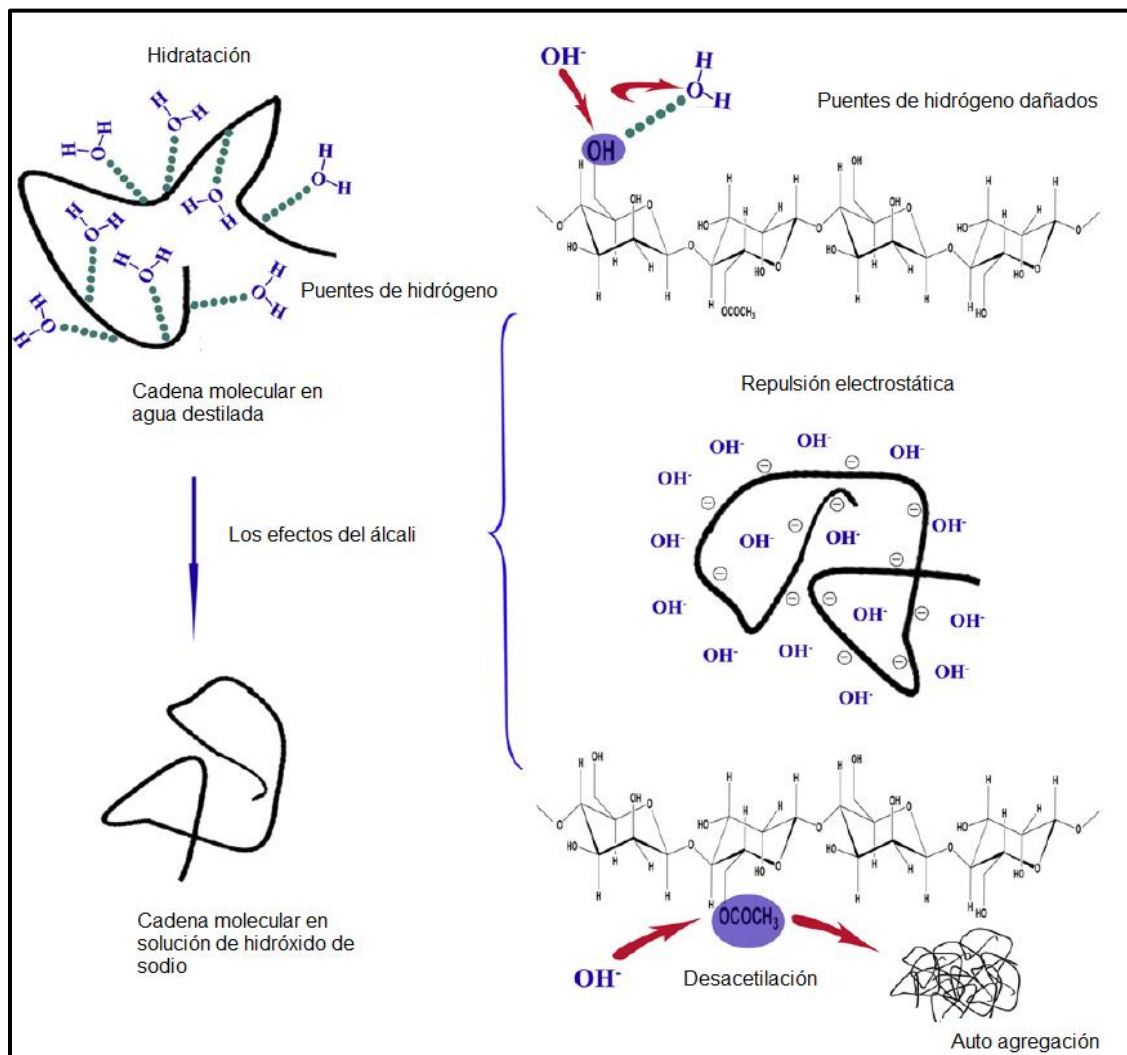


Figura 1.8. Efecto de la adición de álcalis sobre la cadena molecular del GMK (Luo *et al.*, 2013).

En tercer lugar, el álcali rompe los enlaces de hidrógeno entre la cadena molecular y la molécula de agua, dando lugar a una expansión-supresión. Sin embargo, en



agua destilada sólo se presenta hidratación la cual promueve la extensión de la cadena molecular dando lugar a una dimensión molecular más grande (Luo *et al.*, 2013).

El glucomanano de konjac puede tener propiedades espesantes, gelificantes y emulsificantes dependiendo de los grupos acetilo, del peso molecular, del tipo de polisacárido, la temperatura, la concentración, entre otros.

Cuando el glucomanano de konjac se mezcla en agua, las moléculas de glucosa y manosa la absorben y se hinchan, como consecuencia aumenta la viscosidad del medio (Cubero *et al.*, 2002) presentando propiedades espesantes. Los valores de viscosidad dependen de la concentración de la disolución y de la pureza del compuesto, ya que con la purificación se eliminan las enzimas presentes en el tubérculo, responsables de la disminución del peso molecular y la viscosidad. Así, la viscosidad de una disolución al 1% de glucomanano puro (98.2%), se sitúa, en 1 h, en unos 45 mPa.s, alcanzando en 6 h la viscosidad de 125 mPa.s, que se mantiene durante 120 h. Por otro lado, con un contenido en glucomanano del 81% la máxima viscosidad alcanzada a las 6 h es de 55 000 mPa.s (González *et al.*, 2004). El glucomanano de konjac se puede dispersar en agua caliente o fría formando una solución altamente viscosa con un pH entre 5 y 7 (European Commission, 2001).

Como se ha mencionado anteriormente, al modificar la estructura del glucomanano de konjac principalmente por la adición de álcali, propicia la propiedad gelificante. El proceso de gelificación se produce debido a la interacción del glucomanano y álcalis (base débil) (Figura 1.9), esta interacción produce cambios estructurales en la molécula, mientras facilita el establecimiento de puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas entre las cadenas del glucomanano (Alonso-Sande, *et al.*, 2009), estas disoluciones se llevan a cabo en ebullición para producir geles estables térmicamente. La función del álcali es romper los grupos acetilos,

reduciendo así la solubilidad en agua y permitiendo la formación de una red tridimensional (Cubero *et al.*, 2002).

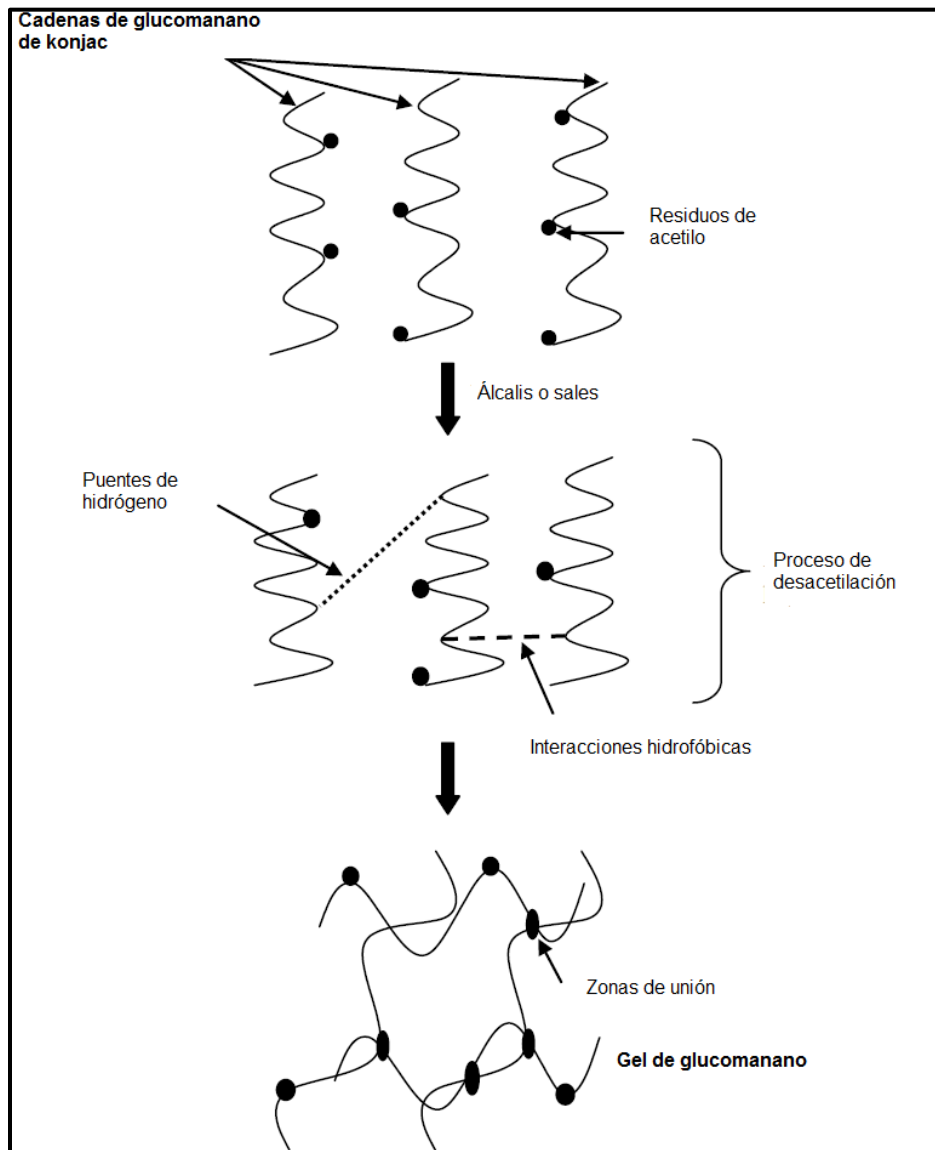


Figura 1.9. Mecanismo de gelificación del glucomanano de konjac (Alonso-Sande *et al.*, 2009).

Los parámetros que afectan la gelificación y por lo tanto las propiedades finales del gel son: el grado de acetilación, el peso molecular, la temperatura, la concentración del glucomanano y el álcali involucrado en el proceso de gelificación (Cuadro 1.1) (Alonso-Sande *et al.*, 2009).

El incremento del grado de acetilación en el glucomanano conduce a un retraso en el proceso de gelificación, por el contrario, es favorecida cuando el peso molecular, álcali, concentración o temperatura aumenta, (Alonso-Sande *et al.*, 2009) por lo que con el aumento de la temperatura se obtiene una mayor fuerza del gel (Cubero *et al.*, 2002).

Cuadro 1.1 Influencia de diferentes parámetros sobre el mecanismo de gelificación del glucomanano de konjac (Alonso-Sande *et al.*, 2009).

<b>Parámetros</b>	<b>Efectos que influyen en el mecanismo de gelificación</b>
<b>Menor grado de acetilación</b>	Mayor formación de puentes de hidrógeno
<b>Mayor peso molecular</b>	Mayor número de zonas de unión Mayor longitud de conexión de cadenas
<b>Mayor concentración</b>	Mayor número de moléculas Mayor proximidad entre moléculas
<b>Mayor temperatura</b>	Mayor formación de puentes de hidrógeno
<b>Mayor concentración de álcali</b>	Mayor proceso de desacetilación Mayor formación de puentes de hidrógeno

Cuando las concentraciones de glucomanano son bajas, la distancia entre las moléculas es mayor, requiriendo de un proceso previo de desacetilación para facilitar la aproximación de las moléculas y promover la interacción entre ellos, favoreciendo la formación de la red (Alonso-Sande *et al.*, 2009).

La concentración de glucomanano necesaria para formar un gel por tratamiento alcalino ha sido estimado empíricamente de 0.5%. En contraste, se reportó que el álcali no es necesario para formar el gel a concentraciones mayores de 8% (Nishinari *et al.*, 1992).

Generalmente los geles formados después de procesos químicos son termo-irreversibles. Los geles de glucomanano formados a través de tratamientos térmicos y valores de pH que oscilan entre 11.3 a 12.6 son acelerados por la remoción irreversible de los grupos acetilo. NaOH, KOH, Ca (OH)<sub>2</sub>, NaCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> son los álcalis que usualmente se emplean para generar la gelificación. Entre estos álcalis el KOH produce un mayor efecto de desacetilación (Pan *et al.*, 2011).

Asimismo, éste puede formar geles sinérgicos con otros polisacáridos, tales como xantana y k-carragenina. El efecto sinérgico se obtiene por la interacción intermolecular entre ellos. Los geles de glucomanano formados por aglomeración física de sí mismo o interacción física con otros polisacáridos son térmicamente reversibles (Pan *et al.*, 2011). La gelificación de konjac también ocurre a través de interacciones hidrofóbicas en presencia de sales liotrópicas (sulfato de sodio, sulfato de amonio, citrato de sodio) (Gao y Nishinari, 2004).

La propiedad emulsificante del glucomanano konjac proviene del refinado de la harina, el procedimiento para obtener dicha funcionalidad fue reportado por (Zhang *et al.*, 2005) el cual consiste en hidrolizar, oxidar y esterificar con ácido esteárico, después neutralizar con NaOH. En otros estudios se realizaron cuatro series de ésteres de glucomanano de konjac en emulsiones aceite en agua mostrando una buena capacidad emulsionante incluso a altas concentraciones de NaCl y pH ácido, presentando estabilidad a las 4 semanas a temperatura ambiente.

Cuando el valor de pH es menor de 10, puede mostrar principalmente su propiedad espesante (Zhang *et al.*, 2014). El glucomanano de konjac con peso molecular de  $1.34 \times 10^3$  kg/mol, se ha reportado como un fluido típicamente fluidificante, sin embargo, cuando la concentración es menor a 0.55% presenta un comportamiento cercano a un fluido newtoniano por lo que la viscosidad es menos afectada por la velocidad de cizalla, si la temperatura aumenta de 25 °C a 85 °C en una concentración de 1%, disminuye la viscosidad del fluido comportándose como un fluido newtoniano (Wang *et al.*, 2012).

En condiciones de cizalla oscilatoria el glucomanano de konjac al 1%,  $G'$  y  $G''$ , aumentan con respecto a la frecuencia angular, en un intervalo de 0-120 rad/s donde  $G'$  predomina sobre  $G''$ , sin embargo, cuando aumenta la temperatura de 20 a 100 °C  $G'$  y  $G''$  disminuyen, predominando  $G''$ , a temperaturas mayores de 100 °C hay una intersección de los módulos (Wang *et al.*, 2012).

Otro estudio en condiciones de cizalla oscilatoria a concentraciones 0.5%, 1% y 2% a 25 °C, fue hecho por Luo *et al.* (2013) donde al aumentar la concentración y la frecuencia, los módulos  $G'$  y  $G''$  mostraron un aumento, donde el punto de cruce se fue desplazando hacia la frecuencia más baja, por lo que  $G'$  es más bajo a menor frecuencia, pero más alto que  $G''$  a mayor frecuencia, esto puede explicarse por el enlace y la desenlace de la cadena molecular. Durante el periodo de oscilación a baja frecuencia la estructura que había formado la cadena era fácil de desintegrar por lo tanto  $G''$  fue mayor que  $G'$  comportándose como un fluido viscoso, sin embargo, a alta frecuencia las cadenas moleculares fueron capaces de resistir el desenlazar debido al corto periodo de oscilación exhibiendo un comportamiento elástico por lo que superó  $G'$  a  $G''$ .

La adición de sales liotrópicas en disoluciones de glucomanano de konjac a 0.8% también generan cambios en sus propiedades reológicas, un aumento en concentración de sales forma los puntos de cruce entre los módulos  $G'$  y  $G''$  a menor frecuencia, predominando al inicio de la oscilación  $G''$  (Yin *et al.*, 2008).

Determinadas mezclas binarias de glucomanano de konjac con otros polisacáridos dan lugar a la aparición de importantes efectos sinérgicos sobre las propiedades de las disoluciones o los geles que originan. Estos efectos se manifiestan a través de incrementos significativos en la viscosidad de sus disoluciones diluidas o formación de geles a consecuencia de la interacción entre ambos componentes. Los principales polisacáridos que han sido estudiados en mezcla con glucomanano de konjac son la goma xantana y gelana.

La fuerza iónica del medio en el que tiene lugar la gelificación de la mezcla glucomanano-xantana tiene una influencia sobre las propiedades de los geles. La presencia de cationes, especialmente los divalentes, debilita la estructura de los geles mixtos, favoreciendo la asociación de las cadenas de goma xantana entre sí. Mediante estudios reológicos, se comprobó que hay mayor sinergismo cuando se tiene la misma proporción de polisacárido.

Cuando se mantiene la concentración de polisacárido total de 0.5% a diferentes relaciones de goma xantana/glucomanano de konjac, se ha descrito que el efecto sinérgico entre los polisacáridos puede ser reconocido como un aumento en los valores de viscosidad en disoluciones diluidas, o incluso como una gelificación de concentraciones más altas de polisacárido.

Alvarez-Manceñido *et al.* (2008) realizaron pruebas reológicas del glucomanano de konjac en mezcla con xantana, en el resultado del comportamiento dinámico el módulo  $G'$  superó a  $G''$ , la magnitud relativa de ambos módulos fue independiente de la frecuencia considerándose como geles verdaderos.

Nishinari *et al.* (1996) reportaron el comportamiento viscoelástico de la mezcla de goma gelana y glucomanano de konjac, manteniendo una concentración de 1.6%, a temperaturas que variaron de 15 a 30 °C y diferentes pesos moleculares de  $1.17 \times 10^6$ ,  $9.5 \times 10^3$  y  $2.51 \times 10^5$  Da. Cuando es mayor el peso molecular y menor la concentración del glucomanano, el módulo  $G''$  predomina sobre el módulo  $G'$ , y al aumentar la temperatura el valor de los módulos disminuye. Sin embargo, cuando es mayor la concentración del glucomanano el comportamiento de los módulos es el mismo sólo que a bajas frecuencias hay un mayor orden de las moléculas, presentando valores de  $G'$  y  $G''$  mayores, y a menor peso molecular, mayor desorden de las moléculas.

El glucomanano de konjac también ha sido estudiado en presencia de algunas proteínas como proteína de soya y aislado de proteína de suero de leche. Se estudió el comportamiento reológico a diferentes concentraciones de glucomanano de konjac 0.5, 0.8 y 1 % y proteína de soya de 1 y 2 %. Cuando la concentración de glucomanano de konjac bajó de 1 a 0.5 % manteniendo la concentración de proteína de soya de 2%, los módulos  $G'$  y  $G''$  fueron menores, para la contracción más baja de glucomanano, no hubo intersección de los módulos y en ambos casos predominó  $G''$  sobre  $G'$ . Cuando disminuyó la concentración de proteína de soya existió una

disminución de los módulos y su intersección se encontró a mayores frecuencias (Yin y Zhan, 2007).

Tobin *et al.* (2012) estudiaron el glucomanano de konjac a 0.5% en mezcla con aislado de proteína de suero de leche a 11%, en éste predominó el módulo  $G'$ , el cual presentó menor dependencia en función de la frecuencia, en comparación con el módulo  $G''$ . Sin embargo, no se encuentran estudios reportados con la aplicación en la estabilidad de emulsiones.

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

### **2.1 Objetivos**

#### **General**

Evaluar el efecto de la concentración de glucomanano de konjac sobre las propiedades de los sistemas acuosos y de emulsiones aceite en agua en presencia y ausencia de caseinato de sodio, sobre su estabilidad, distribución de tamaño de partícula y reología, como alternativa de aplicación de mezclas polisacárido-proteína para el desarrollo de emulsiones funcionales.

#### **Particulares**

1. Determinar el efecto de la concentración de glucomanano de konjac sobre la distribución de tamaño de partícula de los sistemas acuosos y emulsiones en presencia y ausencia de caseinato de sodio mediante pruebas de dispersión estática de luz láser evidenciando la presencia de agregados.
2. Evaluar el efecto de la concentración de glucomanano de konjac sobre las propiedades reológicas de los sistemas acuosos y emulsiones en presencia y ausencia de caseinato de sodio, mediante pruebas bajo cizalla rotacional y oscilatoria relacionándolas con la estabilidad de la emulsión.
3. Evidenciar el efecto de la concentración de glucomanano de konjac sobre la estabilidad de emulsiones en presencia y ausencia de caseinato de sodio mediante pruebas de transmisión de luz determinando el proceso de inestabilidad observado.

### **2.2 Materiales y métodos**

#### **2.2.1 Materiales**

Se empleó glucomanano konjac, marca Alfa Delta (lote:13042114), con un porcentaje de humedad de  $8.24 \pm 0.03$  %, originario de China, caseinato de sodio (Lactonat EN, lote 61038, Lactoprot México), con un porcentaje de humedad  $6.96 \pm 0.002$  %, originario de Alemania, se agregó azida de sodio al 0.02 % (Hycel de



México, lote 62669) como conservador, los sistemas acuosos se prepararon con agua purificada (E-pura, Pepsico, México) y para la fase oleosa se empleó aceite comercial puro de canola (Capullo, ACH Foods México).

La humedad del glucomanano de konjac y el caseinato de sodio se determinó en la termobalanza (Ohaus, MB45, EUA). Se colocaron 5 g de muestra y se llevó a cabo un perfil de desecación rápido a temperatura de 100 °C y como criterio de parada, un tiempo de 60 s. La humedad se determinó a los polvos con la finalidad de preparar las muestras peso/peso.

### 2.2.2 Preparación de los sistemas acuosos

Se evaluó el efecto de 4 niveles de glucomanano de konjac, 0.25%, 0.5%, 0.75% y 1% solo y en mezcla con caseinato de sodio al 1%, en sistemas acuosos sin homogeneizar, homogeneizadas (las muestras acuosas fueron sometidas a una homogenización a alta velocidad, con la finalidad de representar la fase acuosa en la emulsión formada) y en emulsiones aceite en agua con 30% aceite.

El glucomanano konjac se dispersó en agua a 25 °C, con un agitador de propelas (RW 20 S1, IKA, Alemania), conforme se aumentó la concentración de glucomanano de konjac se requirió incrementar la velocidad y el tiempo de dispersión como se muestra en el Cuadro 1.2. Se adicionó azida de sodio como conservador al 0.02%, la cual se dispersó en agua purificada empleando agitación gradual durante 3 min. La fase acuosa se almacenó durante 24 h a 4 °C.

Cuadro 1.2 Velocidad y tiempo de agitación para dispersiones de glucomano de konjac a diferentes concentraciones.

<b>Concentración glucomanano de konjac (%)</b>	<b>Velocidad agitación (RPM)</b>	<b>Tiempo de agitación (min)</b>
0.25	600	10
0.50	700	15
0.75	1100	20
1.00	1230	30

La disolución del glucomanano en mezcla con caseinato de sodio se preparó dispersando el caseinato de sodio al 1 % en agua, a 25 °C, empleando un agitador de propelas (RW 20 S1, IKA®, Alemania) a una velocidad de 600 RPM durante 15 min, el azida de sodio se incorporó en el medio acuoso del caseinato de sodio. Finalmente, la fase acuosa de glucomanano de konjac fue adicionada a la fase acuosa del caseinato de sodio, almacenando la mezcla durante 24 h a 4 °C. Para la elaboración de las mezclas, las muestras de caseinato de sodio y glucomanano de konjac fueron preparadas al doble de la concentración requerida, para posteriormente mezclar en partes iguales.

Los de los sistemas acuosos homogeneizados de mezclas de glucomanano de konjac y caseinato de sodio se elaboraron después del tiempo de almacenamiento de las disoluciones individuales, sometiénolas a un premezclado empleando un agitador de alta velocidad (L4R, Silverson, Reino Unido), a 3130 RPM durante 2 min.

Posteriormente se llevó a cabo una homogeneización a una velocidad de 10202 RPM, durante 3 min. Los sistemas acuosos homogeneizados fueron caracterizados inmediatamente después de su elaboración.

### **2.2.3 Elaboración de emulsiones**

Las emulsiones se elaboraron mediante la dispersión de la fase oleosa en los sistemas acuosos de glucomanano de konjac solo y en mezcla con caseinato de sodio al 30 % m/m de aceite, con la finalidad de evaluar las propiedades emulsificantes del GMK solo. Para su preparación se requirió de una pre-homogeneización empleando un agitador de alta velocidad (L4R, Silverson, Reino Unido), a 3130 rpm por 2 min. Posteriormente se llevó a cabo una homogeneización a una velocidad de 10202 rpm y por un tiempo de 3 min. Tanto la fase dispersa como la fase continua se mantuvieron a 25 °C antes de ser sometidas a homogeneización y para evitar un incremento de la temperatura durante la homogeneización, se mantuvieron en un baño de agua a 2 °C, logrando mantener

los sistemas acuosos entre 25 y 27°C. Las emulsiones fueron caracterizadas inmediatamente después de su elaboración.

## **2.2.4 Métodos**

### **2.2.4.1 Evaluación de pH**

El pH se determinó como parámetro para el control de las muestras preparadas, debido a que puede generar cambios estructurales en las moléculas. En la determinación del pH se empleó un potenciómetro digital pH 120 de electrodo combinado (Conductronic, México).

#### **Principio de funcionamiento**

El agua reacciona por la disociación electrolítica de sus elementos iones  $H^+$  (hidrógeno) o iones  $OH^-$  (oxhidrilo). La concentración de los iones de  $H^+$  u  $OH^-$  en el agua, determinan la alcalinidad, acidez o neutralidad de las soluciones acuosas. Mientras más grande es la concentración de iones hidrógeno, más bajo es el pH de una solución. El potenciómetro mide la concentración de iones hidrógeno, utilizando la diferencia de un potencial eléctrico entre dos soluciones de diferente pH, separadas por una membrana de vidrio especial. Está integrado por un electrodo de vidrio, un electrodo de referencia y un medidor de pH (Manual del instrumento).

#### **Procedimiento**

El potenciómetro debe calibrarse previamente empleando soluciones amortiguadoras de pH 7 y 4. Una vez calibrado se mide la temperatura de la muestra y si es necesario se ajusta el instrumento al pH de referencia. Se sumerge el electrodo en la muestra hasta debajo del nivel del líquido, manteniéndolo durante 30 s, finalmente se toma la lectura de pH directas del instrumento de medición. Se realizaron 3 repeticiones.

### **2.2.4.2 Distribución y tamaño de partícula**

Se empleó el granulómetro 930 (Cilas, Francia) analizador láser de tamaño de partícula.

### **Principio de funcionamiento**

Es un equipo de dispersión estática de luz láser que permite determinar la distribución y tamaño de partícula de materiales. La prueba se puede realizar en vía húmeda o en vía seca en la muestra directamente. También es posible determinar el tamaño de agregados de partículas que pueden separarse por aplicación de ultrasonido de baja frecuencia 24 kHz (Manual del instrumento).

### **Procedimiento**

Para la distribución y tamaño de partícula de emulsiones y sistemas acuosos se empleó el método por vía húmeda, el cual consiste en la dispersión de la muestra en un líquido (agua) a través de una celda con un sistema de recirculación de medición, la cual es atravesada por el láser, se realizaron 2 lavados antes de la prueba y la medida de blanco con un valor de láser cercano a 10000. Para las emulsiones se colocaron 2 gotas y para sistemas acuosos 7 ml de muestra, las cuales fueron necesarias para alcanzar una oscuración cercana al 10%.

Para los sistemas acuosos se realizó una prueba sin ultrasonido y para emulsiones se realizaron dos pruebas, con y sin la aplicación de ultrasonido, a 25 °C y se realizaron dos lavados al finalizar las pruebas. Se realizaron 3 repeticiones.

### **Secuencia de cálculo**

Se obtuvo las curvas de distribución de tamaño de partícula mediante la densidad de población en función al diámetro de partícula ( $\mu\text{m}$ ), se determinaron las modas de cada curva y se calcularon el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación. Se calculó también la dispersión relativa de tamaño (DRT) (García *et al.*, 2009), con la siguiente ecuación.

$$\text{DRT} = \frac{D_{[0.9]} - D_{[0.1]}}{D_{[0.5]}} \quad (1)$$

Donde  $D_{[0.1]}$ ,  $D_{[0.5]}$ ,  $D_{[0.9]}$ , expresan el diámetro de partícula al 10, 50 y 90% del volumen total de la distribución de tamaños.

### **2.2.4.3 Propiedades reológicas**

Tanto para pruebas en cizalla oscilatoria como rotacional se empleó el reómetro Physica MCR 301 (Anton Paar, Austria), usando el dispositivo de cono y placa de 75 mm de diámetro con 1° de ángulo, se controló la temperatura a 25 °C, por medio de un sistema Peltier.

#### **2.2.4.3.1 Cizalla oscilatoria**

##### **Principio de funcionamiento**

Consiste en aplicar una deformación de cizalla oscilatoria de baja amplitud que sigue una variación periódica en el tiempo de forma sinusoidal con cierta frecuencia angular. Mientras que el esfuerzo de cizalla varía con la misma frecuencia, pero presentando un desfase con respecto a la deformación. Dependiendo del ángulo de desfase, el material se comporta como sólido si no hay desfase, si se desfasa completamente (90°) se comporta como líquido, e intermedio como viscoelástico. Es necesario determinar inicialmente la zona de viscoelasticidad lineal, por lo que se realiza un barrido de deformación de cizalla a una frecuencia constante 1 Hz o a 10 rad/s.

Para obtener el espectro mecánico del material, se realiza la prueba manteniendo la deformación constante (dentro de la zona viscoelástica lineal), variando la frecuencia de oscilación. El programa del reómetro proporciona directamente los valores de los módulos de almacenamiento,  $G'$ , viscoso,  $G''$ , complejo,  $G^*$ , viscosidad compleja,  $\eta^*$  (Steffe, 1996).

##### **Procedimiento**

Para las propiedades viscoelásticas de los sistemas acuosos y de las emulsiones se colocó el dispositivo y aproximadamente 2 ml de muestra, se aplicó un programa de 2 etapas, para los sistemas acuosos, en la primera etapa se determinó la zona viscoelástica lineal donde la frecuencia angular permaneció constante a 10 rad/s, se aplicó un barrido de deformación de 0.01 a 0.1%, en la segunda etapa la deformación permaneció constante e igual a 0.05%, variando la frecuencia angular

de 0.1 a 100 rad/s. Para las emulsiones, en la primera etapa se aplicó un barrido de deformación donde la frecuencia angular permaneció constante de 10 rad/s, variando la deformación de 0.001-0.1%, en la segunda etapa la deformación permaneció constante a 0.004%, variando la frecuencia angular de 0.1 a 100 rad/s, tanto para sistemas acuosos como para emulsiones se realizaron 3 repeticiones y se obtuvieron gráficos del espectro mecánico del material.

### **Secuencia de cálculo**

Se realizó el gráfico correspondiente al barrido de deformación de los módulos de pérdida o viscoso,  $G''$ , y el módulo de almacenamiento o elástico,  $G'$ , en función de la amplitud de deformación (zona viscoelástica lineal), así como del espectro mecánico de los módulos  $G''$  y  $G'$  en función de la frecuencia angular y la relación de la tangente del ángulo delta,  $\delta$ , en función de la frecuencia angular.

Se obtuvieron los valores  $a$ ,  $b$ ,  $c$  y  $d$ , de la función potencia de los módulos  $G'$  y  $G''$  con respecto a la frecuencia angular,  $G' = a\omega^b$  y  $G'' = c\omega^d$ .

#### **2.2.4.3.2 Cizalla rotacional**

##### **Principio de funcionamiento**

Se transfiere la cantidad de movimiento desde el cono que rota hacia la placa en la que está contenida la muestra. Se mide el par de torsión o torque del motor, requerido para mover el cono y se transforma a esfuerzo de cizalla por una constante específica para cada rotor. La velocidad de rotación se transforma en velocidad de cizalla con la constante de proporcionalidad respectiva, la viscosidad se calcula a través del cociente del esfuerzo de cizalla entre la velocidad de cizalla. Las curvas de flujo o de viscosidad se elaboran trazando un gráfico del esfuerzo de cizalla o de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla (Martínez- Padilla, 2012).

## **Procedimiento**

Para el comportamiento al flujo de sistemas acuosos y emulsiones se aplicó un programa de 2 etapas, ascenso-descenso, cada una de 50 puntos, tomando la lectura cada 10 s y variando la velocidad de cizalla de 0.01-1000 s<sup>-1</sup>. Se realizaron 3 repeticiones.

## **Secuencia de cálculo**

Se obtuvieron curvas de esfuerzo de cizalla o viscosidad en función de la velocidad de cizalla. Se determinó el modelo reológico correspondiente que proporcionó el mejor ajuste de la curva (primera curva de flujo).

### **2.2.4.4 Estabilidad**

Se empleó el Turbiscan, MA 2000 (Formulacion, Francia).

## **Principio de funcionamiento**

Es un analizador macroscópico de barrido vertical que permite cuantificar la estabilidad de emulsiones. Consiste en un cabezal de lectura que se mueve a lo largo de una celda de vidrio, de fondo plano, que toma lecturas de la luz transmitida o retro dispersada, provenientes de suspensiones coloidales, cada 40 μm en una altura de muestra máxima de 80 mm. El barrido se puede repetir con una frecuencia programada. El cabezal de lectura usa una fuente de luz pulsada cercana al infrarrojo (Turbiscan, 2014).

## **Procedimiento**

Las emulsiones preparadas se colocaron en la celda de medición cilíndrica de vidrio hasta una altura de 60 mm. Para emulsiones que contenían únicamente glucomanano de konjac se realizaron escaneos automáticos con 25 mediciones cada 30 min, realizando 3 réplicas. Para emulsiones que contenían mezclas de glucomanano de konjac y caseinato de sodio se realizaron escaneos cada 30 min durante 10 h a 25 °C. Se realizaron 3 repeticiones.

### **Secuencia de cálculo**

Una vez finalizada la prueba se obtuvieron las curvas de referencia, identificando los picos de transmisión o retrodispersión y el tipo de inestabilidad. Se seleccionó el área de espesor absoluto y la cinética se ajustó a un modelo matemático, lineal [ $y=a+mx$ ] o sigmoideal [ $y=(ax^b)/(c^b+x^b)$ ].

Se obtuvieron los valores  $m$ ,  $a$ ,  $b$  y  $c$ , de la función de espesor del tipo de inestabilidad con respecto al tiempo.

### **2.2.5 Análisis estadístico**

De las propiedades medidas, se calcularon las medidas de tendencia central, promedio, desviación estándar y el coeficiente de variación expresado en porcentaje. En el caso de algún ajuste a modelo matemático, se calcularon el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de los parámetros del modelo. Se realizó un análisis de varianza y una prueba de Tukey para determinar diferencias significativas entre los valores promedio calculados en las muestras.



## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Sistemas acuosos y emulsiones

En este apartado se presentan los resultados de pH, distribución de tamaño de partícula y comportamiento reológico de los sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados. Estos sistemas constituyeron la fase continua de las emulsiones. A manera de comparación, se presentan los resultados de pH, distribución de tamaño de partícula, comportamiento reológico de las emulsiones, finalizando con el estudio de estabilidad realizado en las mismas.

#### 3.1.1 pH

En el Cuadro 3.1. se presentan los valores de pH de sistemas acuosos de GMK solos y en mezcla, así como de las emulsiones de GMK en presencia y ausencia de NaCas al 1%, estos sistemas fueron elaborados con agua purificada y azida de sodio con un pH de 6.28.

El pH de los sistemas acuosos de GMK solos y en mezcla con NaCas disminuyó ligeramente al incrementar la concentración de GMK, presentando a menor concentración de GMK valores más cercanos al pH neutro. La única muestra que presentó diferencia significativa fue la mezcla de GMK al 0.25% y NaCas al 1% (Cuadro 3.1). El GMK es un polisacárido soluble en agua debido a sus grupos carbonilos e hidroxilos (Alonso-Sande *et al.*, 2009), por lo tanto, un aumento en su concentración produce una mayor interacción con el agua, aumentando la concentración de iones hidrógeno y disminuyendo el pH del sistema (Purves *et al.*, 2008).

El pH de las emulsiones en presencia de GMK solo presentó el mismo comportamiento que en los sistemas acuosos, mostrando una diferencia significativa en disoluciones con 0.25% y 1% de GMK.

Cuadro 3.1. pH de sistemas acuosos y emulsiones de glucomanano de konjac (GMK) solo y en mezcla con caseinato de sodio (NaCas) a 25 °C.

<b>Sistemas acuosos</b>	pH	Desviación estándar	<b>Coefficiente de variación</b> [%]
GMK 0.25%	6.36 <sup>d</sup>	0.01	0.1
GMK 0.5%	6.34 <sup>d</sup>	0.07	1.0
GMK 0.75%	6.21 <sup>e</sup>	0.02	0.3
GMK 1%	6.18 <sup>e</sup>	0.01	0.2
NaCas 1%	6.60 <sup>c</sup>	0.05	0.7
GMK 0.25% NaCas 1%	6.93 <sup>a</sup>	0.03	0.4
GMK 0.5% NaCas 1%	6.79 <sup>b</sup>	0.04	0.6
GMK 0.75% NaCas 1%	6.78 <sup>b</sup>	0.01	0.1
GMK 1% NaCas 1%	6.68 <sup>c</sup>	0.02	0.2
<b>Emulsiones</b>			
E-GMK 0.25%	6.52 <sup>C</sup>	0.03	0.4
E-GMK 0.5%	6.46 <sup>CD</sup>	0.01	0.2
E-GMK 0.75%	6.37 <sup>D</sup>	0.03	0.5
E-GMK 1%	6.16 <sup>E</sup>	6.19	0.1
E-NaCas 1%	6.87 <sup>A</sup>	0.01	0.1
E-GMK 0.25% NaCas 1%	6.75 <sup>B</sup>	0.01	0.1
E-GMK 0.5% NaCas 1%	6.79 <sup>AB</sup>	0.09	1.2
E-GMK 0.75% NaCas 1%	6.81 <sup>AB</sup>	0.03	0.4
E-GMK 1% NaCas 1%	6.82 <sup>AB</sup>	0.01	0.1

Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.

Sin embargo, para emulsiones con GMK y NaCas se observó un ligero aumento del pH al aumentar la concentración de GMK, obteniendo diferencia significativa en mezclas de 0.25% GMK y 1% Na Cas, esto se atribuye a la adsorción de la proteína en la interfase (Wilde *et al.*, 2004) lo que permite formar una barrera estérica por sus propiedades electrostáticas, donde al aumentar la concentración de GMK, permite mayor proximidad entre las moléculas de caseína, generando el aumento en el pH.

### 3.1.2 Distribución y tamaño de partícula

En la Figura 3.1 se muestra la distribución de tamaño de partícula de mezclas, en fase acuosa, de GMK a diferentes concentraciones con NaCas al 1% sin homogenizar, ya que el GMK solo no se puede medir. La distribución de tamaño de partícula fue monomodal para concentraciones de 0.25 y 0.5% de GMK, con mayor polidispersidad para las concentraciones de 0.75 y 1% GMK. La polidispersidad se

evaluó a través de la dispersión relativa de tamaño de glóbulo (DRT), la cual se reporta en el Cuadro 3.2. Se observó que al aumentar la concentración de GMK el tamaño de partícula aumentó, mientras que la densidad de población fue disminuyendo. La concentración de 1% de GMK presentó mayor polidispersidad, en cambio, en el sistema acuoso de NaCas solo, se obtuvo una distribución monomodal más estrecha y un menor tamaño de partícula promedio.

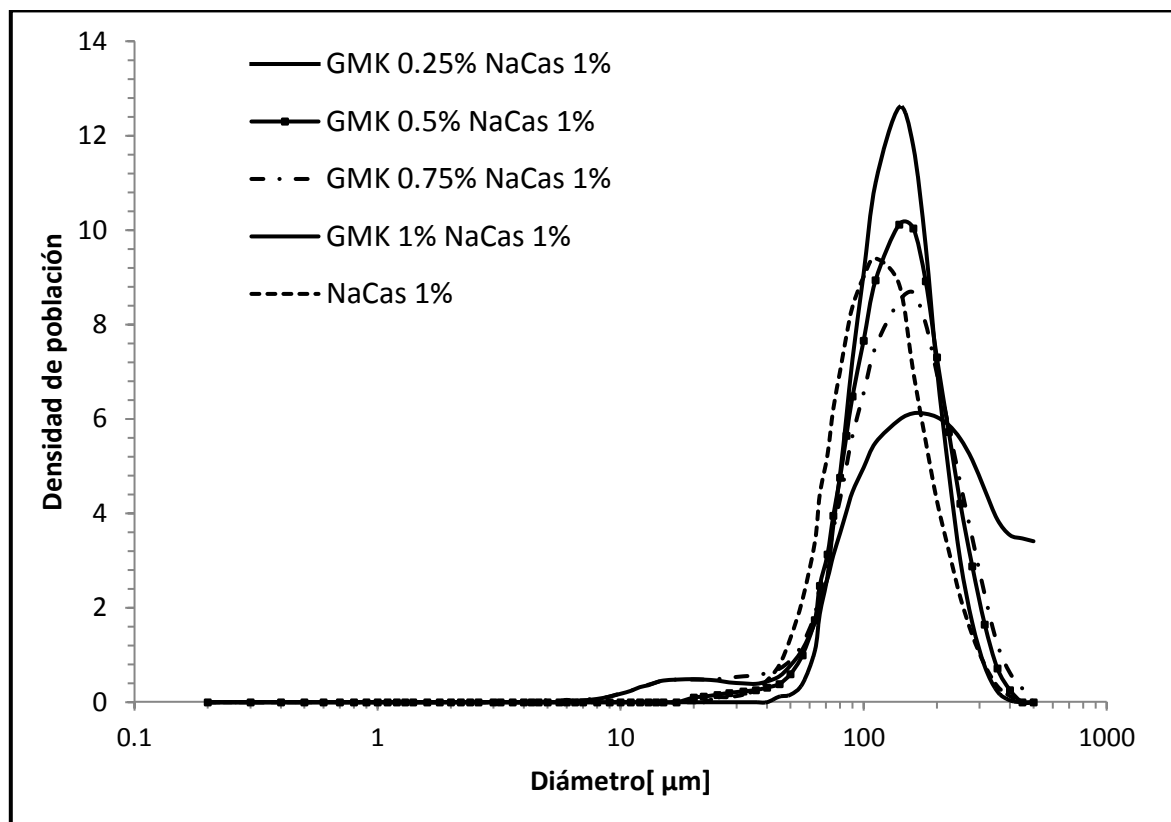


Figura 3.1 Distribución de tamaño de partícula de mezclas de GMK y NaCas en medio acuoso.

En la Figura 3.2 se presenta la distribución de tamaño de partícula de sistemas homogeneizados de mezclas acuosas de GMK y NaCas a 1%. A diferencia de las muestras no homogeneizadas, la distribución de tamaño de partícula fue monomodal para todas las concentraciones, además de que se observó menor polidispersidad y la densidad de partículas aumentó al incrementar la concentración de GMK.

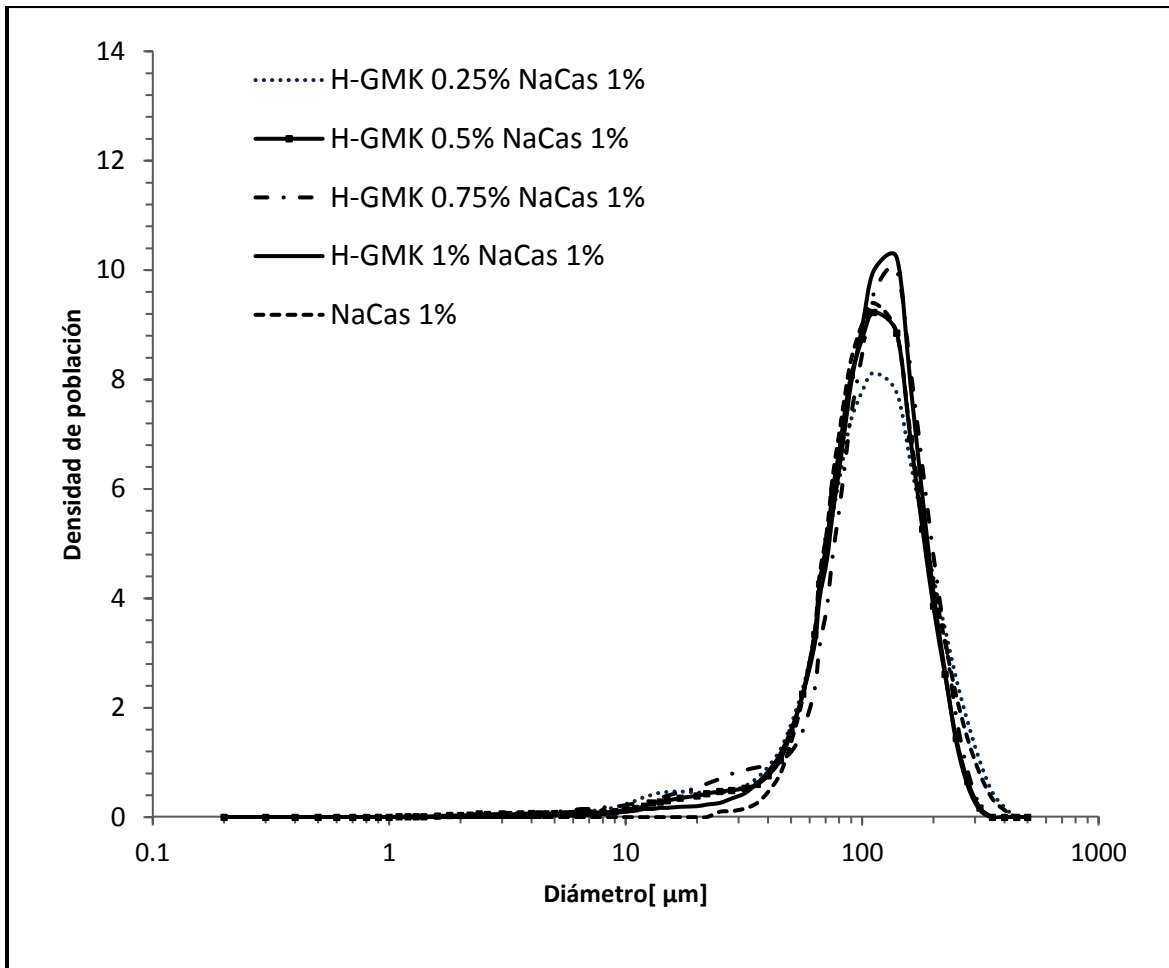


Figura 3.2 Distribución de tamaño de partícula de sistemas acuosos homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas 1%.

En el Cuadro 3.2 se muestra el diámetro medio volumétrico ( $D [4,3]$ ) y la dispersión relativa del tamaño de gota (DRT), de los diferentes sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas al 1%. En los sistemas acuosos sin homogeneizar se observó que al aumentar la concentración de GMK hubo un ligero aumento en el tamaño de partícula, mostrando únicamente diferencia significativa en sistemas de GMK al 1%; este comportamiento fue similar al reportado en mezclas de ovoalbúmina y GMK (Zhou, *et al.*, 2014), así como un aumento en la dispersión del tamaño de gota.

Cuadro 3.2 Diámetro medio volumétrico y DRT de sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas 1%.

<b>Sistemas acuosos sin homogeneización</b>		
	<b>Diámetro promedio [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>DRT</b>
GMK 0.25% NaCas 1%	134 $\pm$ 4.1 <sup>b</sup>	0.87 $\pm$ 0.08 <sup>D</sup>
GMK 0.5% NaCas 1%	143 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>	1.11 $\pm$ 0.04 <sup>CD</sup>
GMK 0.75% NaCas 1%	142 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>	1.50 $\pm$ 0.15 <sup>B</sup>
GMK 1% NaCas 1%	179 $\pm$ 6.0 <sup>a</sup>	1.96 $\pm$ 0.04 <sup>A</sup>
NaCas 1%	118 $\pm$ 3.1 <sup>c</sup>	1.11 $\pm$ 0.14 <sup>CD</sup>
<b>Sistemas acuosos con homogeneización</b>		
	<b>Diámetro promedio [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>DRT</b>
H-GMK 0.25% NaCas 1%	112 $\pm$ 6.8 <sup>c</sup>	1.11 $\pm$ 0.07 <sup>CD</sup>
H-GMK 0.5% NaCas 1%	105 $\pm$ 6.0 <sup>c</sup>	1.14 $\pm$ 0.11 <sup>CD</sup>
H-GMK 0.75% NaCas 1%	110 $\pm$ 5.7 <sup>c</sup>	1.25 $\pm$ 0.03 <sup>BC</sup>
H-GMK 1% NaCas 1%	112 $\pm$ 2.8 <sup>c</sup>	1.11 $\pm$ 0.01 <sup>CD</sup>

$\pm$  Desviación estándar. Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.

Sin embargo, en cuanto a la polidispersidad se observaron diferencias significativas en todos los sistemas, exceptuando las mezclas de 0.25% y 0.5% de GMK (Cuadro 3.2). En comparación, el tamaño de partícula de NaCas fue menor que el de las disoluciones en mezcla y mayor que los valores reportados para micelas de caseína (Wang *et al.*, 2015; Fox Brodtkorb, 2008), lo que indicó la formación de agregados de caseína (Liang *et al.*, 2014).

Por otro lado, el GMK, debido a su alto peso molecular (Luo *et al.*, 2013) permite una mayor conexión entre cadenas, por lo que un incremento en la concentración generó una mayor proximidad entre macromoléculas favoreciendo la interacción entre ellas (Alonso-Sande *et al.*, 2009), lo que explica la formación de agregados de mayor tamaño.

Para los sistemas acuosos homogeneizados, a diferencia de los sistemas acuosos sin homogeneizar, no presentaron diferencia significativa en el diámetro medio y únicamente diferencia significativa para mezclas de 0.75% GMK y 1% NaCas en la

distribución del tamaño de partícula al aumentar la concentración de GMK, mostrando incluso menor polidispersidad, lo cual es posible apreciar en el Cuadro 3.2, al comparar los valores de diámetro promedio y los valores de la dispersión relativa de tamaños.

Lo anterior demuestra que el proceso de homogeneización forma sistemas acuosos más uniformes en la fase dispersa, por la aplicación de las fuerzas de cizalla, posiblemente eliminando la formación de agregados de GMK y manteniendo los agregados de caseína, ya que tanto los valores medios de las mezclas como la DRT fueron similares a la dispersión de caseinato de sodio.

En lo que respecta al tamaño de partícula registrado en las emulsiones formadas, en la Figura 3.3 se presenta la distribución de tamaño de partícula sin la aplicación de ultrasonido de emulsiones que contienen únicamente GMK a diferentes concentraciones y la emulsión de NaCas al 1%, la distribución de tamaño de partícula fue polidispersa, con el aumento en la concentración de GKM incrementó el tamaño de partícula a partir de la concentración de 0.5%.

Por su lado, las emulsiones a base de NaCas presentaron menor tamaño de partícula que las emulsiones de GMK, sin embargo, mostraron un comportamiento bimodal como el reportado por Hu *et al.* (2016), con mayor densidad de población para tamaños de aproximadamente 3.5 y 100  $\mu\text{m}$ . Los diámetros promedio para las emulsiones a base de GMK solo sin ultrasonido presentaron diferencias significativas, mientras que las emulsiones con mezcla de GMK y NaCas no presentaron diferencia para las concentraciones de 0.5% y 1% de GMK. Los sistemas con variación en la dispersión relativa de tamaño de glóbulo fueron a base de 0.25% y 0.75% GMK en mezcla con NaCas 1% (Cuadro 3.3).

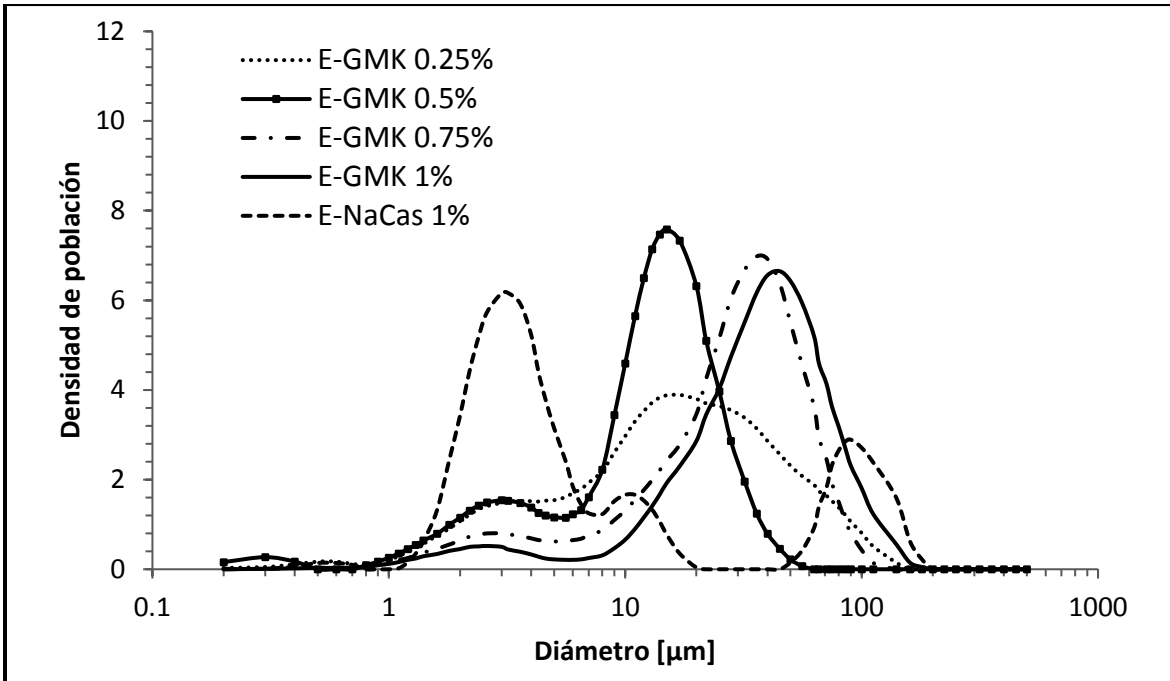


Figura 3.3 Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido de emulsiones de GMK a diferentes concentraciones y NaCas.

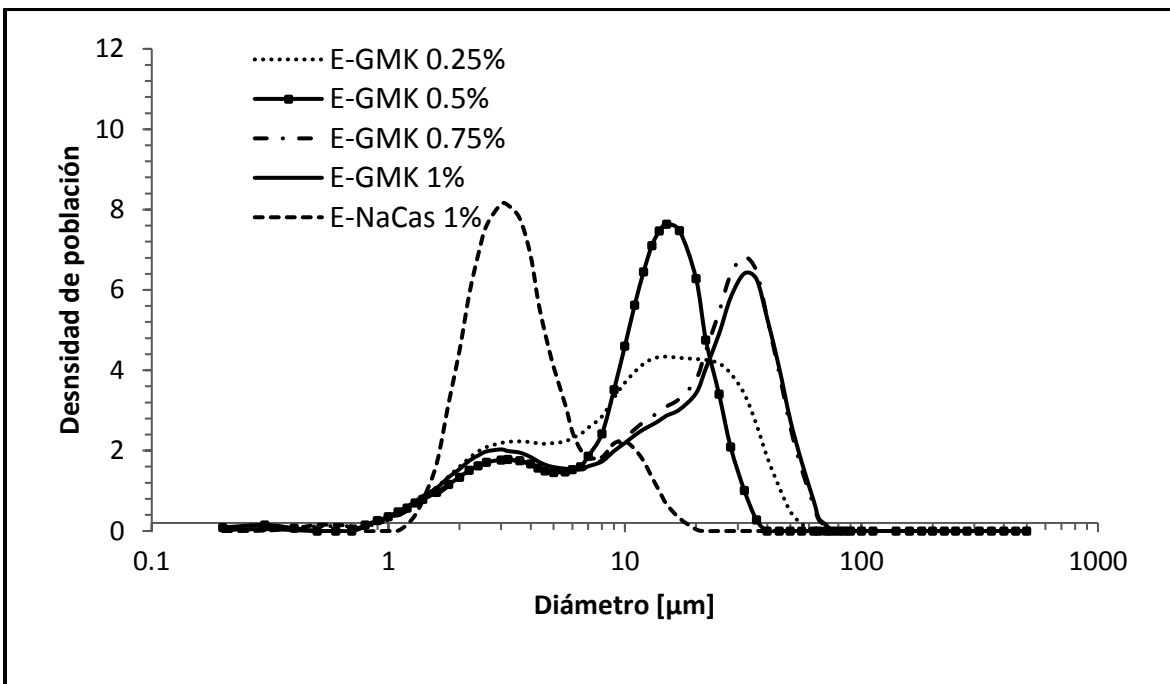


Figura 3.4 Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido de emulsiones de GMK a diferentes concentraciones y NaCas.

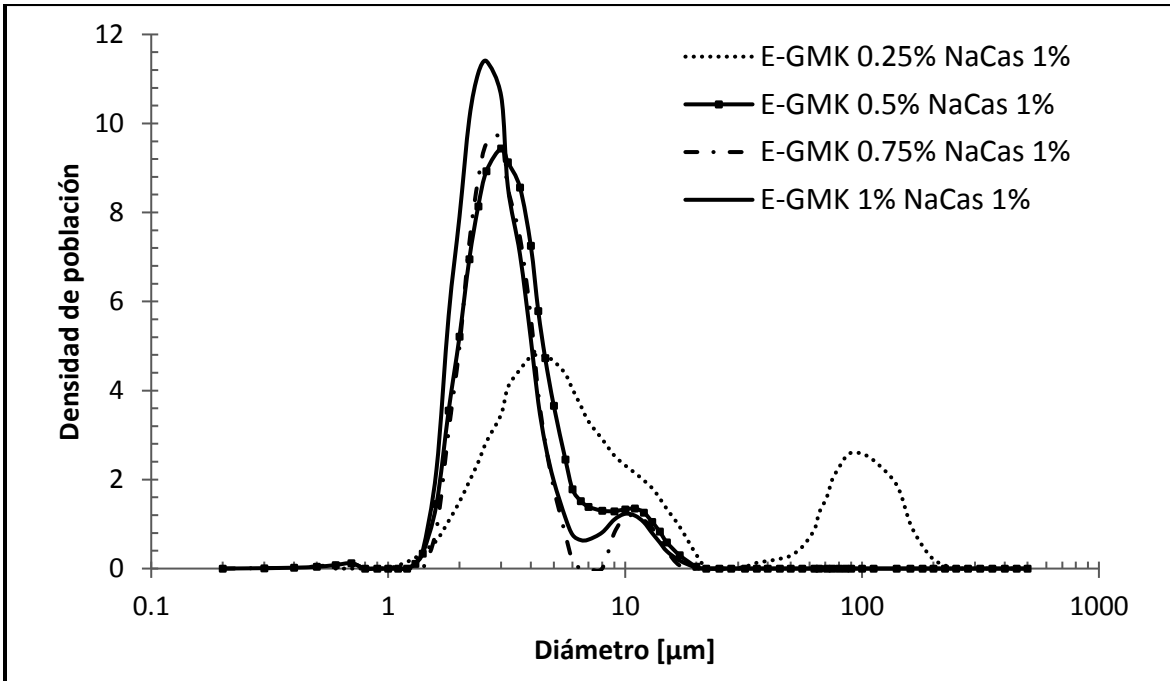


Figura 3.5 Distribución de tamaño de partícula sin ultrasonido de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas.

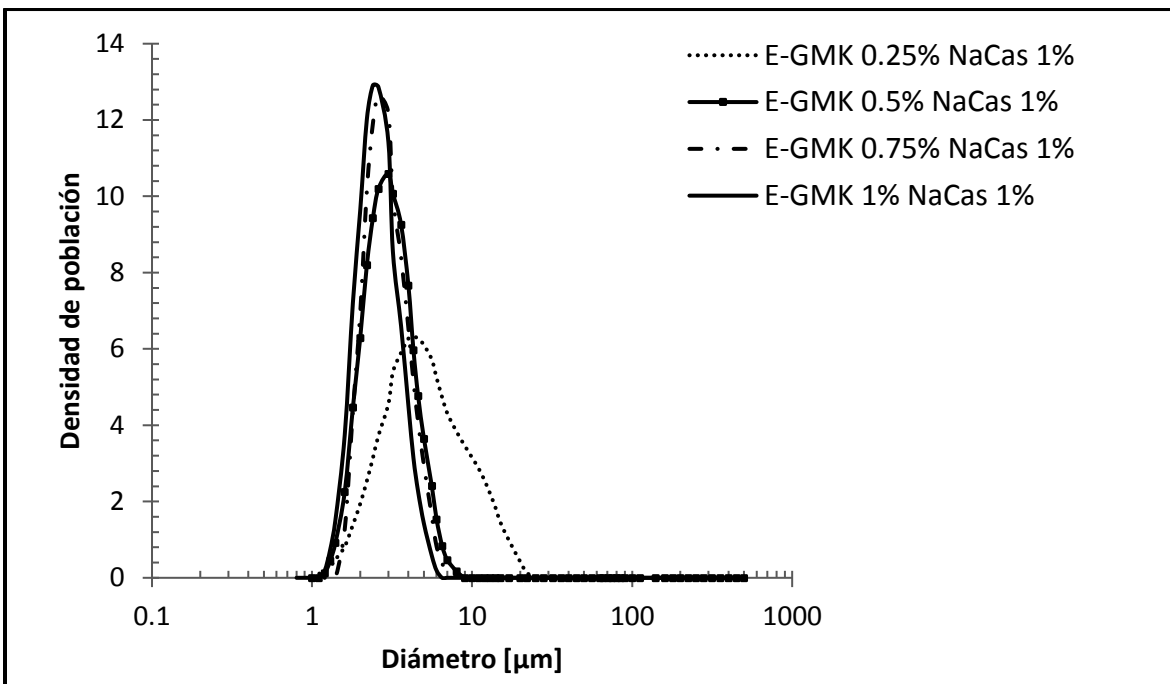


Figura 3.6 Distribución de tamaño de partícula con ultrasonido de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas.



Cuadro 3.3 Diámetro medio volumétrico y DRT emulsiones sin ultrasonido y con ultrasonido de GKM en presencia y ausencia de NaCas 1%.

<b>Emulsiones sin ultrasonido</b>	<b>Diámetro promedio [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>DRT</b>
E-GMK 0.25%	23.10 <sup>bc</sup> ±3.95	3.41 <sup>C</sup> ±0.53
E-GMK 0.5%	13.29 <sup>d</sup> ±0.90	1.79 <sup>C</sup> ±0.15
E-GMK 0.75%	30.41 <sup>b</sup> ±0.65	1.77 <sup>C</sup> ±0.04
E-GMK 1%	40.53 <sup>a</sup> ±2.39	1.70 <sup>C</sup> ±0.15
E-GMK 0.25% NaCas 1%	28.78 <sup>bc</sup> ±4.44	18.63 <sup>B</sup> ±1.53
E-GMK 0.5% NaCas 1%	3.42 <sup>e</sup> ±0.59	1.29 <sup>C</sup> ±0.48
E-GMK 0.75% NaCas 1%	21.21 <sup>cd</sup> ±4.33	27.47 <sup>A</sup> ±1.94
E-GMK 1% NaCas 1%	2.93 <sup>e</sup> ±0.54	1.05 <sup>C</sup> ±0.31
<b>Emulsiones con ultrasonido</b>	<b>Diámetro promedio [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>DRT</b>
E-GMK 0.25%	13.62 <sup>b</sup> ±0.15	2.48 <sup>A</sup> ±0.02
E-GMK 0.5%	11.39 <sup>c</sup> ±0.40	1.63 <sup>C</sup> ±0.02
E-GMK 0.75%	19.49 <sup>a</sup> ±0.45	2.04 <sup>B</sup> ±0.09
E-GMK 1%	19.63 <sup>a</sup> ±0.76	2.20 <sup>B</sup> ±0.17
E-NaCas 1%	4.14 <sup>d</sup> ±0.06	2.04 <sup>B</sup> ±0.05
E-GMK 0.25% NaCas 1%	5.15 <sup>d</sup> ±0.02	2.07 <sup>B</sup> ±0.01
E-GMK 0.5% NaCas 1%	2.99 <sup>e</sup> ±0.01	0.95 <sup>D</sup> ±0.01
E-GMK 0.75% NaCas 1%	2.74 <sup>e</sup> ±0.01	0.80 <sup>D</sup> ±0.003
E-GMK 1% NaCas 1%	2.57 <sup>e</sup> ±0.03	0.83 <sup>D</sup> ±0.003

± Desviación estándar. Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.

Al aplicar ultrasonido durante la medición, la distribución de tamaños de partícula de las emulsiones de GMK, en comparación con las emulsiones sin ultrasonido presentó mayores densidades de población para diámetros menores, desapareciendo las partículas de tamaños mayores a 100  $\mu\text{m}$ , tal como se puede observar en la Figura 3.4. Esto fue más notable en la emulsión de NaCas para la cual la distribución de tamaños de partícula se ubicó ahora en tamaños menores a 20  $\mu\text{m}$ , esto probablemente atribuible a disgregación de glóbulos de aceite floculados.

Los diámetros promedio y la DRT para emulsiones a base de GMK solo con ultrasonido no presentaron diferencia significativa a partir de 0.75% de GMK, mientras que para mezclas de GMK y NaCas fue a partir de 0.5% de GMK.

Aunque en las emulsiones de mezclas de GMK y NaCas se apreció una reducción de tamaño de 5.15 a 2.57  $\mu\text{m}$ , la distribución de tamaños de los glóbulos siguió siendo polidispersa, sin observarse alguna tendencia clara en los valores de la DRT. Es decir, cuando a los sistemas antes descritos se aplicó ultrasonido, se obtuvo menor diámetro medio, lo que indicó la presencia de flóculos y posibles agregados de macromoléculas, formando probablemente una emulsión floclulada por puenteo (Binks, 1998). Además, se observó un mayor grado de disgregación de partículas para concentraciones menores o iguales a 0.5 % GMK, comprobando la formación de flóculos, mientras que, para concentraciones mayores a éstas, hubo menor disgregación de partículas, generando además de flóculos, posibles agregados de macromoléculas, ya que a mayor concentración de GMK es posible una mayor interacción entre ellas (Alonso-Sande *et al.*, 2009).

En emulsiones elaboradas con mezclas de GMK y NaCas al 1% sin ultrasonido no fue posible identificar una tendencia del tamaño de partícula en función de la concentración de GMK debido a que la emulsión con 0.25% de GMK, presentó una clara distribución bimodal donde las mayores densidades de población se centraron en diámetros de partícula de alrededor de 3 y 100  $\mu\text{m}$ , mientras que para el resto de las concentraciones la mayor densidad de población se ubicó principalmente en tamaños cercanos a 3  $\mu\text{m}$ ; si bien estas emulsiones presentaron polidispersidad, ésta se redujo en comparación con las emulsiones elaboradas con los biopolímeros individuales.

Cuando se empleó ultrasonido durante la medición, se produjo una distribución del diámetro de partícula monomodal. La adición de GMK a emulsiones a base de NaCas promovió un menor tamaño de glóbulo. De la misma manera que las emulsiones de baja concentración de GMK solo; en los sistemas de mezclas de GMK y NaCas fue evidente la presencia de partículas, de menor tamaño, debido a la disgregación de flóculos al aplicar ultrasonido, siendo más evidente para la concentración de 0.25% de GMK.

Esto se atribuyó a que el caseinato puede adsorberse rápidamente en la interfase líquido-líquido debido a tres de sus cuatro fosfoproteínas, principalmente,  $\alpha_{S1}$ ,  $\alpha_{S2}$ , y  $\beta$ -caseína, por sus regiones hidrófobas e hidrófilas, lo que conduce a la formación de interacciones estéricas y electrostáticas, sin embargo cuando se tiene una baja concentración de GMK, las cadenas de GMK se encuentran más alejadas (Alonso-Sande *et al.* 2009) permitiendo mayor movimiento entre los glóbulos (Gallegos *et al.*, 2004), formando tamaños de flóculos mayores, conduciendo a emulsiones floculadas por formación de puente polimérico entre las cadenas de GMK (Binks, 1998).

Por lo contrario, la disminución de tamaño y presencia de flóculos al incrementar la concentración de GMK fue probablemente debida a un impedimento en el movimiento de los glóbulos e interacciones más fuertes entre polisacárido-polisacárido que proteína-polisacárido.

### **3.1.3 Propiedades reológicas**

#### **3.1.3 1 Propiedades viscoelásticas**

En la Figura 3.7 se presenta el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdida ( $G''$ ) en función de la deformación ( $\gamma$ ) que delimita la zona de viscoelasticidad lineal, para sistemas acuosos esta zona se encontró en valores de deformación de 0.01-0.1% (frecuencia angular constante de 10 rad/s), se seleccionó una deformación de 0.05% para obtener los espectros mecánicos.

Para emulsiones, los valores de deformación aplicados fueron de 0.001-0.1 % y se seleccionó una deformación de 0.004%.

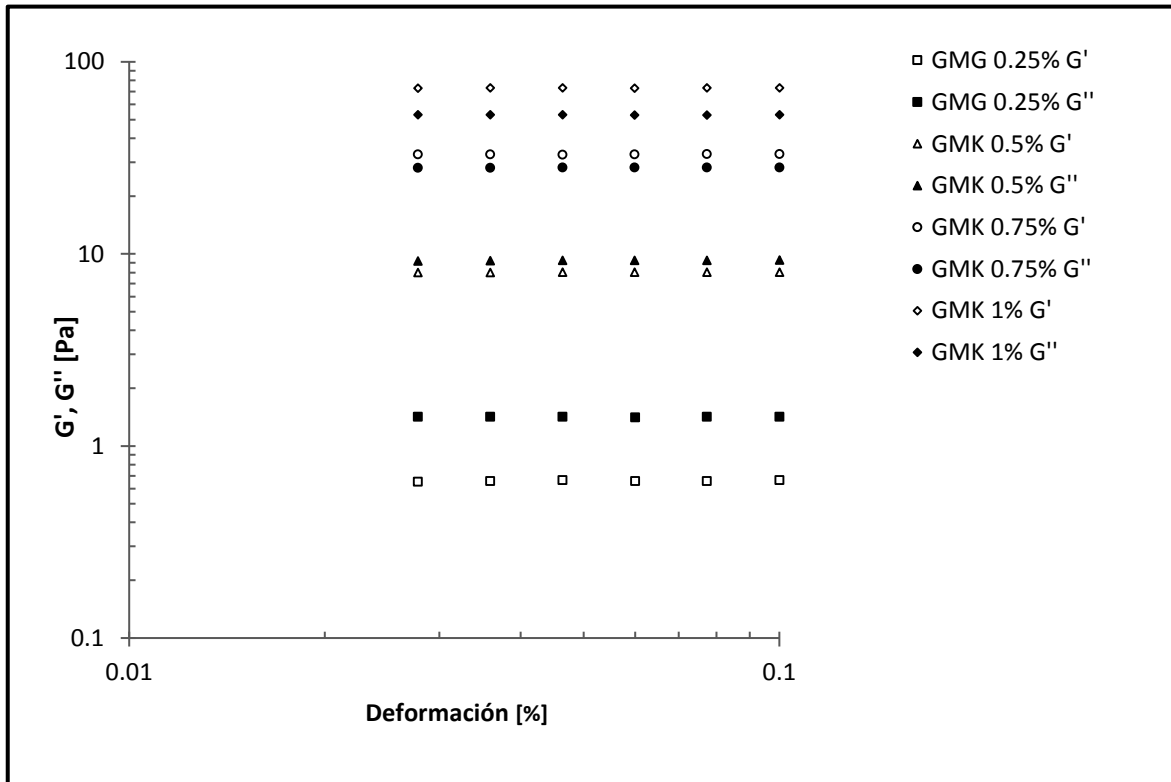


Figura 3.7 Barrido de deformación que delimita la zona viscoelástica lineal de GMK a diferentes concentraciones.

En la Figura 3.8 se presenta el espectro mecánico (la evolución de  $G'$  y  $G''$  en función de la frecuencia angular) de GMK a diferentes concentraciones, observando un aumento de los módulos  $G'$  y  $G''$ , al aumentar la concentración de GMK, predominando a baja frecuencia angular el módulo  $G''$ .

En las diferentes concentraciones de GMK se observó un punto de intersección entre los módulos  $G'$  y  $G''$  causando una inversión de éstos. Lo que indica que la interacción de las cadenas moleculares fue transitoria y no permanente (Huang *et al.*, 2016). Al disminuir la concentración de GMK se desplazó el punto de intersección entre los módulos  $G'$  y  $G''$  hacia una mayor frecuencia angular, en donde los valores de los módulos son cercanos entre ellos (Ratcliffe *et al.*, 2013).

El espectro obtenido presenta comportamiento similar al de una disolución concentrada, de acuerdo con los gráficos reportados por Steffe (1996). Cuando el

GMK se mezcla en agua, las moléculas de glucosa y manosa la absorben y se hinchan, por lo que un aumento en la concentración presenta mayor número y aproximación de moléculas, promoviendo la interacción entre ellos, obteniendo mayores zonas de unión (Cubero *et al.*, 2002).

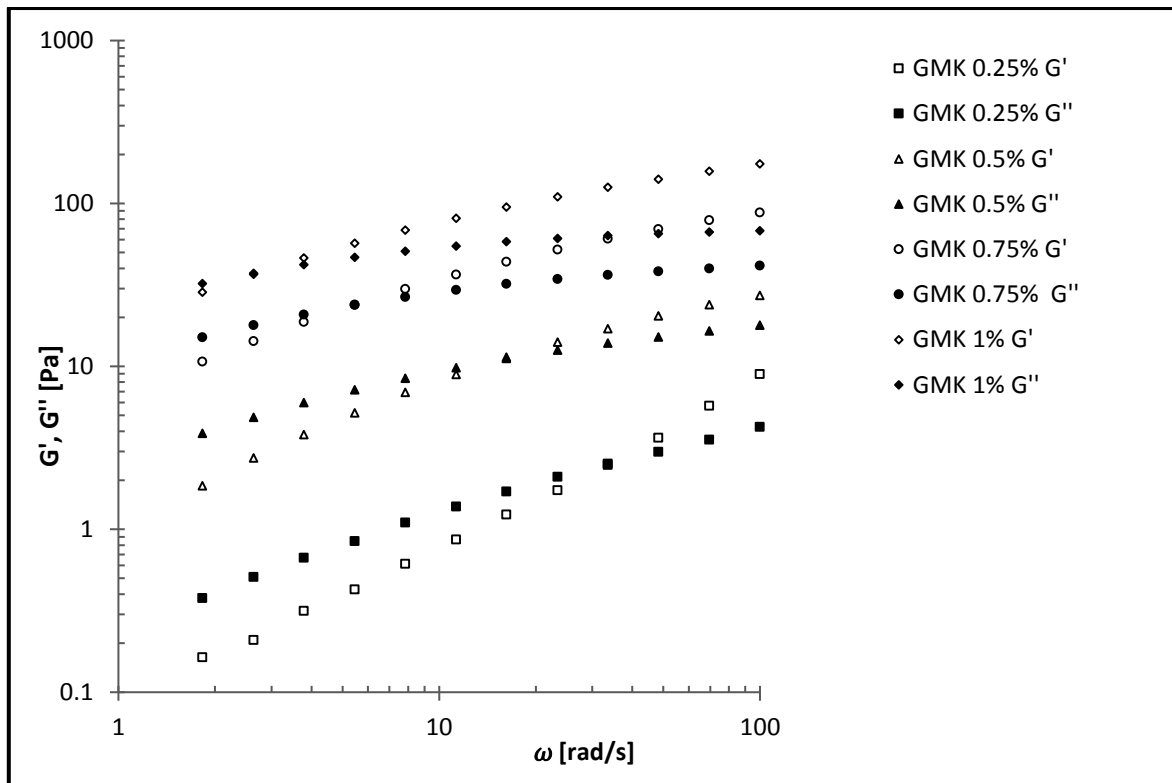


Figura 3.8 Módulos de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de sistemas acuosos de GMK a diferentes concentraciones.

En la Figura 3.9 se presenta el espectro mecánico de mezclas de GMK y NaCas al 1%, de la misma manera que sistemas acuosos de GKM, se observa un aumento de los módulos  $G'$  y  $G''$ , al aumentar la concentración de GMK, predominando a baja frecuencia angular el módulo  $G''$ , además, a concentraciones de 0.5% o mayores, a alta frecuencia angular, se invierte el comportamiento, predominando el módulo  $G'$ , observando un punto de intersección.

Al aumentar la concentración de GMK, se desplaza el punto de intersección entre los módulos  $G'$  y  $G''$ , hacia una menor frecuencia angular. Este comportamiento es visto en las regiones de interacción de disoluciones poliméricas, donde a bajas frecuencias hay suficiente tiempo para desintegrar la estructura que había formado la cadena dentro del periodo de oscilación, comportándose como un fluido viscoso. Sin embargo, a altas frecuencias las cadenas moleculares son capaces de resistir el desenlace, ya que la frecuencia de oscilación excedió la escala de tiempo de reordenamiento molecular y las interacciones intermoleculares no tuvieron suficiente tiempo para desintegrarse bajo el ciclo de oscilación, exhibiendo un comportamiento elástico (Kobayashi *et al.*, 2002, Luo *et al.*, 2013, Huang *et al.*, 2016).

A diferencia de los sistemas de GMK solo, la muestra con 0.25% de GMK y NaCas no presentó punto de intersección entre los módulos y se observa a alta frecuencia angular una disminución del módulo  $G'$ , esto podría ser debido a la baja concentración de GMK, además, la interacción de proteínas de leche ( $\text{pH} = \text{pI}$ ) con polisacáridos neutros pueden ser termodinámicamente incompatibles, causando separación segregativa, formando dos diferentes fases, cada fase rica en una de las dos macromoléculas (Abhyankar *et al.*, 2011). Sin embargo, el caseinato de sodio tiene grupos cargados negativamente ( $\text{pH} > \text{pI}$ ) lo que probablemente generó atracciones débiles con el polisacárido (Dickinson, 1993), interfiriendo por su forma micelar.

A medida que disminuye la concentración de GMK, se desplaza el punto de intersección hacia frecuencias más altas representando interacciones más débiles (Luo *et al.*, 2013), siendo evidente, que la viscoelasticidad de las mezclas fueron predominantes por la presencia de GMK. El espectro mecánico de sistemas acuosos homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas al 1% se presenta en la Figura 3.10, observando un comportamiento similar al de sistemas acuosos sin homogeneizar donde los módulos  $G'$  y  $G''$  aumentan al incrementar la concentración de GMK y el sistema de 0.25% GMK y NaCas no presentó punto de intersección

entre los módulos, sin embargo el módulo  $G'$  presenta valores más bajos a frecuencias angulares menores, por lo que los modos se encuentran más alejados entre ellos para frecuencias angulares de 1-20 rad/s.

Para concentraciones de 0.5% de GMK o mayores, a diferencia de los sistemas acuosos sin homogeneizar, el punto de intersección se observa a mayor frecuencia angular, donde al aumentar la concentración de GMK, se desplazó el punto de intersección hacia una menor frecuencia angular.

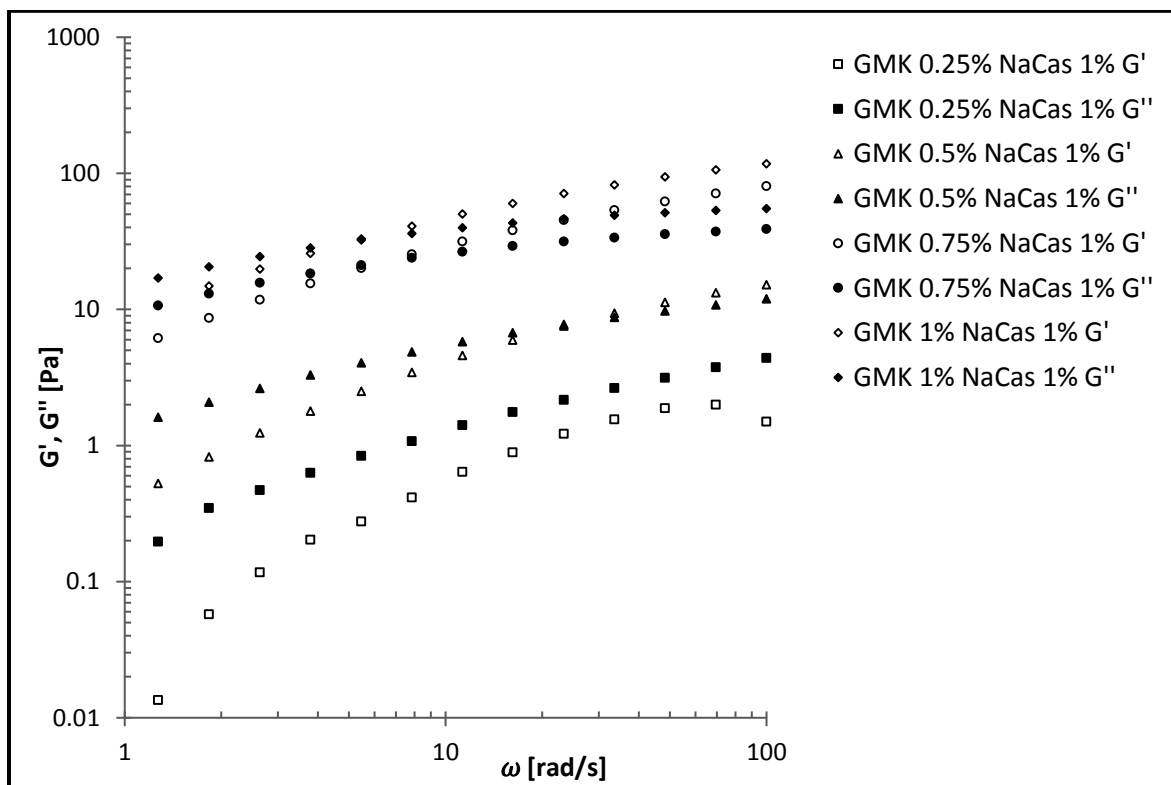


Figura 3.9 Módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y de pérdida ( $G''$ ) en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de mezclas de GMK a diferentes concentraciones y NaCas en fase acuosa.

Como fue mencionado el empleo de bajas velocidades de homogenización, no causa efecto en la disociación de las micelas de caseína (Fox y Brodkorb, 2008), por lo tanto propicia un cambio estructural en las moléculas de GMK, desfavoreciendo la formación de puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas

entre las cadenas de glucomanano, así como menor longitud de conexión de las cadenas (Alonso-Sande *et al.*, 2009), obteniendo disoluciones más débiles en comparación con las mezclas sin homogeneizar.

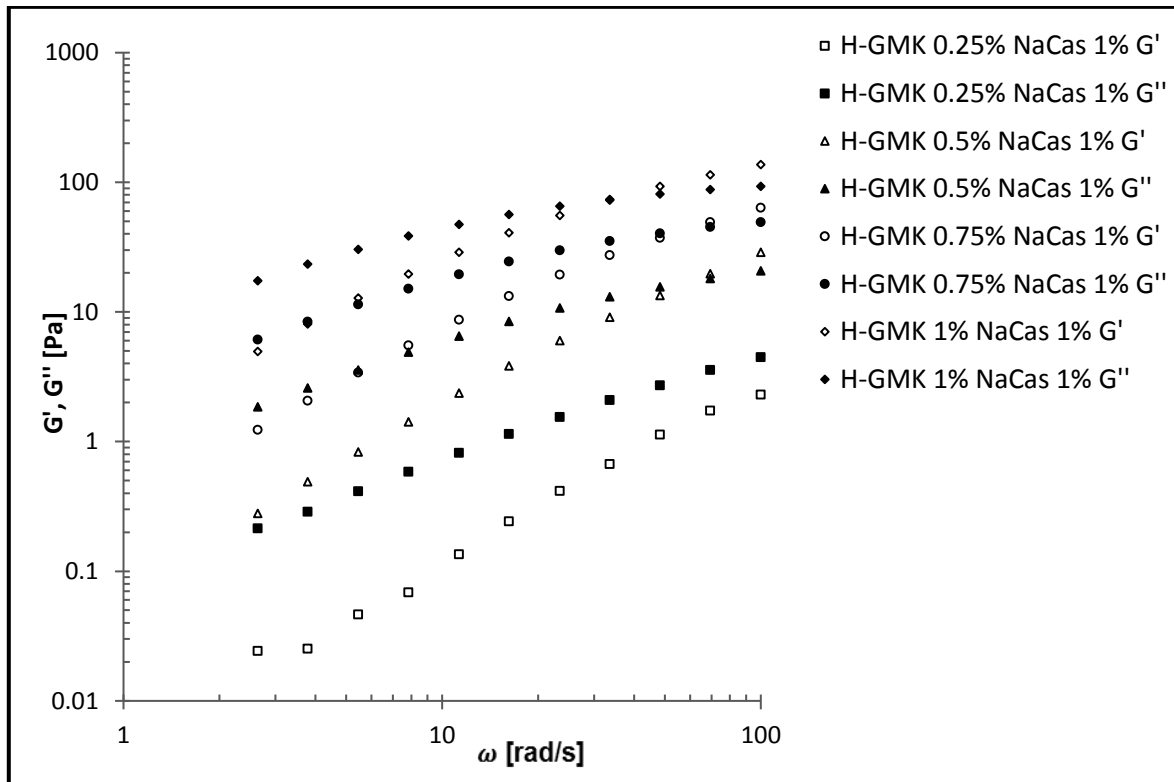


Figura 3.10 Módulos  $G'$  y  $G''$  en función de la frecuencia angular de mezclas de GMK a diferentes concentraciones y NaCas en sistemas acuosos homogeneizados.

En el Cuadro 3.4 se presenta el tiempo característico de sistemas acuosos sin homogeneizar de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1% y sistemas homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas. El tiempo característico se determinó con el inverso de la frecuencia angular correspondiente al punto de intersección. Se observaron diferencias significativas en la frecuencia angular de cruce entre las mezclas de GMK y NaCas para sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados, excepto los sistemas de 0.5% y 1% respectivamente, mientras que todos los sistemas a base de GMK solo mostraron variación.



Para los diferentes sistemas acuosos el tiempo característico incrementó al aumentar la concentración de GMK. Lo anterior indica un mayor requerimiento de tiempo de relajación de las cadenas moleculares (Kobayashi *et al.*, 2002). Por lo que entre más fuerte es la interacción, mayor es el tiempo característico. Los sistemas acuosos homogeneizados presentaron valores aun menores que el GKM solo, lo que indica que las caseínas interfirieron en la interacción polisacárido-polisacárido.

Cuadro 3.4 Tiempo característico ( $\lambda$ ) de sistemas acuosos sin homogeneizar y sistemas acuosos homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas 1%.

Sistemas acuosos sin homogeneizar	$\omega$ [rad/s]	Desviación estándar	$\lambda$ [s]
GMK 0.25%	32.40	1.43	0.030 <sup>de</sup>
GMK 0.5%	19.20	2.21	0.052 <sup>d</sup>
GMK 0.75%	6.37	1.62	0.156 <sup>bc</sup>
GMK 1%	2.69	0.32	0.372 <sup>a</sup>
GMK 0.5% NaCas1%	24.20	1.13	0.041 <sup>de</sup>
GMK 0.75% NaCas 1%	7.33	0.74	0.136 <sup>c</sup>
GMK 1% NaCas 1%	5.46	0	0.183 <sup>b</sup>
Sistemas acuosos homogeneizadas	$\omega$ [rad/s]	Desviación estándar	$\lambda$ [s]
H-GMK 0.5% NaCas 1%	66.30	3.51	0.015 <sup>e</sup>
H-GMK 0.75% NaCas 1%	56.80	1.41	0.018 <sup>e</sup>
H-GMK 1% NaCas 1%	33.10	0.93	0.029 <sup>de</sup>

Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.

El espectro mecánico de emulsiones de mezclas de GKM y NaCas al 1% se presenta en la Figura 3.11 observando un incremento de los módulos  $G'$  y  $G''$  al aumentar la concentración de GMK, a diferencia de los sistemas acuosos, no hay intersección de los módulos, éstos se encuentran más separados entre ellos y predominando en cada uno de los sistemas el módulo de almacenamiento  $G'$ . Lo anterior indica un sistema más estructurado con la probable presencia de flóculos

formados en el sistema. La floculación puede conducir a la formación de una red cuando se tienen altas concentraciones de fase dispersa y aunado a esto un polímero de alto peso molecular como el GMK (Xiao *et al.*, 2015), el cual induce a la floculación de partículas o glóbulos de la emulsión, obteniendo emulsiones floculadas por puenteo, observado en la Figura 3.5 y Figura 3.6, las cuales responden elásticamente a pequeñas deformaciones a frecuencias muy bajas. La red de glóbulos agregados presenta un carácter más elástico a bajas frecuencias angulares debido a que las fuerzas aplicadas no son suficientes para superar las fuerzas que mantienen los glóbulos unidos (Mc. Clements, 1999; Blinks, 1998).

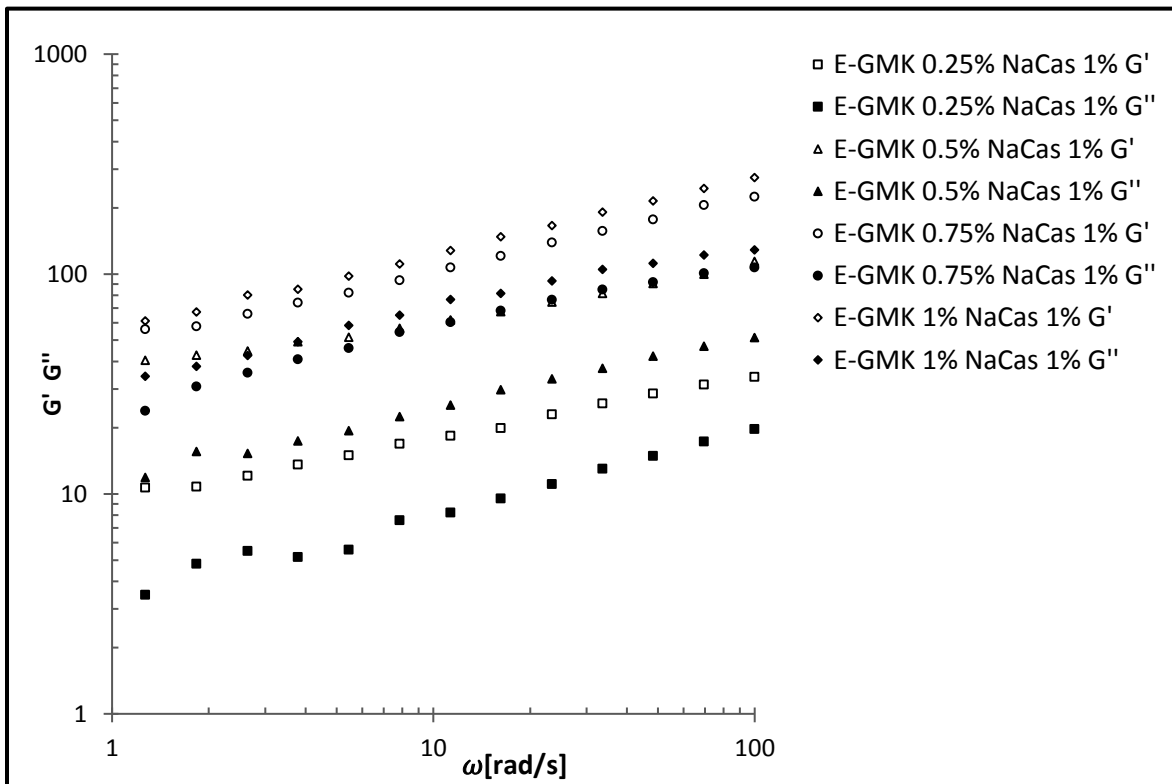


Figura 3.11 Módulos  $G'$  y  $G''$  en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de emulsiones de mezclas de GMK a diferentes concentraciones y NaCas.

En la Figura 3.12 se presenta la comparación del espectro mecánico de sistemas acuosos homogeneizados, sin homogeneizar y de las emulsiones de 0.25% GMK y NaCas al 1%. Se observa que los valores de los módulos  $G'$  y  $G''$  son menores en sistemas acuosos homogeneizados y mayores en la emulsión.

El módulo  $G''$  predominó tanto en sistemas acuosos y sistemas acuosos homogeneizados, mientras que el módulo  $G'$  predominó en emulsiones similar al estudio realizado por Hu *et al.* (2016). Para sistemas acuosos homogeneizados los valores de los módulos a baja frecuencia angular se encuentran más alejados entre ellos, a baja frecuencia angular hay suficiente tiempo para romper las posibles interacciones durante el tiempo de oscilación, mostrando un comportamiento de una solución diluida (Kobayashi *et al.*, 2002). La dependencia de los módulos en función a la frecuencia angular disminuye, al formar la emulsión con 30% de fase oleosa.

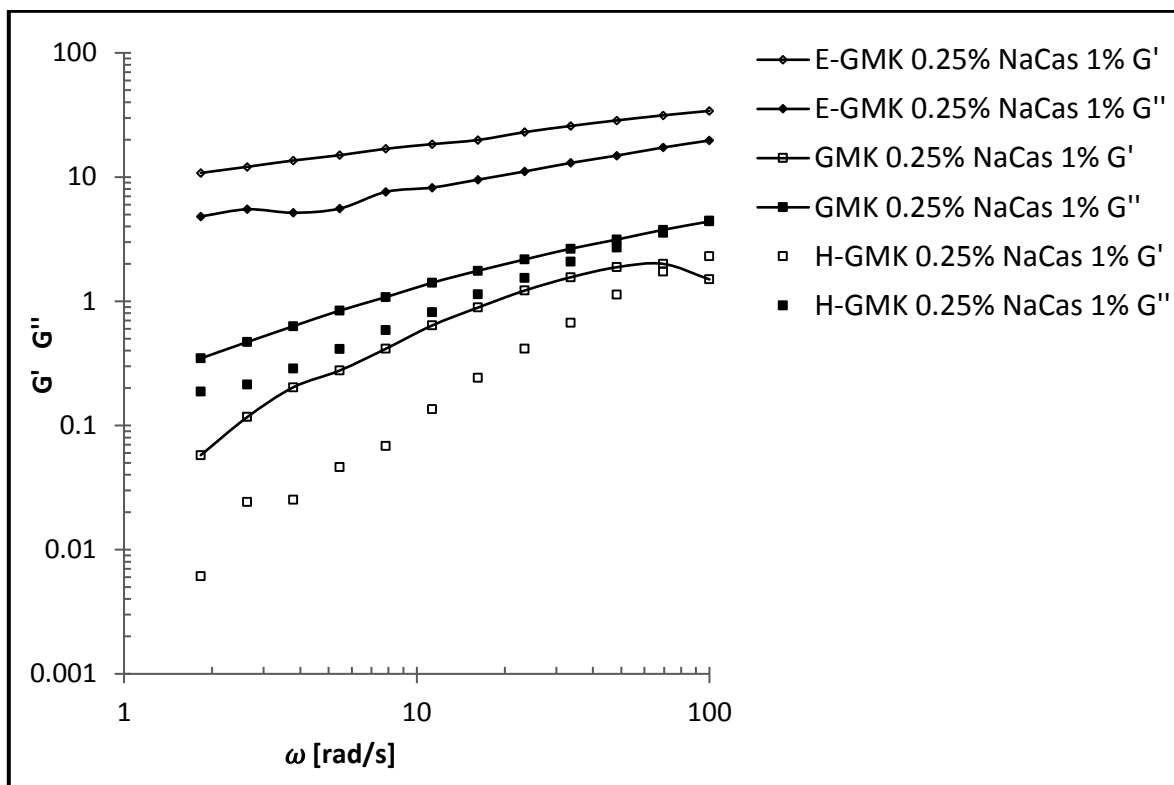


Figura 3.12 Módulos  $G'$  y  $G''$  en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de sistemas acuosos sin homogeneizar, homogeneizados y emulsiones (GMK 0.25% y NaCas al 1%).

En la Figura 3.13 se presenta el espectro mecánico de sistemas acuosos homogeneizados, sin homogeneizar y la emulsión de mezclas de 1% GMK y NaCas al 1%. En comparación a los sistemas de baja concentración de GMK, presentan valores mayores de  $G'$  y  $G''$ .

Los valores de los módulos  $G'$  y  $G''$  son mayores en la emulsión y presentan menor dependencia con la frecuencia angular, predominando el módulo  $G'$  y no presenta intersección de los módulos. Sin embargo, para sistemas acuosos homogeneizados y sin homogeneizar se invierten los módulos  $G'$  y  $G''$  mostrando un punto de intersección. En los sistemas acuosos sin homogeneizar se obtuvo la intersección de los módulos a más bajas frecuencias en comparación a los sistemas homogeneizados lo que indica una mayor zona de unión entre las moléculas (Huang *et al.*, 2016). El valor del módulo  $G''$  para ambos sistemas es muy similar, mientras que el módulo  $G'$  es menor para sistemas homogeneizados.

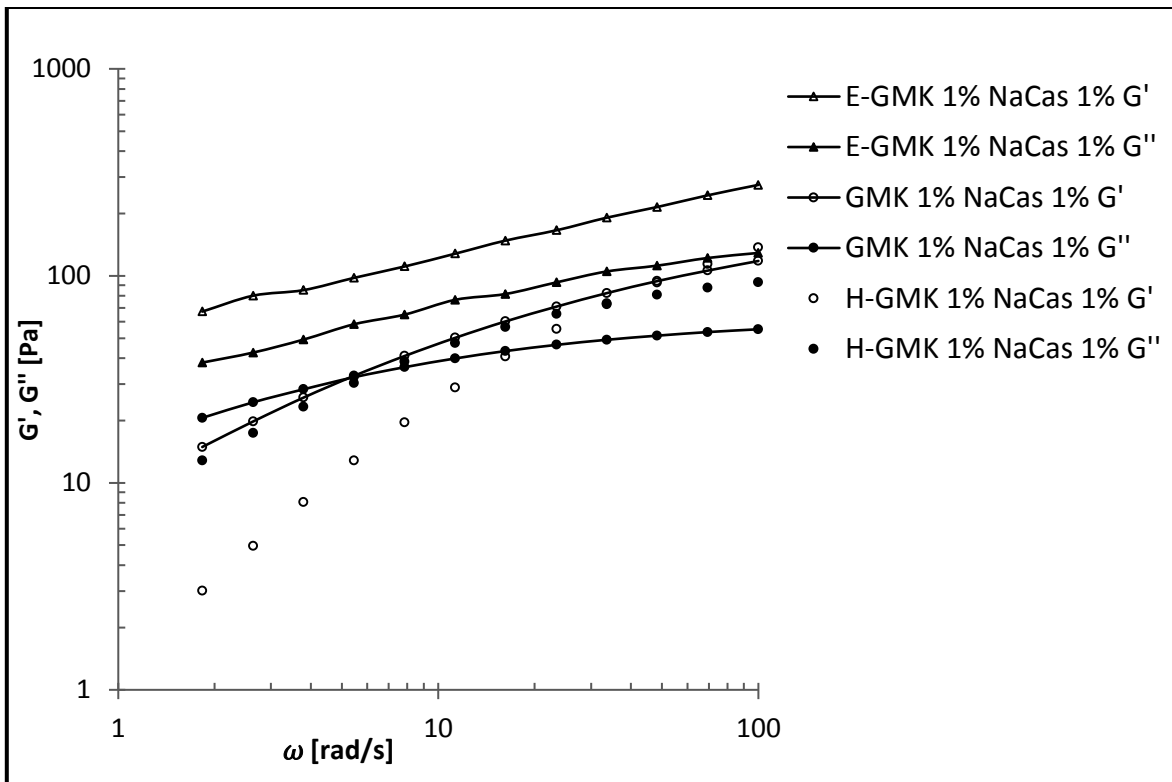


Figura 3.13 Módulos  $G'$  y  $G''$  en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados y emulsiones (GMK 1% y NaCas al 1%).

En la Figura 3.14 se presenta la relación de los módulos  $G''/G'$  ( $\tan \delta$ ) en función de la frecuencia angular de GMK al 0.25%, 1% y NaCas 1%. La emulsión y los sistemas acuosos sin homogeneizar, pero, de este último únicamente GMK al 1%

presentaron un comportamiento más cercano al sólido, con valores de  $\text{Tan } \delta$  menores a 1. Mientras que los sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados de GMK al 1% presentaron un comportamiento viscoelástico con valores de  $\text{Tan } \delta$  entre 0.6 a 2.5. Sin embargo, sistemas homogeneizados de GMK al 0.25% presentaron comportamiento de un fluido viscoso. Demostrando que la fase acuosa atribuye a las emulsiones el comportamiento elástico debido a la adsorción de polímeros en la interfase generando un conjunto de cadenas moleculares y agregados en una estructura de red (flóculos) (Petsev, 2004).

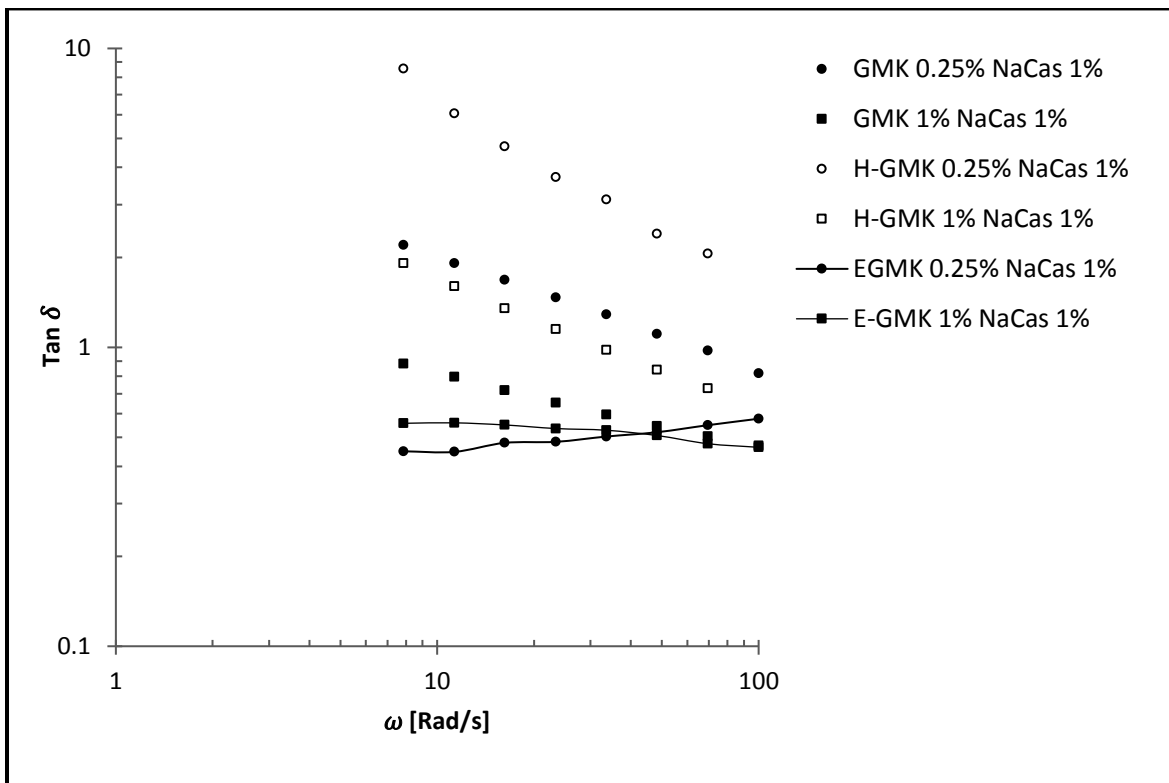


Figura 3.14 Relación de los módulos  $G'$  y  $G''$  en función de la frecuencia angular ( $\omega$ ) de sistemas acuosos sin homogeneizar, homogeneizados y emulsiones (GMK 0.25%, 1% y NaCas al 1%).

Los sistemas acuosos pueden presentar espectros mecánicos similares a los de soluciones diluidas, soluciones concentradas o geles (Steffe, 1996). El tipo de espectro obtenido depende de los valores de las constantes  $a$  y  $c$  y de los exponentes  $b$  y  $d$ , que se obtienen mediante la aplicación de regresión potencial, de los módulos  $G'$  y  $G''$  en función de la frecuencia angular. Los valores de los

exponentes indican la dependencia de los módulos  $G'$  y  $G''$  en función de la frecuencia angular. En el Cuadro 3.5 se presentan los valores de las constantes “a” y “c” y los exponentes “b” y “d” de sistemas acuosos sin homogeneizar de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1%, sistemas acuosos homogeneizados y emulsiones de mezclas de GMK y NaCas, de este último realizando una similitud con los sistemas acuosos. La aplicación de la función potencia se realizó en un intervalo de frecuencia angular de 3.8 a 48.3 rad/s.

Para cada uno de los sistemas, las constantes “a” y “c” de los módulos  $G'$  y  $G''$  respectivamente, incrementan al aumentar la concentración de GMK. Lo que indica un aumento de los módulos  $G'$  y  $G''$ . Mientras que para sistemas acuosos los valores de los exponentes “b” y “d” de los módulos  $G'$  y  $G''$  respectivamente, disminuyen al incrementar la concentración de GMK, debido a una menor dependencia con la frecuencia. La constante a del módulo  $G'$ , no presenta diferencia significativa para sistemas acuosos a base de 0.25% Y 0.5% de GMK solo y en mezcla con NaCas1% homogeneizado. Sin embargo, para emulsiones no presenta diferencia significativa para sistemas de 0.75% y 1% GMK en mezcla con NaCas1%.

La contante b del módulo  $G''$ , en sistemas acuosos no presenta diferencia significativa en mezclas de 0.25% y 0.5% GMK con NaCas al 1% sin homogeneizar, mientras que las emulsiones no presentan diferencia significativa entre mezclas de 0.25% y 0.5% GMK con NaCas 1% y mezclas 0.75% y 1% GMK con NaCas 1%. Los valores de “b” y “d”, aumentan con la concentración de GMK, para sistemas acuosos de GMK solo van de 0.99 a 0.43 y de 0.6 a 0.16 respectivamente, los valores de “b” y “d” para sistemas acuosos homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas son de 1.49 a 1.25 y de 1.01-0.75, respectivamente y para sistemas acuosos sin homogeneizar de mezclas de GMK y NaCas son de 0.89 a 0.54 y 0.63 a 0.25.

Cuadro 3.5 Parámetros a, b, c y d de sistemas acuosos homogeneizados de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1%, sistemas acuosos sin homogeneizar y emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%.

Sistemas acuosos	$G' = a\omega^b$				$G'' = c\omega^d$			
	A [Pa. s <sup>b</sup> ]	b		c [Pa. s <sup>d</sup> ]		d		
<b>GMK 0.25%</b>	0.08 <sup>c</sup>	±0.003	0.99	±0.04	0.30 <sup>d</sup>	±0.01	0.60	±0.01
<b>GMK 0.5%</b>	1.75 <sup>c</sup>	±0.05	0.65	±0.005	3.96 <sup>c</sup>	±0.08	0.37	±0.002
<b>GMK 0.75%</b>	10.24 <sup>b</sup>	±0.2	0.51	±0.002	16.22 <sup>b</sup>	±0.3	0.24	±0.0005
<b>GMK 1%</b>	28.39 <sup>a</sup>	±1.4	0.43	±0.005	35.96 <sup>a</sup>	±2.4	0.17	±0.005
<b>GMK 0.25% NaCas</b>	0.07 <sup>C</sup>	±0.006	0.89	±0.03	0.29 <sup>C</sup>	±0.01	0.63	±0.006
<b>GMK 0.5% NaCas</b>	0.75 <sup>BC</sup>	±0.06	0.72	±0.03	1.97 <sup>C</sup>	±0.05	0.49	±0.002
<b>GMK 0.75% NaCas</b>	6.35 <sup>AB</sup>	±0.2	0.56	±0.007	11.36 <sup>B</sup>	±0.2	0.28	±0.002
<b>GMK 1% NaCas</b>	75 <sup>A</sup>	±6.9	0.54	±0.7	19.48 <sup>A</sup>	±6.3	0.25	±2.8
<b>H-GMK 0.25% NaCas</b>	0.003 <sup>g</sup>	±0.001	1.49	±0.0003	0.09 <sup>h</sup>	±0.003	1.01	±0.005
<b>H-GMK 0.5% NaCas</b>	0.06 <sup>g</sup>	±0.016	1.48	±0.1	0.71 <sup>g</sup>	±0.04	0.9	±0.009
<b>H-GMK 0.75% NaCas</b>	0.30 <sup>f</sup>	±0.03	1.37	±0.02	2.43 <sup>f</sup>	±0.12	0.84	±0.003
<b>H-GMK 1% NaCas</b>	1.32 <sup>e</sup>	±0.08	1.25	±0.02	7.35 <sup>e</sup>	±0.13	0.75	±0.009
<b>Emulsiones</b>								
<b>E-GMK 0.25% NaCas</b>	9.18 <sup>G</sup>	±0.3	0.27	±0.02	3.33 <sup>F</sup>	±0.06	0.38	±0.004
<b>E-GMK 0.5% NaCas</b>	35.17 <sup>F</sup>	±1.1	0.27	±0.008	12.45 <sup>F</sup>	±1.3	0.33	±0.2
<b>E-GMK 0.75% NaCas</b>	50.64 <sup>E</sup>	±3.5	0.33	±0.007	26.76 <sup>E</sup>	±1.8	0.32	±0.01
<b>E-GMK 1% NaCas</b>	58.85 <sup>E</sup>	±5.3	0.35	±0.004	33.08 <sup>E</sup>	±0.5	0.32	±0.0005

± Desviación estándar. Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.

Lo anterior indica que para cada uno de los sistemas el módulo  $G''$  presenta menor dependencia con la frecuencia angular. La adición de NaCas al sistema generó una mayor dependencia de los módulos  $G'$  y  $G''$  con la frecuencia angular. La aplicación de fuerzas mecánicas (homogeneización) a sistemas de GMK y NaCas muestran mayor dependencia de los módulos  $G'$  y  $G''$  con la frecuencia angular.

Sin embargo, para emulsiones el valor del exponente “b” aumentó ligeramente y “d” disminuyó ligeramente al incrementar la concentración de GMK, indicando mayor dependencia del módulo  $G'$ . Lo anterior demuestra que un aumento en la frecuencia angular manifiesta en mayor medida la componente elástica del sistema.

### 3.1.3.2 Propiedades de flujo

En la Figura 3.15 se presenta la relación de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de sistemas acuosos de GMK a diferentes concentraciones. Los sistemas acuosos de GMK son fluidos no newtonianos (Jin *et al.*, 2014), en donde se observa

una disminución de la viscosidad con respecto a la velocidad de cizalla, el comportamiento es característico de fluidos de tipo Carreau, el cual presenta a bajas velocidades de cizalla una viscosidad constante, al aumentar la velocidad de cizalla la viscosidad deja de ser constante y va disminuyendo, comportándose como un fluidificante a la cizalla; a altas velocidades de cizalla deja de ser fluidificante y presenta una viscosidad nuevamente constante, este comportamiento es descrito por los modelos matemáticos de Carreau, Ec. 2, Carreau-Yasuda, Ec. 3, o Carreau-Gahleitner, Ec. 4.

$$\eta = \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{[1 + (\lambda \dot{\gamma})^2]^P} + \eta_\infty \quad (2)$$

$$\eta = \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{[1 + (\lambda \dot{\gamma})^a]^{\frac{1-n}{a}}} + \eta_\infty \quad (3)$$

$$\eta = \frac{\eta_0 - \eta_\infty}{[1 + (\lambda \dot{\gamma})^a]^P} + \eta_\infty \quad (4)$$

Los parámetros reológicos que presentan estos modelos son  $\eta_0$ , que es la viscosidad constante a bajas velocidades de cizalla;  $a$ , que es el exponente que indica el valor de la dependencia entre la viscosidad constante y la velocidad de cizalla;  $\lambda$ , que es una constante de tiempo que indica la transición entre la viscosidad y el comportamiento fluidificante;  $n$  o  $p$ , los cuales son asociados con el índice de comportamiento al flujo y  $\eta_\infty$ , es la viscosidad constante a altas velocidades de cizalla (Macosko, 1993). Lo que diferencia a estos modelos son los exponentes  $a$ ,  $n$  y  $p$  mientras que para Carreau-Yasuda y Carreau-Gahleitner el exponente  $a$  es arbitrario, para el modelo de Carreau es 2.

Los sistemas con concentraciones de 0.5% o mayores de GMK se ajustaron a fluidos de tipo Carreau-Yasuda, mientras que para concentraciones de 0.25% GMK se ajustó a fluidos de tipo Carreau-Gahleitner.



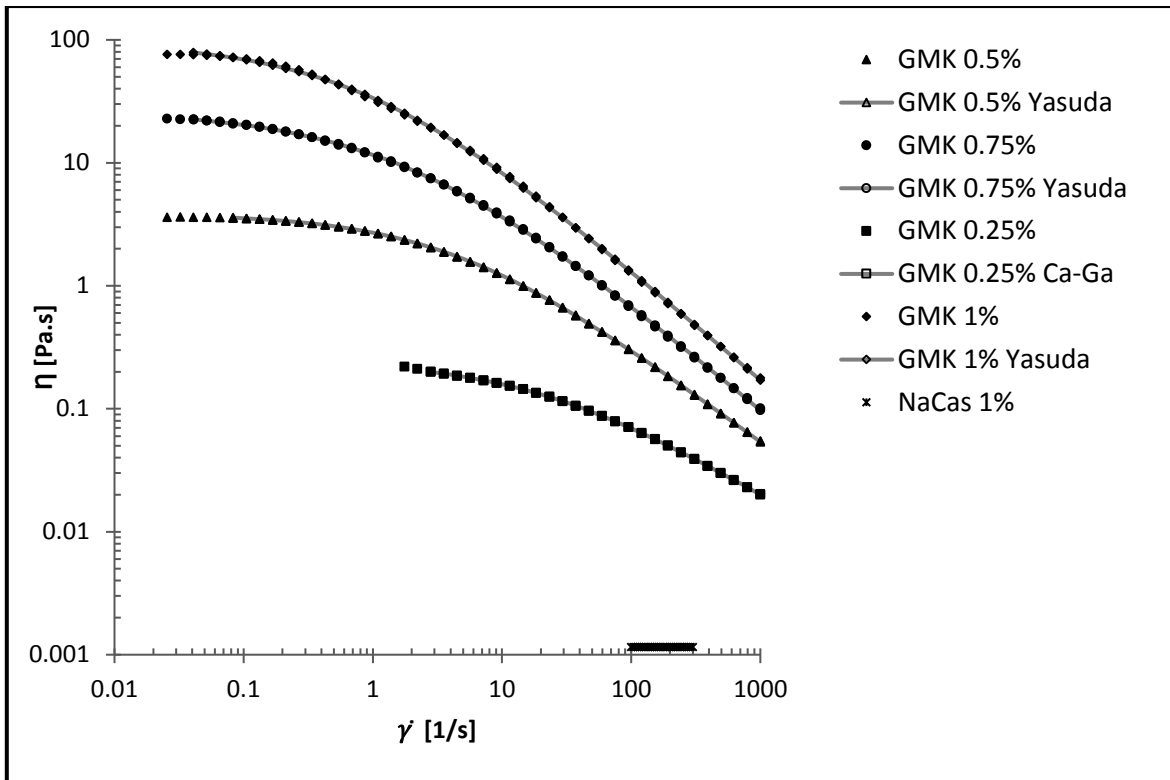


Figura 3.15. Viscosidad de los sistemas acuosos homogeneizados en función de la velocidad de cizalla de GMK a diferentes concentraciones y Na Cas 1% evaluadas a 25°C.

Los sistemas acuosos de GMK muestran un incremento de  $\eta_0$  al aumentar la concentración de GMK, este comportamiento fue reportado por Huang *et al.* (2016), y se atribuye a las interacciones intermoleculares del GMK, tales como enlaces por puentes de hidrógeno, debido a sus abundantes grupos hidroxilo, causando una mayor proximidad entre cadenas moleculares (Huan *et al.*, 2016; Ren *et al.*, 2016). Para sistemas acuosos de NaCas al 1% se observa que la viscosidad es independiente de la velocidad de cizalla, comportándose como un fluido newtoniano de baja viscosidad  $\approx 0.001$  Pa.s, así como lo reportan Thomar *et al.* (2014).

En la Figura 3.16 se presenta la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de sistemas acuosos de mezclas de GMK y NaCas al 1%. Al igual que los sistemas acuosos de GMK solo, presentaron comportamiento no newtoniano ya que se observó una disminución de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla, este

tipo de sistemas se ajustó a fluidos de tipo Carreau-Gahleitner en donde la  $\eta_0$ , aumentó al incrementar la concentración de GMK. Se obtuvieron valores de  $\eta_0$ , más bajos que los sistemas acuosos de GMK solo, observándose el predominio de las propiedades reológicas del mismo., donde las caseínas contribuyen a la disminución de la viscosidad, como fue mencionado, es probable que la influencia de las caseínas interfiriese en las interacciones entre las cadenas de polisacárido, debilitando la interacción.

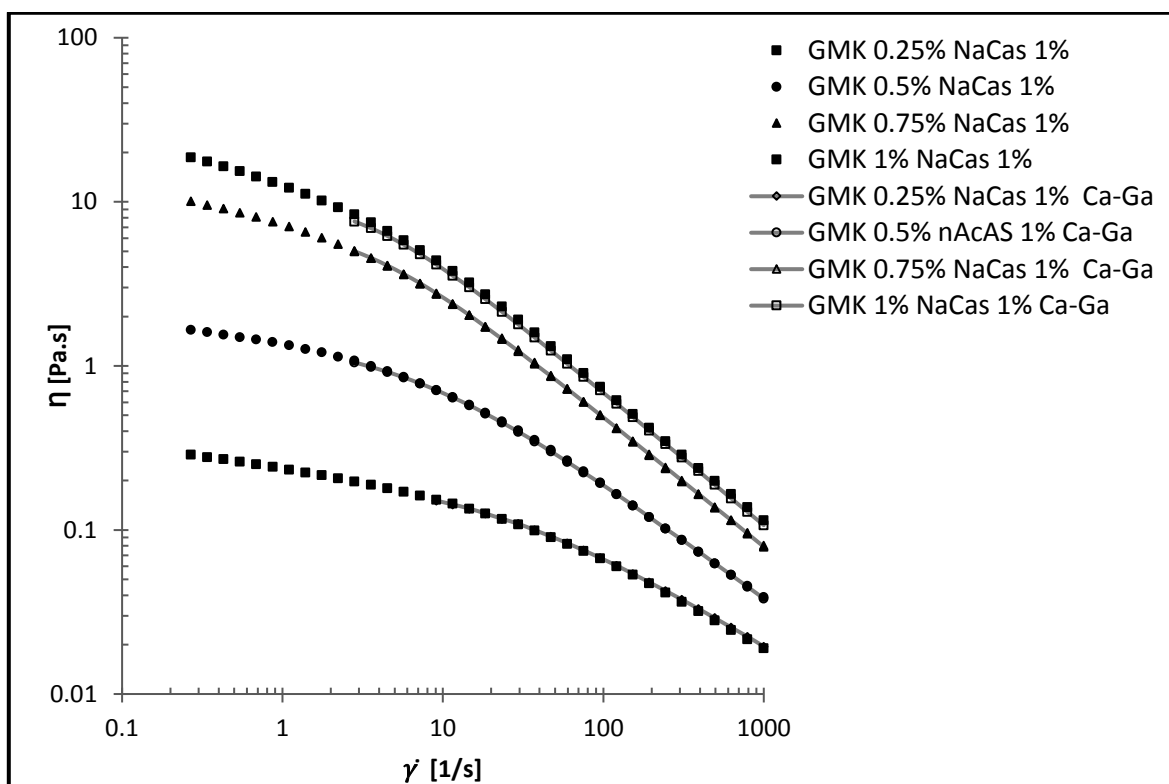


Figura 3.16. Viscosidad de los sistemas acuosos en función de la velocidad de cizalla de mezclas de GMK y NaCas 1% evaluadas a 25°C.

En la Figura 3.17 se presenta la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de sistemas acuosos homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas al 1%. De igual manera que los sistemas acuosos de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1% presentaron comportamiento no newtoniano, observando una disminución de la viscosidad en función de la velocidad de cizalla, estos sistemas presentaron el mismo comportamiento reológico que los sistemas sin homogeneizar de mezclas

de GMK y NaCas ajustándose a fluidos de tipo Carreau- Gahleitner, donde la  $\eta_0$ , también aumentó al incrementar la concentración de GMK pero con menor magnitud, esto se puede deber a un cambio estructural en la cadenas de GMK, por el empleo de altas velocidades, posiblemente las interacciones entre las moléculas de glucosa y manosa disminuye (Cubero *et al.*, 2002), lo que desfavorece el establecimiento de puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas entre las cadenas del glucomanano (Alonso-Sande, *et al.* 2009).

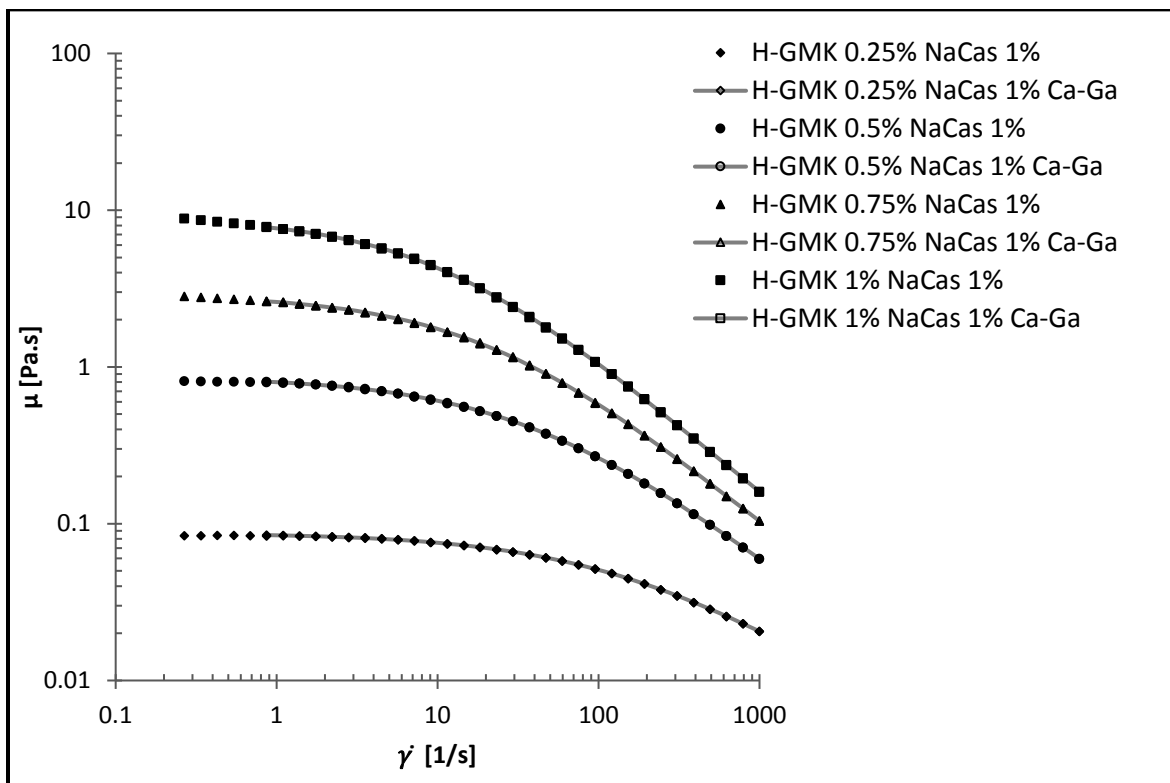


Figura 3.17 Viscosidad de los sistemas acuosos homogeneizados en función de la velocidad de cizalla de mezclas de GMK y NaCas 1% evaluadas a 25°C.

En la Figura 3.18 se presenta el esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%. Las emulsiones presentaron un comportamiento reológico inusual, donde en cada sistema se observó a bajas velocidades de cizalla un aumento del esfuerzo de cizalla, al aumentar la velocidad de cizalla de 0.003 a 1 1/s, donde se presentó una disminución del esfuerzo de cizalla, atribuyéndose al comportamiento elástico,

como consecuencia del aumento de la concentración de GMK en la fase acuosa, observado en el espectro mecánico de la Figura 3.11, a partir de 1 a 1000 1/s se comportó como un sistema fluidificante a la cizalla, mismo comportamiento reportado en geles de konjac para mayonesa, pero para valores más bajos de velocidad de cizalla (Li *et al.*, 2014).

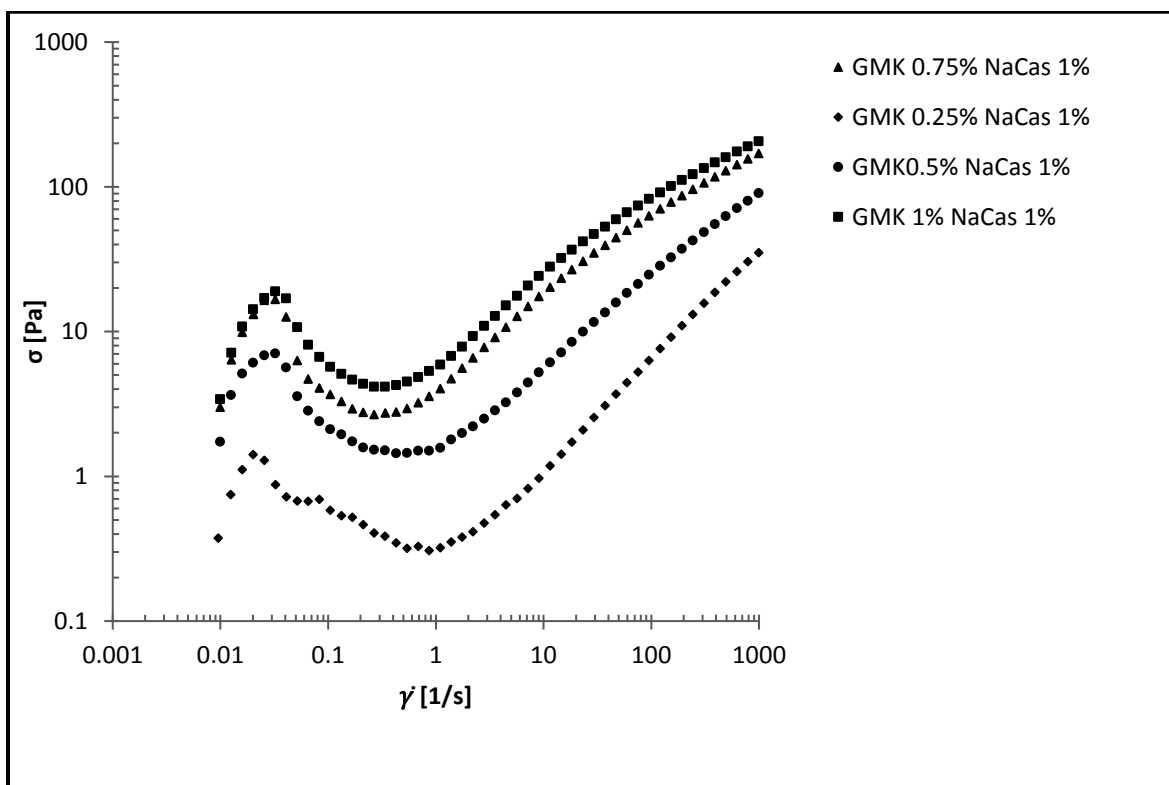


Figura 3.18 Esfuerzo de cizalla en función de la velocidad de cizalla de emulsiones de mezclas GMK y NaCas evaluadas a 25°C.

En el Cuadro 3.6 se presenta el esfuerzo de cedencia de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%. Los valores máximos y mínimos del esfuerzo de cizalla que se muestran en la Figura 3.18 pueden indicar la presencia de un esfuerzo de cedencia, dicho esfuerzo fue considerado a la velocidad de cizalla de 1 1/s. El esfuerzo de cedencia presentó una diferencia significativa en todos los sistemas. Se observa que el esfuerzo de cedencia aumenta al incrementar la concentración de GMK. Esto se debe a la gran interacción existente entre las cadenas moleculares del GMK, mostrándose rígidas durante el esfuerzo de cizalla aplicado, (Jin *et al.*, 2014).

Cuadro 3.6. Esfuerzo de cedencia de emulsiones de GMK a diferentes concentraciones y NaCas 1%.

Emulsiones	Esfuerzo de cedencia [Pa]	Desviación estándar	Coefficiente de variación [%]
GMK 0.25% NaCas	0.35 <sup>d</sup>	0.05	2
GMK 0.5% NaCas	1.57 <sup>c</sup>	0.15	9
GMK 0.75% NaCas	4.28 <sup>b</sup>	0.36	8
GMK 1% NaCas	5.83 <sup>a</sup>	0.13	2

Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.

En la Figura 3.19 se presenta la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%. La determinación de los parámetros reológicos asociados al flujo en cizalla rotacional de estos sistemas se llevó a cabo a partir de 10 1/s. Las emulsiones, al igual que los sistemas acuosos presentaron comportamiento de fluidos no newtonianos ya que se obtuvo una dependencia de la viscosidad con respecto a la velocidad de cizalla. Estos sistemas se ajustaron a fluidos de tipo Carreau observándose que,  $\eta_0$ , aumentó al incrementar la concentración de GMK. Un comportamiento similar fue reportado por Jin *et al.* (2014) para sistemas altamente complejos de GMK solo a diferentes concentraciones.

Las emulsiones de NaCas al 1% de igual manera que su fase acuosa, presentaron un comportamiento newtoniano (Dickinson y Golding, 1997) debido a la independencia de la viscosidad con respecto a la velocidad de cizalla. Sin embargo, presentaron mayor viscosidad que la fase acuosa debido a la contribución de los glóbulos de aceite, permitiendo la adsorción de las caseínas en la interfase (Stewart *et al.*, 2004). Con base a los resultados obtenidos de las propiedades viscoelásticas y tamaño de partícula, se infiere una emulsión floculada diluida (Figura 3.19), donde a bajas velocidades de cizalla, las fuerzas hidrodinámicas no son lo suficientemente grandes como para romper los enlaces que mantienen entre sí a las partículas, por lo que los flóculos actúan como partículas con una forma y tamaño fijos lo que resulta en una viscosidad constante. A medida que aumenta la velocidad de cizalla,

las fuerzas hidrodinámicas son lo suficientemente grandes como para deformar los flóculos y que eventualmente se rompan. La deformación de los flóculos causa un alargado y alineado con el campo de cizallamiento, lo que genera una disminución en la viscosidad. Sin embargo, no se alcanzó la disrupción completa de los flóculos por puenteo, ya que la viscosidad no alcanza un valor constante a altas velocidades de cizalla (Mc Clements, 1999).

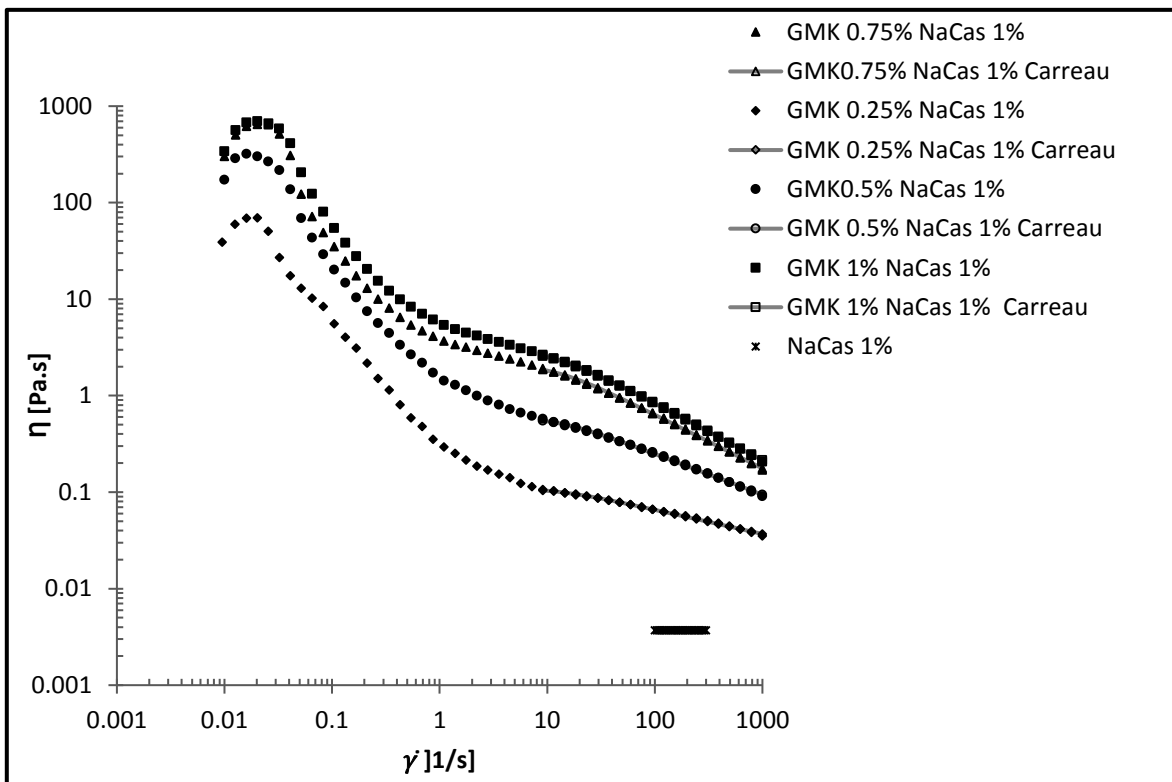


Figura 3.19 Viscosidad de emulsiones en función de la velocidad de cizalla. GMK y NaCas 1% a 25°C.

En la Figura 3.20 se presenta la viscosidad en función de la velocidad de cizalla de sistemas acuosos sin homogeneizar, homogeneizados y emulsiones de 0.25% y 1% de GMK y NaCas al 1%. Como se mencionó anteriormente estos sistemas son fluidos no newtonianos. Mientras que los sistemas acuosos homogeneizados y sin homogeneizar se ajustaron a fluidos de tipo Carreau-Gahleitner, las emulsiones se ajustaron a fluidos de tipo Carreau, a partir de velocidad de cizalla de 10 1/s.

Los sistemas acuosos homogeneizados, en comparación con los sistemas acuosos sin homogeneizar presentaron menor viscosidad a bajas velocidades de cizalla y mayor viscosidad a altas velocidades de cizalla para sistemas de GMK al 1%. Esto puede deberse a la formación de pequeñas partículas en mayor grado, saturando la disolución, haciendo posible el aumento de la viscosidad.

Las emulsiones de 0.25% GMK mostraron valores de viscosidad mayores que los sistemas acuosos homogeneizados, pero menores que los sistemas acuosos sin homogeneizar, observando el efecto de los flóculos.

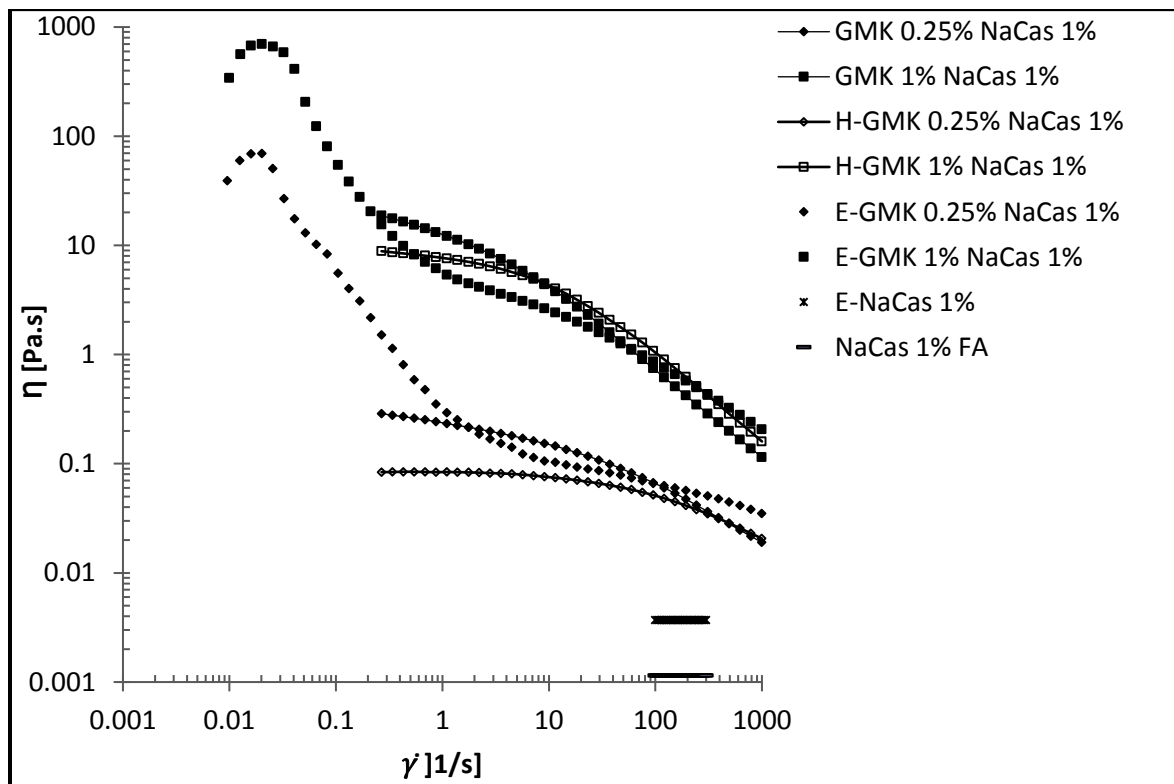


Figura 3.20 Viscosidad de los sistemas acuosos homogeneizados y sin homogeneizar y emulsiones en función de la velocidad de cizalla de 0.25% y 1% GMK y NaCas 1% a 25 °C.

Sin embargo, un aumento en la concentración de GMK a 1% provocó una disminución en la viscosidad de emulsiones en comparación con los sistemas acuosos de 1% GMK, este comportamiento fue observado a bajas velocidades de cizalla (1 a 70 1/s) y una mayor viscosidad a velocidades de cizalla más altas (70 a

1000 1/s), lo que indica que de alguna forma los glóbulos de aceite interfieren en la asociación de las moléculas de GMK, la cual es la responsable del aumento de la viscosidad de la fase acuosa. Tanto la fase acuosa de NaCas solo como la emulsión presentaron comportamiento newtoniano, presentando menor viscosidad la fase acuosa, ya que el caseinato de sodio cuando se reconstituye en agua se presenta como pequeñas partículas de proteína asociadas, que causan poca viscosidad, formando agregados en equilibrio, con posibles moléculas de caseína libre (Dickinson, 1999). Mientras que las emulsiones de NaCas solo presentaron comportamiento característico de emulsiones diluidas en donde no existe agregación de flóculos de aceite (Dickinson y Golding, 1997).

En el Cuadro 3.7 se presentan los parámetros reológicos de sistemas acuosos sin homogeneizar de GMK sólo y en mezcla con NaCas al 1%, sistemas acuosos homogeneizados y emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%. Se observa en cada sistema que tanto la viscosidad,  $\eta_0$ , como el tiempo característico de transición ( $\lambda$ ), de la zona de viscosidad constante a la zona fluidificante, aumentaron al incrementar la concentración de GMK, esto indica que un incremento en la concentración de GMK requiere menor velocidad de cizalla para que se comporte como un material fluidificante.

La viscosidad,  $\eta_0$ , presentó diferencia significativa casi en todos los sistemas, exceptuando los sistemas acuosos a base de GMK solo al 0.25% y 0.5%. Los exponentes  $a$  y  $n$  disminuyeron al aumentar la concentración de GMK en sistemas acuosos de GMK solo. Sin embargo, para sistemas acuosos sin homogeneizar y homogeneizados de mezclas de GMK y NaCas los valores de  $a$  y  $n$  aumentaron. Lo que manifiesta menor dependencia a la viscosidad al aumentar la concentración de GMK en los sistemas individuales, mientras que para sistemas acuosos en mezcla presentaron menor dependencia a la viscosidad en sistemas de baja concentración de GMK.



Cuadro 3.7 Viscosidad y parámetros reológicos de los modelos de Carreau, de sistemas acuosos homogeneizados y sin homogeneizar de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1% y emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%.

Sistemas acuosos	Modelo reológico	$\eta_0$ [Pa.s]	C.V. (%)	$\lambda$ [s]	C.V. (%)	$a$	C.V. (%)	n	P	C.V. (%)
GMK 0.25%	Ca-Gahleitner	0.25 <sup>a</sup>	5.4	0.05	9.4	0.67	6.1	0.34	0.99	8.7
GMK 0.5%	Ca-Yasuda	4.11 <sup>a</sup>	6.7	0.22	1.4	0.63	3.6	0.21		5.5
GMK 0.75%	Ca-Yasuda	26.33 <sup>b</sup>	1.4	0.58	8.3	0.62	2.9	0.13		9.4
GMK 1%	Ca-Yasuda	96.81 <sup>c</sup>	3.3	1.15	4.9	0.62	4.5	0.11		6
NaCas 1%	Newtoniano					$\eta = 0.003$ Pa.s				7.4
GMK 0.25% NaCas	Ca-Gahleitner	0.23 <sup>A</sup>	3.1	0.05	2.3	0.69	2.97		0.89	4.1
GMK 0.5% NaCas	Ca-Gahleitner	1.51 <sup>B</sup>	1.14	0.16	0.61	0.84	0.32		0.86	0.51
GMK 0.75% NaCas	Ca-Gahleitner	7.77 <sup>C</sup>	3.85	0.31	2.74	1.19	3.1		0.67	2.77
GMK 1% NaCas	Ca-Gahleitner	12.74 <sup>D</sup>	5.2	0.33	6.5	1.22	8		0.66	8.1
H-GMK 0.25% NaCas	Ca-Gahleitner	0.09 <sup>e</sup>	1.84	0.006	9.6	0.57	1.79		2.31	0.39
H-GMK 0.5% NaCas	Ca-Gahleitner	0.88 <sup>f</sup>	6.3	0.024	9.2	0.61	0.45		1.44	1.24
H-GMK 0.75% NaCas	Ca-Gahleitner	2.99 <sup>g</sup>	4.4	0.038	9.43	0.68	9.4		1.34	13.5
H-GMK 1% NaCas	Ca-Gahleitner	8.18 <sup>h</sup>	4.1	0.09	1.7	0.82	3.6		1.1	5.6
Emulsiones										
E-GMK 0.25% NaCas	Carreau	0.11 <sup>E</sup>	2.5	0.08	5.7				0.12	1.2
E-GMK 0.5% NaCas	Carreau	0.69 <sup>F</sup>	9.2	0.10	9.4				0.21	2.8
E-GMK 0.75% NaCas	Carreau	2.15 <sup>G</sup>	1.2	0.18	4.9				0.28	0.5
E-GMK 1% NaCas	Carreau	2.92 <sup>H</sup>	1.6	0.18	6.7				0.30	0.7
E-NaCas 1%	Newtoniano					$\eta = 0.05$ Pa.s				3.0

Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.  
Coeficiente de variación (C.V)

### 3.1.4 Estabilidad de emulsiones de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1%

En la Figura 3.21 se presentan las curvas de retrodispersión de luz en función de la altura del tubo para emulsiones de GMK solo al 0.25% (a), al 1% (b) y de la emulsión de NaCas 1% (c).

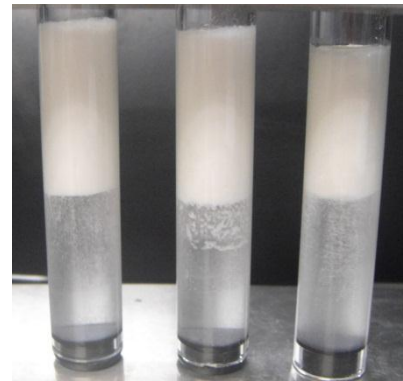
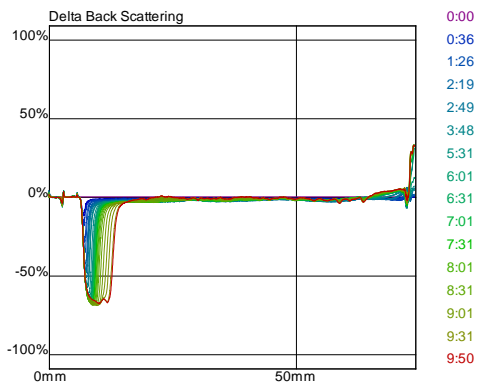
En la Figura 3.21a se observa un clarificado en la parte inferior del tubo por la disminución de la retrodispersión de luz en función del tiempo; un aumento en la concentración de GMK (Figura 3.21b) permitió un mayor tiempo de estabilidad, debido a la formación de flóculos concentrados en la parte intermedia del tubo, observado en el aumento de la retrodispersión de luz en esa zona; sin embargo presentó un menor clarificado en la parte inferior.

Las emulsiones a base de NaCas al 1% (Figura 3.21c) presentaron un clarificado turbio en la parte inferior y cremado en la parte superior, un comportamiento similar fue obtenido por Hu *et al.* (2016), siendo aún más inestables que las emulsiones que contenían 0.25% GMK.

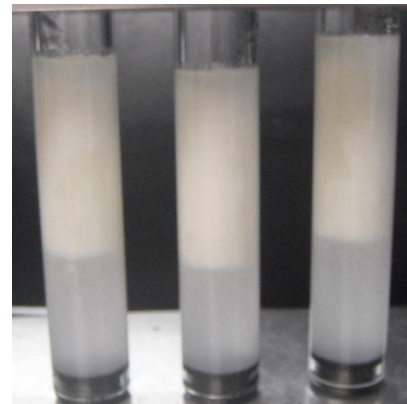
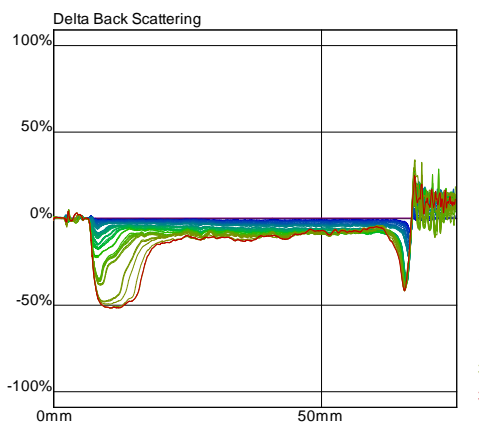
La distribución de tamaño de partícula y el comportamiento reológico antes estudiados permitieron evidenciar la formación de pequeños flóculos tanto a bajas como altas concentraciones de GMK, además de posibles agregados de macromoléculas en emulsiones de 0.75% o a concentraciones mayores de GMK.

En la Figura 3.22 se presentan las curvas de transmisión y retrodispersión de luz en función de la altura del tubo de emulsiones que contienen las mezclas de 0.25%, 0.5% y 1% GMK con NaCas al 1%. En la Figura 3.22a se observa el proceso de inestabilidad de emulsiones de mezcla de GMK 0.25% y NaCas 1%, las cuales presentaron clarificado en la parte inferior del tubo. Sin embargo, para emulsiones de 0.5% y 1% GMK con NaCas 1%, Figuras 3.22b y 3.22c, respectivamente, presentaron una ligera clarificación en la parte inferior del tubo, de menor magnitud al incrementar la concentración de GMK, aumentando su estabilidad.

a)



b)



c)

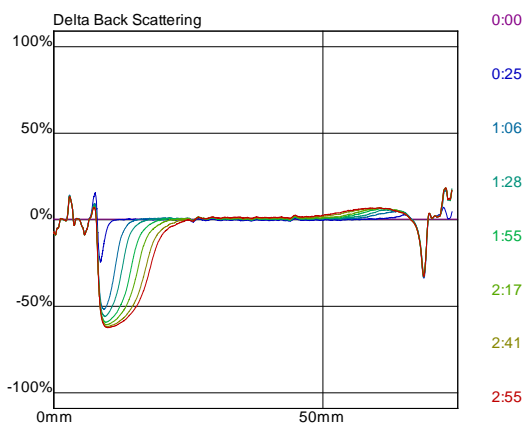


Figura 3.21 Curvas de transmisión y retrodispersión de luz en emulsiones en función de la altura del tubo, a) 0.25% GMK , b) 1% GMK y c) 1% NaCas.

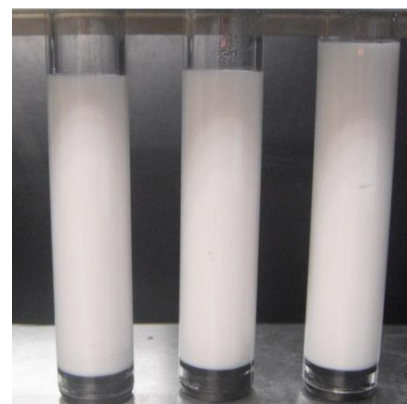
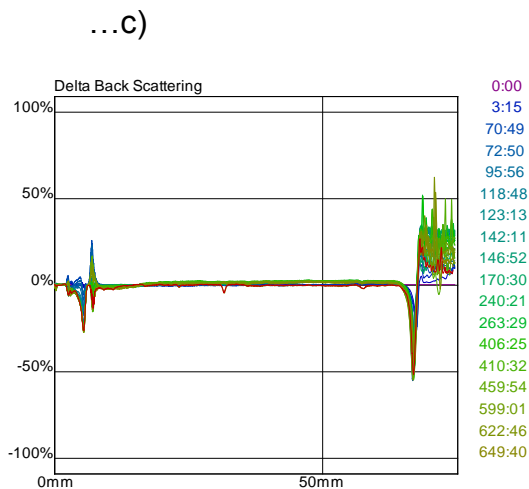
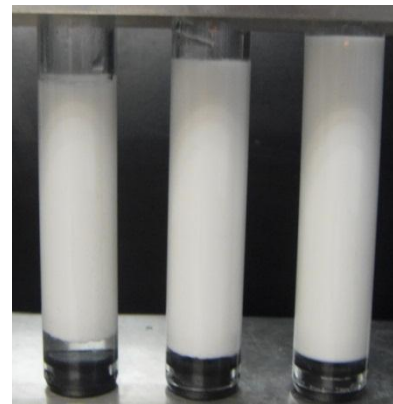
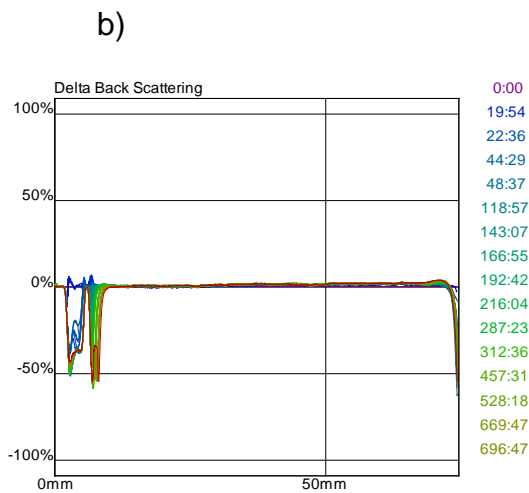
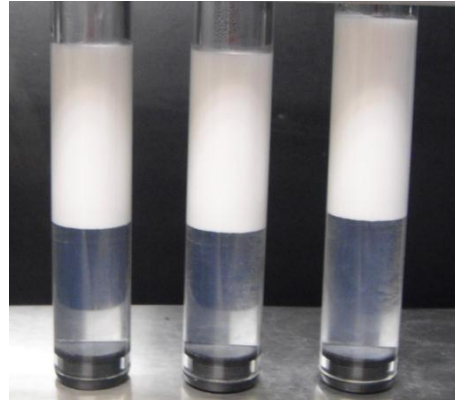
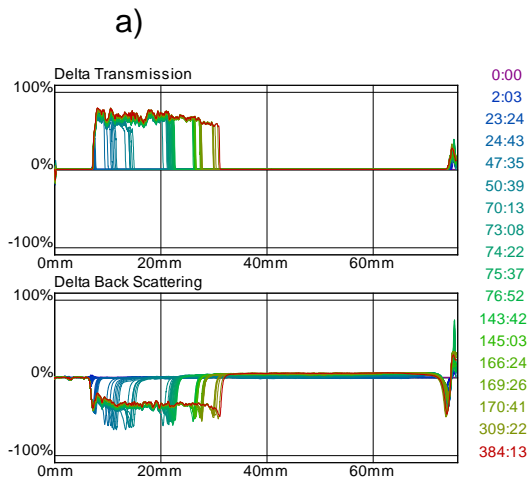


Figura 3.22 Curvas de transmisión y retrodispersión de luz en emulsiones en función de la altura del tubo, a) 0.25% GMK y 1% NaCas, b) 0.5% y 1% NaCas y b)1% GMK con NaCas al 1%.

Las emulsiones a base de macromoléculas individuales fueron más inestables que las emulsiones a base de mezcla polisacárido-proteína, esto se debe a la capacidad de adsorción del NaCas (Stewart *et al.*, 2004) en la interfase y al aumento de la viscosidad de la fase dispersa, conferida por el polisacárido (Cubero *et al.*, 2002), impidiendo el movimiento de los glóbulos hacia arriba, debido a que las cadenas del polisacárido se encuentran más cercanas entre sí (Gallegos *et al.*, 2004), siendo evidente la formación de flóculos ligeramente de menor tamaño, lo cual evita la separación de las fases.

En la Figura 3.23 se presenta la cinética de la zona de clarificado de emulsiones de GMK a diferentes concentraciones, ajustándose a un modelo matemático lineal para todos los sistemas. Se observa que a concentraciones menores de GMK aumenta la zona clarificada en menor tiempo, indicando una mayor estabilidad con el aumento de la concentración de GMK. Para el NaCas el clarificado fue más rápido en comparación de la emulsión de GMK al 0.25%, presentando aún mayor estabilidad las emulsiones a base de GMK solo.

En la Figura 3.24 se presenta la cinética de la zona de clarificado de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%. A diferencia de los sistemas individuales, para concentraciones de 0.25% GMK y NaCas 1%, se ajustó a un modelo matemático sigmoideal, observando que para la concentración de 0.5% o mayores de GMK y NaCas la zona de clarificado es muy pequeña en comparación con emulsiones de 0.25% GMK. Al aumentar la concentración de GMK fue más lento el proceso de inestabilidad siguiendo una cinética lineal. Estos sistemas fueron más estables en comparación con emulsiones de GMK solo.

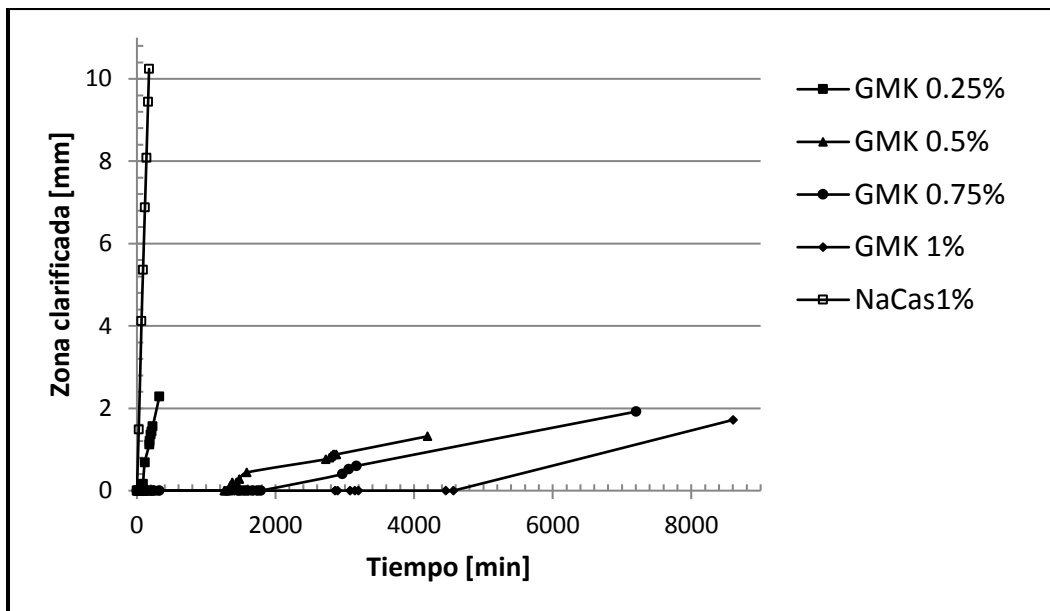


Figura 3.23 Cinética de la zona de clarificado de emulsiones de GMK.

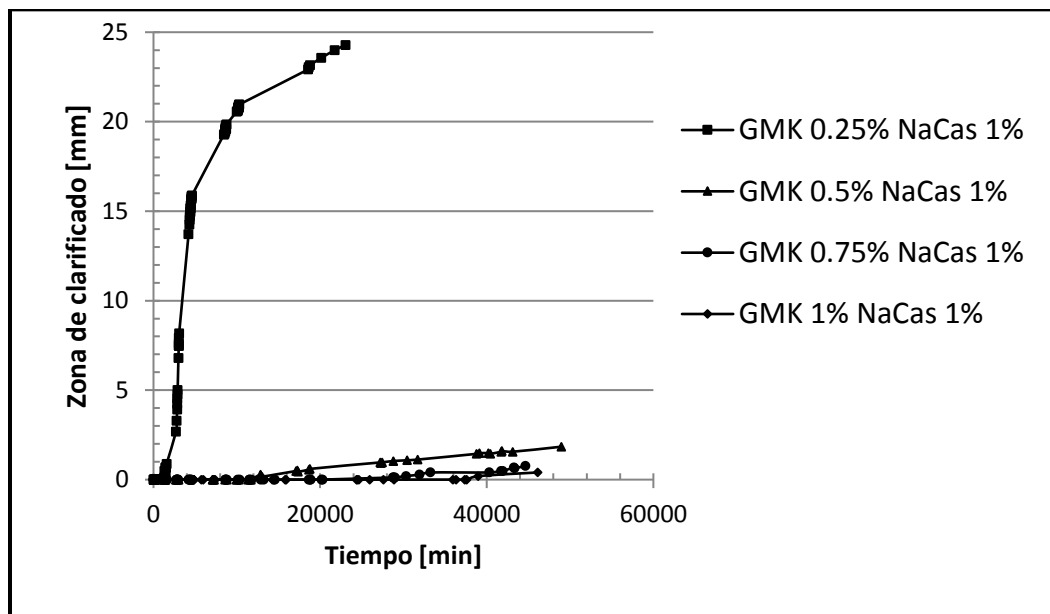


Figura 3.24 Cinética de la zona de clarificado de emulsiones de mezclas de GMK y NaCas al 1%.

En el Cuadro 3.8 se presenta el tiempo de inicio del clarificado de emulsiones de GMK solo y en mezcla con NaCas al 1%. Se observa que en ambos sistemas un aumento en la concentración de GMK requiere de un mayor tiempo para que se desestabilice. El sistema menos estable fue la emulsión de NaCas al 1%, y los sistemas más estables fueron a base de GMK y NaCas, mayores o iguales a 0.5%. Los sistemas inferiores a 0.75% de GMK solo, 1% de NaCas sólo y mezcla de 0.25% de GMK y NaCas 1% no presentaron diferencias significativas.

Cuadro 3.8 Tiempo de inicio del proceso de clarificado de emulsiones de GMK solo y en mezcla con NaCas 1%.

Emulsiones	Tiempo de inicio de clarificado [min]	Desviación estándar
GMK 0.25%	95.7 <sup>e</sup>	16.11
GMK 0.5%	1318.7 <sup>e</sup>	50.14
GMK 0.75%	2565.4 <sup>e</sup>	772.50
GMK 1%	>4456.0 <sup>d</sup>	
NaCas 1%	38.1 <sup>e</sup>	24.57
GMK 0.25% NaCas 1%	1320.6 <sup>e</sup>	0.39
GMK 0.5% NaCas 1%	12420.5 <sup>c</sup>	934.20
GMK 0.75% NaCas 1%	29287.5 <sup>b</sup>	886.10
GMK 1% NaCas 1%	46121.8 <sup>a</sup>	6.33

Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.

Con la selección del área de espesor absoluto de las curvas de referencia antes descritas, se determinó la cinética de inestabilidad ajustándose a un modelo matemático. En el Cuadro 3.9 se presentan los parámetros de las cinéticas lineales y sigmoideas de emulsiones de GMK solo y en mezcla con NaCas 1%, para proceso de inestabilidad observado en las Figuras 3.21 y 3.22.

La pendiente  $m$  de la cinética lineal (mm/min) indica la velocidad de crecimiento de la zona de clarificado. Mientras que los parámetros  $a$ ,  $b$  y  $c$  de la cinética sigmoideal muestran el espesor máximo (mm), el comportamiento sigmoideal representado por el exponente y el tiempo necesario para alcanzar la mitad del máximo espesor (min), respectivamente. La velocidad de crecimiento de la zona de clarificado presentó

diferencia significativa únicamente en sistemas de mezclas de 0.25% GMK y NaCas 1%.

Cuadro 3.9 Parámetros de cinéticas lineales (a, m) y sigmoidales (a, b, c) de emulsiones de GMK solo y en mezcla con NaCas 1%, en el clarificado.

EMULSIONES	CINÉTICA	DESVIACIÓN ESTANDAR
<b>GMK 0.25%</b>	a= $-4.20 \times 10^{-1}$	$1.06 \times 10^{-1}$
	m= $8.37 \times 10^{-3}$ <sup>b</sup>	$3.00 \times 10^{-4}$
<b>GMK 0.5%</b>	a= $-3.13 \times 10^{-1}$	$8.29 \times 10^{-2}$
	m= $4.62 \times 10^{-4}$ <sup>b</sup>	$3.54 \times 10^{-5}$
<b>GMK 0.75%</b>	a= -1.63	$2.50 \times 10^{-1}$
	m= $5.53 \times 10^{-4}$ <sup>b</sup>	$5.00 \times 10^{-5}$
<b>GMK 1%</b>	a= -3.03	$7.09 \times 10^{-1}$
	m= $6.56 \times 10^{-4}$ <sup>b</sup>	$1.96 \times 10^{-4}$
<b>NaCas 1%</b>	a= -1.01	$5.68 \times 10^{-1}$
	m= $6.56 \times 10^{-4}$ <sup>b</sup>	$2.36 \times 10^{-3}$
<b>GMK 0.25% NaCas</b>	a= $2.07 \times 10^{+1}$	$4.84 \times 10^{-1}$
	b= $3.69 \times 10^{+3}$	$9.14 \times 10^{-1}$
	c= $3.51 \times 10^{+3}$ <sup>a</sup>	$7.69 \times 10^{+1}$
<b>GMK 0.5% NaCas</b>	a= $-3.18 \times 10^{-1}$	$2.12 \times 10^{-3}$
	m= $4.35 \times 10^{-5}$ <sup>b</sup>	$2.26 \times 10^{-6}$
<b>GMK 0.75% NaCas</b>	a= $-8.65 \times 10^{-1}$	$2.30 \times 10^{-1}$
	m= $3.46 \times 10^{-5}$ <sup>b</sup>	$3.54 \times 10^{-7}$
<b>GMK 1% NaCas</b>	a= -1.07 <sup>bc</sup>	$3.76 \times 10^{-1}$
	m= $3.52 \times 10^{-5}$ <sup>b</sup>	$3.73 \times 10^{-6}$

Valores que comparten el mismo exponente no presentan diferencias significativas.

Para las emulsiones de GMK solo, al incrementar la concentración disminuyó la velocidad de la zona de clarificado. Mientras que las emulsiones a base de NaCas fueron menos estables que las emulsiones de GMK de 0.25%, presentando una mayor velocidad de clarificado.

Para emulsiones de GMK y NaCas al 1% de la misma manera que las emulsiones de GMK solo, la velocidad de clarificado disminuyó al aumentar la concentración de GMK, siendo más estables que los sistemas de moléculas individuales, a concentraciones mayores a 0.5% de GMK y 1 % NaCas.



## CONCLUSIONES

El empleo de GMK en presencia de NaCas al 1% es una alternativa para el desarrollo de emulsiones funcionales. Las propiedades reológicas de los sistemas acuosos, influenciadas principalmente por el GMK no determinaron las propiedades reológicas de las emulsiones, sin embargo, se obtuvieron emulsiones estables.

La fase acuosa conteniendo ambas macromoléculas presentó comportamiento viscoelástico, similar al del GMK solo, característico de una disolución concentrada, donde el módulo de pérdida predominó sobre el de almacenamiento, observándose un punto de cruce a determinada frecuencia, éste fue función de la concentración y menor al del GMK solo, lo que indica la formación de enlaces más débiles entre polisacárido-proteína que entre polisacárido- polisacárido.

Las mezclas en condiciones de flujo mostraron características de fluidos estructurados que se ajustaron al modelo de Carreau, cercano al comportamiento del GMK. El NaCas solo al 1% se comportó como fluido newtoniano de baja viscosidad.

El proceso de homogenización aplicado a las diferentes disoluciones a base de GKM formó sistemas acuosos menos viscosos, debido a que se generó un cambio estructural en las cadenas de GMK, disminuyendo las posibles interacciones, sin embargo, los agregados de caseína no presentaron cambios durante este proceso.

Las emulsiones a base de GMK solo, no fueron estables y presentaron el mayor tamaño de partícula y la mayor polidispersidad, en comparación con las emulsiones de mezclas de GMK y NaCas, estos sistemas están formados por flóculos y posibles agregados de macromoléculas, evidenciados con la aplicación de ultrasonido.

Las emulsiones conteniendo las mezclas de GMK y NaCas fueron características de emulsiones floculadas por puenteo, las cuales responden elásticamente a pequeñas deformaciones a frecuencias muy bajas, estos sistemas presentaron comportamiento no newtoniano de tipo Carreau.

Las emulsiones a base de GMK en mezcla con NaCas, fueron estables debido a la capacidad de adsorción del NaCas en la interfase, y al aumento de la viscosidad y/o viscoelasticidad de la fase continua, conferida por el GMK.

## REFERENCIAS

- Abhyankar, A. R., Mulvihill, D. M., Auty, M. A. 2011. Techniques for localisation of konjac glucomannan in model milk protein–polysaccharide mixed systems: Physicochemical and microscopic investigations. *Food Chemistry*, 129, 1362-1368.
- Alonso-Sande, M., Teijeiro-Osorio, D., Remuñán-López, C. 2009. Glucomannan, a promising polysaccharide for biopharmaceutical purposes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, 453–462.
- Alvarez-Manceñido, F., Landin, M., Lacik, I., Martínez-Pacheco, R. 2008. Konjac glucomannan and konjac glucomannan/xanthan gum mixtures as excipients for controlled drug delivery systems. Diffusion of small drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 349, 11-18.
- Aranberri, B.P., Binks, J.H., Clint, P.D. 2006. Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. *Iberoamericana de Polímeros*, 7, 114-126.
- Belitz, H.D., Grosch, W. 1997. *Química de los Alimentos*. 2ª ed. Acirbia, España.
- Bengoechea, C., Romero, A., Cordobés, F., Guerrero, A. 2008. Estudio reológico y microestructural de emulsiones concentradas de aceite de girasol en agua estabilizadas con proteínas agroalimentarias. *Grasas y Aceites*, 59, 62-68.
- Binks, P. B. 1998. *Modern Aspects of Emulsion Science*. The Royal Society of Chemistry. Reino Unido.
- Cabra, V., Arreguin, R., Farres, A. 2008. Emulsifying properties of proteins. *Boletín de la Sociedad Química de México*, 2, 80-89.
- Casanova, H.F., Cardona, T. S. 2004. Emulsiones o/w estabilizadas con caseinato de sodio: efecto de los iones calcio, concentración de proteína y temperatura. *Vitae*, 11, 13-19.
- Chen, J., Dickinson, E., Edwards, M. 1999. Rheology of acid-induced sodium caseinate stabilized emulsion gels. *Journal of Texture Studies*, 30, 377-396.

- Cheryl, C., Mc Clements, D.J. 2014. Structure–function relationships in food emulsions: Improving food quality and sensory perception. *Food Structure*, 1, 106-126.
- Gallegos, C., Franco, J., Partal, F. 2004. Rheology of food dispersions. *Rheology Reviews*, 19 – 65.
- Cubero, N., Monferrer, A., Villalta, J. 2002. *Tecnología de alimentos. Aditivos Alimentarios*. Mundi Prensa, Madrid, España.
- Dalgleish, D.G. 1997. Structure-function relationships of caseins. In S. Damodaran and A. Paraf. (Eds.), *Food Proteins and their Applications* (pp. 199–223), Marcel Dekker, Nueva York, EUA.
- Dalgleish, D.G. 2006. Food emulsions. Their structures and structure forming properties. *Food Hydrocolloids*, 20, 415-422.
- de Kruif, C., Tuinier, R. 2001. Polysaccharide protein interaction. *Food hydrocolloids*, 15, 555-563.
- Demet, D., McClements, J. 2006. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science*, 128–130, 227–248.
- Dickinson, E. 1993. Protein-polysaccharide interactions in food colloids. *Food Colloids and Polymers: Stability and Mechanical Properties*, 3, 77-93.
- Dickinson, E. 1999. Caseins in emulsions: interfacial properties and interactions. *International Dairy Journal*, 9, 305-312.
- Dickinson, E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25, 25-39.
- Dickinson, E. 2006. Structure formation in casein-based gels, foams, and emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 288, 3–11.
- Dickinson, E., Golding, M. 1997. Depletion flocculation of emulsions containing unadsorbed sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 11, 13-18
- Dickinson, E., Golding, M. 1997. Rheology of sodium caseinate stabilized oil in water emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 191, 166-176.

- Dickinson, E., Ritzoulis, C. 2000. Creaming and rheology of oil-in-water emulsions containing sodium dodecyl sulfate and sodium caseinate. *Journal of Colloid and Interface Science*, 224, 148–154.
- European Commission (2001). Commission Directive 2001/30/EC of 2001. Amending Directive 96/77/EC laying down specific purity criteria on food additives other than colours and sweeteners. Available at: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ>
- Ferrandini, E., Castillo, M., López, J. 2006. Modelos estructurales de la micela de caseína. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 22,5-18.
- Fox, P., Brodkorb, A. 2008. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. *International Dairy Journal*, 18, 677–68.
- Garcia, C., Alfaro, C., Calero, N., Muñoz, J. 2014. Influence of polysaccharides on the rheology and stabilization of -pinene emulsions. *Carbohydrate Polymers*, 115, 177-183.
- Gao, S. J., Nishinari, K. 2004. Effect of deacetylation rate on gelation kinetics of konjac glucomannan. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 38, 241–249.
- González, C.A., Fernández M.N., Sahagún, A. M., García, V. J. 2004. Alimentos funcionales, glucomanano: propiedades y aplicaciones terapéuticas. *Nutrición Hospitalaria*, 19, 45-50.
- Gonzalez-Jordan, A., Thomar, P., Nicolai, T., Dittmer, J. 2015. The effect of pH on the structure and phosphate mobility of casein micelles in aqueous solution. *Food Hydrocolloids*, 51, 88–94.
- Hu, H., Xing, L., Qiao, C., Wu, T., Zhou, G., Zhang, W. 2016. Effects of regenerated cellulose on oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 52, 38-46.
- Huang, Q., Jin, W., Ye, S., Hu, Y., Wang, Y., Xu, W., Li, J. 2016. Comparative studies of konjac flours extracted from *Amorphophallus guripingensis* and *Amorphophallus rivirei*: Based on chemical analysis and rheology. *Food Hydrocolloids*, 57, 209-216.
- Jaideep, K. A. 2009. Effect of formulation and pH on rheological properties, particle size distribution, and stability of oil-in-water. Beverage emulsions. Department

- of Food Science and Agricultural Chemistry. Montreal, Canadá. Disponible en:[http://digitool.library.mcgill.ca/webclient/StreamGate?folder\\_id=0&dvs=14131814](http://digitool.library.mcgill.ca/webclient/StreamGate?folder_id=0&dvs=14131814).
- Jin, W., Mei, T., Wang, Y., Xu, W., Li, J., Zhou, B., Li, B. 2014. Synergistic degradation of konjac glucomannan by alkaline and thermal method. *Carbohydrate Polymers*, 99, 270– 277.
- Koroskenyi, B; Mc. Carthy, S. 2001. Synthesis of acetylated konjac glucomannan and effect of degree of acetylation on water absorbency. *Biomacromolecules*, 2, 824–826.
- Kobayashi, S., Tsujihata, S., Hibi, N., Tsukamoto, Y. 2002. Preparation rheological characterization of carboxymethyl konjac glucomannan. *Food Hydrocolloids*, 16, 289-294.
- Li, J.-M., Nie, S.-P. 2015. The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids*, 53, 46-61.
- Li, J., Wang, Y., Jin, W., Zhou, B., Li, B. 2014. Application of micronized konjac gel for fat analogue in mayonnaise. *Food Hydrocolloids*, 35, 375-382
- Liang, Y., Guillies, G., Patel, H., Matia-Merino, L., Ye, A., Golding, M. 2014. Physical stability, microstructure and rheology of sodium-caseinate stabilized emulsions as influenced by protein concentration and nonadsorbing polysaccharides. *Food Hydrocolloid*, 36, 245-255.
- Liu, L., Zhao, Q., Zhou, S. 2016. Modulating interfacial dilatational properties by electrostatic sodium caseinate and carboxymethylcellulose interactions. *Food Hydrocolloids*, 56, 303–310.
- Macosko, W. C. 1993. *Rheology Principles Measurements and Applications*. Wiley-VCH. Nueva York, EUA.
- Marinova, K., Basheva, E., Nenova, B., Temelska, M., Mirarefi, A., Campbell, B., Ivanov, I. 2009. Physico-chemical factors controlling the foamability and foam stability of milk proteins: Sodium caseinate and whey protein concentrates. *Food Hydrocolloids*, 23, 1864–1876.

- Martínez, P. L. P. 2012. Guía rápida de uso del reómetro MCR 301. Documento interno. Lapryfal. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martínez-Padilla.,L., Sosa-Herrera, M., Reyna, B. B. 2011. Interfacial adsorption and shear flow properties of gum arabic-sodium caseinate mixtures. *Procedia Food Science*, 1, 12– 16.
- Mc Clements, D.J. 1999. *Food emulsions. Principles, Practice and Techniques*. CRC, Nueva York, EUA.
- Mc Clements, D.J. 2012. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *The Royal Society of Chemistry*, 8, 1719–1729.
- Morrison, F. A. 2001. *Understanding rheology*. Oxford University. Nueva York. EUA.
- Muñoz, J., Alfaro, M., Zapata, I. 2007. Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas y Aceites*, 1, 64-73.
- Nishinari, K., Emako, M., Williams, P. 1996. Rheological and DSC studies between gellan gum and konjac. *Carbohydrate Polymers*, 30, 190-207.
- Nishinari, K., Williams, P., Phillips, G. 1992. Review of the physico-chemical characteristics and properties of konjac mannan. *Food Hydrocolloids*, 6, 199– 222.
- Pan, Z. D., Meng, J. J., Wang, Y. M. 2011. Effect of alkalis on deacetylation of konjac glucomannan in mechano-chemical treatment. *Particuology*, 9, 265–269.
- Petsev, D. N. 2004. *Emulsions: Structure stability and interactions*. Academic Press, Albuquerque, EUA.
- Phillips, G.O., Williams, P.A. 1996. *Gums and Stabilizers for the Food Industry*. 10<sup>a</sup> ed., Royal Society of Chemistry, Cornwall, Reino Unido.
- Phillips, W., Phillips, G. 2000. *Handbook of Hydrocolloids*. 2<sup>a</sup> ed., Woodhead Publishing, Boca Raton, EUA.
- Purves, D., Craig H., Orians, G., Hillis, D. 2008. *Vida. La Ciencia de la Biología*. 8<sup>a</sup> ed. Panamericana, China.
- Rajesh, K., Murugesan, S., Nanjaian M. 2012. Multiple emulsions: A review. *International Journal of Recent Advances in Pharmaceutical Research*, 2, 9-19.

- Rajinder P. 2011. Rheology of simple and multiple emulsions. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 16, 41–60.
- Ratcliffe, I., Williams, P., Meadows, J. 2013. Small strain deformation measurements of konjac glucomannan solutions and the influence of borate cross-linking. *Carbohydrate Polymers*, 95, 272–281.
- Ren, W., Zhang, A., Quin, S., Li, Z. 2016. Synthesis and evaluation of a novel cationic konjac glucomannan-based flocculant. *Carbohydrate Polymers* 144, 238–244.
- Srinivasan, M., Singh, H., Munro, P. 1999. Adsorption behaviour of sodium and calcium caseinates in oil-in-water emulsions. *International Dairy Journal*, 9, 337-341.
- Steffe, J. 1996. *Rheological Methods in Food Process Engineering*. 2<sup>a</sup> ed. Freeman Press. East Lansing, EUA.
- Stewart, J., Dickinson, E., Golding, M. 2004. Stability and rheology of emulsions containing sodium caseinate: combined effects of ionic calcium and alcohol. *Journal of Colloid and Interface Science*, 274, 673–686.
- Thomar, P., Benyahia, L., Durand, D., Nicolai, T. 2014. The influence of adding monovalent salt on the rheology of concentrated sodium caseinate suspensions and the solubility of calcium caseinate. *International Dairy Journal*. 37. 48-54.
- Thomar, P., Nicolai, T. 2015. Dissociation of native casein micelles induced by sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 49, 224–231.
- Tobin, J.T., Fitzsimons, S.M., Kelly, A.L., Fenelon, M.A. 2012. Thermodynamic incompatibility between denatured whey protein and konjac glucomannan. *Food Hydrocolloids*, 27, 201-207.
- Turbiscan, 2014. Manual del equipo. MA 2000.
- Vega, C.C. 2006. Sobre las propiedades de las caseínas. *Mundo Lácteo y Cárnico*. 14-17.
- Ye, A., Singh, H. 2001. Interfacial composition and stability of sodium caseinate emulsions as influenced by calcium ions. *Food Hydrocolloids*, 15, 195-207.



- Yin, W.-C., Zhan, H.-B. 2007. Rheological properties of aqueous konjac glucomannan dispersions and its mixtures with soybean protein isolate. *Journal of Central South University of Technology*, 14, 493–497.
- Yin, W.-C., Zhan, H.-B., Huang, L., Nishinary, K. 2008. Effects of the lyotropic series salts on the gelation of konjac glucomannan in aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, 74, 68-78.
- Wang, C., Xu, M., Lv, W. P., Qiu, P., Gong, Y. Y., Li, D. S. 2012. Study on rheological behavior of konjac glucomannan. *Physics Procedia*, 33, 25–30.
- Wang, P., Jin, S., Guo, H., Zhao, L., Ren, F. 2015. The pressure-induced, lactose-dependent changes in the composition and size of casein micelles. *Food Chemistry*, 173, 468–474.
- Wilde, P., Mackie, A., Husband, F., Gunning, P. y Morris, V. 2004. *Proteins and emulsifiers at liquid interfaces. Advances in Colloid and Interface Science*, 108-109, 67-71.
- Xiao, M., Dai, S., Wang, L., Ni, X., Yan, W., Fang, Y., Corke, H., Jiang, F. 2015. Carboxymethyl modification of konjac glucomannan affects waterbinding properties. *Carbohydrate Polymer*, 130, 1–8.
- Luo, X., He, P., Lin, H. 2013. The mechanism of sodium hydroxide solution promoting the gelation of Konjac glucomannan (KGM). *Food Hydrocolloids*, 30, 92-99.
- Ye, R., Harte, F. 2014. High pressure homogenization to improve the stability of casein–hydroxypropyl cellulose aqueous systems. *Food Hydrocolloids*, 35, 670-677.
- Zhang, C., Chen, J.-D., Yang, F.-G. 2014. Konjac glucomannan, a promising polysaccharide for OCDDS. *Carbohydrate Polymers*, 104, 175–181.
- Zhang, Y.-G., Xie, B.-J., Gan, X. 2005. Advance in the applications of konjac glucomannan and its derivatives. *Carbohydrate Polymers*, 60, 27–31.
- Zhou, B., Liu, J., Ye, T., Wang, Y., Xu, W., Li, B. 2014. Phase separation in mixtures of ovalbumin and konjac glucomannan: Physicochemical and microscopic investigations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 70, 167–173.