

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA



DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN *INGENIERÍA QUÍMICA*

“COACERVACIÓN COMPLEJA CON MEZCLAS DE TRES
POLISACÁRIDOS (GOMA ARÁBIGA- GOMA DE MEZQUITE-
QUITOSANO)”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
I.Q. EZRI ABRAHAM SANDOVAL SILVA

Asesor:
DR. EDUARDO JAIME VERNON CARTER

MARZO DE 2010

DEDICATORIA

A mis Padres José Sandoval Ugalde y Susana Silva Utrilla, por todo el apoyo y confianza que siempre me han brindado, por el gran amor que me demuestran día a día, lo que me impulsa a seguir adelante en todos los aspectos de mi vida.

A mis hermanos José Mauricio, Julio Cesar y Susana Sarai, Por siempre estar a mi lado en todo momento, porque siempre confiaron en mi.

Y... A mi familia Itzel Aguilar, Sebastián y la pequeña Sophia... porque son el motor y el motivo de seguir adelante, por su amor, comprensión y apoyo.

AGRADECIMIENTOS.

A Dios sobre todo y sobre todos.

A mi familia y amigos y porque en cualquier situación, siempre he sentido que están conmigo.

A mi asesor Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter, por darme la oportunidad de trabajar con él, por la oportunidad de aprender y por la dirección de esta tesis. Sinceramente agradezco su confianza y paciencia que tuvo hacia mí.

Al Dr. Hugo Espinosa Andrews, por su confianza y comprensión, por su preocupación y apoyo, así como sus comentarios, observaciones y sugerencias que contribuyeron a la mejora y terminación de la tesis.

A “La Pandilla”, por su amistad y porque siempre he contado con ustedes. Por todos los excelentes momentos que hemos compartido y por los que aun están por venir.

A los Amigos y compañeros que he conocido a lo largo de toda mi formación académica, por su compañía, comprensión y apoyo incondicional.

A mis Profesores del Posgrado en Ingeniería Química de la UAM-IZTAPALAPA, por darme la formación académica que permitió el desarrollo de este proyecto.

A los miembros del jurado Dr. Jaime Vernon Carter, Dr. César Pérez Alonso, Dr Mario Vizcarra y al Dr. Luis Medina, por el tiempo y dedicación que invirtieron en la revisión de esta tesis y por sus valiosos comentarios que ayudaron a mejorar este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo financiero otorgado durante la realización de mis estudios y por la beca otorgada para la conclusión de esta tesis, a través del proyecto 45992-Z que lleva por nombre: “Estructuras y Propiedades Físicoquímicas de Películas Interfaciales y su Interrelación con la Protección de Nutracéuticos Emulsificados y Microencapsulados”.

INDICE DE ECUACIONES.	IV
INDICE DE TABLAS	V
INDICE DE FIGURAS	VI
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES	3
BIOPOLÍMEROS	7
<i>POLIELECTROLITOS</i>	<i>10</i>
<i>INTERACCIONES ENTRE BIOPOLÍMEROS</i>	<i>11</i>
<i>GOMA ARÁBIGA (GA)</i>	<i>13</i>
<i>GOMA DE MEZQUITE (GM)</i>	<i>13</i>
<i>QUITOSANO</i>	<i>15</i>
SECADO ISOTÉRMICO DE LOS BIOPOLÍMEROS	16
REOLOGÍA	18
VISCOELASTICIDAD	24
COACERVACIÓN	27
TEORÍA DE EMULSIONES	28
<i>FORMACIÓN Y FORMULACIÓN DE UNA EMULSIÓN</i>	<i>30</i>
<i>FENÓMENOS DE INESTABILIDAD EN EMULSIONES</i>	<i>32</i>
JUSTIFICACIÓN	34
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS	36
GENERAL	36
PARTICULARES	36

CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS	37
MATERIALES	37
METODOLOGÍA.	38
CARACTERIZACIÓN DE LOS BIOPOLÍMEROS	40
<i>DENSIDAD</i>	40
<i>SECADO ISOTÉRMICO</i>	40
<i>DIFUSIVIDAD EFECTIVA Y ENERGÍA DE ACTIVACIÓN</i>	41
<i>CURVAS DE FLUJO (REOLOGÍA EN CIZALLA SIMPLE)</i>	43
<i>DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE EQUIVALENCIA (EQ)</i>	43
<i>MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA (ME)</i>	44
UBICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA FASE COACERVADA	45
<i>COACERVACIÓN</i>	45
<i>TURBIDEZ DE LA FASE EN EQUILIBRIO</i>	45
<i>RENDIMIENTO DE COACERVADO</i>	46
<i>REOLOGÍA DE LOS COACERVADOS</i>	46
FORMULACIÓN DE EMULSIONES SIMPLES O/W POR COACERVACIÓN COMPLEJA.	47
<i>PREPARACIÓN DE LAS EMULSIONES POR COACERVACIÓN</i>	47
CAPITULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
CARACTERIZACIÓN DE LAS MEZCLAS DE BIOPOLÍMEROS	48
<i>COMPORTAMIENTO REOLÓGICO (CURVAS DE FLUJO)</i>	48
<i>DENSIDAD</i>	55
<i>SECADO ISOTÉRMICO</i>	55
<i>DIFUSIVIDAD EFECTIVA (D_{EFF}) Y ENERGÍA DE ACTIVACIÓN EA</i>	58
<i>MEDICIÓN DEL PUNTO DE EQUIVALENCIA DE LOS BIOPOLÍMEROS EN SOLUCIÓN</i>	62
<i>MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA</i>	65
UBICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA FASE COACERVADA	68
<i>FORMACIÓN DE COMPLEJOS (COACERVACIÓN)</i>	68
<i>MEDICIONES DE TURBIDEZ</i>	69
<i>RENDIMIENTO DE COACERVACIÓN</i>	71

<i>REOLOGÍA DE LOS COACERVADOS</i>	<i>73</i>
CONCLUSIONES.	78
BIBLIOGRAFÍA.	80
APENDICE.	91
A1 CURVAS DE VISCOSIDAD Y ESFUERZO DE CORTE	91
A2 CURVAS DE SECADO ISOTERMICO	93
A3 CURVAS DE TITULACION	95
A4 MOVILIDAD ELECTROFORETICA (POTENCIAL Z)	97
A5 COACERVADOS	99

INDICE DE ECUACIONES.

<i>Ecuación 1. (Ley de Newton)</i>	19
<i>Ecuación 2. (Ley de Hooke)</i>	19
<i>Ecuación 3. (Maxwell)</i>	20
<i>Ecuación 4. (Número de Deborah)</i>	20
<i>Ecuación 5. (Viscosidad de Newton)</i>	21
<i>Ecuación 6. (Viscosidad cinemática)</i>	22
<i>Ecuación 7. (Modulo de almacenamiento)</i>	25
<i>Ecuación 8. (Modulo de perdida)</i>	25
<i>Ecuación 9. (Difusividad efectiva promedio)</i>	42
<i>Ecuación 10. (Energía de activación)</i>	42
<i>Ecuación 11. (Ecuación de Henry)</i>	44
<i>Ecuación 12. (Turbidez)</i>	45
<i>Ecuación 13. (Rendimiento de coacervación)</i>	46
<i>Ecuación 14 (D_{eff})</i>	58
<i>Ecuación 15 (Humedad adimensional)</i>	59
<i>Ecuación 16 (Volumen de la gota)</i>	59
<i>Ecuación 17 (Radio de la gota)</i>	59
<i>Ecuación 18 (Radio en función de la humedad)</i>	59
<i>Ecuación 19 (encogimiento volumétrico)</i>	59

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Modelos reológicos</i>	23
<i>Tabla 2. Condiciones de operación del TGA para alcanzar el secado isotérmico</i>	41
<i>Tabla 3. Parámetros a partir del modelo de Herschel-Bulkley</i>	50
<i>Tabla 4. Parámetros a partir del modelo de Casson</i>	51
<i>Tabla 5. Parámetros a partir del modelo de Cross y Careau para el Q</i>	54
<i>Tabla 6 Densidad de las soluciones acuosas de los biopolímeros al 20% (p/p)</i>	55
<i>Tabla 7 Difusividad efectiva D_{eff} de los biopolímeros</i>	60
<i>Tabla 8 Energía de activación de los biopolímeros.</i>	61
<i>Tabla 9 Relaciones teóricas a pH 4.5</i>	65
<i>Tabla 10 Relaciones teóricas de biopolímeros para las distintas mezclas variando las relaciones en una unidad</i>	69
<i>Tabla 11 Relación de biopolímeros para las distintas mezclas con turbidez de cero</i>	71
<i>Tabla 12 Relación óptima para el sistema GM's/Q con respecto al rendimiento de coacervación y turbidez</i>	72

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 Configuración de biopolímeros: a) Barra, b) espiral y c) globular (Lehninger y col., 1993)	8
FIGURA 2 Estructura química del quitosano	15
FIGURA 3 Curvas características de secado de materiales de barrera (Matsuno y Adachi, 1993).	17
FIGURA 4 Curvas de flujo para representar la viscosidad dinámica y aparente	22
FIGURA 5 Mecanismos físicos de inestabilidad de una emulsión (Mc Clements,1990).	32
FIGURA 6 Perfiles de viscosidad de las mezclas de $GA_{xx}GM_{xx}$	49
FIGURA 7. Comportamiento de los modelos Herschel-Bulkley y Casson para las mezclas $GA_{100}GM_0$, $GA_{60}GM_{40}$ y GA_0GM_{100} .	52
FIGURA 8 Perfiles de viscosidad de quitosano al 0.5 % en función de la velocidad de deformación.	53
FIGURA 9 Curvas de secado isotérmico para las mezclas: a) $GA_{100}GM_0$ y b) GA_0GM_{100} a 50, 60 y 70°C.	57
FIGURA 10 Secado isotérmico para las distintas mezclas de $GA_{xx}GM_{xx}$ a 50°C.	57
FIGURA 11 Velocidad de secado de las diferentes mezclas de $GA_{xx}GM_{xx}$ a 50°C	58
FIGURA 12 Curva de Titulación para determinar los puntos de equivalencia de las distintas mezclas: a) $GA_{100}GM_0$ y b) GA_0GM_{100} .	63
FIGURA 13. Curvas de titulación para las distintas mezclas	64
FIGURA 14. Curva de Titulación para determinar el punto de equivalencia de una solución de quitosano al 2% (p/v) en ácido clorhídrico	64
FIGURA 15. Comparación de la movilidad electroforética de las mezclas $GA_{100}GM_0$ y GA_0GM_{100} con respecto a los valores de ME de quitosano	66
FIGURA 16. Comparación de la ME de las mezclas de biopolímeros con respecto a los valores de ME de quitosano	67
FIGURA 17. Turbidez en las fases de equilibrio para los sistemas acomplejados en las diferentes relaciones a una concentración constante de biopolímeros (2% p/p)	70
FIGURA 18. Rendimiento de conservación en la relación de goma Arábiga-mezquite quitosano	72
FIGURA 19 Dependencia del módulo de almacenamiento (G') vs porcentaje de deformación para las distintas mezclas.	74
FIGURA 20. Dependencia del módulo de almacenamiento (G') vs porcentaje de deformación para las mezclas a) $G_{100-0}Q$ y b) $G_{0-100}Q$.	75
FIGURA 21 Dependencia del módulo de almacenamiento (G') vs porcentaje de deformación	76

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los productos farmacéuticos, cosméticos y alimenticios se pueden clasificar como emulsiones o suspensiones (sistemas dispersos). Estos sistemas son complejos en su formulación y técnicas de manufactura. La selección de materiales y condiciones ambientales (temperatura, humedad y luz) afectan fuertemente el desarrollo del producto, así como su estabilidad. No obstante, los sistemas dispersos son muy frecuentes en casi todos los sectores industriales, en donde están involucrados productos líquidos. Parece un tanto sorprendente que, en la mayoría de los casos, estos productos se formulen mediante “prueba y error”, con poca o ninguna aportación teórica. Es cierto también que muchas teorías relacionadas con los sistemas dispersos tienen poco valor práctico, pero hay un conjunto de conocimientos disponibles que, cuando se utiliza correctamente, permite que estos productos sean mejores, más eficientes y que se puedan evaluar de forma más sistemática y realista.

Por otro lado, el uso de polisacáridos en los sistemas dispersos como materiales encapsulantes y formadores de geles provee de nuevas oportunidades para una gran variedad de aplicaciones, tales como adhesivos y matrices para liberación controlada entre otros. La modificación química de un polímero natural (proteínas y polisacáridos) es un camino prometedor en el desarrollo de materiales debido a su inherente biodegradabilidad y biocompatibilidad.

En estudios recientes basados en atracciones electrostáticas de biopolímeros, se abordan con la finalidad de crear emulsiones que mejoren la resistencia a la oxidación y fenómenos de inestabilidad bajo diferentes condiciones, las emulsiones que son formadas a partir de estas interacciones se forman mediante gotas de aceite rodeadas por membranas multicapas interfaciales, las cuales están compuestas de una capa interna emulsionante y una o más capas de biopolímero exterior. Esta tecnología puede usarse para conocer las propiedades

fisicoquímicas de las emulsiones y las propiedades interfaciales, tales como la carga, el espesor de la membrana y su composición.

En la industria alimenticia se pueden crear emulsiones que presenten mayor estabilidad a diversas condiciones que puedan sufrir durante su fabricación, almacenamiento, transporte (bombeo) y utilización por ejemplo: refrigeración, congelación, deshidratación, tratamientos térmicos o agitación mecánica (mezclado). Además se podrían utilizar para generar emulsiones que puedan encapsular y liberar sustancias activas (sabores, antimicrobianos o enzimas) como respuesta de algún agente detonante específico (por ejemplo; concentración, pH, adición de sales y temperatura).

Las interacciones electrostáticas de polisacáridos cargados en las superficies de biopolímeros de carga opuesta anclados en los glóbulos de la emulsión (recubrimiento capa-por-capas) puede aumentar la estabilidad de los sistemas (Guzey, 2007; Harnsilawat y col., 2006; Klinkesorn y col., 2005; Girard y col., 2002a; Kato y col., 1989). Esta técnica de recubrimiento produce membranas interfaciales robustas, las cuales ayudan a estabilizar y reducir la oxidación de los lípidos emulsionados (Klinkesorn y col., 2005). Asimismo, asociaciones atractivas (condiciones específicas de relación y concentración de biopolímeros, pH y fuerza iónica) conllevan a la formación de matrices coacervadas (gel complejo), las cuales, al encontrarse adsorbidos en las interfaces aceite-agua favorecen la formación de emulsiones O/W por coacervación. De esta manera el conocimiento de los principios fisicoquímicos que gobiernan la formación y propiedades de los complejos interfaciales adsorbidos es importante para establecer las condiciones requeridas para producir emulsiones multicapa que exhiban las propiedades mecánicas deseadas.

CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES

En este capítulo se presenta una revisión general sobre los sistemas dispersos y sus aplicaciones. Se comienza con los materiales de pared (emulsificantes y/o encapsulantes) y sus interacciones; se revisan los conceptos, parámetros y condiciones para la formación de complejos insolubles (coacervación); se incluye un panorama general sobre emulsiones, formación y formulación, además de los fenómenos de inestabilidad que se pueden presentar. Por último, se presenta los resultados obtenidos y se hace una discusión de los mismos.

El quitosano (Q) es un polisacárido binario heterogéneo que consiste en residuos de 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopiranososa y 2-amino-2-deoxy- β -D-glucopiranososa, este último es el responsable de su carácter catiónico a valores de pH ácidos. Las propiedades del quitosano en solución dependen de su peso molecular, grado de acetilación, pH y fuerza iónica (Wei y Hudson, 1993; Claesson y Ninhami, 1992). El quitosano es obtenido por la desacetilación de la quitina y este es el segundo polisacárido más abundante del planeta. El uso del quitosano en la industria de los alimentos es particularmente prometedora debido a su biocompatibilidad y su no toxicidad (Kim y col., 2006)

La goma arábica (GA) es una arabinogalactana compuesta por tres distintas fracciones con diferentes contenidos de proteína y diferentes pesos moleculares (Osman, y col., 1993; Randall, 1989; y Kruif, 2001); es un polielectrolito de carga negativa el cual es ampliamente usado en la industria debido a su alta solubilidad y baja viscosidad a altas concentraciones, además de ofrecer buenas propiedades emulsificantes y microencapsulantes (McNamee, O’Riordan y O’Sullivan, 1998; McNamee, O’Riordan y O’Sullivan, 2001). No obstante se ha reportado que la goma Arábica no provee estabilidad a largo plazo contra la oxidación (Bertolini, Siani y Grosso, 2001; Kim y Morr, 1996).

La goma de mezquite (GM) químicamente es una sal neutra de un polisacárido ramificado de naturaleza ácida formado por un núcleo de residuos de β -D-Galactosa, constituyendo un esqueleto de uniones (1-3) y ramificaciones (1-6) y contiene L-Arabinosa (formas cíclicas de Piranosa y Furanosa), L-Ramnosa, β -D-Glucuronato y 4-O-metil- β -D-Glucuronato como azúcares simples y cadenas laterales de oligosacáridos. La GM obtenida de *Prosopis laevigata* contiene una pequeña fracción de proteína ($2.7 \pm 0.06\%$) ligada a la parte central de la estructura primaria de carbohidratos, es una mezcla compleja de al menos cinco fracciones distintas con diferentes composiciones químicas. La parte de proteína es asociada a la fracción de masa molecular más alta, que representa menos del 11% del total de la goma (Orozco-Villafuerte y col., 2003).

La GM es un agente emulsionante muy efectivo, propiedad que está relacionada con su contenido de proteína, y que le permite tener una buena actividad superficial; además la gran masa molecular del componente polisacárido le provee a los sistemas dispersos una estabilidad a largo plazo, debido a factores estéricos (Vernon-Carter, E.J., Beristáin y Pedroza-Islas, 2000).

Las interacciones entre macromoléculas son variadas, éstas pueden ser: débiles o fuertes, específicas o no específicas, atractivas o repulsivas (Dickinson, 1993). Dichas interacciones son determinadas por las características fisicoquímicas de cada biopolímero (densidad de carga y masa molar), su concentración, relación y condiciones de disolución (pH, fuerza iónica y tipo de iones) (Mekhloufi y col., 2005; Schmitt y col., 2005; Xing y col., 2004; Weinbreck y col., 2003). La interacción entre biopolímeros opuestamente cargados fue observada por Tieback en 1911, al mezclar una solución de gelatina y GA en ácido acético; él observó la opacidad o precipitación del sistema (Weinbreck, 2004). Este fenómeno de separación de fases del sistema gelatina/GA fue definido como coacervación.

La palabra coacervación proviene del latín “*coacervatus*”, del pasado participio de “*coacervare*” (amontonarse), lo que significa que precede la unión de partículas coloidales (Sánchez y col., 2002; Menger y Sykes, 1998). IUPAC define a la coacervación como la separación en dos fases líquidas en sistemas coloidales, la fase más concentrada en coloides es conocida como “fase coacervada” y la otra fase se le conoce como “fase en equilibrio”.

La coacervación tiene aplicaciones en los campos de la química, biotecnología y los alimentos, tales como: papel copiador sin carbón (Green y Schleicher, 1956), sustitución de grasas (Bakker, Konig y Visser., 1994), separación de proteínas (Zhao y col., 2005; Jensen, Vrhovski y Weiss., 2000; Wang, Gao y Dubin., 1996), microencapsulación (Yu y Toh, 2006; Thimma y Tammishetti, 2003; Lamprecht, Schafer y Lehr., 2001; Thomasin y col., 1998), cosméticos (Beerse y Smith, 2001a, 2001b), alimentos funcionales (Strauss y Gibson, 2003; Gouin y col., 2003) e inmovilización de enzimas (Onishi, Furukawa y Kataoka., 2002). La microencapsulación por coacervación ha sido ampliamente usada al tratar de conservar las propiedades funcionales de sustancias activas, con algún interés específico. Normalmente, se emplean mezclas proteína-polisacáridos opuestamente cargados para llevar a cabo el proceso de microencapsulación por coacervación. Algunos sistemas comúnmente usados son sistemas de gelatina-GA Xing y col., 2004), suero de leche-goma Arábica (Weinbreck y col. 2004), quitosano-alginatos y quitosano-carragenina (Tapia y col., 2004), goma Arábica-quitosano (Espinosa y col., 2007) entre otros.

Varios estudios han demostrado la formación de complejos electrostáticos de mezclas proteína-polisacárido a pH por encima del punto isoeléctrico de las proteínas. Dichas interacciones, pueden ser modificadas por cambios en el pH, la fuerza iónica y la temperatura, así como la relación de biopolímeros, la concentración total de estos, la densidad de carga y la rigidez de los polielectrolitos (Wang y col., 2007; Bohidar y col., 2005; Weinbreck y col., 2004; Thimma y Tammishetti, 2003; Weinbreck y col., 2003; Girard y col., 2003; Girard y col., 2002; Sanchez y col., 2002; Burgess, 1990).

Sin embargo, son pocos los trabajos que reportan interacciones atractivas entre mezclas de polisacáridos, y aún menor el número de estudios de formación de complejos insolubles polisacárido-polisacárido. Khouryieh y col. (2007). Se observaron interacciones de soluciones diluidas de mezclas de xantana -goma guar y mezclas desacetiladas xantana-guar. Este último sistema exhibía una interacción más fuerte debido al incremento de la flexibilidad de las cadenas de la goma xantana desacetilada. Ruíz-Ramos y col. (2006).

Pérez-Orozco y col. (2004) realizaron estudios de mezclas de GM-Q. Estos autores observaron un incremento de las propiedades reológicas del sistema, debido a la formación de complejos solubles. Nordby y col. (2003) observaron interacción en mezclas pectina-quitosano, las cuales mostraron el comportamiento de un gel fuerte termoreversible sobre un extenso intervalo de composición y temperaturas. Beristain y Vernon-Carter, (1995), estudiaron las interacciones entre la GM y la GA en la preparación de encapsulados de aceite de cascara de naranja; Ogawa, Decker y McClements, (2004) hacen el estudio para producir emulsiones estables de aceite en agua O/W a partir de lecitina-quitosano-pectina, Moreau y col. (2003) estudiaron emulsiones estabilizadas con β -lactoglobulina (β -Lg)-pectina empleando un proceso de dos etapas y Gu, Decker y McClements, (2005), estudiaron la influencia de las condiciones como pH, adición de sales (NaCl, CaCl₂), y temperatura sobre las propiedades y estabilidad de emulsiones aceite en agua (O/W) que contienen gotas rodeadas por una, dos o tres membranas interfaciales (β -lactoglobulina, κ -carragenina y gelatina).

Como se ha mencionado, la mayoría de los sistemas incluyen mezclas proteína-polisacárido, los cuales han sido usados exitosamente en aplicaciones farmacéuticas y alimenticias. Sin embargo, existen pocas investigaciones relacionadas con la formación de complejos insolubles a partir de mezclas de polisacáridos (Dumitriu y col., 1994; Daly y Knorr, 1988). El desarrollo de matrices polisacáridas coacervadas requiere del conocimiento básico acerca de las interacciones atractivas entre los biopolímeros, así como la influencia de éstas en las propiedades reológicas y estabilidad de los sistemas dispersos.

El objetivo de este trabajo fue investigar la formación de complejos poliméricos electrostáticos entre la goma Arábica (GA), goma de mezquite (GM) y el quitosano (Q), dos polisacáridos de la misma carga y uno con carga opuesta. Se determinaron las condiciones de formación de los complejos interbiopoliméricos insolubles (coacervación compleja) usando mediciones potenciométricas de los biopolímeros en solución; turbidimétricas y movilidad electroforética de la fase en equilibrio; y rendimiento de la fase coacervada.

Biopolímeros

Las proteínas y polisacáridos son dos de los tipos más importantes de biopolímeros, debido a sus propiedades emulsionantes y microencapsulantes. Ambas macromoléculas contribuyen a la estructura, textura y estabilidad de diversos sistemas alimenticios por sus características funcionales (capacidad para estabilizar espumas y emulsiones, formar geles, y aumentar la viscosidad en soluciones) (McClements, 1999, Tolstoguzov, 2003). Debido a su gran actividad superficial, las proteínas suelen ser los agentes estabilizantes de elección, especialmente para la formación de espumas y emulsiones aceite en agua (O/W).

Las proteínas son polímeros de aminoácidos y los polisacáridos de monosacáridos. Las propiedades funcionales de los biopolímeros son determinadas por sus características moleculares, tales como su peso molecular, conformación, flexibilidad, polaridad e interacciones electrostáticas. Las características moleculares son determinadas por el tipo, número y secuencia de monómeros que forman la cadena polimérica. Los monómeros varían de acuerdo a su polaridad (iónica, bipolar, no-polar, anfífilica), dimensiones, interacciones, y grupos funcionales. Si un biopolímero contiene solamente un tipo de monómero, a éste se le conoce como homopolímero (por ejemplo, almidón o celulosa), pero si contiene más de un tipo de monómeros, estos se conocen como heteropolímeros (por ejemplo, la goma xantana, goma arábica) (McClements, 1999).

Tanto las proteínas, como los polisacáridos tienen enlaces covalentes sencillos entre los monómeros, por lo que los biopolímeros pueden rotar. Debido a esto y al hecho de que contienen un gran número de monómeros (típicamente entre 20 y 20000) pueden formar un número enorme de configuraciones en solución. (Lehninger y col., 1993; BeMiller y Whistler, 1996)

En la práctica, los biopolímeros tienden a adoptar una conformación que minimiza su energía libre bajo condiciones ambientales. Esto lo logra maximizando el número de interacciones intermoleculares e intramoleculares, minimizando el número de interacciones desfavorables y maximizando su entropía. Las configuraciones que los biopolímeros de forma aislada tienden a adoptar en soluciones acuosas pueden dividirse en tres categorías: en forma de barra, de espirales y globulares. En su configuración de barra tienen estructuras extendidas y rígidas; y en forma de espiral presentan estructuras altamente dinámicas y flexibles mientras que en su forma globular presentan estructuras compactas rígidas (ver figura 1); aunque estas conformaciones pueden ser alteradas si se modifica el pH, la fuerza iónica, la composición del solvente o la temperatura de las soluciones (Lehninger y col., 1993; BeMiller y Whistler, 1996)

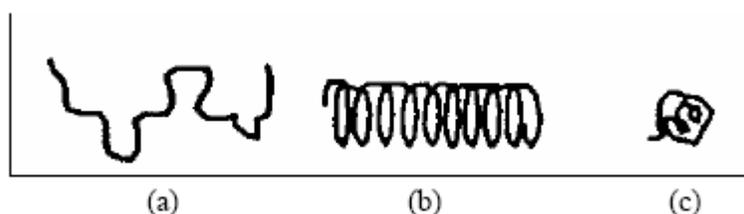


FIGURA 1 Configuración de biopolímeros: a) Barra, b) espiral y c) globular (Lehninger y col., 1993)

Un biopolímero en solución puede existir como una molécula aislada o puede estar asociado con otros tipos de moléculas. La conformación molecular y la asociación de biopolímeros están gobernadas por un balance de energías de interacción y efectos entrópicos (Dickinson y McClements, 1995).

Muchas de las propiedades funcionales (capacidad para estabilizar espumas y emulsiones, formar geles, y aumentar la viscosidad en soluciones) de los biopolímeros en emulsiones están gobernadas por sus interacciones con el agua (solubilidad, dispersabilidad, hinchamiento y espesamiento). Los biopolímeros se añaden comúnmente a la fase acuosa de las emulsiones en forma de polvos, y sus propiedades funcionales se presentan cuando están completamente disueltos y distribuidos homogéneamente en la fase acuosa; por lo que la disolución de biopolímeros en solución es una parte importante en la preparación de emulsiones. Este proceso involucra un número de etapas, que incluyen la dispersión, hidratación, hinchamiento y disolución de los biopolímeros. La efectividad y velocidad de disolución dependen de muchos factores, como el pH, fuerza iónica, temperatura y composición de la fase acuosa, así como de esfuerzos de corte (agitación o mezclado) (Fennema, 2000).

Es importante examinar la forma en que las moléculas de agua se enlazan con las moléculas de biopolímeros. Primero los grupos cargados son hidratados, después los grupos polares y finalmente los grupos no-polares. La solubilidad de una molécula de biopolímero depende de su grado de afinidad con el solvente acuoso en el que es dispersado y está gobernada por las interacciones biopolímero-biopolímero, agua-biopolímero y agua-agua. Una molécula de biopolímero tiene una baja solubilidad cuando las fuerzas de interacciones agua-biopolímero son más débiles que las interacciones agua-agua y biopolímero-biopolímero, porque las moléculas del biopolímero tienden a asociarse unas con otras más que con las moléculas del disolvente (Hill, Ledward, y Mitchell., 1998; McClements, 1999).

En términos generales, la solubilidad de los biopolímeros está determinada por una combinación de interacciones de Van der Waals, electrostáticas, puentes de hidrógeno, estéricas e hidrofóbicas. Estas últimas promueven la agregación entre biopolímeros y por lo tanto se produce una baja solubilidad. Además son importantes cuando las moléculas del biopolímero tienen altas proporciones de grupos no-polares en su superficie (Fennema, 2000).

Las interacciones electrostáticas juegan un papel más importante en la determinación de la solubilidad de biopolímeros que tienen grupos cargados y son importantes para todas las proteínas y muchos polisacáridos. Dichas interacciones pueden ser atractivas o repulsivas, dependiendo de las cargas involucradas, incrementando o disminuyendo la solubilidad de los biopolímeros.

Un grupo importante de biopolímeros son consideradas las gomas; tradicionalmente, el término de gomas se le daba a todas aquellas sustancias que fluyen de ciertas especies vegetales debido a incisiones; presentan un carácter heteropolisacárido de consistencia viscosa; sin embargo, en la actualidad este término se emplea para designar a un gran número de polímeros de origen vegetal, animal, microbiano o sintético, la mayoría de los cuales producen disoluciones o dispersiones viscosas en agua caliente o fría y algunos forman geles; por su naturaleza coloidal también se les da el nombre de hidrocoloides. Las gomas naturales se han empleado ampliamente para una gran variedad de aplicaciones industriales debido a sus propiedades emulsionantes, microencapsulantes, espesantes, estabilizantes y formadores de películas, entre otras.

Polielectrolitos

Un polímero que contiene grupos ionizables es llamado polielectrolito o macroión. Estos pueden agruparse en tres grupos (Walstra, 2003, Hoagland, 2001):

- 1) *Polímeros catiónicos*; contienen grupos amino ($-\text{NH}_2$ o $=\text{NH}$) los cuales pueden ser protonados a pH suficientemente alcalinos (normalmente 7–10).
- 2) *Polímeros aniónicos*; contienen grupos carboxilo ($-\text{COOH}$), los cuales se encuentran en el ácido glucurónico o residuos semejantes presentes en la mayoría de los polisacáridos; como la GA, GM, xantana, así como en pectinas y alginatos.
- 3) *Polianfolitos*; contienen grupos catiónicos y aniónicos. Estas moléculas muestran un punto isoeléctrico, a un pH dado bajo ciertas condiciones en solución en las cuales las magnitudes de las cargas positivas y negativas son iguales.

Si las condiciones de disociación de los grupos iónicos de los polielectrolitos dependen de las condiciones en la solución, particularmente pH o concentración, el polielectrolito es clasificado como débil. Por otro lado, si la carga del polielectrolito es relativamente insensible a las condiciones en solución, el polielectrolito es clasificado como fuerte (Hoagland, 2001b, McClements, 1999).

Las proteínas contienen un cierto número de aminoácidos en su estructura que pueden ionizarse para formar cationes (lisina, prolina, quitina, histamina o con grupo terminal amino) o aniones (ácido glutámico y ácido aspártico o con grupo terminal carboxilo) (McClements, 1999).

Interacciones entre biopolímeros

La naturaleza y fuerza de las interacciones entre los biopolímeros, ya sea en el seno de la solución o en las interfaces, tienen una influencia importante sobre la estabilidad, propiedades funcionales y reológicas de los sistemas dispersos.

Existen biopolímeros como el quitosano y la maltodextrina, los cuales no presentan actividad superficial, por lo que no pueden adsorberse en una interface aceite/agua, siendo incapaces de formular emulsiones estables por sí solos. Sin embargo, se ha encontrado, que estos compuestos, pueden interactuar electrostáticamente con otros biopolímeros formando complejos, que bajo ciertas condiciones (pH, concentración, relación de polímeros, fuerza iónica) pueden mejorar las propiedades del material de barrera en la formación de emulsiones (Espinosa y col., 2007, Mekhloufi y col., 2005; Schmitt y col., 2005; Xing y col., 2004; Weinbreck y col., 2003).

En solución, las interacciones entre biopolímeros presentan compatibilidad termodinámica (miscibilidad) cuando se encuentran en bajas concentraciones. A altas concentraciones, las fuerzas repulsivas y atractivas entre las diferentes macromoléculas dan origen a que se presenten dos fenómenos opuestos: *Incompatibilidad termodinámica y formación de complejos* (Weinbreck y col., 2004b; Tolstoguzov, 2003, 2002). La incompatibilidad termodinámica surge cuando existe una interacción repulsiva entre los biopolímeros provocando que exista una separación en dos fases, cada una de ellas rica en una de las macromoléculas.

La formación de complejos que pueden ser solubles e insolubles se deben a interacciones atractivas en donde ocurre neutralización entre los grupos ionizables de ambas macromoléculas, provocando una disminución en la carga neta del sistema y, a su vez, una disminución de la movilidad de las partes hidrofílicas, lo que puede o no generar la separación de fases (Weinbreck, 2004; Tolstoguzov, 2003, 2002; Kruif y Tuinier, 2001).

Estos arreglos intermoleculares provocan una separación en dos fases de la solución (coacervación compleja), una de ellas es rica en la mezcla de los dos biopolímeros y la otra presenta una pobre concentración de ambos (Tolstoguzov, 2003; Kruif y Tuinier, 2001). La fuerza y rapidez con que se forman los complejos depende de la distribución de los grupos ionizables sobre la superficie de los biopolímeros que interaccionan, de la flexibilidad y desdoblamiento de su estructura, las cuales se encuentran influenciadas por el pH de la solución; tal como lo muestran los resultados obtenidos en la formación de complejos interpoliméricos entre la goma arábica y proteína de suero de leche (Weinbreck y col. 2003), goma arábica-gelatina y goma arábica-quitosano (Espinosa y col., 2007). Schmitt y col. (2001) estudiaron las cinéticas de separación y la morfología de la coacervación compleja entre la β -Lactoglobulina y la goma arábica; la formación y estructura de los agregados formados, dependió de las proporciones relativas de los biopolímeros y la máxima interacción electrostática ocurrió a pH 4.2, por debajo del punto isoelectrico de la proteína.

Goma arábica (GA)

La goma de acacia es un exudado en forma de lágrima que producen los árboles del género *Acacia spp.* Distintas especies de acacia producen distintas gomas arábicas, su composición química varía ligeramente dependiendo del origen, clima, temporada, edad del árbol, etc. (Williams y Phillips, 2000). Es el exudado en forma de lágrima de color ámbar producida por árboles *Acacia Senegal*. Se ha reportado que está constituida por; D-galactosa (~40%), L-arabinosa (~24%), L-ramnosa (~13%), ácido D-glucurónico (~21%) y ácido 4-O-metil-D-glucurónico (~2%), y con un contenido de proteína de 2% a 5%. La pequeña cantidad de proteína que contiene la goma es la responsable de que este biopolímero tenga excelentes propiedades como agente emulsionante y estabilizante (Garti y Reichman, 1993). El peso molecular promedio de la goma arábica es de 5.8×10^5 Da (Dickinson, 2003) y es considerada como un polisacárido aniónico ramificado

Goma de mezquite (GM)

La goma de mezquite es el exudado en forma de lágrima de color ámbar producida por árboles de *Prosopis spp.*, ha sido propuesta como un sustituto de la GA; se ha reportado que es un excelente agente encapsulador de aceites esenciales dentro de un amplio intervalo de actividades acuosas y un agente emulsionante y estabilizante de colorantes naturales, proveyéndoles de una mayor protección en comparación con la GA (Pérez-Alonso y col., 2003; Beristain, García y Vernon Carter., 2002, 2001; Rodríguez-Huezo y col., 2004). La GM químicamente es una sal neutra de un polisacárido ramificado de naturaleza ácida formado por un núcleo de residuos de β -D-galactosa, constituyendo un esqueleto de uniones (1-3) y ramificaciones (1-6). Contiene L-arabinosa (formas cíclicas de Piranosa y Furanosa), L-ramnosa, β -D-glucuronato y 4-o-metil- β -D-glucuronato como azúcares simples y cadenas laterales de oligosacáridos.

La GM obtenida de *Prosopis laevigata* contiene una pequeña fracción de proteína ($2.7 \pm 0.06\%$) ligada a la parte central de la estructura primaria de carbohidratos. Es una mezcla compleja de al menos cinco fracciones distintas con diferentes composiciones químicas, donde la parte de proteína es asociada a la fracción de masa molecular más alta, que representa menos del 11% del total de la goma (Orozco-Villafuerte y col., 2003). La GM es un agente emulsionante muy efectivo, propiedad que está relacionada con su contenido de proteína, y que le permite tener una buena actividad superficial; además la gran masa molecular del componente polisacárido (de $3.5 \cdot 10^4$ a $9.4 \cdot 10^5$ g/mol, Orozco-Villafuerte y col., 2003), le provee a los sistemas dispersos una estabilidad a largo plazo, debido a factores estéricos (Vernon-Carter y col., 2000).

La goma arábica y la goma de mezquite se consideran agentes emulsionantes porque tienen una pequeña fracción proteínica ligada covalentemente a la estructura macromolecular sacárida, y por lo tanto, tienen actividad superficial y la capacidad de adsorberse en interfaces y formar películas viscoelásticas proporcionándole a los sistemas dispersos estabilidad por dos mecanismos principales:

Primero, estabilidad contra la floculación, ya que ambas gomas poseen carga y surge una repulsión electrostática entre dos gotas cubiertas por la goma, debido a la doble capa eléctrica del mismo signo y a su alto peso molecular, si la cantidad de goma utilizada es suficiente para recubrir en su totalidad la superficie de las gotas de la emulsión, surge un potencial de repulsión estérica, por la interacción de las capas adsorbidas.

Segundo, estabilidad contra la coalescencia, ya que al adsorberse la goma en la interface y formar una película viscoelástica, ésta membrana resiste fuerzas de corte, presiones, y desviaciones de la esfericidad de las gotas que al empacarse en estructuras tridimensionales se distorsionan y alejan de la esfericidad.

Quitosano

La mayoría de los polisacáridos poseen una actividad superficial baja o en ocasiones carecen de ella pero se emplean ampliamente como agentes estabilizantes. Cuando no existe evidencia de grupos hidrofóbicos, la función estabilizadora se debe a que modifican las propiedades reológicas de la fase continua. El Quitosano es un polisacárido que actúa como agente estabilizante mediante el aumento de la viscosidad de la fase continua, disminuyendo el movimiento de las gotas de la emulsión; además de que posee actividad microbiana, fungicida, bactericida y nematocida (Rabea y col., 2003). Este compuesto es la forma N-desacetilada de la Quitina que se obtiene tras hidrolizar los grupos acetamida. El quitosano es un polisacárido catiónico de alto peso molecular (figura 2), químicamente está constituido de unidades de glucosalina parcialmente desacetilada (2-amino-2-deoxi-D-glucosa), es biodegradable, no tóxico y soluble en soluciones ácidas. Su peso molecular varía en el intervalo de 10,000 a 1,000,000 g/mol (Fredheim y Christensen, 2003).

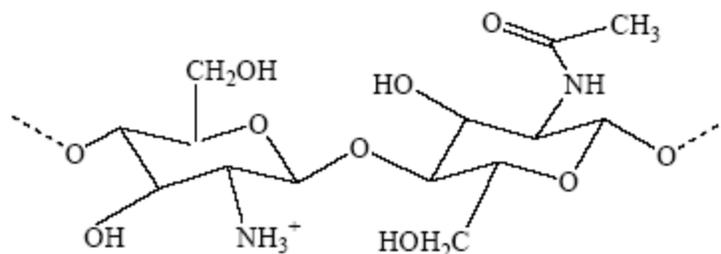


FIGURA 2 Estructura química del quitosano

En los últimos años, el Quitosano ha recibido un interés especial debido a su capacidad de formar complejos polielectrolíticos con proteínas, los cuales pueden ser usados como agentes emulsionantes y estabilizantes de emulsiones O/W (Ogawa y col., 2004). Las propiedades de estabilización del Quitosano dependen de su peso molecular y grado de desacetilación.

El Quitosano puede adsorberse en la interface agua-aceite cuando su estructura presenta zonas ricas en N-acetil-glucosamina (Laplante y col., 2005). También se han reportado interacciones del Quitosano con tensoactivos lipofílicos aniónicos, cuyos complejos pueden ser usados en la formulación de alimentos con un alto contenido nutricional y bajo contenido en colesterol (Thongngam y McClements, 2004).

Secado isotérmico de los biopolímeros

Cuando trabajamos con biopolímeros, no sólo es importante que estos sean buenos emulsionantes, sino además formen una membrana interfacial lo suficientemente robusta para evitar procesos de desestabilización en emulsiones y que, al ser secadas por aspersión, deben contar con propiedades térmicas eficientes que permitan la formación de capas semipermeables complejas que retarden la difusión del oxígeno o luz al interior de las cápsulas y deterioren al material encapsulado

La tendencia de los materiales de barrera a formar una estructura fina y densa durante su secado es difícil de evaluar, pues es caracterizado por la dependencia de la rapidez de secado isotérmico sobre el contenido de humedad. Además, la rapidez de secado isotérmico es gobernada por la rapidez de difusión del agua a través del material de barrera. Varios autores han establecido que este último factor es el determinante en el proceso de secado isotérmico de estos materiales (Bangs y Reineccius, 1990; Imagi y col., 1990, 1992a, b; Matsuno y Adachi, 1993).

Matsuno y Adachi (1993), reportaron un método para caracterizar la capacidad de retención de lípidos de distintos materiales de barrera. El método consiste de dos etapas: (1) el emulsionamiento del lípido en una solución del material de barrera y estimación de la actividad emulsionante a partir de la distribución y tamaño de glóbulo; y (2) la determinación de la rapidez de secado isotérmico del material de barrera, obteniendo curvas de secado características (figura 3), y seleccionando aquellos materiales que produjeron

curvas cóncavas con pendiente positiva (curvas tipo 1), donde la rapidez de secado disminuye rápidamente con el contenido de humedad, indicando que estos materiales tienden a formar una película densa al inicio del secado.

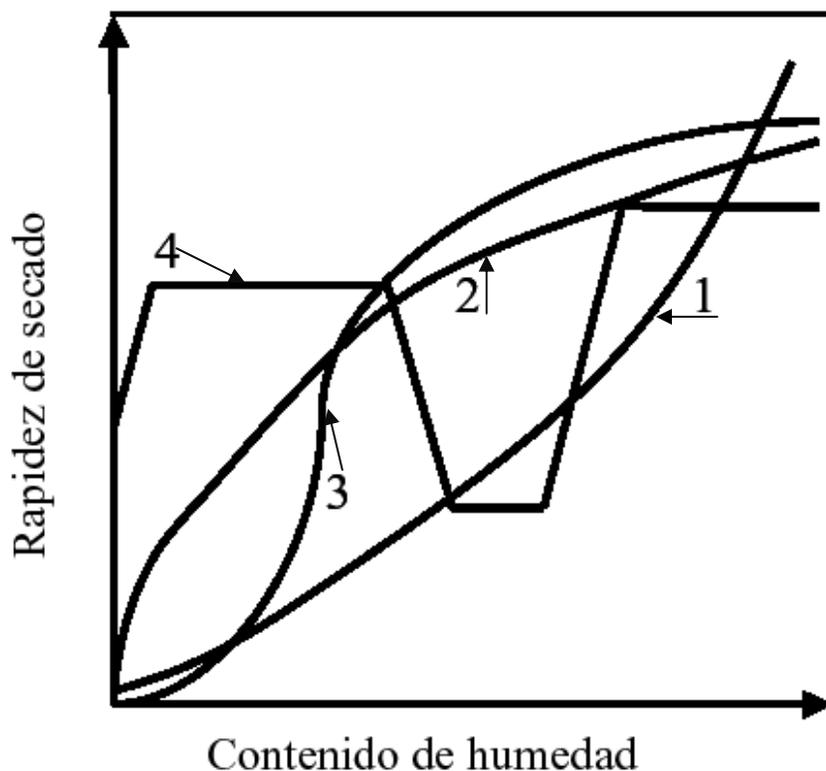


FIGURA 3 Curvas características de secado de materiales de barrera (Matsuno y Adachi, 1993).

Las curvas tipo 2, 3 y 4 corresponden a materiales que no forman películas densas al inicio del proceso de secado, por lo que no son idóneos para lograr una eficiente encapsulación de lípidos (Matsuno y Adachi, 1993). Algunos materiales característicos de las curvas tipo 2 son el caseinato de sodio y la albúmina, mientras que del tipo 3 son los sacáridos de bajo peso molecular que no cristalizan; y los del tipo 4 son materiales como el manitol, que forman cristales.

Reología

La reología es definida como la ciencia de la deformación y el flujo de material, estudia y formula las leyes del comportamiento mecánico de los materiales. El termino reología proviene del griego *rheos* (ρεω), flujo y logos (λογος), ciencia o palabra. La reología es aplicada a todos los materiales, desde gases hasta sólidos (Salazar, 1993).

En la práctica, toda prueba reológica se lleva a cabo mediante la aplicación de una fuerza a la muestra bajo estudio y la medición de la magnitud de su deformación o, equivalentemente, aplicar una deformación y medir la resistencia que presenta. Las relaciones entre el esfuerzo y la deformación que resultan de dichas pruebas se denominan ecuaciones constitutivas (ecuaciones reologicas de estado). El análisis de las propiedades mecánicas del material se basa en determinados modelos idealizados, cuyo comportamiento se describe por un número reducido de parámetros (en los casos más simples, por un solo parámetro) y en la mayoría de las ocasiones, se limitan a la utilización del estado de esfuerzo simple de corte y de velocidades de deformación pequeñas (Salazar, 1993). Su estudio es esencial en muchas industrias, incluyendo las de plásticos, pinturas, alimentación, tintas de impresión, detergentes o aceites lubricantes, entre otras.

En 1678 Robert Hooke fue el primero que habló de la reología en su libro “Verdadera teoría de la Elasticidad”. Dicha teoría se resumía en lo siguiente: “Si se dobla la tensión, se dobla deformación”.

Nueve años después, Isaac Newton publicó en “Philosophiae Naturalis Principia Mathematica” una hipótesis asociada al estado simple de cizalladura (o corte): “La resistencia derivada de la falta de deslizamiento de las partes de un líquido es proporcional a la velocidad con que se separan unas de otras dentro de él”.

Esta necesidad de deslizamiento es lo que ahora se denomina “Viscosidad”, sinónimo de fricción interna. Dicha viscosidad, es una medida de la resistencia a fluir.

La fuerza por unidad de área que se requiere para el movimiento de un fluido se define como F/A y se denota como “ σ ” (tensión o esfuerzo de cizalla). Según Newton la tensión de cizalla o esfuerzo cortante es proporcional al gradiente de velocidad (du/dy), o también denominado como D . Si se duplica la fuerza, se duplica el gradiente de velocidad:

$$\text{Ecuación 1. (Ley de Newton) } \tau = \mu \cdot \frac{du}{dy} = \mu \cdot D$$

A la ecuación 1 se denomina *Ley de Newton*, que es aplicable para fluidos Newtonianos. La glicerina y el agua son ejemplos muy comunes que obedecen la Ley de Newton. Para la glicerina, por ejemplo, la viscosidad vale $1000 \text{ mPa}\cdot\text{s}$, en cambio para el agua la viscosidad vale $1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$, es decir, es mil veces menos viscosa que la glicerina.

En esta época apareció la Ley de Hooke que fue de aplicación para el estudio de la reología de sustancias sólidas (ecuacion2):

$$\text{Ecuación 2. (Ley de Hooke) } \sigma = G \cdot \gamma$$

Donde:

σ : esfuerzo cortante (Pa)

G : módulo de rigidez (Pa)

γ : deformación (%)

La expresión nos dice que si se aplica una carga σ sobre un cuerpo sólido, éste va a sufrir una cierta deformación γ . El valor de dicha deformación se mantendrá hasta que cese el esfuerzo aplicado.

En 1867 J.C Maxwell, en su artículo “Sobre la teoría dinámica de los gases”, incluido en la Enciclopedia Británica, propuso un modelo matemático para describir los fluidos que poseen propiedades elásticas (ecuación 3), es decir, elementos asociados a la respuesta de un sólido:

$$\text{Ecuación 3. (Maxwell)} \quad \sigma = \beta \cdot \gamma$$

donde β es un parámetro semejante al módulo de rigidez (Parámetro no-nulo). La conducta que observó Maxwell en líquidos se denominó posteriormente “Viscoelasticidad”.

A partir de la Segunda Guerra Mundial, la Reología cobró mucha fuerza con la búsqueda de materiales viscoelásticos. Aparecieron poco a poco modelos que asumieron que tanto el módulo de rigidez podían variar con la tensión aplicada. Además se observó que la viscosidad también dependía del tiempo (Tixotropía y Reopexia) y se profundizó en que los materiales reales pueden presentar comportamiento viscoso, elástico, o una combinación de ambos.

En 1945 M. Reiner definió el número de Deborah (ecuacion4), D_e como:

$$\text{Ecuación 4. (Número de Deborah)} \quad D_e = \frac{\tau}{T}$$

En donde “ τ ” es el tiempo característico del material y “ T ” el tiempo característico del proceso de deformación. Si D_e era muy alto se consideraba al material como un sólido elástico, y si D_e era muy bajo se le consideraba como un líquido viscoso.

A partir de ese año, el interés por la reología fue aumentando con la aparición de las fibras sintéticas, plásticos, detergentes, aceite multigrado, pinturas y adhesivos entre otros, estudiándose para ello suspensiones newtonianas tanto diluidas como concentradas.

La reología ha sido muy importante y lo seguirá siendo para el desarrollo de múltiples industrias, como por ejemplo la industria farmacéutica y alimenticia, así que es de gran relevancia un estudio minucioso de ésta ya que nos permite diseñar e instrumentar la tecnología para su formulación, transporte y almacenamiento. Los estudios reológicos proveen de información muy valiosa para determinar la estabilidad y microestructura de los sistemas dispersos (Pal, 1996), así como de la naturaleza y fuerza de las interacciones entre gotas provocadas por la adsorción de las moléculas con actividad superficial.

La *viscosidad* se puede definir como una medida de la resistencia a la deformación del fluido. Dicho concepto se introdujo anteriormente en la Ley de Newton, que relaciona el esfuerzo cortante con la velocidad de deformación (gradiente de velocidad) ecuación 5.

Ecuación 5. (Viscosidad de Newton) $\tau = \mu \cdot D$

Donde,

τ : esfuerzo cortante [mPa].

μ : viscosidad [mPa·s]

D: velocidad de deformación [s^{-1}]

Existen tres tipos de viscosidad: la viscosidad dinámica, la viscosidad cinemática y la viscosidad aparente.

La *viscosidad dinámica o absoluta*, denominada “ μ ”. Si se representa la curva de flujo (esfuerzo cortante frente a velocidad de deformación) se define también como la *pendiente* en cada punto de dicha curva.

En cambio, la *viscosidad aparente* “ μ ” se define como el cociente entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación. Este término es el que se utiliza al hablar de “viscosidad” para fluidos no newtonianos.

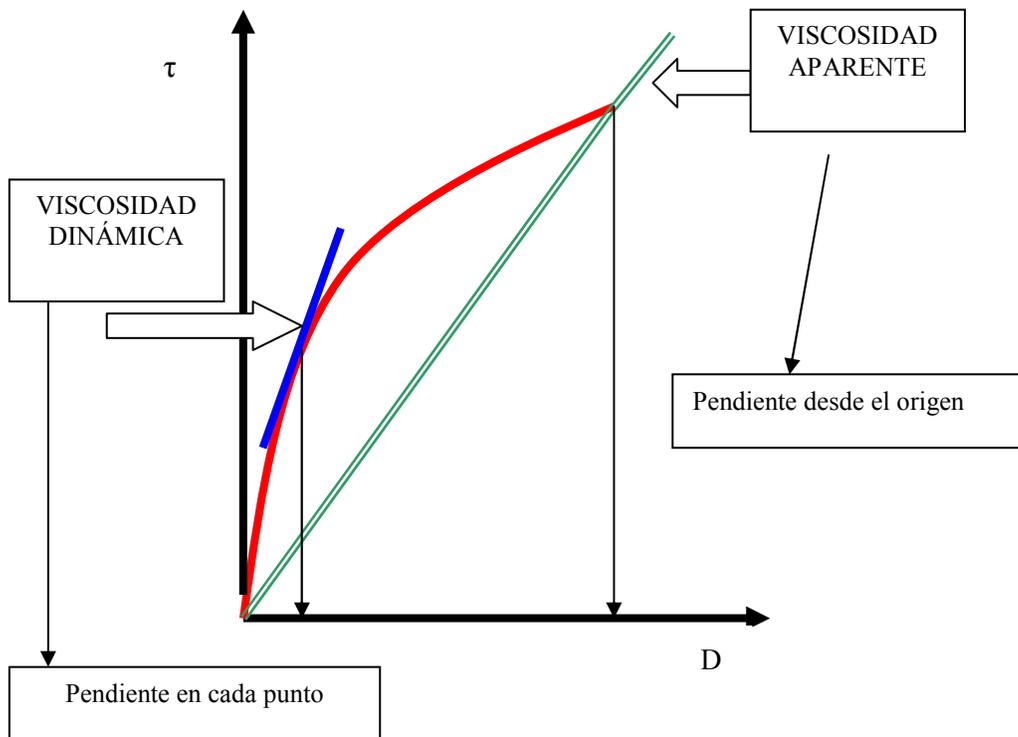


FIGURA 4 Curvas de flujo para representar la viscosidad dinámica y aparente

Por último existe otro término de viscosidad “ ν ” denominado *viscosidad cinemática* (ecuación 6), que relaciona la viscosidad dinámica con la densidad del fluido utilizado.

$$\text{Ecuación 6. (Viscosidad cinemática)} \quad \nu = \frac{\mu}{\rho}$$

Donde:

ν : viscosidad cinemática.

μ : viscosidad dinámica .

ρ : densidad del fluido.

Los fluidos viscoelásticos se caracterizan por presentar a la vez tanto propiedades viscosas como elásticas. Esta mezcla de propiedades puede ser debida a la existencia en el líquido de moléculas muy largas y flexibles o también a la presencia de partículas líquidas o sólidos dispersos.

Ante la diversidad del comportamiento de los materiales reales y su complejidad, se recurre a los modelos mecánicos para explicar su respuesta ante la aplicación de una acción externa. Cada modelo explica un determinado comportamiento, definiendolo con ecuaciones matemáticas y representarlo gráficamente en función de las variables implicadas: esfuerzo, velocidad de deformación y tiempo. Gran variedad de modelos se pueden encontrar en la literatura, sin embargo por conveniencia se dividen en modelos independientes del tiempo y dependientes del tiempo; algunos modelos reológicos para alimentos tenemos:

Tabla 1. Modelos reológicos

<i>Independientes del tiempo</i>		<i>Dependientes del tiempo</i>	
Newtoniano	$\sigma = \eta \dot{\gamma}$		
Ley de potencia	$\sigma = k \dot{\gamma}^n$	Weltman	$\sigma = A - B \log t$
Bingham	$\sigma = \eta' \dot{\gamma} + \sigma_0$		
Herschel-Bulkley	$\sigma = k(\dot{\gamma})^p + \sigma_0$	Tiu y Boger	$\sigma = \lambda[\sigma_0 + k(\dot{\gamma})^p]$
Casson	$\sigma^{\frac{1}{p}} = k(\dot{\gamma})^{\frac{1}{p}} + \sigma_0$		
Cross	$\eta_a = \eta_{\infty} + \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{1 + (\alpha_c \dot{\gamma})^m}$		
Carreau	$\eta_a = \eta_{\infty} + \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{[1 + (\alpha_c \dot{\gamma})^2]^m}$		

Donde:

σ : Esfuerzo cortante (Pa)

$\dot{\gamma}$: Velocidad de deformación (s^{-1})

σ_0 : Esfuerzo de fluencia (esfuerzo a corte cero)

A: valor de esfuerzo a $t = 1s$

B: constante

El análisis de las curvas de deformación/esfuerzo constante con el tiempo, proporciona información amplia sobre el comportamiento reológico del material tratado, a través del cálculo de varios parámetros reológicos.

Viscoelasticidad

El comportamiento viscoelástico de los materiales depende de su naturaleza, pero también, del tiempo de observación del experimento y del tiempo característico del sistema, el cual se define como el tiempo que le toma al sistema relajar algún esfuerzo aplicado. Así pues, el término de “viscoelasticidad” hace referencia a la coexistencia de propiedades viscosas y elásticas de un material. Cuando el cuerpo es sometido a un esfuerzo o a una deformación, en su interior se generan “reacomodos” moleculares que requerirán tiempos finitos de acuerdo a la estructura del material (Herrera, 2003). Cuando el inverso del tiempo es menor al tiempo de observación, el comportamiento de este material se describirá como “comportamiento viscoso”. En consecuencia, cuando los reacomodos en el interior del cuerpo se llevan a cabo en tiempos muy grandes, mayores al tiempo de observación, el comportamiento se describe como “elástico”.

El esfuerzo o la rapidez de deformación se aplican en forma diferencial y la relación entre la deformación y el esfuerzo en función del tiempo se puede expresar por medio de ecuaciones diferenciales lineales con coeficientes constantes, entonces se tiene un comportamiento viscoelástico lineal, donde la dependencia de la relación esfuerzo/deformación es una función del tiempo (o frecuencia) y no de la magnitud del esfuerzo (Medina, 2005).

Viscoelasticidad lineal

La viscoelasticidad lineal es aplicada cuando la deformación encontrada por los materiales es suficientemente pequeña, para que el material no modifique su estado de equilibrio, una característica del comportamiento lineal es que las propiedades reológicas medidas son

independientes de la magnitud de la deformación o el esfuerzo aplicado, y las relaciones entre el esfuerzo, la deformación y su dependencia con el tiempo son descritos generalmente por ecuaciones constitutivas o ecuaciones reológicas de estado. Como se menciona anteriormente, los fluidos viscoelásticos se caracterizan por presentar a la vez tanto propiedades viscosas como elásticas. Esta mezcla de propiedades puede ser debida a la existencia en el líquido de moléculas muy largas y flexibles o también a la presencia de partículas líquidas o sólidos dispersos (Medina, 2005). El comportamiento viscoelástico es inherente a todas las dispersiones de polímeros, sistemas multifase y estructuras de tejidos. Muchos de los fluidos poliméricos y semisólidos poseen esta naturaleza. El comportamiento viscoelástico es particularmente relevante en situaciones de movimiento inconstante, esto es, cuando los esfuerzos o deformaciones están cambiando con el tiempo. Por lo que la respuesta dinámica de los materiales viscoelásticos puede ser utilizada para obtener información de aspectos estructurales de un sistema a nivel molecular o predecir el comportamiento a una escala macroscópica (Medina, 2005).

Uno de los modelos que describe el comportamiento viscoelástico es el de *Maxwell*. A partir de este modelo se pueden obtener funciones que representen los módulos de almacenamiento y disipación (G' y G'') (Zanzotto y col., 2004), resultando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Ecuación 7. (Modulo de almacenamiento) } G' = \eta_0 \frac{\lambda\omega^2}{1+(\lambda\omega)^2} = G \frac{(\lambda\omega)^2}{1+(\lambda\omega)^2}$$

$$\text{Ecuación 8. (Modulo de perdida) } G'' = \eta_0 \frac{\omega}{1+(\lambda\omega)^2} = G \frac{\lambda\omega}{1+(\lambda\omega)^2}$$

Donde, tenemos que:

G = Módulo de rigidez

G' = Módulo de almacenamiento

G'' = Módulo de pérdida

η_0 = Viscosidad a bajas velocidades de cizalla simple

λ = tiempo de relajación de esfuerzos

ω = Frecuencia de oscilación

En la viscoelasticidad lineal las funciones materiales: Los módulos de almacenamiento, y de pérdida, indican la cantidad de energía que se almacena en el material en cada ciclo de deformación, y el último es un indicativo de la cantidad de energía disipada durante cada ciclo de deformación. De esta manera, para un sólido perfectamente elástico, donde toda la energía se almacena y se recupera en cada ciclo, G'' tendrá un valor de cero y el esfuerzo y deformación estarán en fase ($\delta=0$); contrariamente, para un líquido perfectamente viscoso, donde toda la energía se disipa en forma de calor, G' tendrá un valor de cero y el esfuerzo y la deformación estarán desfasados 90° . Por lo tanto, para un material viscoelástico donde tanto la componente elástica como la viscosa están presentes, el ángulo de desfasamiento (δ) tendrá un valor intermedio entre 0° y 90° .

Chen y Dickinson (1998) hacen alusión a las mejoras que proporciona el uso del suero de leche como agente emulsionante y sobre las interacciones que presenta en presencia de tensoactivos como Tween y Dimodan, analizando los módulos viscoelásticos de pérdida G'' (relacionado al comportamiento viscoso) y de almacenaje G' (relacionado al comportamiento elástico) del sistema. Los mismos autores también llevaron a cabo un estudio sobre las interacciones al usar la β -Lactoglobulina y tensoactivos mediante el estudio de los módulos ya descritos. Hemart y col. (2002) caracterizaron las interacciones que presenta la κ -Carragenina con las proteínas κ -Caseína, β -Lactoglobulina mediante la medición de las propiedades reológicas de los geles; los estudios indicaron que la gelación de las proteínas es acelerada por la adición del polisacárido.

Coacervación

El método de coacervación es un método químico de separación de fases y ha sido usado como una alternativa para formar microcápsulas. La microencapsulación por coacervación requiere que el material a encapsular y el material de pared sean mezclados; la cobertura es depositada sobre el material activo. Generalmente; un cambio de pH, temperatura o fuerza iónica provoca una fase de separación o coacervación de la cobertura; originando la encapsulación del material activo disperso; finalmente la cobertura es solidificada por medios térmicos o entrecruzamiento (Weinbreck y col. 2004, Xing y col., 2004).

El término coacervación fue introducido para describir la separación de fase líquido/líquido espontánea que puede ocurrir cuando se mezclan polielectrolitos de cargas opuestas en un medio acuoso. En una solución coloidal las cargas pueden orientarse formando puentes que dan origen a una disminución en la solubilidad del coloide; como consecuencia una parte del coloide puede ser separado en una nueva fase, convirtiendo al sistema en bifásico. El soluto polimérico separado en forma de pequeñas gotas líquidas constituye el coacervado. La deposición de este coacervado alrededor de partículas insolubles dispersas en un líquido forma cápsulas incipientes que, por una gelificación apropiada da las cápsulas finales. La coacervación puede ser iniciada por diferentes formas: cambios de pH, temperatura o adición de una segunda sustancia como una sal iónica (Yáñez y col., 2002).

Usualmente se utiliza una proteína (gernetina) como agente encapsulante (policación) y gomas como la Arábica que actúa como polímero de carga opuesta para que la coacervación ocurra.

En general el proceso de coacervación consiste de tres pasos:

- 1) Formación de un sistema de tres fases químicamente inmiscibles (una fase líquida o fase continua, un material a recubrir y un material de cobertura o de pared.

2) Deposición del material polimérico líquido que formará la cubierta, sobre el material a cubrir.

3) Solidificación de la cubierta.

La coacervación simple se presenta cuando sólo la proteína es inducida a formar microcápsulas mientras que la coacervación compleja utiliza un polímero de carga opuesta como goma Arábica o proteínas (Walstra, 2003).

Teoría de Emulsiones

Una emulsión consiste de dos líquidos inmiscibles (comúnmente agua y aceite), con uno de los líquidos disperso en pequeñas gotas esféricas en el otro. Las variables más importantes que determinan las propiedades de una emulsión son las siguientes:

Tipo, es decir de acuerdo a la distribución de las fases acuosa y oleosa. Un sistema que consiste en la dispersión de gotas de aceite en una fase acuosa es conocido como *emulsión aceite en agua (O/W)*. Un sistema que consiste en la dispersión de gotas de agua en una fase oleosa es conocido como *emulsión agua en aceite (W/O)*. El tipo determina, entre otras cosas, con que líquido puede diluirse una emulsión (Fennema, 2000).

Distribución de tamaño de las gotas. Repercute de un modo importante en la estabilidad física; generalmente las gotas mas pequeñas constituyen emulsiones más estables. La energía y la cantidad de emulgente necesarias para producir la emulsión dependen del tamaño de partícula deseado. Los diámetros de las gotas oscilan en el intervalo de 0.1 a 100 µm. La amplitud de la distribución del tamaño es igualmente importante por la dependencia de la estabilidad con respecto al tamaño de partícula (Dickinson, 2003).

Fracción volumétrica de la fase dispersa (ϕ). En la mayor parte de los alimentos, ϕ oscila entre 0.01 y 0.4 y el máximo para el empaquetamiento de esferas rígidas es aproximadamente 0.7; esto significa que las gotas del aceite tienden a estar algo distorsionadas y representa la concentración de la fase dispersa en el sistema.

Composición y grosor de la película superficial en torno a las gotas. Determina la tensión superficial y las fuerzas de interacción coloidales.

La composición de la fase continua, determina las relaciones entre el disolvente y el tensoactivo y, por lo tanto, las interacciones coloidales. La viscosidad de la fase continua afecta considerablemente al “desnatado”. (McClements, 1999, Fennema, 2000, Tesch y Schubert, 2002).

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, pero es posible hacerlas cinéticamente estables (metaestables) por un periodo razonable de tiempo (algunos días, semanas, meses, o años) mediante la incorporación de sustancias conocidas como la *agentes emulsionantes y estabilizantes* (Dickinson, 2003).

Un agente emulsionante es un compuesto químico (o mezcla) que promueve la formación de la emulsión y le brinda estabilidad a corto plazo como consecuencia de su actividad superficial (Tesch y Schubert, 2002). Existen dos tipos de agentes emulsionantes: a) moléculas anfifílicas de bajo peso molecular (sustancias conformadas por una parte polar que tiene afinidad por la fase acuosa, y una parte no polar con afinidad por la parte oleosa) mejor conocidas como tensoactivos, entre las cuales encontramos los monoglicéridos, lecitina, ésteres de sacarosa, polisorbatos, entre otros; b) moléculas de alto peso molecular que poseen actividad superficial, como las proteínas y algunos polímeros (Dickinson, 1993).

Un agente estabilizante es un compuesto químico de alto peso molecular (hidrocoloides) que confiere estabilidad a largo plazo, mediante la modificación de las propiedades reológicas del medio de dispersión (viscosidad o gelación de la fase continua) o por la adsorción en la interface agua-aceite, formando capas estabilizadoras alrededor de las gotas mediante mecanismos estéricos (Vélez y col., 2003; Sahin y Ozdemir, 2004).

Formación y formulación de una emulsión

Para obtener una emulsión se necesita aceite, agua y un agente emulsionante (es decir un tensoactivo) y energía (generalmente energía mecánica). La energía necesaria para formar y romper las gotas se suministra generalmente por agitación mecánica. La agitación puede generar fuerzas de cizalla suficientemente intensas si la fase continua es muy viscosa. En una emulsión O/W la viscosidad de la fase continua tiende a ser baja; para romper las gotas se requieren fuerzas de inercia producidas por las rápidas e intensas fluctuaciones de presión debidas al flujo turbulento.

El proceso de convertir dos líquidos inmiscibles en una emulsión, o de reducir el tamaño de las gotas dispersas, se conoce como *homogeneización*. Los equipos que llevan a cabo este proceso se conocen como *homogeneizadores*.

Una emulsión está constituida por tres regiones, las cuales presentan propiedades fisicoquímicas diferentes: la fase dispersa, la fase continua y la interface (membrana interfacial). Todas las moléculas o ingredientes de la emulsión se distribuyen de acuerdo con su concentración y polaridad, a lo largo de las regiones mencionadas anteriormente. Las moléculas polares tienden a localizarse en la fase acuosa, las moléculas no polares tienen afinidad por la fase oleosa, y las moléculas anfífilicas se localizan en la interface (McClements, 1999).

En los últimos años, se ha encontrado que, la formación de capas múltiples polielectrolíticas pueden aumentar la estabilidad de los sistemas emulsionados. Tales son los casos de: quitosano-goma de mezquite (Pérez-Orozco y col, 2004); proteína de suero de leche-carragenina (Weinbreck y col. 2004); goma Arábica-goma de mezquite-maltodextrina (Rodríguez-Huezo y col. 2004, Pérez-Alonso y col., 2003); quitosano-alginatos y quitosano-carragenina (Tapia y col., 2004), carragenina- β - lactoglobulina (Gu y col., 2004) lecitina-quitosano-pectina (Ogawa y col. 2004); lecitina-quitosano (Ogawa y col. 2003^a); β -lactoglobulina-pectina (Moreau y col., 2003); proteína-goma Arábica (Ibanoglu, 2002); por mencionar algunos. Además, las emulsiones finales, tienen un efecto significativo en la protección de las sustancias activas, en algunos casos, a valores bajos de pH y temperaturas extremas.

Lo anterior implica que, bajo ciertas condiciones (relación biopolímero-tensoactivo o biopolímero-biopolímero, pH, fuerza iónica) se pueden producir emulsiones cinéticamente estables. Asimismo, el uso de matrices polielectrolíticas puede ayudar a inhibir la oxidación de las sustancias contenidas en su interior. Cuando los glóbulos de la emulsión tienen carga positiva, estos repulsan a los iones metálicos presentes en la solución mediante efectos electrostáticos.

De manera general, el desarrollo de nuevos productos depende de la selección adecuada de los agentes emulsificantes y estabilizantes, las que a su vez, dependen de la composición y estructura de la matriz alimenticia, las condiciones de procesamiento, almacenamiento y aplicación.

Fenómenos de Inestabilidad en Emulsiones

Como se ha dicho las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, debido a que el estado de menor energía es aquél en el que las fases están separadas. Por lo que el sistema puede presentar desestabilización. Los principales mecanismos de desestabilización para una emulsión sencilla O/W se pueden observar en la Figura 5 y son:

La sedimentación y el cremado, son dos formas de separación gravitacional. El cremado describe la migración de las gotas hacia la parte superior del sistema debido a la diferencia de densidades en las fases. En la sedimentación ocurre un proceso inverso.

La floculación y coalescencia, son dos tipos de agregación de las gotas. La inestabilidad por floculación ocurre cuando dos o más gotas se agregan, debido a las colisiones provocadas por el movimiento Browniano conservando su individualidad. Mientras que en la coalescencia o la colisión de dos o más gotas para forma una sola.

Inversión de fases, es el proceso mediante el cual una emulsión agua en aceite se convierte en una emulsión aceite en agua, o viceversa.

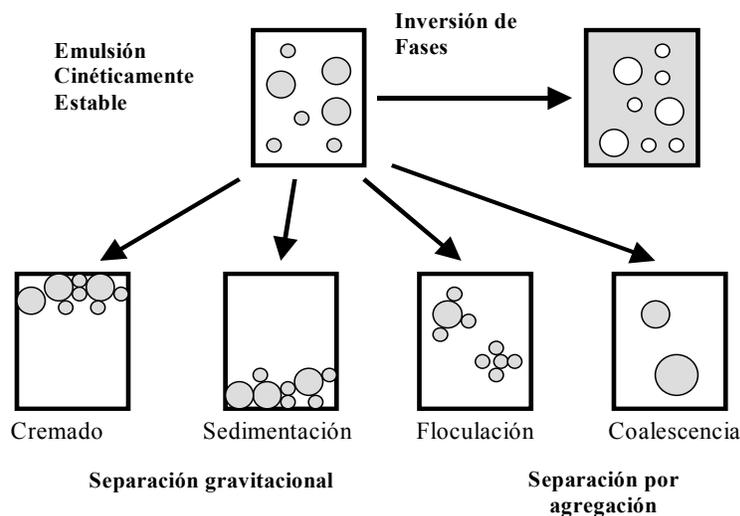


FIGURA 5 Mecanismos físicos de inestabilidad de una emulsión (Mc Clements,1990).

En la *Coalescencia*; no hay una teoría generalmente adaptada, pero se piensa que son válidos los siguientes principios para evitarla.

En gotas más pequeñas, ya que éstas tienen una película de menor área y por lo tanto una menor probabilidad de rotura de la misma; se necesitaría mayor coalescencia para tener gotas de un mayor tamaño. En la práctica, la variable fundamental suele ser el tamaño de gota medio.

Una película gruesa que separa las gotas supone fuerzas repulsivas más intensas o de mayor alcance. La repulsión estérica es especialmente eficaz contra la coalescencia porque mantiene relativamente distantes a las gotas.

Aumento en la tensión superficial, debido a que la energía libre de activación para la ruptura de la película que es mayor cuando la tensión superficial es mayor. (Fennema, 2000)

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el concepto de protección de sustancias alimenticias o farmacéuticas ha adquirido gran interés; debido a que provee de oportunidades novedosas para generar nuevas aplicaciones, en medicina como en la industria alimenticia. Por ejemplo; adhesivos, matrices para liberación controlada, emulsiones estables y protección de sustancias lábiles, entre otras. Esta diversidad de aplicaciones permite que los aditivos (volátiles, reactivos o sensibles) como las vitaminas, puedan convertirse en ingredientes estables y funcionales, a través de técnicas de emulsiónamiento y microencapsulación.

El desarrollo de materiales de pared que contribuyan a mejorar las propiedades de una sustancia como estabilidad, protección, textura, apariencia o sabor, juega un papel importante en la aceptación del consumidor. Los alimentos son sistemas complejos que están formados por varios componentes como proteínas, grasas, carbohidratos y sales minerales los cuales influyen en las propiedades funcionales. Por lo tanto, la funcionalidad total de un ingrediente no puede ser considerada independiente de otros. Más bien, los efectos funcionales observados son el resultado de la interacción entre los ingredientes. Por lo que, el diseño de emulsiones que cumplan con las propiedades fisicoquímicas y funcionalidad deseada requiere de conocimientos básicos referentes a las interacciones entre los materiales emulsionantes y/o de pared y otros compuestos de la formulación, así como de la composición.

Hay una gran variedad de sistemas alimenticios dispersos y cada uno es caracterizado por sus propiedades moleculares y funcionales, las cuales podrían usarse para formular emulsiones con multicapas; por ejemplo, fosfolípidos, agentes emulsionantes de bajo peso molecular, ácidos grasos, proteínas, y polisacáridos con características diferentes ya sean moleculares (carga eléctrica, peso molecular, conformación, valores de pKa, temperatura de transición, etc.) como funcionales (solubilidad viscosidad, gelación y actividad superficial)

Por consiguiente, el desarrollo de sistemas coacervados multicapa pueden presentar una amplia gama de diferentes propiedades, mediante el uso de combinaciones de biopolímeros para producirlas.

El objetivo de este trabajo fue el estudio de las interacciones que surgen de las mezclas de goma arábica-goma de mezquite-quitosano, a través de la formación de complejos insolubles (coacervados), estableciendo los factores que afectan la formación de estos, el rendimiento de coacervación, así como sus posibles ventajas al emplear un sistema de tres componentes; las cuales se reflejan en paredes mas gruesas y con ello mayor estabilidad y protección. Contribuyendo en la formulación de productos estables y funcionales.

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

General

Estudio de las interacciones que surgen de las mezclas de goma arábica (GA)-goma de mezquite (GM)-quitosano (Q), a través de la formación de complejos electrostáticos insolubles (coacervados), así como sus propiedades para su aplicación en sistemas dispersos (emulsiones simples O/W coacervadas).

Particulares

Caracterizar fisicoquímicamente las soluciones de biopolímeros (goma Arábica, goma de mezquite y Quitosano) a partir de técnicas reológicas, mediciones del punto de equivalencia, secado isotérmico, turbidez y movilidad electroforética.

Establecer las condiciones (pH, concentración y relación de biopolímeros) para llevar a cabo la coacervación de mezclas de goma Arábica - goma de mezquite y quitosano como polisacárido de carga opuesta.

Obtener las propiedades reológicas en régimen oscilatorio de los coacervados, para conocer su comportamiento viscoelástico.

CAPÍTULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS

En este capítulo se muestra un panorama acerca de los materiales y la metodología empleada.

Materiales

Goma Arábica GA (*Acacia senegal*) en lágrima, proporcionada por Industrias Ragar, S.A. de C.V. (D.F., México).

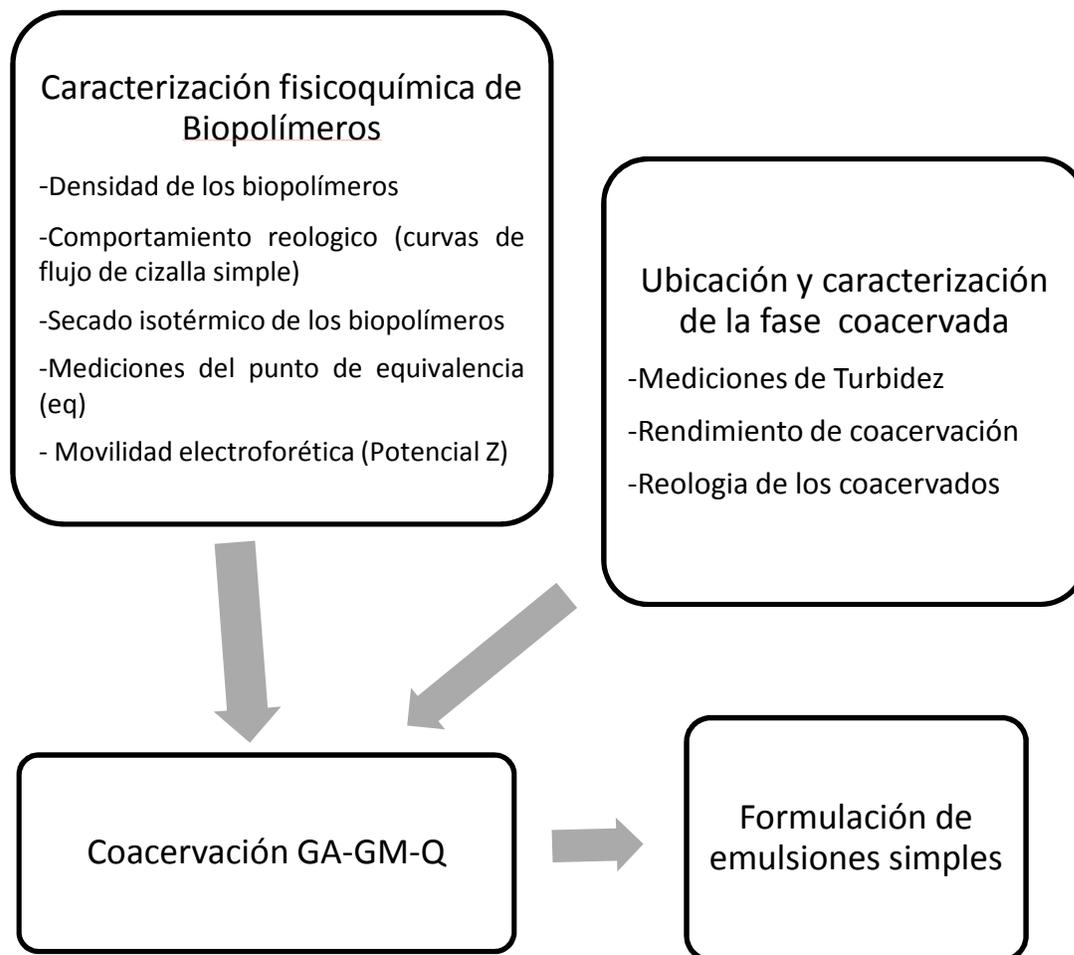
Goma de mezquite (GM) fue recolectada en forma de lágrima en el estado de San Luis Potosí y purificada según Vernon-Carter y col. (1996).

Quitosano (Q) de peso molecular medio con 21% de desacetilación y viscosidad intrínseca de 286 cps (1 % p/p, 1% p/v ácido acético), fue comprado a Sigma-Aldrich Química, S.A. de C.V. Toluca, Edo. Méx.).

Aceite vegetal de canola (grado alimenticio), Alimentos Capullo S., de R.L. de C.V. (D.F., México).

Hidróxido de sodio (NaOH), ácido clorhídrico (HCl), fueron obtenidas de J.T. Baker, S.A. de C.V. (Xalostoc, Edo. México, México).

Metodología.



La metodología se llevó a lo largo de esta tesis fue dividida en tres etapas. Para una mejor comprensión de los fenómenos involucrados:

- 1) Caracterización fisicoquímica de las mezclas de biopolímeros goma Arábiga-goma de mezquite en sus diferentes relaciones (GA:GM): Densidad, secado isotérmico, curvas de flujo en régimen oscilatorio, punto de equivalencia (eq), y movilidad electroforética.
- 2) Ubicación y caracterización de la fase coacervada: turbidez de la fase en equilibrio, rendimiento de coacervado y reología de la fase coacervada.

3) Formulación de emulsiones simples por coacervación compleja.

Biopolímeros en solución: Se prepararon tres soluciones patrón: goma arábiga (GA), goma de mezquite (GM) al 20% en peso y quitosano (Q) al 2% p/p en solución ácida.

Las soluciones de goma fueron preparadas dispersando la goma en forma de lágrima en agua destilada, una vez solubilizadas las soluciones de goma fueron filtradas para la eliminación de impurezas. La solución de quitosano fue preparada dispersando el polvo en una solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.1N. Todas las soluciones fueron almacenadas por 12 h a 4 °C, para asegurar la completa hidratación de los polímeros (Vernon-Carter, 1996).

A partir de las soluciones patrón de gomas se prepararon las siguientes mezclas de biopolímeros (GA-GM): GA₁₀₀GM₀, GA₈₀GM₂₀, GA₆₀GM₄₀, GA₄₀GM₆₀, GA₂₀GM₈₀ y GA₀GM₁₀₀, manteniéndolas a temperatura ambiente (~25 °C) y una concentración total de biopolímeros de 20% p/p.

Una vez que contamos con las diferentes mezclas se procede con el análisis de acuerdo a la metodología propuesta.

Caracterización de los biopolímeros

Densidad

Se determinó la densidad inicial de las soluciones acuosas de biopolímeros solos y en mezclas empleando un densímetro digital Paar modelo DMA 35 (Anton Paar K.G., Graz, Austria) a 25 °C. Las mediciones fueron realizadas por triplicado y se reporta el valor promedio de las mediciones.

Secado isotérmico

Se utilizó un analizador termogravimétrico (TGA 2950), (TA Instruments, New Castle, DE, EUA) para obtener las curvas de secado isotérmico de las soluciones de biopolímeros (GA-GM), con el fin de observar su comportamiento térmico y su efecto en la protección del sistema como material de pared. Se colocaron 30 mg de cada solución de biopolímeros en el horno del equipo y se secaron las soluciones isotérmicamente a 50, 60 y 70 °C durante 90 min, usando aire como gas de purga a una velocidad de flujo de 100 cm³/min. Las tasas de precalentamiento para llevar las muestras de temperatura ambiente a la temperatura de operación fueron variadas para minimizar la inercia térmica (Baez-González y col., 2004), ver tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de operación del TGA para alcanzar el secado isotérmico

Secado isotérmico	Método
T=50 °C	Rampa 35 °C/min–40°C
	Rampa 5 °C/min–50 °C
	Isoterma 50 °C por 90 min
T=60 °C	Rampa 40 °C/min–50 °C
	Rampa 5 °C/min–60 °C
	Isoterma 60 °C por 90 min
T=70 °C	Rampa 50 °C/min–60 °C
	Rampa 5 °C/min–70 °C
	Isoterma 70 °C por 90 min

A partir de estos resultados se determinó la energía de activación del proceso de secado isotérmico de los biopolímeros, el cual relaciona la energía necesaria para evaporar una molécula de agua del interior de la matriz.

Difusividad efectiva y Energía de activación

Ré (1998) enfatizó que los materiales de barrera (biopolímeros) que se utilicen en la microencapsulación por secado por aspersión deben de tener propiedades térmicas eficientes (baja difusividad efectiva) para proteger al material encapsulado durante la operación del secado. La difusividad es una propiedad de transporte que permite diseñar y optimizar el proceso de secado, así como cuantificar y dar un indicativo de qué tan lento se lleva a cabo el proceso de secado (Zogzas y col., 1994).

Para el cálculo de los coeficientes de difusividad efectiva se utilizó el algoritmo propuesto por Pérez-Alonso y col. (2003)

Otro parámetro importante es la energía de activación en el proceso de secado; es decir, la energía necesaria que se requiere para evaporar un mol de agua del material que se deberá secar. La energía de activación (E_a) para el proceso difusivo se determinó calculando una D_{eff} para cada tratamiento de biopolímero, el cual es dependiente de la temperatura y sigue una relación tipo Arrhenius.

El procedimiento para determinar E_a se resume en los siguientes apartados:

1. Obtener para cada tratamiento de biopolímero una gráfica X versus D_{eff} para cada temperatura de secado isotérmico.
2. Determinar para cada tratamiento de biopolímero una difusividad efectiva promedio ($\overline{D_{eff}}$) en el intervalo de temperaturas experimental con la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 9. (Difusividad efectiva promedio)} \quad \overline{D_{eff}} = \frac{\int_{x_0}^{x_1} D_{eff}(X) dX}{\int_{x_0}^{x_1} dX}$$

Donde X_1 es el contenido de humedad final alcanzado después del proceso de secado [kg H₂O/kg s.s.], y $D_{eff}(X)$ es el coeficiente de difusividad efectivo a un contenido de humedad específico [m²/s].

3. Usar la siguiente relación tipo Arrhenius:

$$\text{Ecuación 10. (Energía de activación)} \quad \overline{D_{eff}} = D_0 \exp\left[-\frac{E_a}{RT}\right]$$

Una gráfica de $\ln \overline{D_{eff}}$ versus $1/T$, forma una línea recta con pendiente $-\frac{E_a}{R}$, donde $\overline{D_{eff}}$ está en [m²/s], D_0 es el factor de Arrhenius [m²/s], E_a está en [kJ/mol], R es la constante universal de los gases (8.314x10⁻³ kJ/mol K), y T es la temperatura en la escala absoluta (K).

Curvas de flujo (Reología en cizalla simple)

Se realizaron las curvas de flujo empleando una taza de corte de 0.01 a 100 pa, para conocer si existen efectos sinérgicos con las mezclas y su comportamiento viscoso, empleando un reómetro modular compacto Paar Physica MCR 300 (Graz, Austria) que trabaja bajo control de esfuerzos y/o deformación equipado con un control de temperatura tipo Peltier¹ a 25 ± 0.01 °C. Se empleó una geometría cono-plato; el cono con un ángulo de 2° y un diámetro de 50 mm (0.05 mm de separación entre el plato y el cono) y una de cilindros concéntricos (doble gap) con un radio externo de 13.33 mm y un radio interno de 12.33 mm y una longitud de 40 mm

Determinación del punto de equivalencia (eq)

Se generaron las curvas de titulación de cada una de las mezclas de biopolímeros (mezclas de gomas GA-GM y quitosano Q al 20 % y al 2% (p/p), respectivamente) mediante la adición de alícuotas de 0.5 mL de NaOH 0.1N, registrando el cambio de pH con un potenciómetro Vernier pH-BTA (Beaverton, OR, EUA).

El punto de equivalencia fue determinado a partir del punto de inflexión de la curva del cambio de pH en función del cambio de volumen ($\Delta\text{pH}/\Delta\text{V}$). A partir de la curva de titulación, determinamos el punto de equivalencia para cada una de las mezclas, estos están relacionados a los equivalentes debidos a la formación de OH^- del NaOH que reacciona con el exceso H^+ , los cuales se relacionan con la neutralización de protones del grupo carboxilo COO^- de las gomas y el NH_3^+ del quitosano.

Las titulaciones se realizaron por duplicado y se muestra el promedio de las mediciones realizadas.

¹¹ El sistema Peltier permite efectuar experimentos de rápida respuesta y excelente control de la temperatura con una precisión de 0.01°C.

Movilidad electroforética (ME)

Se determinó la movilidad electroforética de las soluciones de GA-GM en sus diferentes relaciones así como para la solución de quitosano. Las soluciones fueron diluidas al 5% y se colocaron en la celda tipo zeta dip cell modelo DTS 1070 Zetasizer Nano ZS, (Malvern Instruments, Worchesire., R.U).

La esencia clásica de un sistema de microforesis es una celda capilar con electrodos al final de la celda, a la cual se le aplica un potencial eléctrico. Las partículas se mueven hacia el electrodo, entonces se determina la velocidad con las que éstas se mueven a través del campo eléctrico (movilidad electroforética), descrita mediante la ecuación de Henry ecuación 11.

$$\text{Ecuación 11. (Ecuación de Henry)} \quad U_E = \frac{2\varepsilon Z f(Ka)}{3\eta}$$

Donde Z es el potencial zeta, ε es la constante dieléctrica del medio, η es la viscosidad y $f(Ka)$ es la función de Henry con un valor de 1.5. El equipo fue calibrado empleando un estándar de látex (-50 ± 5 mV).

Se determinó la ME de las mezclas de gomas y del Q, en función del pH con la finalidad de conocer las posibles influencias sobre la carga del sistema y así como el pH de mayor interacción en el cual la formación de los complejos insolubles es maximizada. Todas las mediciones se efectuaron al menos en dos muestras distintas por triplicado a 25 °C.

Ubicación y caracterización de la fase coacervada

Coacervación

Una vez que se obtiene el pH al cual se tiene la mayor interacción entre las mezclas de gomas y el quitosano, se prepararon cuarenta y seis soluciones variando la relación de mezcla $GA_{XX}GM_{XX}/Q$ ($GM's/Q$), manteniendo una concentración total de biopolímeros en peso del 2% p/p. Ajustando el pH al cual se obtuvo la mayor interacción entre los biopolímeros partiendo de los resultados de ME.

Las soluciones fueron almacenadas durante 72 horas a temperatura ambiente antes de sus análisis. No se emplearon conservadores en las mezclas, debido a que está reportado que el quitosano actúa como fungicida y bactericida (Rabea y col., 2003). Todas las mediciones fueron hechas por triplicado.

Turbidez de la fase en equilibrio

Las mediciones turbidimétricas proporcionan información sobre los complejos solubles. Se utilizó un espectrofotómetro Spectronics Genesys 2 UV/Vis (Spectronic Unicam, Rochester, N.Y. EUA) para observar la formación de complejos mediante mediciones de turbidez de la fase en equilibrio a las condiciones de 600 nm y 25°C. Colocando las muestras en una celda de cuarzo de 1 cm, midiendo el porcentaje de transmitancia (%T).

La turbidez fue calculada a partir de los datos del %T mediante la ecuación 12

$$\text{Ecuación 12. (Turbidez)} \quad \tau = -\left(\frac{1}{L}\right) \ln\left(\frac{I_t}{I_0}\right)$$

Donde L es la longitud óptica [cm], I_t es la intensidad de luz transmitida, I_0 es la intensidad de luz incidente y τ es la turbidez (cm^{-1}).

Rendimiento de coacervado

El rendimiento de coacervación fue determinado separando la fase en equilibrio de la fase coacervada por decantación, la fase coacervada fue secada a 36°C llevándola a peso constante. El rendimiento de coacervación fue determinado por un balance de masa usando la ecuación 13.

$$\text{Ecuación 13. (Rendimiento de coacervación)} \quad \% \text{ coacervado} = \frac{m_i}{m_0} * 100$$

Donde m_0 es la masa total de biopolímeros inicial usados para hacer las soluciones, m_i es la masa de la fase coacervada seca (Espinosa y col., 2007).

Reología de los coacervados

Se evaluaron las propiedades viscoelásticas (G' y G'') de la fase coacervada en solución de mayor rendimiento empleando un reómetro modular compacto Paar Physica MCR 300 (Graz, Austria). Se empleó una geometría cono-plato; el cono con un ángulo de 2° y un diámetro de 50 mm (0.05 mm de separación entre el plato y el cono). Todas las mediciones fueron realizadas a la fase coacervada después de decantar la “fase en equilibrio”. Aproximadamente 1.1 mL de la fase coacervada fueron colocadas en el interior de una cámara de humedad para minimizar la evaporación.

Las curvas de amplitud de deformación fueron determinadas empleando una frecuencia fija de $\omega = 10$ rad/s y un barrido de deformación γ de 0.01–100 %. Todas las mediciones fueron efectuadas dentro de la región viscoelástica lineal (RLVE) en donde los módulos dinámicos elástico (G') y viscoso (G'') son independientes de la amplitud de la deformación.

Las curvas de frecuencia fueron determinadas mediante un barrido de frecuencia $\omega \sim 100$ –0.1 rad/s dentro de la RLVE.

Formulación de emulsiones simples O/W por coacervación compleja.

Preparación de las emulsiones por coacervación

Se formularon 3 emulsiones simples O/W_{GM's} empleando un homogenizador de alto corte Ultra-turrax, T-50, IKA, (Staufen, Alemania) con un contenido de fase dispersa de ϕ_{20} , donde el subíndice corresponde al contenido de la fase dispersa en la emulsión. Posteriormente fueron mezcladas en una relación másica con una solución acida de quitosano al 2% (p/p), mezclando lentamente con un agitador magnético para obtener las emulsiones coacervadas O/W_{GM's/Q}. Las muestras permanecieron en reposo 24 horas antes de su análisis.

CAPITULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se midieron las propiedades reológicas con respecto a la deformación cuando son sometidas a un esfuerzo, con la finalidad de establecer las posibles interacciones que existen entre las mezclas de biopolímeros. Se determinó la densidad de los biopolímeros en solución a una concentración al 20% p/p a 20°C. Se realizaron curvas de secado isotérmico a tres diferentes temperaturas, las cuales nos describen de manera cualitativa cual de las mezcla brindará mayor protección contra la oxidación, al ser usadas en una emulsión. Se determinó el punto de equivalencia y movilidad electroforética (potencial Z) de cada mezcla. El conjunto de estos parámetros son determinantes para observar las interacciones electrostáticas que se llevan a cabo en la formación del complejo.

Dependiendo de las condiciones de formulación, la mezcla de polisacáridos puede formar o no complejos, que pueden ser solubles o insolubles (coacervados). Las propiedades de la membrana formadora de pared están íntimamente ligadas a la naturaleza del complejo. Por lo que en las siguientes secciones se discuten los resultados obtenidos en la formulación de membranas complejas: goma arábica-goma de mezquite-quitosano; a partir de las propiedades de los biopolímeros que las conforman.

Caracterización de las mezclas de biopolímeros

Comportamiento reológico (Curvas de Flujo)

El conocimiento de las propiedades de flujo de los sistemas emulsionantes tiene gran aplicación en la industria alimenticia, ya que permite diseñar e instrumentar la tecnología para su formulación, transporte y almacenamiento.

En la figura 6 se muestran los perfiles de viscosidad de las mezclas de biopolímeros, $GA_{100}GM_0$, $GA_{80}GM_{20}$, $GA_{60}GM_{40}$, $GA_{40}GM_{60}$, $GA_{20}GM_{80}$ y GA_0GM_{100} .

Los resultados de viscosidad y esfuerzo de corte para cada una de las mezclas se encuentran en el apéndice A1. Este tipo de curvas se les conoce como curvas de esfuerzo-deformación y nos da un panorama de su comportamiento cuando se les aplica un esfuerzo o deformación, esta información nos indica si existen o no interacciones entre los biopolímeros (efectos sinérgicos).

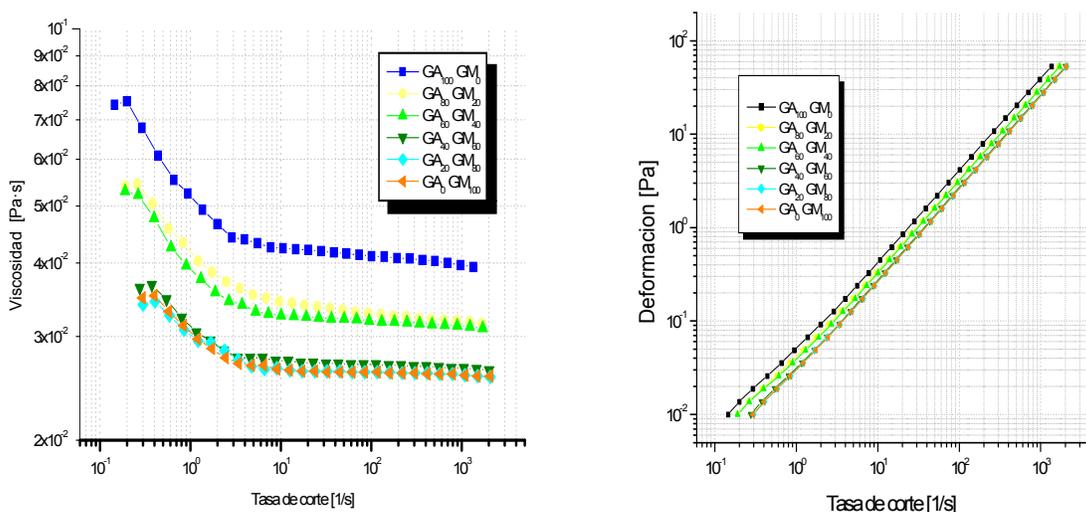


FIGURA 6 Perfiles de viscosidad de las mezclas de $GA_{xx}GM_{xx}$

Cuando se habla de efectos sinérgicos nos referimos a una potencialización de alguna de las propiedades, en este caso a un incremento en la viscosidad en alguna de las mezclas, sin embargo, al comparar los perfiles de viscosidad de las diferentes muestras, se encontró que existe una reducción de la viscosidad en las mezclas $GA_{80}GM_{20}$ y $GA_{60}GM_{40}$ comparadas con la goma Arábica ($GA_{100}GM_0$), mientras que las mezclas $GA_{40}GM_{60}$ y $GA_{20}GM_{80}$ se comportan de manera muy similar a la goma de mezquite (GA_0GM_{100}) por lo que no

existen efectos sinérgicos entre la GA y la GM, lo cual concuerda con lo reportado por Beristan y Vernon-Carter (1995).

En la figura 6. Se observa que existen tres regiones de comportamiento a bajas tasa de corte se observa un plato newtoniano al igual que a tasas de corte altas, y en la región intermedia se observa un comportamiento pseudoplástico. Estos resultados fueron ajustados a dos modelos reológicos determinados con el software US200/32 V. 2.5 del reómetro Paar Physica MCR 300, para encontrar los parámetros que caracterizan el comportamiento de las mezclas.

Utilizamos el modelo de Herschel-Bulkley y el de Casson. Una característica importante de estos modelos es la presencia del esfuerzo de fluencia σ_0 (yield stress), el cual representa una tensión finita requerida para lograr el flujo y en el caso del modelo de Casson provee información de la viscosidad infinita.

En la tabla 3 se muestran los resultados encontrados a partir del modelo de Herschel-Bulkley.

Tabla 3. Parámetros a partir del modelo de Herschel-Bulkley

Mezcla GA:GM $\sigma = k(\dot{\gamma})^p + \sigma_0$	Yield Stress σ_0 [Pa]	κ [Pa*s ⁿ]	P
GA ₁₀₀ GM ₀	6.567E-03	4.62E-02	0.98
GA ₈₀ GM ₂₀	2.922E-03	3.43E-02	0.98
GA ₆₀ GM ₄₀	3.610E-03	3.38E-02	0.99
GA ₄₀ GM ₆₀	2.720E-03	2.74E-02	0.99
GA ₂₀ GM ₈₀	2.569E-03	2.52E-02	1.00
GA ₀ GM ₁₀₀	3.030E-03	2.49E-02	1.00

Cuando nos referimos al comportamiento de un fluido pseudoplástico (shear-thinning) o dilatante (shear-thickening) encontramos valores del índice p de $0 < p < 1$, para el primer caso y de $1 < p < \infty$ para el segundo.

Los parámetros κ y P se conocen comúnmente como coeficiente de consistencia con unidades $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$ e índice de comportamiento de flujo respectivamente

En la tabla 4 se muestran los resultados encontrados a partir del modelo de Casson

Tabla 4. Parámetros a partir del modelo de Casson

Mezcla GA:GM $\sigma^{\frac{1}{p}} = k(\dot{\gamma})^{\frac{1}{p}} + \sigma_0$	Yield Stress σ_0 [Pa]	κ [Pa*s ⁿ]	p	Viscosidad inf η_{∞} [Pa s]
GA ₁₀₀ GM ₀	4.074E-02	1.97E-01	2	3.862E-02
GA ₈₀ GM ₂₀	2.093E-02	1.74E-01	2	3.032E-02
GA ₆₀ GM ₄₀	2.207E-02	1.74E-01	2	3.044E-02
GA ₄₀ GM ₆₀	1.476E-02	1.61E-01	2	2.591E-02
GA ₂₀ GM ₈₀	1.130E-02	1.57E-01	2	2.478E-02
GA ₀ GM ₁₀₀	1.225E-02	1.57E-01	2	2.476E-02

En la figura 7 se muestra el comportamiento de los modelos con las curvas de $GA_{100}GM_0$, $GA_{60}GM_{40}$ y GA_0GM_{100} sin embargo, no se alcanza a observar con este modelo el comportamiento a bajas tasas de corte en el cual se observa un plato newtoniano como a altas tasas de corte.

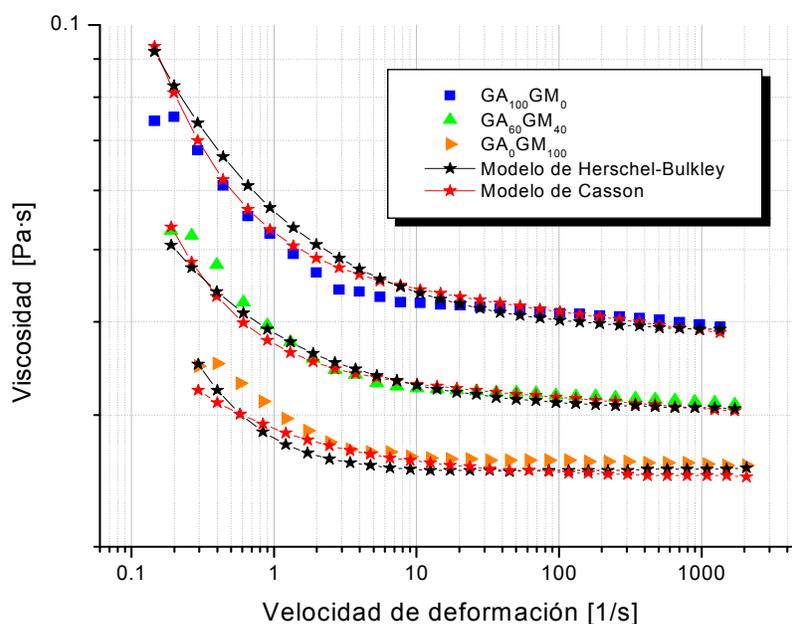


FIGURA 7. Comportamiento de los modelos Herschel-Bulkley y Casson para las mezclas $GA_{100}GM_0$, $GA_{60}GM_{40}$ y GA_0GM_{100}

La figura 8 muestra la curva de viscosidad de una solución de quitosano al 0.5% (p/p). Se observa en esta gráfica que la solución de quitosano presenta dos regiones, una con un comportamiento newtoniano a bajas velocidades de deformación y otra del tipo ley de potencia a altas velocidades de deformación lo cual coincide con lo reportado por Hwang y Shin en 2000.

Los valores de la viscosidad se encontraron entre $4.0\text{E}-02$ y $3.7\text{E}-02$ Pa*s. A valores de velocidad de deformación cercanos a 38.0 s^{-1} el fluido comienza a ceder, por lo que su viscosidad comienza a disminuir.

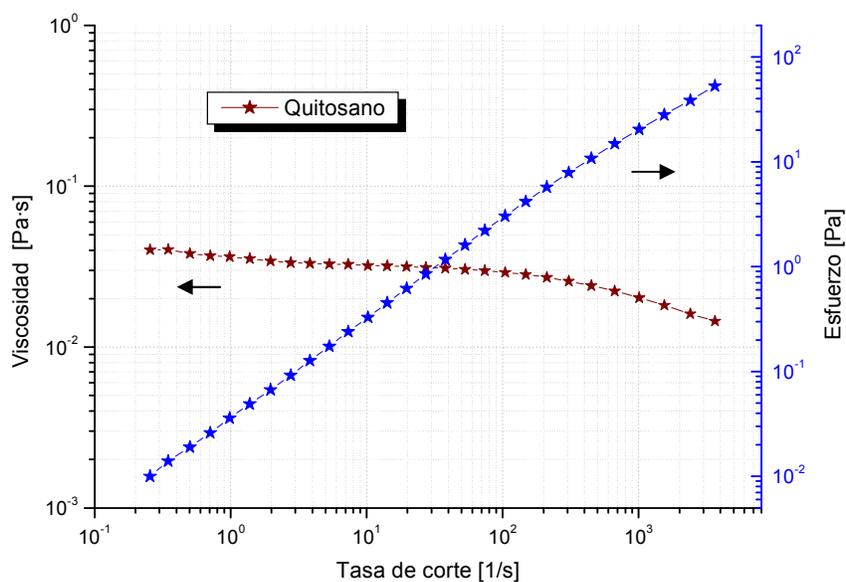


FIGURA 8 Perfiles de viscosidad de quitosano al 0.5 % en función de la velocidad de deformación.

Se ajustó el comportamiento del Q a dos modelos: el modelo de Cross y el modelo de Careau, los cuales se utilizan cuando nos encontramos por encima de los rangos de la velocidad de deformación. Estos modelos son útiles porque nos dan información sobre la viscosidad cero (a tasas de corte baja) y viscosidad infinita.

En la tabla 5 se presenta la información sobre el Q.

Tabla 5. Parámetros a partir del modelo de Cross y Careau para el Q

Quitosano	η_0 [Pa*s]	η_{∞} [Pa*s]	α_c	M
Cross				
$\eta_a = \eta_{\infty} + \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{1 + (\alpha_c \dot{\gamma})^m}$	3.215E-02	1.729E-9	8.830E-03	0.60604
Careau				
$\eta_a = \eta_{\infty} + \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{[1 + (\alpha_c \dot{\gamma})^2]^m}$	3.114E-02	1.729E-9	8.585E-03	0.10766

Densidad

En la tabla 6 se presentan las densidades de las soluciones acuosas de los biopolímeros al 20% p/p. Como se puede apreciar, las mezclas de biopolímeros tuvieron densidades muy similares, en un intervalo de 1073 a 1083 kg/m³ aproximadamente.

Tabla 6 Densidad de las soluciones acuosas de los biopolímeros al 20% (p/p)

Mezcla	ρ [kg/m ³]
GA ₁₀₀ GM ₀	1083.53
GA ₈₀ GM ₂₀	1080.42
GA ₆₀ GM ₄₀	1078.90
GA ₄₀ GM ₆₀	1076.50
GA ₂₀ GM ₈₀	1074.36
GA ₀ GM ₁₀₀	1073.82

Los resultados de densidad serán utilizados junto con los de secado isotérmico para la determinación del coeficiente de difusión efectivo (D_{eff}) y la energía de activación (E_a).

Secado isotérmico

Diversos investigadores como Matsuno y Adachi (1993); Pérez-Alonso y col. (2003); Báez-González y col. (2004), han comprobado que la formación de una membrana interfacial lo suficientemente robusta al inicio del secado es un factor muy importante para evitar procesos de desestabilización en emulsiones. Por ello es importante realizar un análisis térmico de los biopolímeros para elegir cuales son los más indicados para evitar o retardar la oxidación

En la figura 9 se muestran las curvas de secado isotérmico obtenidas con el TGA a 50, 60 y 70°C, para los biopolímeros puros, curvas similares son obtenidas para las mezclas

restantes se muestran en el apéndice A2. Se puede observar que la mayor parte del secado se lleva a temperatura constante.

Se utilizaron las condiciones de secado propuestas por Báez-González y col. (2004), debido a que se alcanza el proceso isotérmico en el menor tiempo por lo que la pérdida de masa es menor.

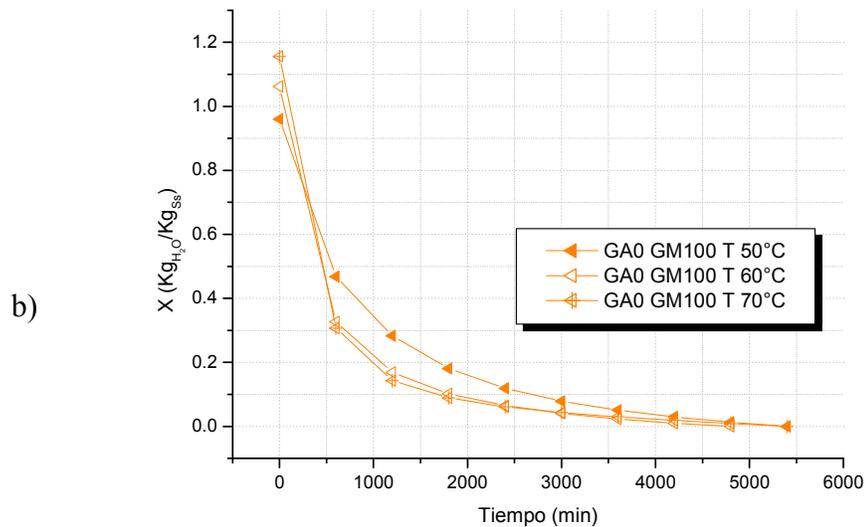
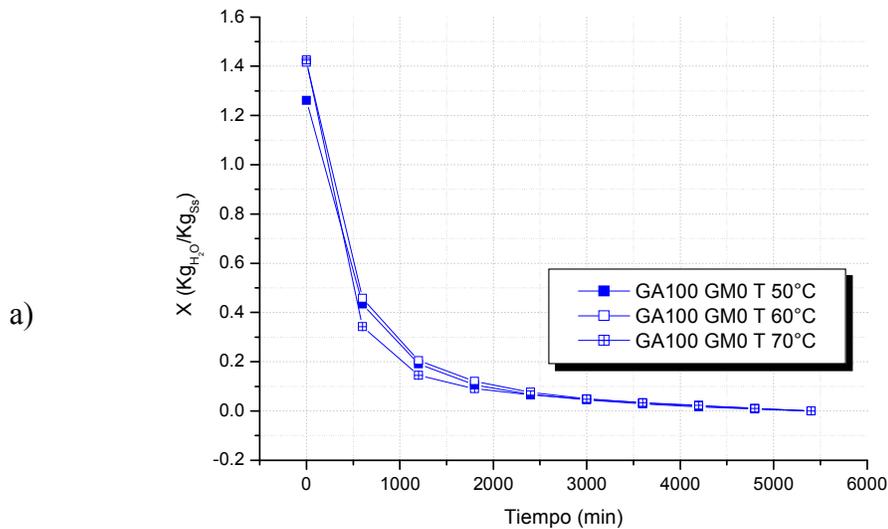


FIGURA 9 Curvas de secado isotérmico para las mezclas: a) $GA_{100}GM_0$ y b) GA_0GM_{100} a 50, 60 y 70°C.

En la figura 10 se muestran las curvas de secado isotérmico a 50 °C para todas las mezclas; en la que se puede observar que la forma de las curvas de secado confirman el comportamiento descrito por Matsuno y Adachi (1993). Que indica que la rapidez de secado disminuye rápidamente con el contenido de humedad, por lo que estos materiales tienden a formar una película densa al inicio del secado.

Se observa un incremento en el contenido de humedad de las mezclas con respecto a los materiales puros ($GA_{100}GM_0$ y GA_0GM_{100}) y el tiempo de secado de estos es mayor comparado con las mezclas.

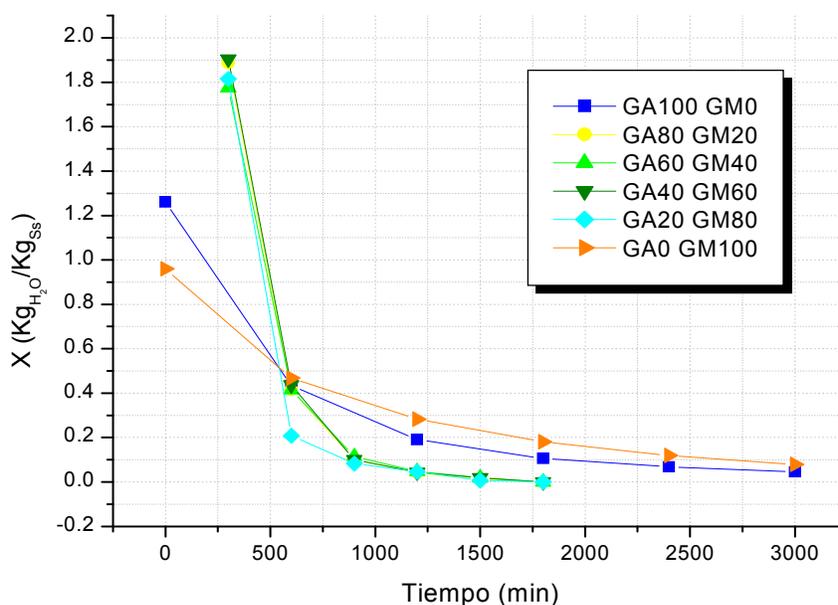


FIGURA 10 Secado isotérmico para las distintas mezclas de $GA_{xx}GM_{xx}$ a 50°C.

En la figura 11 se muestra la velocidad de secado para las mezclas y es menor en los materiales puros ($GA_{100}GM_0$ y GA_0GM_{100}) comparada con las otras mezclas.

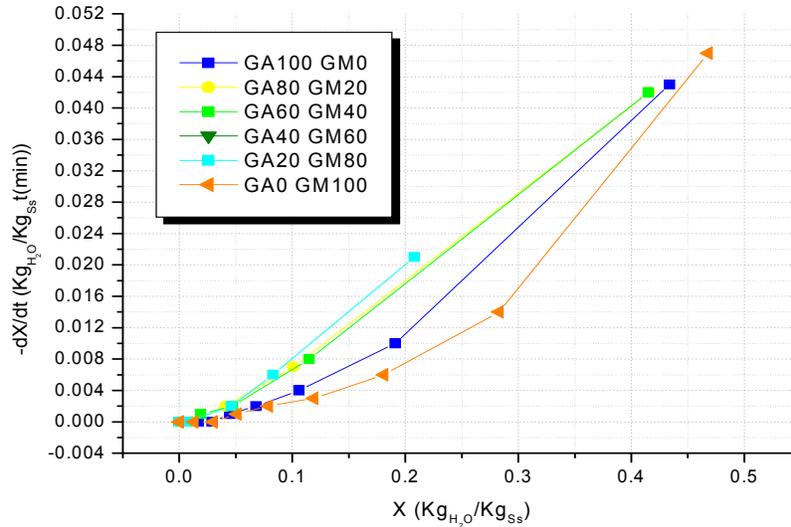


FIGURA 11 Velocidad de secado de las diferentes mezclas de GA_{xx}GM_{xx} a 50°C

Como se menciona, este tipo de curva nos proporciona información cualitativa de que los biopolímeros tienden a formar una película fina y densa al inicio del secado, lo que promueve una disminución del coeficiente difusivo del agua en el biopolímero, lo cual es una manera indirecta de medir la difusión del oxígeno hacia el interior de los biopolímeros.

Difusividad Efectiva (D_{eff}) y Energía de activación E_a

Se utilizó el algoritmo propuesto por Pérez-Alonso y col. (2003) para el cálculo de la difusividad efectiva el cual se basa en el método propuesto por Raghavan y col. (1995) considerando encogimiento y dependiente de la humedad; considera una solución analítica aproximada de la segunda ley de Fick para una geometría esférica isotrópica y suponiendo una concentración de humedad superficial constante (Crank, 1975) y está dada por:

$$\text{Ecuación 14 } (D_{eff}) \quad M = \frac{X - X_e}{X_0 - X_e} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp \left[-n^2 \pi^2 D_{eff} \frac{t}{[R(X)]^2} \right]$$

Donde; M es la relación de humedad (adimensional), X el contenido de humedad al tiempo t [kg H₂O/kg s.s.], X_0 y X_e son el contenido de humedad inicial y en el equilibrio [kg H₂O/kg s.s.], respectivamente, y $R(X)$ es el radio de la gota del biopolímero como función del contenido de humedad [m].

El algoritmo para calcular los coeficientes de D_{eff} promedio es el siguiente:

1. Obtener experimentalmente las curvas de secado isotérmicas a diferentes temperaturas.
2. Determinar:

$$\text{Ecuación 15 (Humedad adimensional)} \quad M_{exp} = \frac{X - X_e}{X_0 - X_e}$$

Donde; M_{exp} es la relación de humedad experimental [adimensional].

3. Determinar:

$$\text{Ecuación 16 (Volumen de la gota)} \quad V_0 = \frac{m_0}{\rho_0}$$

Donde; V_0 es el volumen inicial de la gota del biopolímero [m³], m_0 es la masa inicial de la gota del biopolímero [kg], y ρ_0 es la densidad inicial de la gota del biopolímero [kg/m³].

4. Determinar:

$$\text{Ecuación 17 (Radio de la gota)} \quad R_0 = \left(\frac{3}{4\pi} V_0 \right)^{1/3}$$

Donde; R_0 es el radio inicial de la gota de biopolímero [m].

5. Determinar:

$$\text{Ecuación 18 (Radio en función de la humedad)} \quad R(X) = V_{sh}^{1/3} R_0$$

Donde; (V_{sh}) es el encogimiento volumétrico y se describió por la siguiente función polinomial:

$$\text{Ecuación 19 (encogimiento volumétrico)} \quad V_{sh} = \frac{V(X)}{V_0} = A + BX + CX^2$$

Se utilizaron las correlaciones propuestas por Perez-Alonzo para la determinación del encogimiento volumétrico.

6. Sustituir la ecuación 18 en la ecuación 14.

7. Suponer un valor de D_{eff} usando los primeros 50 términos de la serie de Fourier y calcular M con la ecuación 14.

8. Comparar M_{exp} con M , y si:

$|M - M_{exp}| > 1 \times 10^{-10}$ Regresar al paso 7 del algoritmo, suponer otro coeficiente de difusividad y repetir el procedimiento.

$|M - M_{exp}| < 1 \times 10^{-10}$ Termina el cálculo, y considerar como el último valor supuesto como el D_{eff} verdadero.

Utilizando los valores de densidad y los datos del secado isotérmico a las diferentes temperaturas, en el algoritmo descrito se obtienen los resultados que se muestran en la tabla 7.

Tabla 7 Difusividad efectiva D_{eff} de los biopolímeros

Mezcla	D_{eff} [m^2/s]	D_{eff} [m^2/s]	D_{eff} [m^2/s]
	T 50°C	T 60°C	T 70°C
GA ₁₀₀ GM ₀	0.731E-05	0.790E-05	0.780E-06
GA ₈₀ GM ₂₀	1.42E-05	1.60E-05	1.52E-05
GA ₆₀ GM ₄₀	1.33E-05	0.971E-05	1.51E-05
GA ₄₀ GM ₆₀	1.43E-05	1.47E-05	1.43E-05
GA ₂₀ GM ₈₀	1.46E-05	1.44E-05	1.47E-05
GA ₀ GM ₁₀₀	0.921E-05	0.612E-05	0.749E-06

Los valores de difusividad encontrados se encuentran en el intervalo de 0.731E-05 a 0.921E-05 m^2/s en un intervalo de humedad de 0.017 a 0.43 Kg_{H_2O}/Kg_{SS} para los polímeros puros, mientras que para las mezclas encontramos valores de la D_{eff} de 0.971E-05 a 1.60E-05 m^2/s en un intervalo de humedad de 0.017 a 1.08 Kg_{H_2O}/Kg_{SS} .

Un factor para garantizar una buena retención del material lo encontramos con la difusividad, valores bajos de D_{eff} implican propiedades térmicas eficientes al formar una estructura más densa y encontramos que los biopolímeros puros presentan los valores de D_{eff} mas bajos seguidos por la mezcla $GA_{60}GM_{40}$ a 50 y 60 °C mientras que para 70°C encontramos la mezcla $GA_{40}GM_{60}$.

El cálculo de la energía de activación es un parámetro que mide los requerimientos energéticos, para que se lleve a cabo el proceso de secado; determinando de forma indirecta la formación de una red más densa o menos densa (Baez-González y col., 2004). Una vez que contamos con los valores de la D_{eff} promedio, utilizamos la ecuación 10 en su forma linealizada de la cual hacemos una grafica de $\ln D_{eff}$ vs $\frac{1}{T}$ donde la pendiente de la recta esta dada por $-\frac{E_a}{R}$ y R es la constante de los gases con un valor de 8.314E-03 kJ/mol K. En la tabla 8 se muestran los resultados de la energía de activación del proceso de secado para los biopolímeros.

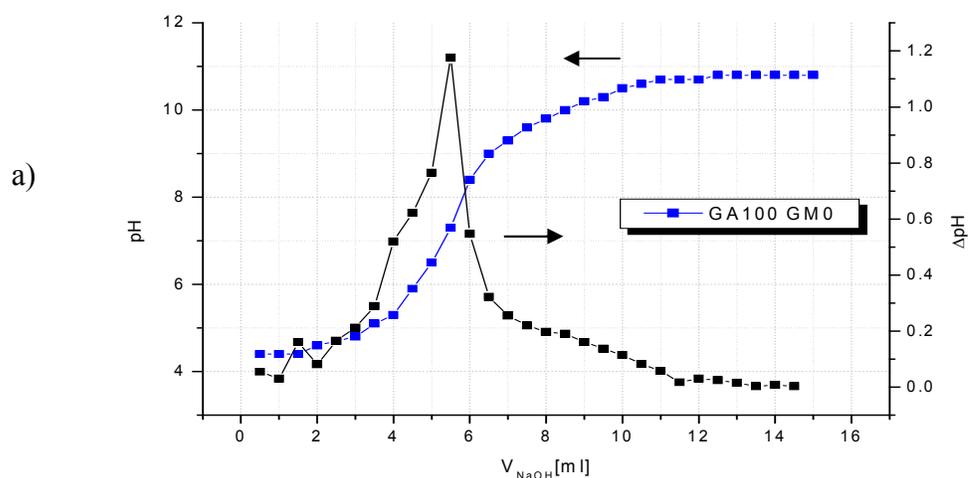
Tabla 8 Energía de activación de los biopolímeros.

Mezcla	Ea [kJ/mol]
$GA_{100}GM_0$	3.035
$GA_{80}GM_{20}$	3.358
$GA_{60}GM_{40}$	5.653
$GA_{40}GM_{60}$	0.164
$GA_{20}GM_{80}$	0.330
GA_0GM_{100}	9.766

Tanto la D_{eff} como la E_a , son parámetros que nos darán un indicio de cómo se comporta el material. Por un lado, como menciona Ré (1998) valores pequeños de D_{eff} se considera con propiedades térmicas eficientes. Mientras que E_a altas presentan la menor formación de hidroperóxidos como lo menciona Báez-González (2004). En nuestro caso observamos que la GM presento la E_a mas alta seguida de las mezclas $GA_{60}GM_{40}$, $GA_{80}GM_{20}$ y la GA.

Medición del punto de equivalencia de los biopolímeros en solución

Se determinó el punto de equivalencia (eq) de las mezclas de biopolímeros a diferentes relaciones y para una solución de quitosano de bajo peso molecular al 20% y 2% (p/p) respectivamente, a temperatura ambiente (~ 25 °C). El punto de equivalencia de los biopolímeros se puede observar en el punto de inflexión, al graficar pH como una función del volumen del NaOH agregado, o bien, ocurre cuando la primera derivada del cambio de pH (ΔpH) con respecto al volumen de NaOH agregado presenta un máximo. En la Figura 12 se muestran las curvas de titulación, así como la derivada del ΔpH para las mezclas GA₁₀₀GM₀ y GA₀GM₁₀₀, en función de los mililitros agregados de NaOH. Las curvas de titulación para las mezclas de biopolímeros restantes se encuentran en el apéndice A3.



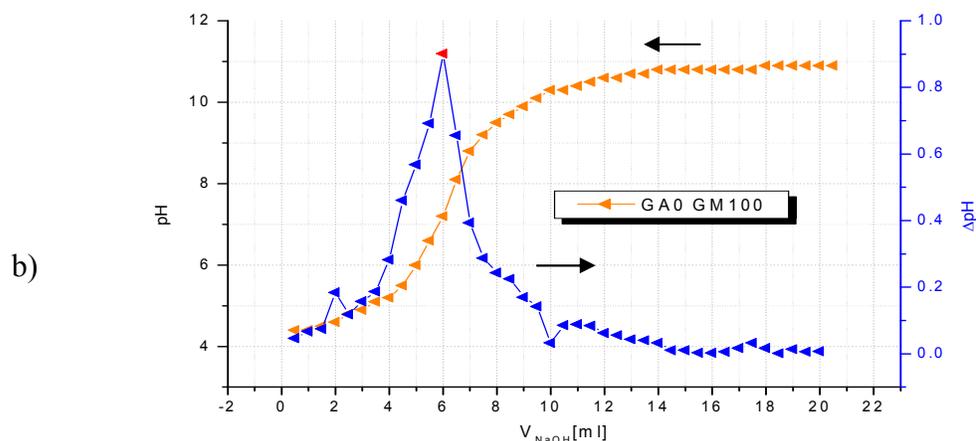


FIGURA 12 Curva de Titulación para determinar los puntos de equivalencia de las distintas mezclas: a) $GA_{100}GM_0$ y b) GA_0GM_{100} .

En la figura 13 se muestran las curvas de titulación para todas las mezclas de las que podemos determinar los P_{eq} , los cuales están relacionados con los meq de NaOH las soluciones de $GA_{100}GM_0$ y GA_0GM_{100} presentaron un punto de equivalencia correspondiente a 0.55 y 0.6 meq de NaOH 0.1N, respectivamente. Las soluciones $GA_{80}GM_{20}$ y $GA_{60}GM_{40}$ presentaron un punto de equivalencia de 0.70 meq de NaOH 0.1N; y las mezclas $GA_{40}GM_{60}$ y $GA_{20}GM_{80}$ presentaron un valor de 1.0 meq de NaOH 0.1N. Al comparar la figura 13 con las curvas de viscosidad se observa un comportamiento similar, en donde las mezclas $GA_{80}GM_{20}$ y $GA_{60}GM_{40}$ se comportan de manera similar a los biopolímeros puros mientras que el resto se presenta un aumento en los meq y su viscosidad disminuye.

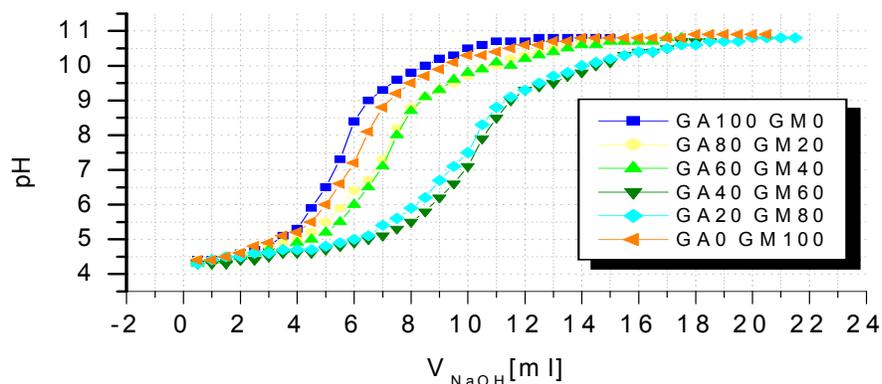


FIGURA 13. Curvas de titulación para las distintas mezclas

En la figura 14 se muestra la curva de titulación, así como la derivada del ΔpH para la solución de quitosano al 2% (el cual se fue disuelto en una solución de ácido clorhídrico (HCl)).

Encontramos el punto de equivalencia en un valor de pH de 3.2 y un valor de equivalentes Na^+ de 0.15

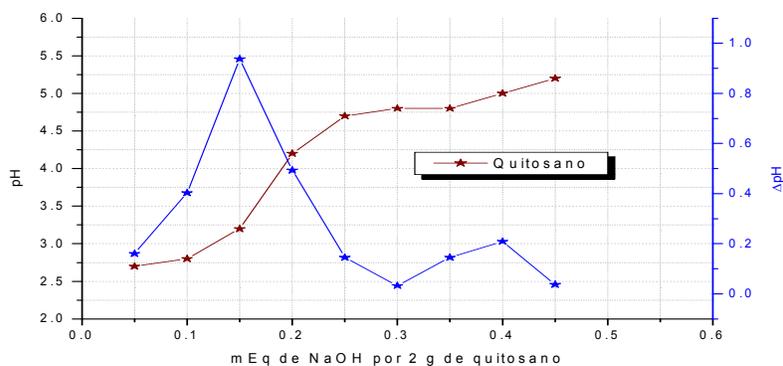


FIGURA 14. Curva de Titulación para determinar el punto de equivalencia de una solución de quitosano al 2% (p/v) en ácido clorhídrico

La formación de complejos implica la neutralización de cargas. Considerando los meq del quitosano que neutralizaran los meq de las mezclas se obtuvieron las siguientes relaciones teóricas como se muestra en la tabla 9.

Tabla 9 Relaciones teóricas a pH 4.5

Mezcla	Relación GM's /Quitosano
GA ₁₀₀ GM ₀	5.5
GA ₈₀ GM ₂₀	4.3
GA ₆₀ GM ₄₀	4.3
GA ₄₀ GM ₆₀	3.0
GA ₂₀ GM ₈₀	3.0
GA ₀ GM ₁₀₀	5.0

Movilidad electroforética

Uno de los parámetros que intervienen fuertemente en la formación de complejos está dado por el pH en las soluciones, debido a que dichos complejos son de naturaleza electrostática se determinó la carga de las mezclas, como una función del pH, realizando las mediciones electroforesis, comparando la movilidad electroforética (ME) de cada una de las mezclas con los valores de obtenidos para la solución de quitosano.

En la figura 15 se muestran la movilidad electroforética (ME) de las mezclas GA₁₀₀GM₀ y GA₀GM₁₀₀ en función del pH y se compararon con los valores de ME del quitosano. También se muestra el valor absoluto de la ME de la goma multiplicada por la ME del quitosano /ME GA x ME Q/ para observar el pH donde existe la mayor interacción entre ambas, curvas similares para las otras mezclas se encuentran en el apéndice A4.

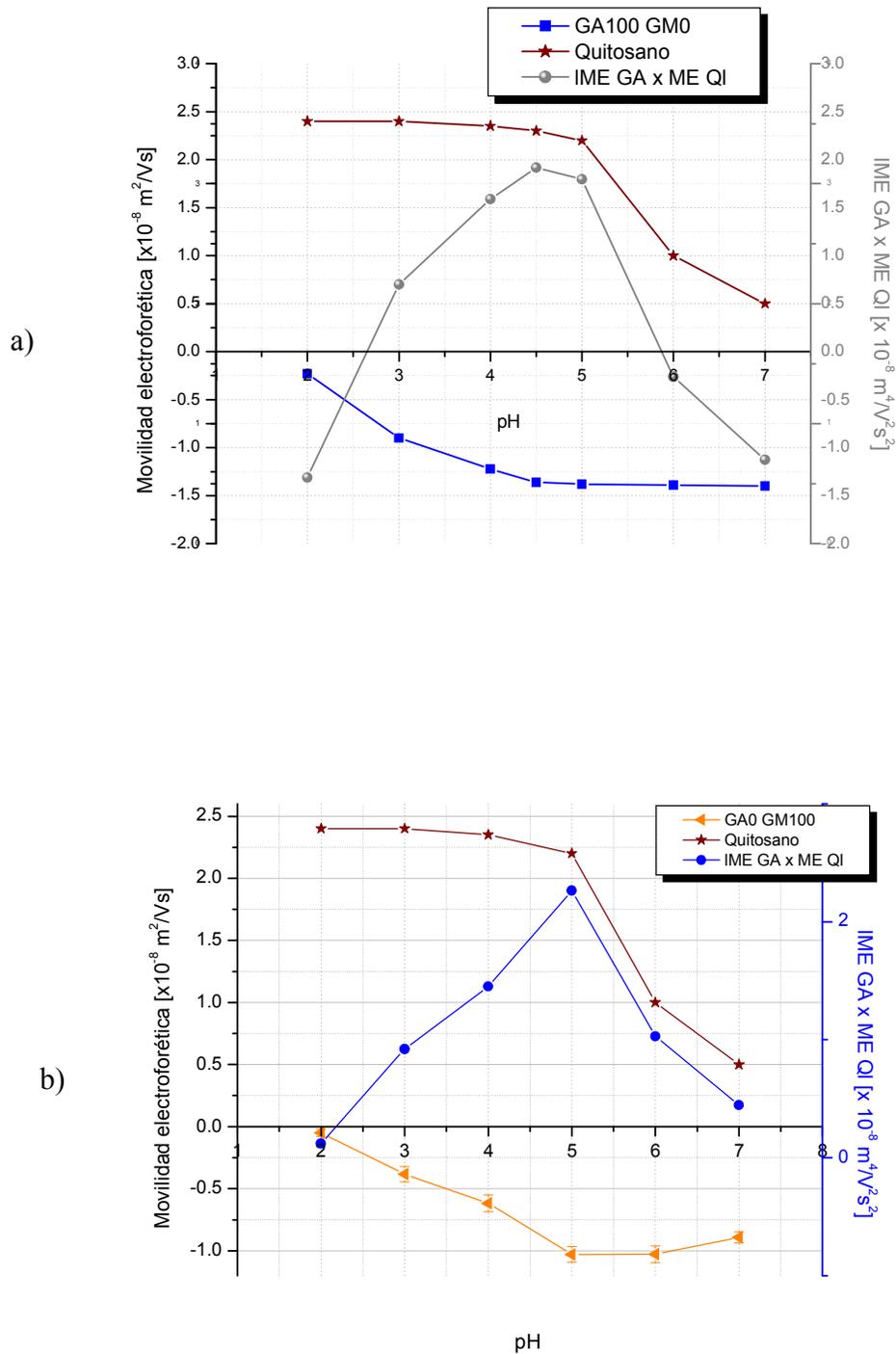


FIGURA 15. Comparación de la movilidad electroforética de las mezclas GA₁₀₀GM₀ y GA₀GM₁₀₀ con respecto a los valores de ME de quitosano

En la figura 16 se muestran los valores de movilidad electroforética de todas las mezclas en función del pH, se observa que la mayor diferencia de ME entre el quitosano y los biopolímeros se presenta a valores de pH entre 4.5 y 5.0, indicando que en este intervalo de pH se presenta la mayor interacción entre las gomas y el quitosano, llevando a la formación de complejos, podemos observar que la mayor interacción la presenta la GA, mientras que las mezclas de biopolímeros se comportan de manera muy similar a la goma de mezquite.

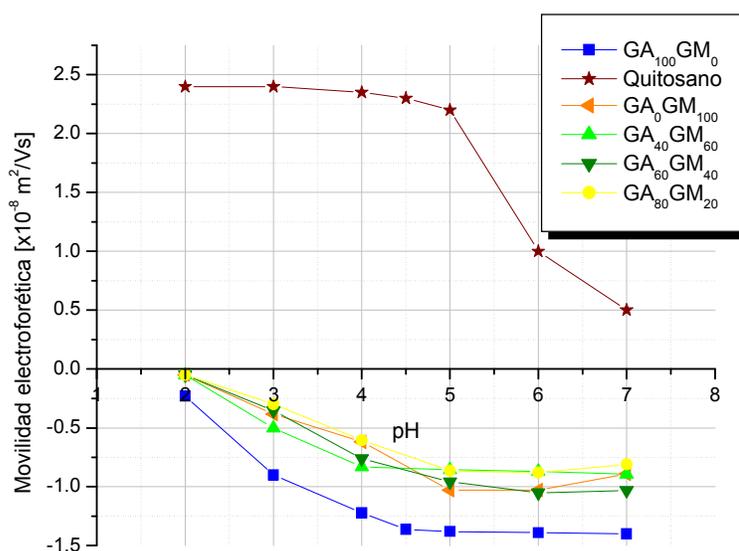


FIGURA 16. Comparación de la ME de las mezclas de biopolímeros con respecto a los valores de ME de quitosano

Ubicación y caracterización de la fase coacervada

Formación de complejos (Coacervación)

La coacervación compleja es el resultado de las interacciones entre los grupos carboxílicos de la goma arábica y mezquite ($-\text{COO}^-$) y los grupos amino del quitosano ($-\text{NH}_3^+$). Aparentemente una relación de cargas estequiométrica entre ambos biopolímeros, induciendo la máxima interacción electrostática entre ambos biopolímeros. Este fenómeno implica la neutralización de cargas entre ambos biopolímeros y la formación de complejos insolubles (Weinbreck y col., 2004 y Espinosa y col., 2007).

A partir de las curvas de titulación y las curvas de ME pueden determinar relaciones teóricas en las que se encuentra la mayor interacción (formación de complejos insolubles) entre las mezclas de biopolímeros y el quitosano. Como se menciona, la mayor interacción entre los biopolímeros se presentó dentro de un intervalo de pH de 4.5 a 5.0. Por lo que el pH de las mezclas se ajustó a un pH de 4.5.

Para conocer las interacciones entre los biopolímeros y obtener la relación óptima para la formación de complejos, se partió de las relaciones teóricas y se modificaron las relaciones, manteniendo una concentración total de biopolímeros al 2% (p/p) para observar la formación de complejos insolubles, midiendo la turbidez y el rendimiento de estas.

Se trabajó con las siguientes relaciones para cada una de las mezclas, como se muestra en la tabla 10

Tabla 10 Relaciones teoricas de biopolímeros para las distintas mezclas variando las relaciones en una unidad

Mezcla GA:GM	Intervalo de relación GM's/Q
GA ₁₀₀ GM ₀	3.5 a 7.5
GA ₈₀ GM ₂₀	2.3 a 9.3
GA ₆₀ GM ₄₀	2.3 a 9.3
GA ₄₀ GM ₆₀	2.0 a 9.0
GA ₂₀ GM ₈₀	2.0 a 9.0
GA ₀ GM ₁₀₀	3.0 a 11.0

Mediciones de turbidez

Las mediciones de turbidez son empleadas para seguir sistemas coacervados. La turbidez en la “fase en equilibrio” está relacionada con la presencia de complejos solubles y/o cosolubilidad. Esto implica que las soluciones turbias contienen una mayor cantidad de macromoléculas en suspensión que las soluciones translucidas, soluciones translucidas implican altos rendimientos de coacervación.

Los datos de turbidez de las “fases en equilibrio” del sistema acomplejado GA-GM-Q para las diferentes relaciones a concentración total de biopolímeros constante de 2% p/p se muestran en la figura 17

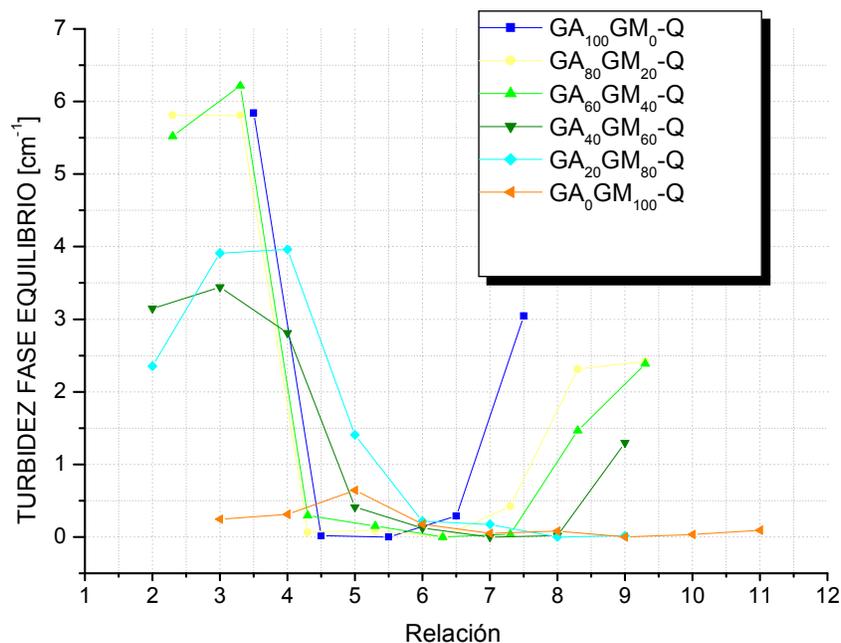


FIGURA 17. Turbidez en las fases de equilibrio para los sistemas acomplejados en las diferentes relaciones a una concentración constante de biopolímeros (2% p/p)

La turbidez es una herramienta que permite observar la presencia de complejos solubles presentes en la fase en equilibrio, como se observa cuando estamos en relaciones bajas, lo que implica que cuando se presentan valores de turbidez muy cercanos a cero, la presencia de complejos es mínima en la fase en equilibrio y por consiguiente la formación de complejos insolubles es mayor.

En la tabla 11 se muestran las relaciones en las cuales se obtuvieron valores de turbidez de cero.

Tabla 11 Relación de biopolímeros para las distintas mezclas con turbidez de cero

Mezcla	Relación GM's /Quitosano
GA ₁₀₀ GM ₀	5.5
GA ₈₀ GM ₂₀	6.3
GA ₆₀ GM ₄₀	6.3
GA ₄₀ GM ₆₀	7.0
GA ₂₀ GM ₈₀	8.0
GA ₀ GM ₁₀₀	9.0

Dicho comportamiento es un indicio de que la mayoría de los biopolímeros se encuentran en la fase coacervada y se puede corroborar con las mediciones del rendimiento de coacervación.

Rendimiento de coacervación

El rendimiento de coacervación es usado para comprender el efecto de la relación en peso de biopolímeros y la concentración total de biopolímeros como un parámetro de la eficiencia de coacervación entre el quitosano y la mezcla de gomas.

En la Figura 18 se muestra el rendimiento de coacervado como una función de la relación entre la mezcla de GA y GM con el Q.

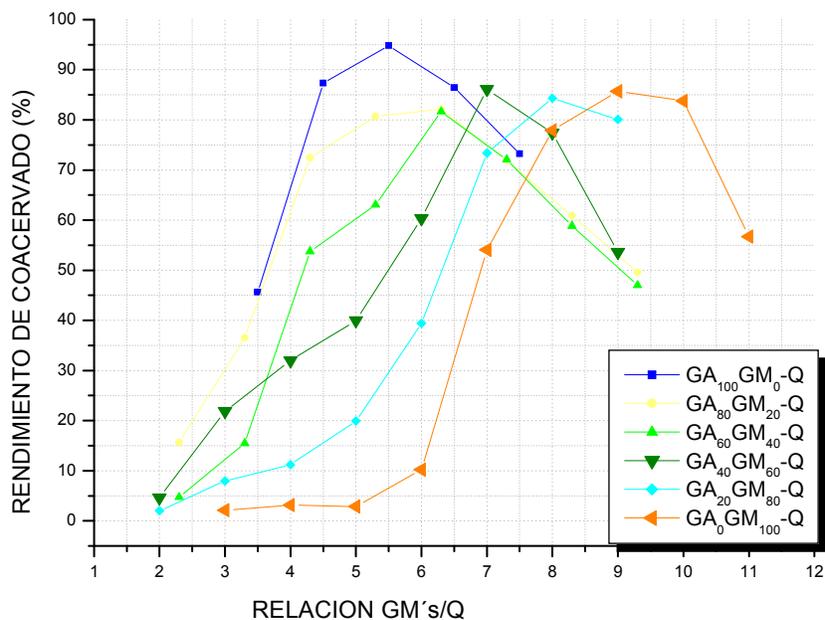


FIGURA 18. Rendimiento de conservación en la relación de goma Arábica-mezquite quitosano

En la tabla 12 se muestran los resultados de rendimiento de coacervación y turbidez en los que se puede corroborar que nos encontramos en la relación óptima para este sistema GM's/Q.

Tabla 12 Relación óptima para el sistema GM's/Q con respecto al rendimiento de coacervación y turbidez

Mezcla GA:GM	Relación GM's /Qitosano	Rendimiento de coacervación	Turbidez
GA ₁₀₀ GM ₀	5.5	94.83	0.002
GA ₈₀ GM ₂₀	6.3	82.12	0.00
GA ₆₀ GM ₄₀	6.3	81.66	0.00
GA ₄₀ GM ₆₀	7.0	86.11	0.00
GA ₂₀ GM ₈₀	8.0	84.35	0.00
GA ₀ GM ₁₀₀	9.0	85.71	0.002

Comprobando que a estas relaciones se tienen los valores máximos de coacervación, el rendimiento de coacervado para la mezcla de GA₁₀₀GM₀ es el mayor.

Reología de los coacervados

Una vez obtenidas las condiciones para formar el sistema coacervado goma Arábica-goma de mezquite-quitosano se procedió a determinar el comportamiento reológico del sistema mediante pruebas en régimen oscilatorio. El barrido de frecuencia es la forma más común de pruebas oscilatorias ya que este muestra como el comportamiento viscoso y elástico del material cambia con la velocidad de aplicación del esfuerzo o deformación. En este tipo de prueba la frecuencia es incrementada mientras que la amplitud del esfuerzo o deformación permanece constante y es usado para determinar los límites del comportamiento viscoelástico lineal; en esta región, las propiedades reológicas no dependen de la deformación o esfuerzo aplicado

Para iniciar el análisis reológico de los coacervados formados se determinó la región viscoelástica lineal (RLVE) mediante un barrido de frecuencia. En la Figura 19 se muestra la dependencia del módulo de almacenamiento (G') en función del porcentaje de deformación para todos los complejos.

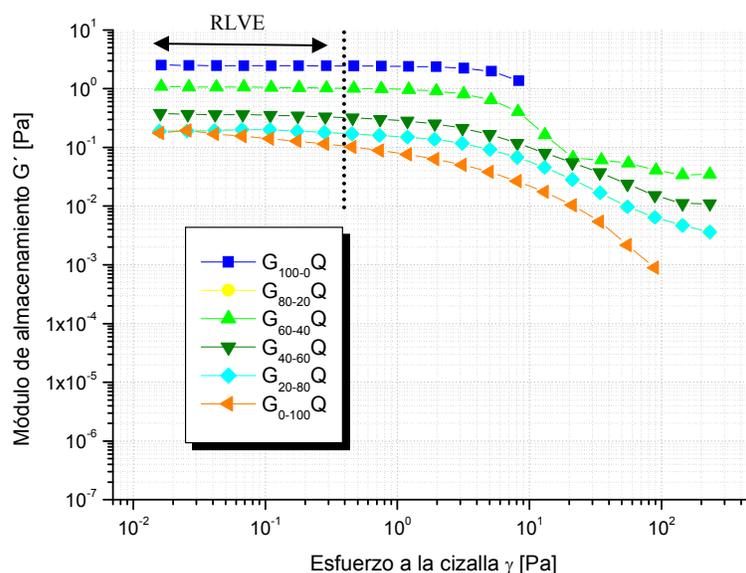


FIGURA 19 Dependencia del módulo de almacenamiento (G') vs porcentaje de deformación para las distintas mezclas.

Como se puede observar, la RLVE la ubicamos en el intervalo de 0.01 a 1 Pa. Posteriormente, se realizaron las pruebas de amplitud o de deformación (0.01–100%) manteniendo un esfuerzo constante de 0.1 Pa, en donde se determinó la dependencia de G' y G'' en función de la deformación. En la figura 20 se muestra el comportamiento reológico para las mezclas $G_{100-0}Q$ y $G_{0-100}Q$, y en la figura 21 se muestra un comparativo de estas mezclas.

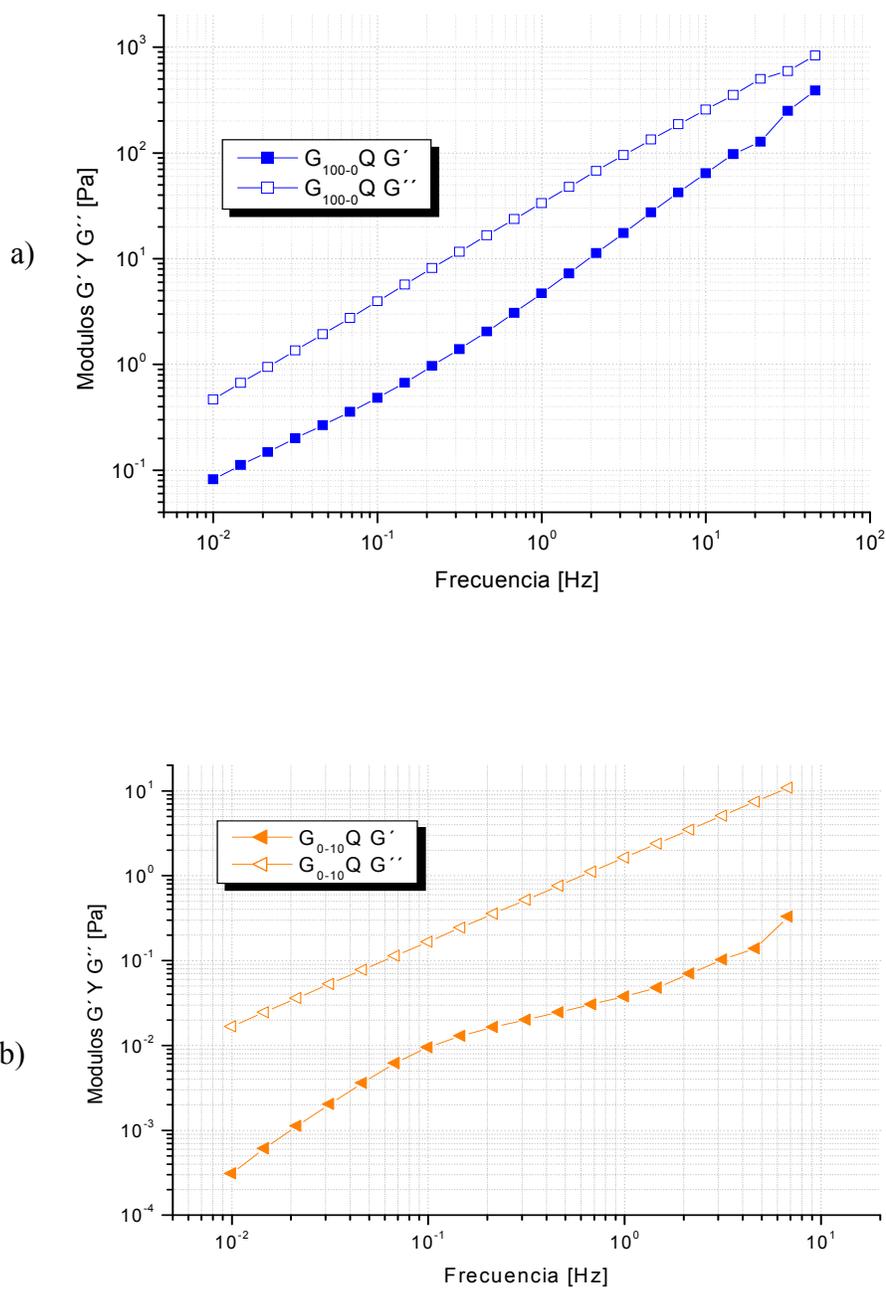


FIGURA 20. Dependencia del módulo de almacenamiento (G') vs porcentaje de deformación para las mezclas a) $G_{100-0}Q$ y b) $G_{0-100}Q$.

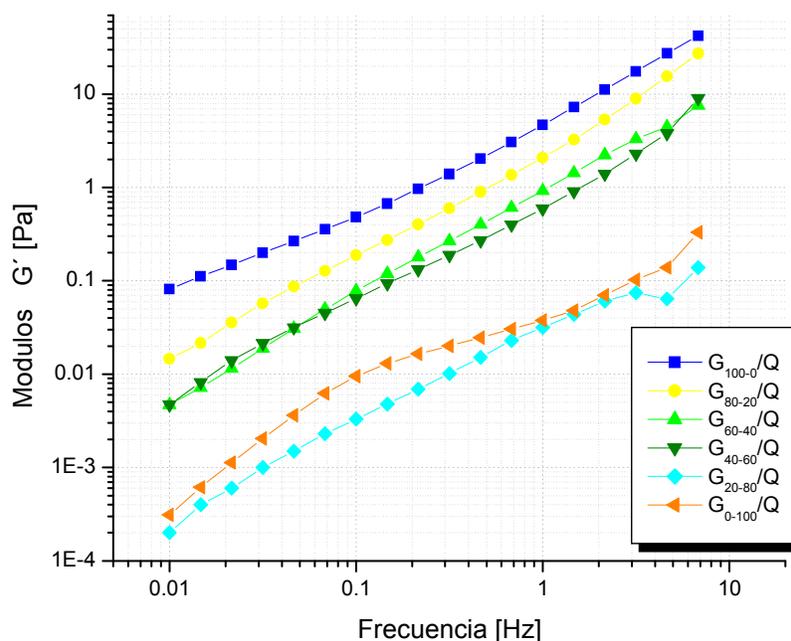


FIGURA 21 Dependencia del módulo de almacenamiento (G') vs porcentaje de deformación

El barrido de frecuencia permite determinar las características viscoelásticas de una muestra en función del tiempo, a partir del módulo de almacenamiento ($G' \rightarrow$ componente elástico de una muestra) y del módulo de pérdida ($G'' \rightarrow$ componente viscoso de una muestra). Cualquiera de los módulos puede ser dominante a una frecuencia en particular, indicando si el material completamente estructurado tiene un comportamiento elástico o viscoso.

Los coacervados son materiales viscoelásticos, ya que el módulo de pérdida (G'') encontrado fue mayor al módulo de almacenamiento (G'), exhibiendo un comportamiento más viscoso que elástico. Todas las curvas mostraron ser dependientes de la frecuencia, lo que implica que los coacervados se comportan como geles débiles. Este comportamiento ha sido observado en los sistemas albúmina de suero de bovino – poli(cloruro de dialildimetil amonio) (Bohidar y col., 2005), suero de leche-goma Arábica (Weinbreck y col., 2004) y Goma Arábica-quitosano (Espinosa, 2007)

Al comparar estas curvas con las obtenidas de la viscosidad y las del punto de equivalencia, observamos comportamientos similares. Donde el comportamiento del coacervado G_{100-0}/Q (GA) es mas elástico que el del G_{0-100}/Q (GM) y los coacervados G_{80-20}/Q , G_{60-40}/Q y G_{40-60}/Q presentan un comportamiento intermedio, mientras que el coacervado G_{20-80}/Q tiene un comportamiento muy similar al de la GM

CONCLUSIONES.

Las curvas de flujo y los valores de densidad para las mezclas presenta un comportamiento muy similar, es decir, los polímeros puros presentan los valores límite, mientras que las mezclas tienen valores intermedios, no presentando efectos sinérgicos entre la GA y la GM, sin embargo para las mezclas $GA_{80}GM_{20}$ y $GA_{60}GM_{40}$ se observa que existe interacción entre ellas, al observarse la disminución de su viscosidad con respecto a la GA y puede deberse a un entrecruzamiento con los grupos provenientes de la GM.

Las curvas de secado confirman el comportamiento típico descrito por Matsuno y Adachi (1993). Así mismo, se observó que el contenido de humedad aumentó para las mezclas, mientras que el tiempo de secado disminuye, lo que implica que la velocidad de secado será menor en las mezclas.

Considerando la D_{eff} y la E_a , sabemos que valores pequeños de la D_{eff} se considera que presenta propiedades térmicas eficientes y E_a altas está relacionado con la menor formación de hidroperóxidos. En nuestro caso la GA presenta la menor D_{eff} mientras que la GM tiene la mayor E_a . La mezcla que resulta atractiva es la $GA_{60}GM_{40}$ con D_{eff} intermedia y mayor E_a que la GA.

La formación de complejos implica la neutralización de cargas. De los resultados de movilidad electroforética observamos que la mayor diferencia de electronegatividad entre los biopolímeros y el quitosano se da a valores de pH entre 4.5 y 5.0, mientras que, las curvas de titulación nos indican que las relaciones teóricas se encuentran en el intervalo de 3.0 a 5.5 con una concentración total de biopolímeros del 2%. Sin embargo, de los resultados de turbidez, ubicamos la relación en la cual existe la máxima interacción entre las mezclas y el quitosano.

Ubicándola a valores de pH de 4.5 como se muestra:

<i>Mezcla</i>	<i>Relación GM's/Q</i>
GA ₁₀₀ GM ₀	5.5
GA ₈₀ GM ₂₀	6.3
GA ₆₀ GM ₄₀	6.3
GA ₄₀ GM ₆₀	7.0
GA ₂₀ GM ₈₀	8.0
GA ₀ GM ₁₀₀	9.0

A estas condiciones de pH, relación y concentración total de biopolímeros, se observó que el mayor rendimiento está dado por la GA, seguido por la mezcla GA₄₀GM₆₀.

La mezcla que presenta el menor rendimiento es la GA₆₀GM₄₀. Si embargo, es la que presenta las mejores propiedades.

BIBLIOGRAFÍA.

- Báez-González J.G., Pérez-Alonso C., Beristain C., Vernon-Carter E.J. y Vizcarra-Mendoza M.G. (2004). «Effective moisture diffusivity of biopolymer drops by regular regime theory». *Food Hydrocolloids* 18: 325-333.
- Bakker, M. A. E., M. M. G. König, y J. Visser. «Fatty Ingredient». Patente World Patent Application WO94/14334. 1994.
- Bangs W.E. y G.A. Reineccius (1990). «Characterization of selected materials for lemon oil encapsulation by spray drying.» *Journal of Food Science* 55: 1356-1358.
- Beerse, Peter William, y Edward Dewey Smith. III. «Personal Care Articles Comprising Cationic Polymer Coacervate Compositions». Patente PCT Int. Appl. 59. 2001a.
- Beerse, Peter William, y Edward Dewey, III. Smith. «Personal Care Articles Comprising Cationic Polymer Coacervate Compositions». Patente PCT Int. Appl. 62. 2001b.
- BeMiller J.N. y Whistler R.L. (1996). Carbohydrates, in *Food Chemistry*. 3a. edición. Fennema O.R., Ed., Marcel Dekker, Nueva York, EUA.
- Beristain, C.I., E., Azuara, y Vernon-Carter, E.J. (2002). «Effect of water activity on the stability to oxidation of spray-dried encapsulated orange peel oil using mesquite gum (*Prosopis juliflora*) as wall material». *Journal of Food Science*, 67, 206-211.
- Beristain, C.I., García, H.S., y Vernon-Carter, E.J. (2001). «Spray-dried encapsulation of cardamom (*Ellearia cardamomum*) essential oil with mesquite (*Prosopis juliflora*) gum». *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 34, 398-401.
- Beristain, C.I., y Vernon-Carter, E.J. (1995). «Studies on the interaction of arabic (*Acacia senegal*) and mesquite (*Prosopis juliflora*) gum as emulsion stabilizing agent for spray-dried encapsulated orange peel oil». *Drying Technology*, 13(1 y 2), 455-461.

- Bertolini, A.C., A.C. Siani, y C.R.F. Grosso. «Stability of Monoterpenes Encapsulated in Gum Arabic by Spray-Drying.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2001): 780-785.
- Bertolini, A.C., A.C. Siani, y C.R.F. Grosso. «Stability of Monoterpenes Encapsulated in Gum Arabic by Spray-Drying.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2001): 780-785.
- Bohidar, H., P. L. Dubin, P.R. Majhi, C. Tribet, y W. Jaeger. «Polyelectrolyte Affinity and Polyelectrolyte Molecular Weight on Dynamic Properties of Bovine Serum Albumin-Poly(diallyldimethylammonium chloride) Coacervates.» *Biomacromolecules* 6 (2005): 1573-1585.
- Burgess, D. J. «Practical Analysis of Complex Coacervate Systems.» *Journal of Colloid and Interface Science* 140 (1990): 227-238.
- Chen, J., y E. Dickinson. «Viscoelastic Properties of protein-stabilized emulsions: effect of protein-surfactant interactions.» *Journal of agricultural and food chemistry*, 46 (1998): 91-97.
- Claesson, P.M., y B.W. Ninhami. «pH-Dependent Interactions Between Adsorbed Chitosan Layers .» *Langmuir* 8 (1992): 1406-1412.
- Daly, M.M., y D Knorr. «Chitosan-Alginate Complex Coacervate Capsules: Effects of Calcium Chloride, Plasticizers, and Polyelectrolytes on Mechanical Stability.» *Biotechnology Progress* 4, 2 (1988): 76-81.
- Dickinson E. y D.J. McClements (1995). *Advances in Food Colloids*. Chapman & Hall. Londres, Inglaterra.
- Dickinson, E. «Hydrocolloids at Interfaces and the Influence on the Properties of Dispersed Systems.» *Food Hydrocolloids* 17 (2003): 25-39.

- Dickinson, E. «Protein-Polysaccharide Interactions in Food Colloids. En *Protein-Polysaccharide Interactions in Food Colloids: Stability and Mechanical Properties*». Editado por E. Dickinson y P. Walstra. Melksham, Wiltshire: Royal Society of Chemistry, 1993.
- Dumitriu, S., P. Magny, D. Montané, P.F. Vidal, y E. Chornet. «Polyionic Hydrogels Obtained by Complexation between Xanthan and Chitosan: Their Properties as Supports for Enzyme Immobilization.» *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 9 (1994): 184-209.
- Espinosa H., J. G. Baéz-Gonzalez, F. Cruz-Sosa y E.J. Vernon-Carter. «Gum Arabic-Chitosan Complex Coacervation». *Biomacromolecules* 8 (2007): 1313-1318
- Fennema O.R. (2000). *Química de los Alimentos*. 2a. Ed. Editorial Acribia, España.
- Fredheim, G.M y B.E .Christensen, 2003 «Polyelectrolyte complexes: interactions between lignosulfonate and chitosan.» *Biomacromolecules* 4 (2003): 232-239.
- Garti, N., y D. Reichman. «Hydrocolloids as Food Emulsifiers and Stabilizers». *Food Structure* 12 (1993): 411-426.
- Girard, M., S. L. Turgeon, y S. F. Gauthier. «Interbiopolymer Complexing Between β -lactoglobulin and Low- and High- Methylated Pectin Measured by Potentiometric Titration and Centrifugation.» *Food Hydrocolloids* 16 (2002): 585-591.
- Girard, M., S.L. Turgeon, y S.F. Gauthier. «Thermodynamic Parameters of β -Lactoglobulin–Pectin Complexes Assessed by Isothermal Titration Calorimetry.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003: 4450-4455.
- Gouin, S., K.L. Tse, y C.B. Hansen. «Food Additive Capsules as Aqueous Beads Coated with Hydrophobic Vegetable Fat». Patente Brit. UK Pat. Appl. 33. 2003.
- Green, B. K., y L. Schleicher. Manifold Record Material,. Patente US Patent Application 2 730 456. 1956.

- Gu, Y.S., A.E., Decker, y D.J., McClements «Production and Characterization of Oil-in-Water Emulsions Containing Droplets Stabilized by Multilayer Membranes Consisting of β -Lactoglobulin, ι -Carrageenan and Gelatin». *Langmuir* 21, (2005): 5752-5760.
- Hwang, J.K., y H.H., Shin. «Rheological properties of chitosan solutions». *Korea-Australia Rheology Journal* vol. 12 No. ¾ (2000): 175-179.
- Hemart, Y., C.E. Hall, P.A., Munro, y H., Singh «Small and Large Deformation Rheology and Microstructure of κ -Carrageenan Gels Containing Commercial Milkprotein Products. International» *Dairy Journal*, 12 (2002) 371–381.
- Herrera, R., «Estudio Reológico de mezclas maltenos-copolímeros estireno-butadieno». Tesis de maestría UNAM, Facultad de Química, 2003.
- Hill, S.E., D.A. Ledward, y J.R. Mitchell. «Functional Properties of Food Macromolecules». *Gaithersburg, Maryland: Aspen Publication*, 1998.
- Hoagland, D. *Polyelectrolites*. En *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, John Wiley y Sons, Inc., Hoboken, N.J., 2001b; Vol. 7, pp 439-497
- Ibanoglu, E. «Rheological Behaviour of Whey Protein Stabilized Emulsions in the Presence of Gum Arabic.» *Journal of Food Engineering* 52 (2002): 273-277.
- Imagi J., K. Muraya, D. Yamashita, S. Adachi y R. Matsuno (1992b). «Retard oxidation of liquid lipids entrapped in matrixes of saccharides or proteins.» *Bioscience, Biotechnology Biochemistry* 56: 1236-1240.
- Imagi J., N.D. Kako, K. Nakanishi y R. Matsuno (1990). «Entrapment of liquid lipids in matrixes of saccharides.» *Journal Food Engineering* 12: 207-222.
- Imagi J., T. Yamanouchi, K. Okada K., M. Tanimoto y R. Matsuno (1992a). «Properties of agents that effectively entrap liquid lipids». *Bioscience, Biotechnology Biochemistry* 56: 477-480.
- Jensen, S.A., B. Vrhovski, y A.S. Weiss. «Domain 26 of Tropoelastin Plays a Dominant Role in Association by Coacervation.» *Journal of Biological Chemistry* 275, 37 (2000): 28449-28454.

- Khouryieh, H.A., T. J. Herald, F. Aramouni, S. Bean, y S. Alavi. «Influence of Deacetylation on the Rheological Properties of Xanthan–Guar Interactions in Dilute Aqueous Solutions.» *Journal of Food Science* 72, 3 (2007): C173- C181.
- Kim, K.M., J.H. Son, S.K. Kim, C.L. Weller, y M.A. Hanna. «Properties of Chitosan Films as a Function of pH and Solvent Type.» *Journal of Food Science* 71 (2006): E119-E124.
- Kim, Y.D., y C.V. Morr. «Microencapsulation Properties of Gum Arabic and Several Food Proteins: Spray-Dried Orange Oil Emulsion Particles.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (1996): 1314-1320.
- Kruif, C.G., y R. Tuinier. «Polysaccharide Protein Interactions.» *Food Hydrocolloids* 15 (2001): 555-563.
- Lamprecht, A., U. Schafer, y C.M. Lehr. «Influences of Process Parameters on Preparation of Microparticle Used as a Carrier System for Ω -3 Unsaturated Fatty Acid Ethyl Esters Used in Supplementary Nutrition.» *Journal of Microencapsulation*, 2001: 347-357.
- Laplante, S.; S.L. Turgeon, y P. Paquin, «Emulsion Stabilizing Properties of Various Chitosans in the Presence of Whey Protein Isolate. » *Food Hydrocolloids*, 19 (2005) 425-434.
- Lehninger A.L., Nelson D.L. y Cox M.M. (1993). *Principles of Biochemistry*. 2a. edición. Worth publishers. Nueva York, EUA.
- Matsuno R y Adachi S. 1993. «Lipid encapsulation technology- Techniques and applications to foods». *Trends Food Sci. Technol.* 4, 256-261
- McClements, D.J. *Food Emulsions. Principles, Practice and Techniques*. Boca Raton, Londres, Nueva York, Washinton, D.C.: CRC Press, 1999.
- McNamee, B., E. O’Riordan, y M. O’Sullivan. «Effect of Partial Replacement of Gum Arabic with Carbohydrates on Its Microencapsulation Properties.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 7 (2001): 3385-3388.

- McNamee, B.F., E.D. O’Riordan, y M. O’Sullivan. «Emulsification and Microencapsulation Properties of Gum Arabic.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46 (1998): 4551-4555.
- Medina, L., «Estudio reológico del mucilago de nopal y su efecto sinérgico con otros hidrocoloides de uso alimenticio». Tesis de Doctorado UNAM, Facultad de química (2005).
- Mekhloufi, G., C. Sanchez, D Renard, S. Guillemin, y J. Hardy. «pH-Induced Structural Transitions during Complexation and Coacervation of β -Lactoglobulin and Acacia Gum.» *Langmuir* 21, 1 (2005): 386-394.
- Mekhloufi, G., C. Sanchez, D Renard, S. Guillemin, y J. Hardy. «pH-Induced Structural Transitions during Complexation and Coacervation of β -Lactoglobulin and Acacia Gum.» *Langmuir* 21, 1 (2005): 386-394.
- Menger y Sykes, 1998) Menger, F.M., y B.M. Sykes. «Anatomy of a Coacervate». *Langmuir* 14 (1998): 4131-4137.
- Moreau, L., H.J. Kim, E.A. Decker, y D.J. McClements. «Production and Characterization of Oil in Water Emulsions Containing Droplets Stabilized by β -Lactoglobulin-Pectin Membranes». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2003): 6612-6617.
- Nordby, M.H., A.L. Kjoniksen, B. Nystrom, y J. Roots. «Thermoreversible Gelation of Aqueous Mixtures of Pectin and Chitosan. Rheology». *Biomacromolecules* 4 (2003): 337-343.
- Ogawa, S., E.A. Decker, y D.J. McClements. «Production and Characterization of O/W Emulsions Containing Cationic Droplets Stabilized by Lecithin-Chitosan Membranes». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 9 (2003): 2806-2812.
- Ogawa, S., E.A. Decker, y D.J. McClements. «Production and Characterization of O/W Emulsions Containing Droplets Stabilized by Lecithin-Chitosan-Pectin Mutilayered Membranes». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (2004): 3595-3600.

- Ohidar, H., P. L. Dubin, P.R. Majhi, C. Tribet, y W. Jaeger. «Polyelectrolyte Affinity and Polyelectrolyte Molecular Weight on Dynamic Properties of Bovine Serum Albumin-Poly(diallyldimethylammonium chloride) Coacervates». *Biomacromolecules* 6 (2005): 1573-1585
- Onishi, N., H. Furukawa, y K. Kataoka. «Coacervate-Forming Thermoresponsive Polymers and Their Application to Drug Delivery Systems». *Japan Kokai Tokyo Koho*, 2002:9.
- Orozco-Villafuerte J., Cruz-Sosa F., Ponce-Alquicira E. y Vernon-Carter E.J. (2003). «Mesquite gum: Fractionation and characterization of the gum exuded from *Prosopis laevigata* obtained from plant tissue culture and from wild trees». *Carbohydrate Polymers* 54: 327-333.
- Osman, M.O., P.A. Williams, A.R. Menzies, y G.O. Phillips. «Characterization of Commercial Samples of Gum Arabic.» *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 1 (1993): 71-77
- Pérez-Alonso, C., J.G. Báez-González, C.I. Beristain, E.J. Vernon-Carter, y M.G. Vizcarra-Mendoza. «Estimation of the Activation Energy of Carbohydrate Polymers Blends as Selection Criteria for Their Use as Wall Material for Spray-Dried Microcapsules». *Carbohydrate Polymers* 53 (2003): 197-203
- Pérez-Orozco, J.P., C.I. Beristain, G. Espinosa-Paredes, C. Lobato-Calleros, y E.J. Vernon-Carter. «Interfacial Shear Rheology of Interacting Carbohydrate Polyelectrolytes at the Water-Oil Interface Using an Adapted Conventional Rheometer». *Carbohydrate Polymers* 57 (2004): 45-54.
- Rabea, E.I., M.E.T. Badawy, C.V. Stevens, G. Smagghe, y W. Steurbaut. «Chitosan as Antimicrobial Agent: Applications and Mode of Action». *Biomacromolecules* 4 (2003): 1457-1465.
- Rodríguez-Huezo, M.E., R. Pedroza-Islas, L.A. Prado-Barragán, C.I. Beristain, y E.J. Vernon-Carter. «Microencapsulation by Spray Drying of Multiple Emulsions Containing Carotenoids». *Journal of Food Science* 69, 7 (2004): 351-359.

- Ruíz-Ramos, J.O., J.P. Pérez-Orozco, J.G. Báez-González, E. Bósquez-Molina, C. Pérez-Alonso, y E.J. Vernon-Carter. «Interrelationship Between the Viscoelastic Properties and Effective Moisture Diffusivity of Emulsions with the Water Vapor Permeability of Edible Films Stabilized by Mesquite Gum–Chitosan Complexes». *Carbohydrate Polymers* 64, 2 (2006): 355-363.
- Sahin, H. y Ozdemir, F. «Effect of some Hydrocolloids on the Rheological Properties of Different Formulated Ketchups». *Food Hydrocolloids* 18, (2004) 1015-1022.
- Sanchez, C., G. Mekhloufi, C. Schmitt, D. Renard, P. Robert, C.M. Lehr, A. Lamprecht, y J. Hardy. «Self-Assembly of β -Lactoglobulin and Acacia Gum in Aqueous Solvent: Structure and Phase Ordering Kinetics». *Langmuir*, 18 (2002): 10323-10333.
- Sanchez, C., y D. Renard. «Stability and Structure of Protein-Polysaccharide Coacervates in the Presence of Protein Aggregates». *International Journal of Pharmaceutics* 242 (2002a): 319–324.
- Schmitt, C., C. Sanchez, A. Lamprecht, D. Renard, C.M. Lehr, C.G. de Kruif, y J. Hardy. «Study of β -lactoglobulin/Acacia Gum Complex Coacervation by Diffusing-Wave Spectroscopy and Confocal Scanning Laser Microscopy». *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 20 (2001): 267-280.
- Schmitt, C., T.P. da Silva, C. Bovay, S. Rami-Shojaei, P. Frossard, E. Kolodziejczyk, y M.E. Leser. «Effect of Time on the Interfacial and Foaming Properties of β -lactoglobulin/Acacia Gum electrostatic Complexes and Coacervates at pH 4.2». *Langmuir* 21 (2005): 7786-7795.
- Strauss, G., y S.M. Gibson. «Plant Phenolics as Cross-linkers of Gelatin Gels and Gelatin-Based Coacervates for Use as Food Ingredients». *Food Hydrocolloids* 18, 1 (2003): 81-89.
- Tapia, C., Z. Escobar, E. Costa, J. Sapag-Hagar, F. Valenzuela, C. Basualto, M. Gai, y M. Yazdani-Pedram. «Comparative Studies on Polyelectrolyte Complexes and Mixtures of Chitosan–Alginate and Chitosan–Carrageenan as Prolonged Diltiazem Chlorhydrate

- Release System». *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 57 (2004): 65–75.
- Tesch, S., y H. Schubert. «Influence of Increasing Viscosity of the Aqueous Phase on the Short-term Stability of Protein Stabilized Emulsions». *Journal of Food Engineering* 52 (2002): 315-312.
- Thimma, R. T., y S. Tammishetti. «Study of Complex Coacervation of Gelatin with Sodium Carboxymethyl Guar Gum: Microencapsulation of Clove Oil and Sulphamethoxazole». *Journal of Microencapsulation*, 2003: 203-210.
- Thomasin, C., H. Nam-Tran, H.P. Merkle, y B. Gander. «Drug Microencapsulation by PLA/PLGA Coacervation in the Light of Thermodynamics. 1. Overview and Theoretical Considerations». *Journal of Pharmaceutical Sciences.*, 1998: 259-268.
- Thongngam, M., y; D.J. McClements, «Characterization of Interactions between Chitosan and an Anionic Surfactant». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (2004) 987-991.
- Tolstoguzov V.B. «Thermodynamic Aspects of Biopolymer Functionality in Biological Systems, Foods, and Beverages». *Critical Reviews in Biotechnology* 22, 2 (2002): 89-174.
- Tolstoguzov, V.B. «Some Thermodynamic Considerations in Food Formulation». *Food Hydrocolloids*, 2003: 1-23.
- Veléz, G.; Fernández, M.A., y Muñoz, J. «Role of Hydrocolloids in the Creaming of Oil in Water Emulsions». *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51, (2003) 265-269.
- Vernon-Carter E.J., Gómez S.A., Beristain C.I., Mosqueira G., Pedroza-Islas R. y Moreno-Terrazas R.C. «Color degradation and coalescence kinetics of Aztec marigold oleoresin-in-water emulsions stabilized by mesquite or arabic gums and their blends». *Journal of Texture Studies* 27, (1996) 625-641.

- Vernon-Carter, E.J., Beristain, C.I., y Pedroza-Islas, R. «Mesquite gum (*Prosopis* gum). In G. Doxastakis, y V. Kiosseoglou». *Novel Macromolecules in Food Systems*. Amsterdam: Elsevier. (2000), 217-238.
- Walstra, P. *Physical Chemistry of Foods*. New York-Basel: Maecel Dekker, Inc., 2003.
- Wang, X., J. Lee, Y.M. Wang, y Q. Huang. «Composition and Rheological Properties of β -lactoglobulin/Pectin Coacervates: Effects of Salt Concentration and Initial Protein/Polysaccharide Ratio». *Biomacromolecules* 8 (2007): 992-997.
- Wang, Y., J.Y. Gao, y P.L. Dubin. «Protein Separation via Polyelectrolyte Coacervation: Selectivity and Efficiency». *Biotechnology Progress* 12, 3 (1996): 356-362.
- Wei, Y.C., y S.M. Hudson. «Binding of Sodium Dodecyl Sulfate to a Polyelectrolyte Based on Chitosan». *Macromolecules* 26 (1993): 4151-4154.
- Weinbreck, F. «*Whey Protein/Gum Arabic Coacervates: Structure and Dynamics*». Holanda: Tesis de doctorado, Universidad de Utrecht, 2004.
- Weinbreck, F., H. Nieuwenhuijse, G.W. Robijn, y C.G. de Kruif. «Complexation of Whey Proteins with Carrageenan». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004: 3550-3555.
- Weinbreck, F., R. de Vries, P. Schrooyen, y C.G. de Kruif. «Complex Coacervation of Whey Proteins and Gum Arabic». *Biomacromolecules*, 4 (2003): 293-303.
- Weinbreck, F., R.H. Tromp, y C.G. de Kruif. «Composition and Structure of Whey Protein Gum Arabic Coacervates». *Biomacromolecules* 5 (2004): 1437-1445.
- Williams, P.A., y G.O. Phillips. «Gum Arabic». *Handbook of Hydrocolloids*, editado por G.O. Phillips y P.A. Williams, 155-168. Nueva York: CRC, 2000.
- Xing, F., G. Cheng, y B. Ma, L. Yang. «Microencapsulation of Capsaicin by the Complex Coacervation of Gelatin, Acacia and Tannins». *Journal of Applied Polymer Science* 91, 4 (2004): 2669-2675.

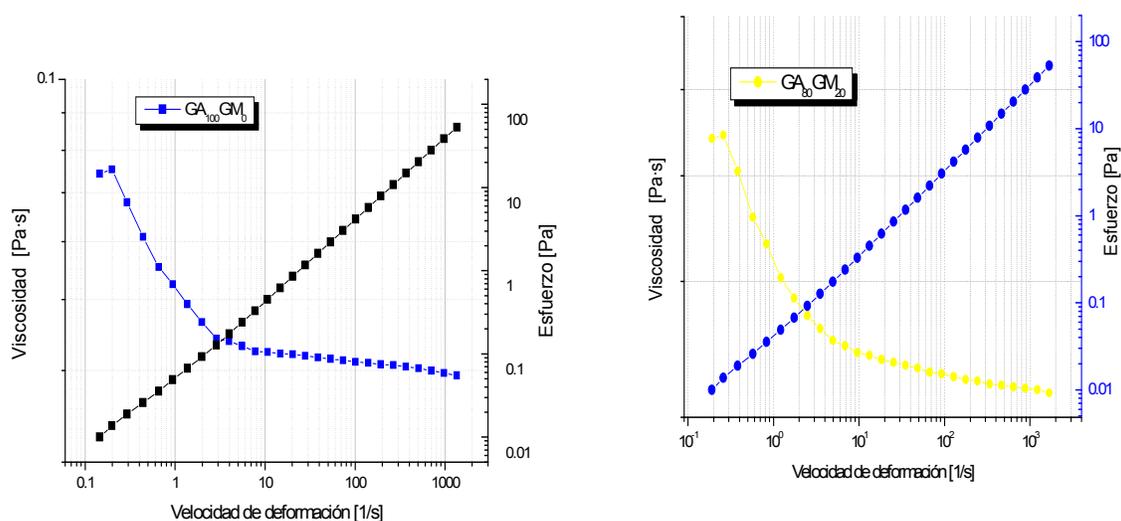
- Yáñez, J., J.A. Salazar, L. Chaires, J. Jiménez, M. Márquez y E. G. Ramos. «Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación». *Avance y Perspectiva, Cinvestav* 21,(2002): 313-319
- Yu, H., y Y.C. Toh. «Encapsulation of Cells in Biologic Compatible Scaffolds by Coacervation of Charged Polymers». Patente U.S. Pat. Appl. Publ. 24. 2006.
- Zanzotto, S y K. Hoz. «Characterization of Regular and Modified Bitumens via Their Complex Modulus». *Polym. Eng. Sci.* **44**, 12 (2004), 2185.
- Zhao, H., C. Sun, R.J. Stewart, y H.J. Waite. «Cement Proteins of the Tube-Building Polychaete *Phragmatopoma Californica*». *The Journal of Biological Chemistry* 280, 52 (2005): 42938–42944.

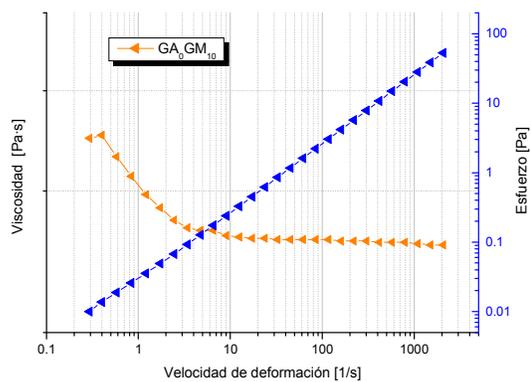
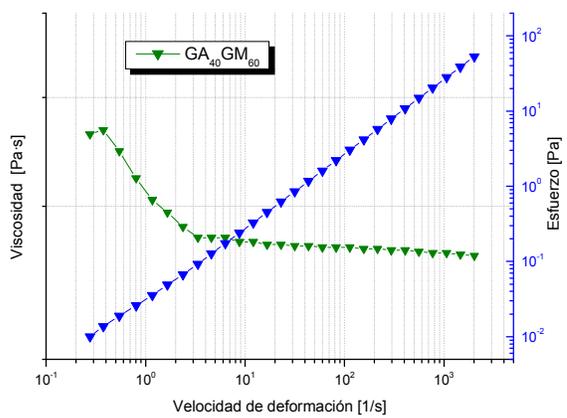
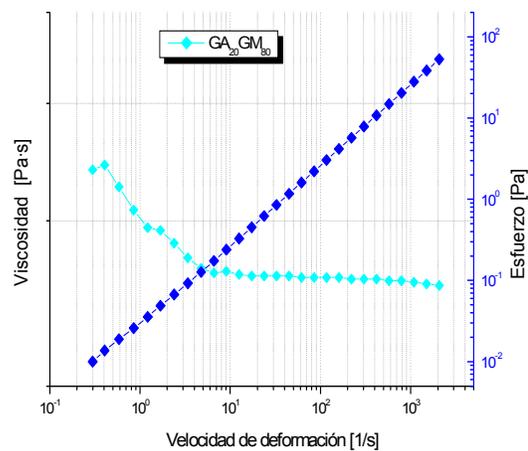
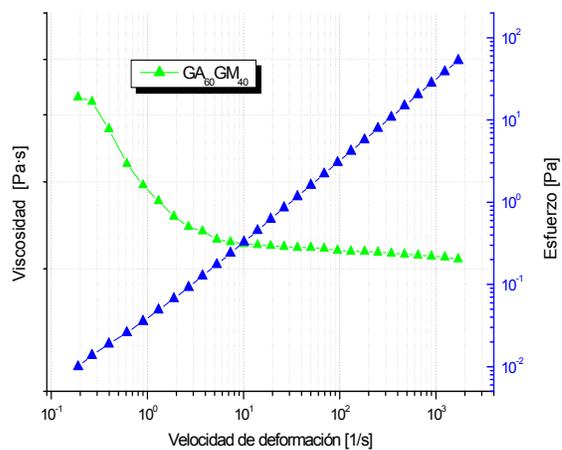
APENDICE.

A1 CURVAS DE VISCOSIDAD Y ESFUERZO DE CORTE

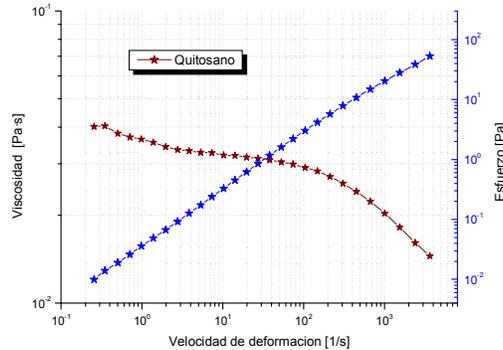
En esta sección se presentan los resultados que se obtuvieron para cada una de las mezclas. Iniciamos con la caracterización de los biopolímeros mostrando el perfil de viscosidad de cada una de las mezclas de biopolímeros ($GA_{100}GM_0$, $GA_{80}GM_{20}$, $GA_{60}GM_{40}$, $GA_{40}GM_{60}$, $GA_{20}GM_{80}$ y GA_0GM_{100}).

Perfiles de viscosidad de las mezclas.



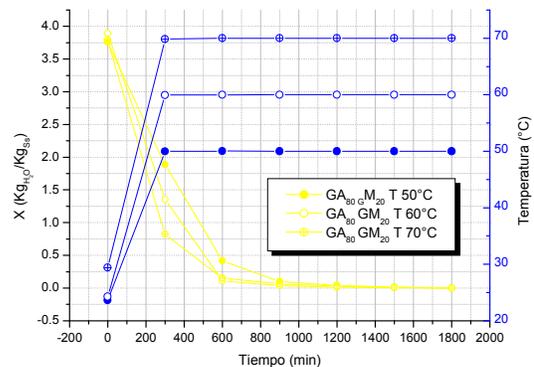
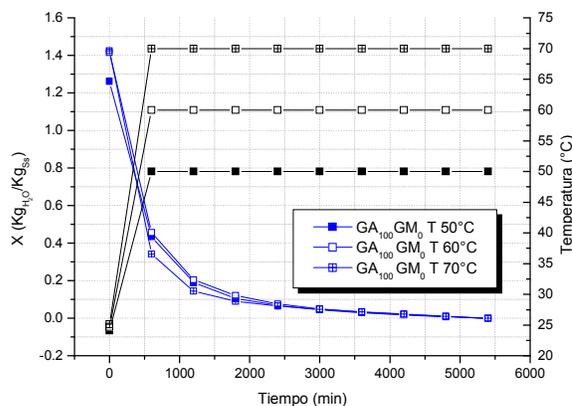


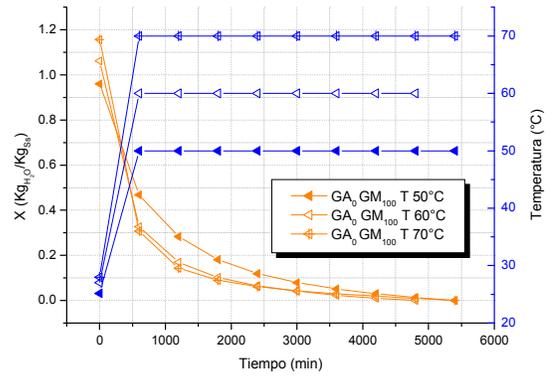
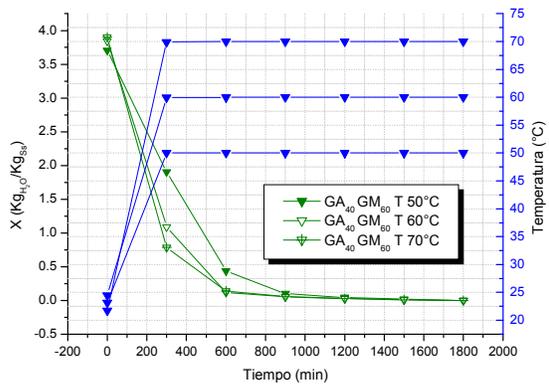
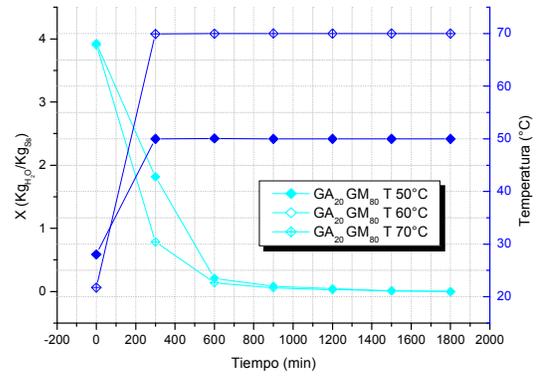
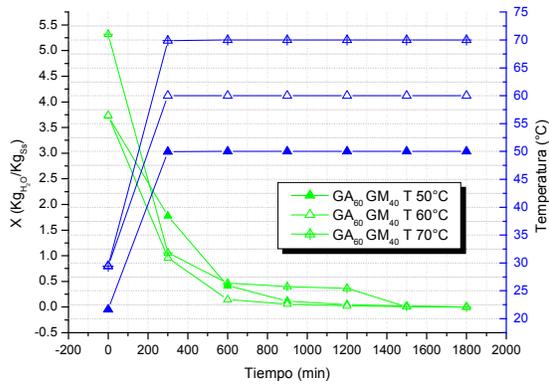
Perfiles de viscosidad para la solución de quitosano



A2 CURVAS DE SECADO ISOTERMICO

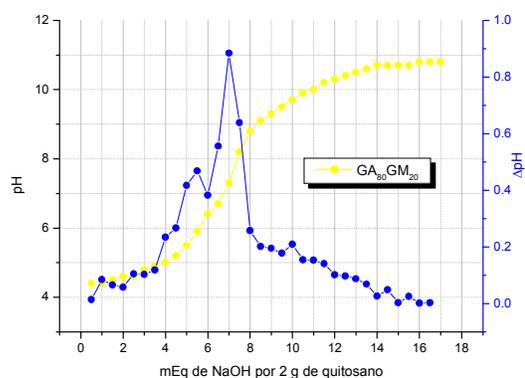
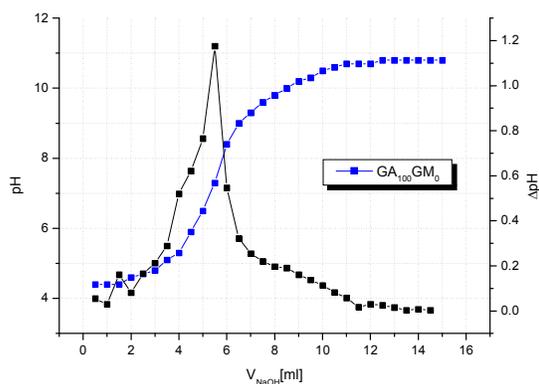
Las curvas de secado isotérmico fueron obtenidas con el TGA a 50, 60 y 70°C, para los biopolímeros puros. Se utilizaron las condiciones de secado propuestas por Baez-Gonzalez (2004), debido a que con este procedimiento se alcanza el proceso isotérmico en el menor tiempo por lo que la pérdida de masa es menor

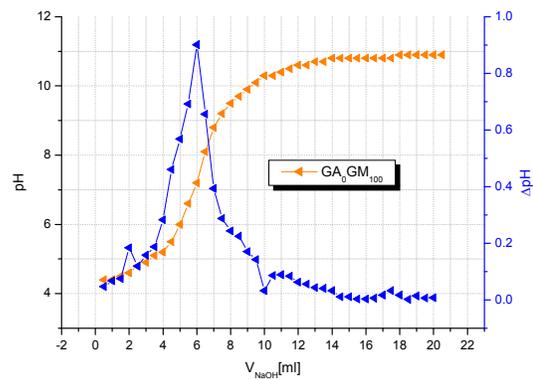
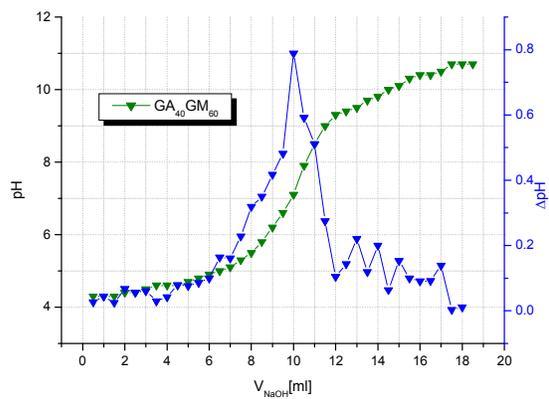
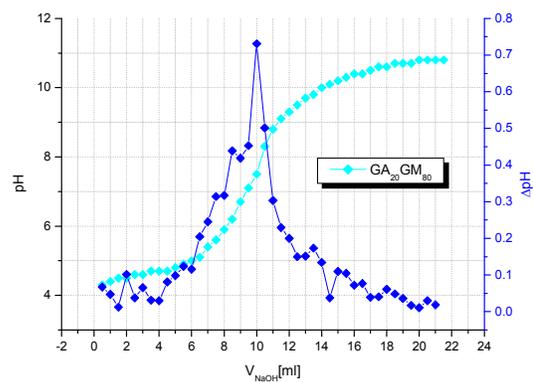
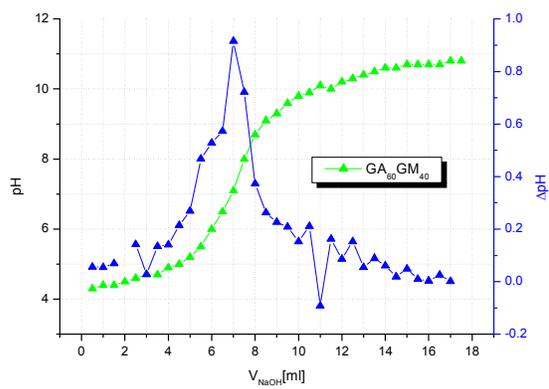




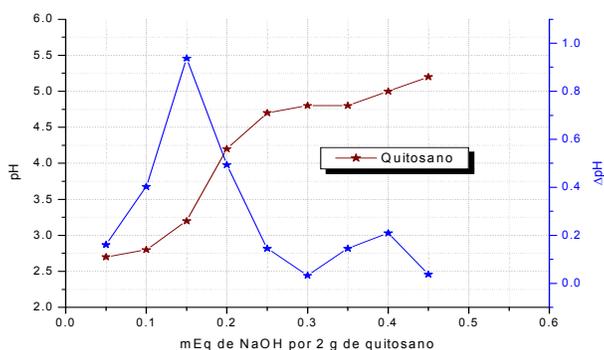
A3 CURVAS DE TITULACION

El punto de equivalencia de los biopolímeros se observa en el punto de inflexión, al graficar pH como una función del volumen del NaOH agregado, o bien, ocurre cuando la primera derivada del cambio de pH (ΔpH) con respecto al volumen de NaOH agregado presenta un máximo. Se muestran las curvas de titulación, así como la derivada del ΔpH para las mezclas, en función de los mililitros agregados de NaOH



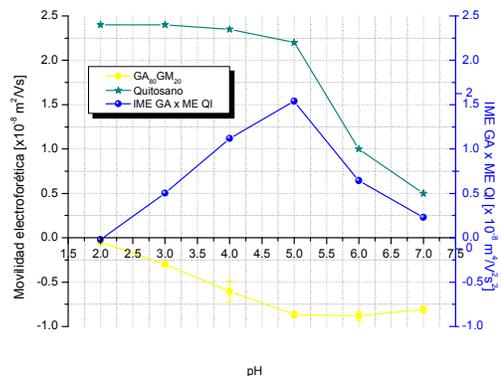
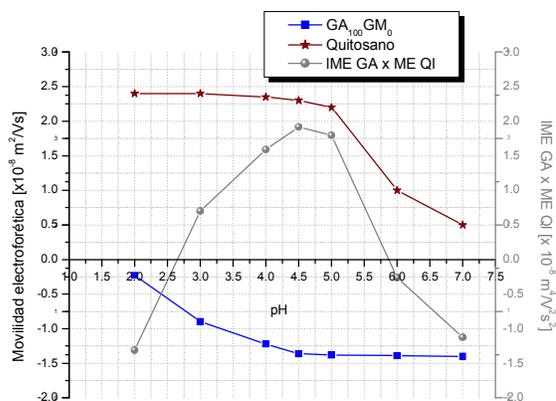


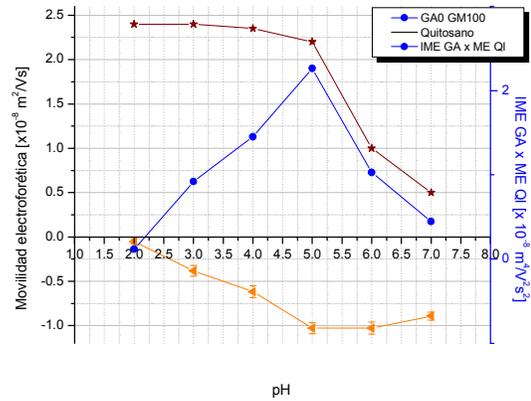
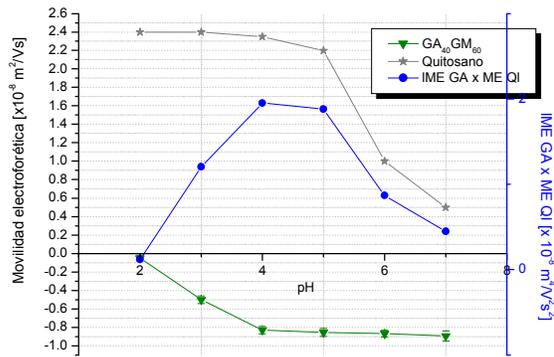
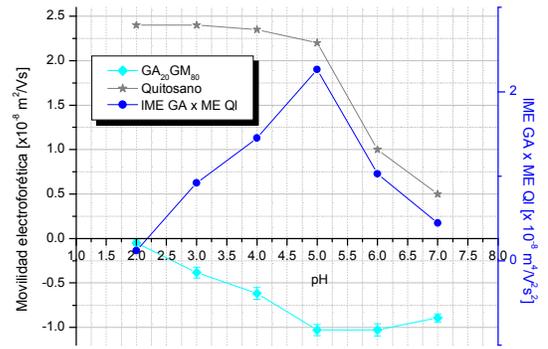
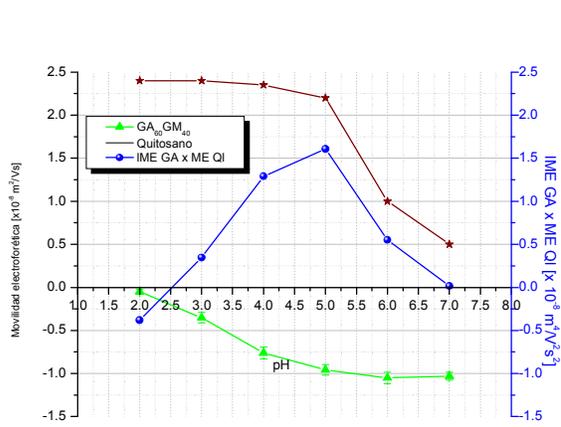
El punto de equivalencia para una solución



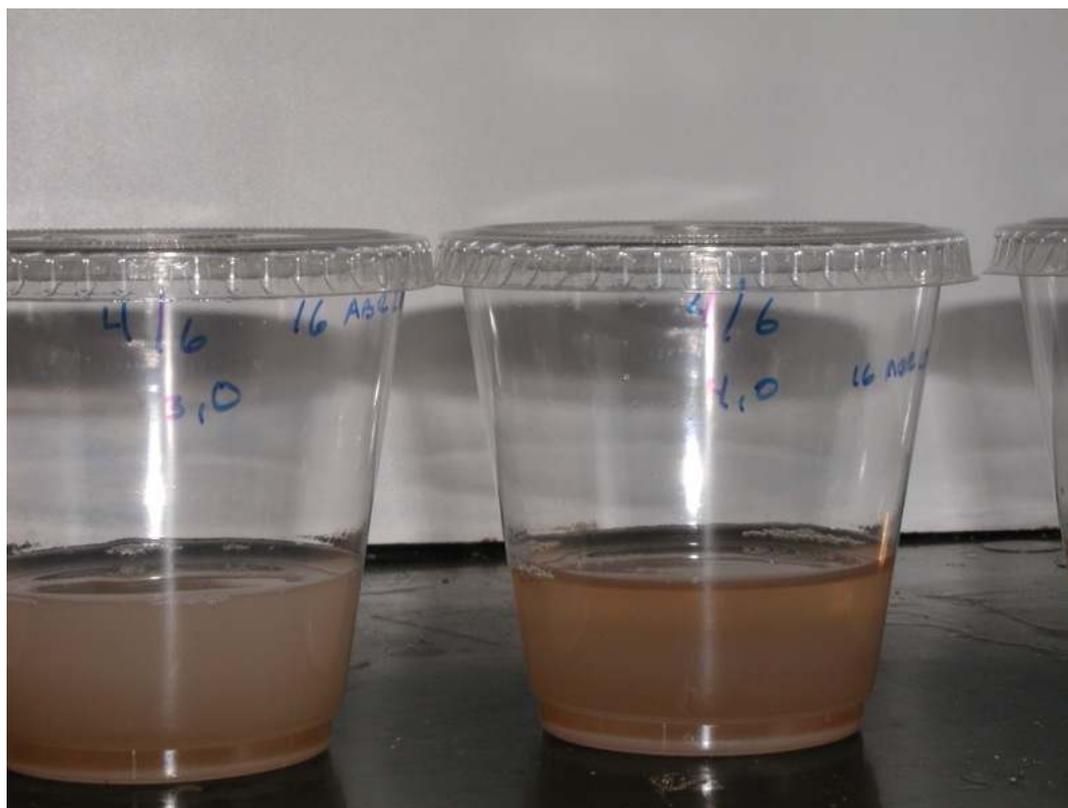
A4 MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA (POTENCIAL Z)

Se determinó la carga de las mezclas, como una función del pH, realizando las mediciones electroforesis y comparando la movilidad electroforética (ME) de cada una de las mezclas con los valores de obtenidos para la solución de quitosano.





A5 COACERVADOS





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00050

Matrícula: 205384320

"COACERVACION COMPLEJA CON MEZCLAS DE TRES POLISACARIDOS (GOMA ARABIGA-GOMA DE MEZQUITE-QUITOSANO)"

En México, D.F., se presentaron a las 12:00 horas del día 12 del mes de marzo del año 2010 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DR. MARIO GONZALO VIZCARRA MENDOZA
- DR. CESAR PEREZ ALONSO
- DR. LUIS MEDINA TORRES
- DR. EDUARDO JAIME VERNON CARTER

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (INGENIERIA QUIMICA)

DE: EZRI ABRAHAM SANDOVAL SILVA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



EZRI ABRAHAM SANDOVAL SILVA
ALUMNO

REVISO

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBI

DRA. VERONICA MEDINA BANUELOS

PRESIDENTE

DR. MARIO GONZALO VIZCARRA MENDOZA

VOCAL

DR. CESAR PEREZ ALONSO

VOCAL

DR. LUIS MEDINA TORRES

SECRETARIO

DR. EDUARDO JAIME VERNON CARTER