



CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS E HIDRÁULICA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA

**CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE EMULSIONES
ACEITE-EN-AGUA (O/W) ESTABILIZADAS CON GOMA
DE MEZQUITE Y QUITOSANO Y SU EFECTO EN LA
PERMEABILIDAD DE PELICULAS COMESTIBLES**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
(INGENIERÍA QUÍMICA)

PRESENTA
JACQUELINA OFELIA RUIZ RAMOS

Asesor:
Dr. E. Jaime Vernon Carter

México, D. F.

Marzo del 2004



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE PROCESOS E HIDRÁULICA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA

**CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA DE EMULSIONES
ACEITE-EN-AGUA (O/W) ESTABILIZADAS CON GOMA
DE MEZQUITE Y QUITOSANO Y SU EFECTO EN LA
PERMEABILIDAD DE PELICULAS COMESTIBLES**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS
(INGENIERÍA QUÍMICA)

PRESENTA
JACQUELINA OFELIA RUIZ RAMOS

Asesor:

Dr. E. Jaime Vernon Carter

México, D. F.

Marzo del 2004

Esta tesis esta dedicada a mis padres Eloisa y Antonino que con su apoyo y amor me han ayudado a cumplir todas las metas que me he propuesto a través de mi vida.

En especial a mi esposo Roberto por el amor, apoyo y felicidad que me ha brindado en todos estos años juntos.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Atónoma Metropolitana Unidad Iztapala (UAM-I) por las facilidades que me brindo al realizar mis estudios de Licenciatura y Maestría.

A la Dra. Elsa Bosquez Molina por sus valiosos comentarios sobre este trabajo.

A la Dra. Laura Patricia Martínez Padilla y el M. I. Carlos Martínez Vera por su minuciosa atención que le prestaron a este trabajo.

Agradezco muy especialmente al Dr. E. Jaime Vernon Carter por su dirección e interés al presente trabajo.

A mis amigos del laboratorio T-166 por su apoyo, comentarios y sugerencias, especialmente a Juan Pablo Pérez Orozco.

Así mismo al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar los estudios de Maestría y también por la beca otorgada para la conclusión de esta tesis a través del proyecto G 33565 B

ÍNDICE

RESUMEN	i
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	4
2.1 Películas y recubrimientos: Definición y aplicación	4
2.2 Materiales empleados en películas y recubrimientos comestibles	4
2.2.1 Polisacáridos	5
2.2.2 Proteínas	5
2.2.3 Lípidos y resinas	6
2.2.4 Otros ingredientes	6
2.3 Películas emulsificadas	8
2.4 Emulsiones	9
2.4.1 Partes que constituyen una emulsión	9
2.4.2 Mecanismos de inestabilidad en emulsiones	9
2.5 Estabilidad de emulsiones	11
2.5.1 Agente emulsificante	11
2.5.2 Agente estabilizante	12
2.5.3 Factores principales que afectan la estabilidad de emulsiones aceite-en-agua	12
2.6 Biopolímeros como agente estabilizantes y/o emulsificantes	13
2.6.1 Goma de mezquite	14
2.6.2 Quitosano	16
2.7 Interacción de hidrocoloides con proteínas	18
2.7.1 Interacción en la fase acuosa	18
2.7.2 Interacción de hidrocoloides con capas de proteína adsorbidas	19
2.8 Reología de emulsiones	20
2.8.1 Pruebas dinámicas	21

2.9 Permeabilidad	23
III. JUSTIFICACIÓN	26
IV. HIPÓTESIS	27
V. OBJETIVOS	28
5.1 Objetivo general	28
5.2 Objetivos particulares	28
VI. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	29
6.1 Material	29
6.1.1 Material estructural	29
6.1.2 Hidrofóbicos	29
6.1.3 Plastificante	29
6.1.4 Sales	29
6.2 Metodología experimental	30
6.2.1 Preparación de soluciones	30
6.2.2 Formación de emulsiones O/W	30
6.2.3 Caracterización de las emulsiones O/W	30
6.2.3.1 <i>Análisis de tamaño de partícula</i>	30
6.2.3.2 <i>Estabilidad de las emulsiones</i>	31
6.2.3.3 <i>Pruebas reológicas</i>	31
6.2.4 Caracterización de las películas	33
6.2.4.1 <i>Formación de las películas</i>	33
6.2.4.2 <i>Espesor de las películas</i>	33
6.2.5 Formación de emulsiones F1, F2, F3 y F4	33
6.2.6 Caracterización de las emulsiones F1, F2, F3 y F4	34
6.2.6.1 <i>Secado isotérmico</i>	35
6.2.6.2 <i>Estimación de la difusividad efectiva</i>	35
6.2.7 Caracterización de las películas F1, F2, F3 y F4	37
6.2.7.1 <i>Permeabilidad al vapor de agua</i>	38
6.2.7.2 <i>Estimación de la permeabilidad para condiciones estáticas</i>	40
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
7.1 Aspecto físico visuales de las emulsiones O/W	41

7.2 Análisis de tamaño de partícula	42
7.3 Propiedades reológicas	43
7.3.1 Reología de las soluciones acuosas GM y Q	43
7.3.2 Reología de las emulsiones O/W	47
7.3.2.1 <i>Viscoelasticidad de las emulsiones O/W</i>	47
7.3.2.2 <i>Viscosidad de las emulsiones O/W</i>	50
7.3.3 Reología de las emulsiones F1, F2, F3 y F4	52
7.4 Permeabilidad	57
7.5 Difusión de la humedad	58
7.6 Evaluación visual de las propiedades antimicrobianas	62
VIII. CONCLUSIONES	64
IX. REFERENCIAS	66
APÉNDICES	70
Apéndice A. Cálculo de la permeabilidad	70
Apéndice B. Gráficos de difusividad efectiva	75
Apéndice C. Determinación del volumen de la gota de emulsión	78
Apéndice D. Cálculo de la tasa de coalescencia	79

RESUMEN

En este trabajo se caracterizaron las propiedades reológicas de la goma de mezquite (con actividad superficial) y el quitosano (sin actividad superficial) en distintas proporciones en soluciones acuosas y emulsiones aceite mineral en agua. Los resultados pueden ser explicados por la posible interacción de tipo electrostático entre los dos biopolímeros la cual es mayor en mezclas 10% GM-0.2% Q en soluciones acuosas y en 10% GM-0.6% Q en emulsiones (a la cual se le denominó formulación F1). Además, las emulsiones mostraron un comportamiento reológico muy complicado dependiendo del tiempo de estabilización que se les proporcionó entre el momento de colocadas al reómetro y el momento de la determinación reológica. Tiempos cortos de estabilización (5 min) resultaron en emulsiones que muestran un módulo de almacenamiento (G') altamente dependiente de la frecuencia y en donde dicho módulo es por lo general menor que el módulo de pérdida (G''). Tiempos largos de estabilización (30 min) resultaron en emulsiones cuyo módulo G' era independiente de la frecuencia y siempre fue mayor que el módulo G'' , independientemente de la proporción de la mezcla GM-Q. Las películas obtenidas del secado de estas emulsiones resultaron quebradizas y poco maleables posiblemente debido al bajo punto de fusión de la fase dispersa. Con esto en mente se modificó la naturaleza de la fase continua y fase dispersa de la emulsión F1 (0.6% Q-10% GM). La emulsión F2 se formó sustituyendo parcialmente la fase dispersa de F1 por una mezcla de aceite mineral con cera de candelilla (2:1), esta emulsión exhibió módulos G' mucho mayores que F1 en todo el intervalo de frecuencia. La película obtenida de la emulsión F2 fue más fácil de desprender y menos quebradiza que la F1. La emulsión F3 se formó incorporando a la fase continua de F1 glicerol (2% p), la cual exhibió el menor valor de G' . La modificación de tanto de la fase dispersa y fase continua de la emulsión F1, incorporando la mezcla de aceite mineral-cera de candelilla en la fase dispersa y glicerol en la fase continua, dio origen a la formulación F4. El efecto del plastificante fue reducir el valor del módulo G' por debajo del de F2 pero por arriba del de F1 en todo el intervalo de frecuencia, siendo estas películas más maleables. La formulación de las emulsiones tuvo un marcado efecto en la distribución y el tamaño de partícula. El tamaño promedio de partícula

de menor a mayor fue $F4 < F2 < F3 < F1$. Se determinó la permeabilidad al vapor de agua de las películas obtenidas de las emulsiones. La película menos permeable fue F2, seguida de F4, F3 y por último F1. Asimismo, se evaluó la difusión de agua en las emulsiones durante su secado isotérmico como medida indirecta de la difusión de oxígeno. Las emulsiones mostraron una difusión de menor a mayor en el siguiente orden $F3 < F2 < F4 < F1$. Finalmente, se comparó una emulsión formulada con pura GM como fase estructural contra F1, F2, F3 y F4, observando que la primera mostró contaminación microbiológica durante los siete días de almacenada y las últimas formulaciones inhibieron el crecimiento de algún microorganismo.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad los consumidores demandan alimentos naturales y derivados de apariencia natural y con un valor nutricional semejante al de los productos frescos, sin aditivos químicos, microbiológicamente seguros y de una elevada calidad y que, al mismo tiempo, estén listos para su consumo de forma inmediata. Por este motivo, en los últimos años se han llevado a cabo numerosos trabajos acerca del desarrollo y utilización de películas o recubrimientos comestibles para mejorar la conservación y calidad de diversos alimentos frescos, transformados o congelados.

Los recubrimientos comestibles o biodegradables pueden ser elaborados a partir de diferentes polímeros alimenticios. Son usados como cubiertas de alimentos o como parte de los componentes de un empaque sintético, presentando propiedades adecuadas como barreras al paso de la humedad, oxígeno (entre otros gases) y de contaminación externa (Krochta y col.,1994).

Estos materiales deben de cumplir con funciones tales como: ser comestible, biodegradable y proteger el alimento de las acciones físicas, químicas, microbiológicas y bioquímicas, conservando de este modo la calidad y sanidad del alimento. El empleo de recubrimientos con actividad antimicrobiana no solo puede extender la vida de anaquel de una gran variedad de alimentos, debido a que inhiben o limitan el crecimiento microbiano en la superficie, sino que al mismo tiempo ayudan a preservar las propiedades sensoriales y nutricionales de los mismos (Krochta y col., 1994).

Como materiales básicos en la composición de las películas y/o recubrimientos comestibles encontramos: polisacáridos (gomas, almidones, celulosas, etc.), lípidos (grasas animales o vegetales) y proteínas (colágeno, caseína, gluten de trigo, soya, etc.)(Díaz-Sobac y col., 2002). Actualmente la tendencia es emplearlos en las formulaciones de manera combinada e incorporando aditivos para mejorar las propiedades funcionales y estructurales de estas

películas. Es por ello que la formación de películas emulsificadas representa un campo de estudio de gran interés, debido al potencial de aplicación que ofrecen estos sistemas como vehículos protectores de los nutrientes en alimentos, como matriz de incorporación de aditivos, como controladores de liberación de fertilizantes, drogas, etc. (Garti y Reichman, 1993).

En nuestro país existe una gran variedad de materiales naturales (cera de candelilla, goma de mezquite, cera de abeja, etc.) que pueden ser utilizadas potencialmente en la formulación de películas emulsificadas, contribuyendo al desarrollo económico regional y a la preservación ecológica de las zonas áridas productoras de las plantas de donde se extraen algunos de estos compuestos.

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables. Sin embargo, para tener una emulsión estable y distribución de tamaño de gota bastante estrecha, se requiere de altas concentraciones de emulsificantes hidrofílicos y condiciones de homogenización vigorosa (Dickinson y Pawlowsky, 1996). El empleo de biopolímeros con actividad superficial además de ayudar a la formación de la emulsión, le proporcionan estabilidad. Los surfactantes estabilizan a la emulsión básicamente por dos efectos: uno, por medio de una barrera electrostática, generando un potencial de repulsión que evita la floculación de las gotas de la fase dispersa; y el segundo, por una barrera mecánica, que proporciona un carácter elástico adecuado, el cual evita la ruptura y coalescencia de las gotas de la emulsión.

Las proteínas y los polisacáridos son dos tipos de macromoléculas que juegan un papel muy importante en la estabilización de emulsiones aceite-agua (O/W). Ambos tipos de moléculas alimenticias contribuyen a la estructura, textura y estabilidad debido a sus propiedades espesantes y comportamiento gelante (Dickinson y Pawlowsky, 1996; Garti y Reichman, 1993). La presencia de interacciones de repulsión o atracción proteína-polisacárido en la interfase aceite-agua pueden influir profundamente en las propiedades de estabilización, razón por la cual es importante llevar a cabo estudios reológicos ya que

proporcionan información sensible sobre la naturaleza de las interacciones que ocurren entre las moléculas adsorbidas en la interfase de las emulsiones O/W.

La necesidad de prolongar la vida de anaquel de los alimentos, sin que estos pierdan sus propiedades nutricionales, sensoriales y de sanidad supone un importante desafío que hace pensar que las aplicaciones de las películas y recubrimientos comestibles emulsificados pueden verse ampliadas en gran medida. No obstante, la información referente a estos sistemas es escasa. Por ende, el objetivo del presente trabajo es caracterizar las propiedades reológicas de la mezcla de biopolímeros (goma de mesquite y quitosano) usados como matriz estructural en la formulación de recubrimientos emulsificados, y el efecto de la fase dispersa oleosa sobre las propiedades de barrera de agua y oxígeno de dichos recubrimientos.

II. ANTECEDENTES

2.1 Películas y recubrimientos: Definición y aplicación

Las películas o recubrimientos comestibles pueden cumplir muchos de los requisitos involucrados en la comercialización de alimentos entre los que destacan el valor nutricional, la sanidad, alta calidad, estabilidad y economía.

De acuerdo con Krochta y De Mulder-Johnston (1997), una película comestible se define como aquella capa delgada de material comestible formada sobre un alimento como un recubrimiento, o colocada (lo que implica que debe ser preformada) sobre o entre los componentes de los alimentos. Ambos sistemas ofrecen una barrera selectiva a la migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas, lípidos, etc.; además pueden servir como agentes acarreadores de otros ingredientes o aditivos (antioxidantes, saborizantes, antimicrobianos y colorantes) para mejorar el potencial de conservación y las características de manejo del alimento. En algunos casos las películas comestibles con buenas propiedades mecánicas pueden llegar a sustituir las películas de empaque sintéticas.

Las cubiertas comestibles pueden ser aplicadas directamente a la superficie del alimento como una barrera adicional de protección para mantener la calidad y estabilidad de un alimento. Para el caso de frutas y vegetales, los recubrimientos con polímeros comestibles y biodegradables ofrecen una alternativa de empaque sin causar daño al medio ambiente.

2.2 Materiales empleados en la elaboración de películas y recubrimientos comestibles

Las películas o recubrimientos comestibles pueden elaborarse a partir de polisacáridos, proteínas y/o lípidos. La selección de dichos materiales estará en función de las características del alimento al cual se desee aplicar.

2.2.1 Polisacáridos

Generalmente, los recubrimientos formados con polisacáridos exhiben una elevada permeabilidad al vapor de agua, debido a su naturaleza hidrofílica. Los polisacáridos solubles en agua son polímeros de cadena larga en forma lineal o ramificada que poseen unidades glucosídicas que, como media, poseen tres grupos hidroxilos, por lo que forman puentes de hidrógeno con el agua, y por lo tanto, las partículas de polisacáridos pueden tomar las moléculas del agua, hincharse con ellas y solubilizarse total o parcialmente dando un carácter espesante y/o gelificante a la fase acuosa (Fennema, 1982; Baldwin y col., 1995).

Los recubrimientos y películas comestibles elaboradas a base de polisacáridos como compuestos estructurales, se han aplicado con éxito para prolongar la vida de anaquel de frutas, hortalizas, productos marinos o de carne reduciendo su deshidratación, para reducir los niveles internos de O_2 y elevar los de CO_2 , y evitar la rancidez oxidativa y obscurecimiento superficial, a pesar de que la mayoría de ellos no evitan por completo la pérdida de humedad (Nisperos-Carriedo, 1994).

2.2.2 Proteínas

Las películas o recubrimientos elaborados con proteínas también presentan gran permeabilidad al vapor de agua, 2 ó 4 veces más que los empaques plásticos, son buenas formadoras de películas y se adhieren a las superficies hidrofílicas (Rendell-Dunn, 1990). Sin embargo, se puede aumentar la resistencia a la transmisión de vapor de agua mediante la combinación de proteínas con materiales hidrofóbicos, estas películas compuestas ofrecen una mayor expectativa de aplicación (Gennadios y col., 1994). Las principales proteínas que pueden ser empleadas en la elaboración de películas compuestas comestibles son: colágeno, gelatina, proteínas de la leche, proteínas derivadas de los cereales, proteínas oleosas entre otras.

2.2.3 Lípidos y resinas

Generalmente las películas y recubrimientos elaborados a partir de ceras han mostrado ser más resistentes al transporte de la humedad que otras películas elaboradas con otros lípidos o resinas. Materiales hidrofóbicos como ceras y ésteres de ácidos grasos han sido aplicados como recubrimientos, observando que presentan excelentes barreras que limitan la transferencia de vapor de agua, no obstante, no poseen la capacidad de formar películas con estabilidad y maleabilidad adecuadas para su manejo (Kamper y Fennema, 1985; Baldwin y col., 1997).

Entre los materiales lipídicos que se han empleado para la elaboración de formulaciones destinadas a productos ligeramente procesados, se encuentran la cera de abejas, monoglicéridos acetilados, ácido esteárico, ácido láurico y ésteres de ácidos grasos-sacarosa (Wong y col., 1994).

2.2.4 Otros ingredientes

Ciertos componentes son requeridos en la formulación de recubrimientos basados en polisacáridos y proteínas para modificar las propiedades mecánicas; a estos compuestos se les clasifica como plastificantes (Baldwin y col., 1997).

Los compuestos lipofílicos se usan frecuentemente para ambos propósitos, e incluso pueden utilizarse como el principal ingrediente formador de la película. Los plastificantes son sustancias de bajo peso molecular que son incorporadas dentro de la matriz polimérica (proteína o polisacárido) para incrementar la flexibilidad de la cubierta, mejorando la dureza y funcionamiento disminuyendo la formación de escamas y grietas. A nivel molecular, estos compuestos incrementan la fracción volumen o movilidad molecular de polímeros debilitan las fuerzas intermoleculares entre las cadenas adyacentes del polímero, disminuyendo la fuerza tensil e incrementando simultáneamente la flexibilidad de la película (Sothornvit, y Krotcha, 2000). Los plastificantes lipídicos más comúnmente

empleados incluyen aceites, lecitina, ceras, ácidos grasos y derivados (Greener y Fennema, 1994).

Se han reportado varios estudios sobre el uso del glicerol como plastificante en la formulación de películas comestibles. McHugh y Krochta (1994) determinaron el efecto del tipo de plastificante utilizado (glicerol, polietilenglicol y sorbitol), sobre la permeabilidad al vapor de agua (WVP, por sus siglas en inglés) en películas de proteína, encontrando que las películas con sorbitol exhibieron baja WVP comparada con las películas formadas con glicerol, seguidas de las de polietilenglicol y que además, la permeabilidad depende de la concentración utilizada. En este mismo año McHugh y col. (1994), reportaron que la permeabilidad de oxígeno causada por el incremento en la concentración del glicerol fue más grande que para el caso de sorbitol; además, al incrementar la concentración de ambos plastificantes resulta en un decremento significativo de la fuerza tensil e incremento a la elongación de las películas, concluyendo que el sorbitol presentó mejores propiedades de permeabilidad al oxígeno que el glicerol, pero igual fuerza tensil y de elongación.

Siew y col. (1999) observaron el efecto del plastificante en la capacidad de formar puentes de hidrógeno y la longitud de la cadena sobre la estructura molecular del caseinato de sodio, encontrando que el glicerol y el polietilenglicol forman películas con excelentes propiedades tensiles; sin embargo, el efecto del glicerol en la permeabilidad de las películas fue pequeño, considerando que esto se debía a la diferencia en el tamaño del plastificante usado y la fuerza de los enlaces de hidrógeno que controlan las interacciones proteína-plastificante y proteína-proteína en las películas formadas.

Cualquiera que sea el propósito del aditivo, es importante considerar que siempre existe la posibilidad de que puede alterar adversamente las propiedades de resistencia al vapor de agua, gases o transporte de solutos.

2.3 Películas emulsificadas

La formación de películas o recubrimientos compuestos combina las ventajas estructurales que confieren los hidrocoloides y las propiedades de barrera al vapor de agua de los lípidos, minimizando así las desventajas de cada uno de los componentes. Los sistemas emulsificados representan una herramienta importante en la elaboración de películas a la medida de las necesidades del alimento por recubrir; al favorecer la formación de estructuras constituidas por diversos tipos de sustancias en diferentes proporciones; permiten mejorar las propiedades de intercambio gaseoso, flexibilidad, adherencia y permeabilidad al vapor de agua.

Las películas compuestas generalmente se formulan como emulsiones que se aplican en forma fluida a los alimentos que protegen y se secan “in-situ” para formar recubrimientos sólidos alrededor de los alimentos. Alternativamente existen películas comestibles que se comercializan ya formadas y se emplean como fundas en la elaboración de productos pasteurizados y/o crudos. En este trabajo no haremos distinción entre ambos términos y nos referiremos a ambos como películas comestibles.

Debido que las películas emulsificadas involucran una fase dispersa lipofílica (constituida por grasas, ceras, agentes tensoactivos de carácter lipofílico o mezclas de ellos) es conveniente utilizar como material estructural un compuesto hidrofílico con actividad superficial adecuado para formar una emulsión del tipo aceite en agua estable. De allí que se utilice como agente estructural a proteínas y/o polisacáridos (suero de leche, goma de mezquite, goma arábiga, quitosano, alginatos modificados, almidones modificados, carrageninas modificadas, ceína y/o combinaciones de los anteriores). En estas películas, la transferencia de masa se da a través de la matriz estructural, la cual constituye la fase continua de la emulsión y las propiedades de barrera están determinadas por el camino a recorrer por las moléculas de gases o vapor de agua, a través de las partículas hidrofóbicas dispersas en forma homogénea.

2.4 Emulsiones

Una emulsión es una dispersión de por lo menos dos fases líquidas inmiscibles (usualmente agua y aceite), una de las cuales es la fase continua mientras que la otra es la fase dispersa. Los diámetros de las gotas de la fase dispersa están en el intervalo de 0.1 a 100 μm (McClements, 1999). Las emulsiones pueden clasificarse de acuerdo a la distribución de las fases acuosa y oleosa; si la fase dispersa es la acuosa el sistema es conocido como emulsión agua en aceite (W/O), si el sistema consiste en la dispersión de gotas de aceite en una fase acuosa se conoce como emulsión aceite en agua (O/W).

2.4.1 Partes que constituyen una emulsión

Una emulsión está constituida por tres regiones, las cuales presentan propiedades fisicoquímicas diferentes: la fase dispersa, la fase continua y la interfase. Todas las moléculas o ingredientes de la emulsión se distribuyen según 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 anfifílicas se localizan en la interfase.

Las moléculas en una emulsión tienden a moverse de una región a otra, alterando de esta forma las condiciones físicas y químicas de la misma. Este movimiento, así como la concentración e interacciones de sus constituyentes tienen una influencia significativa en las propiedades fisicoquímicas, textura y aplicación de estos sistemas dispersos. (McClements, 1999)

2.4.2 Mecanismos de inestabilidad en emulsiones

Algunos mecanismos fisicoquímicos responsables de las alteraciones en las propiedades de una emulsión se esquematizan en la Figura 2.1.

- q 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.
- q 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, la colisión de dos o más gotas forma una sola.
- q Inversión de fases es el proceso mediante el cual una emulsión agua en aceite se convierte en una emulsión aceite en agua, o viceversa.

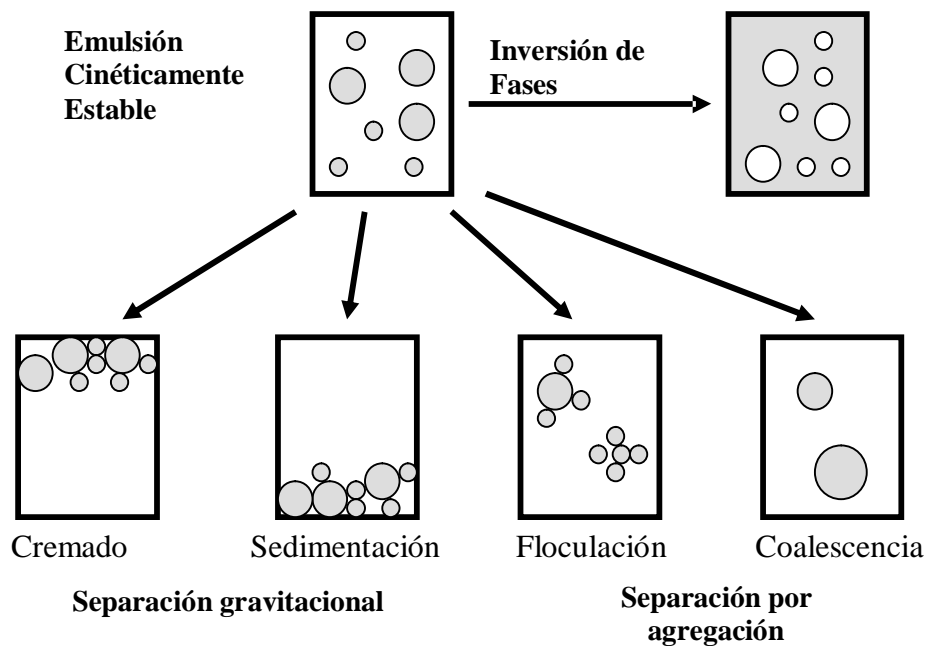


Figura 2.1. Mecanismos físicos de inestabilidad de una emulsión. (McClements, 1999)

2.5 Estabilidad de emulsiones

Una emulsión estable es una que no muestra un cambio discernible en la distribución de tamaño de gotas, o en su estado de agregación, o en su arreglo espacial en el recipiente, en una escala de tiempo de observación.

Las emulsiones aceite-agua son coloides en donde el mecanismo principal de estabilidad puede ocurrir en el seno de la fase acuosa o en la superficie de las gotas, dependiendo de la naturaleza química de los ingredientes particulares involucrados. Los hidrocoloides alimenticios actúan confiriendo estabilidad a las dispersiones y emulsiones a través de su acción interfacial. Los hidrocoloides son biopolímeros de alto peso molecular y se emplean para controlar la microestructura, textura, sabor y vida de anaquel de alimentos. En emulsiones es necesario distinguir entre agente emulsificante y estabilizante (Fennema, 1982).

2.5.1 Agente emulsificante

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables debido a que el contacto entre las moléculas de agua y aceite no es favorable energéticamente, sin embargo, es posible formar emulsiones que son *cinéticamente estables (metaestables)* por un periodo razonable de tiempo (algunos días, semanas, meses, o años) mediante la incorporación de sustancias conocidas como *agentes emulsificantes y/o estabilizantes*.

Los emulsificantes son moléculas superficialmente activas que se adsorben en la superficie de las gotas, formando una membrana protectora que retarda la aproximación de las gotas y su agregación, fomenta la formación de la emulsión y estabilización a corto plazo por acción interfacial. Existen dos grandes grupos de emulsificantes:

- Surfactantes de bajo peso molecular: lecitina, ésteres de sacarosa, polisorbatos, monoglicéridos.

- Emulsificantes macromoleculares: proteínas de huevo y leche.

Los surfactantes de bajo peso molecular son moléculas anfifílicas, es decir, presentan una parte polar con comportamiento hidrofílico (afinidad por la fase acuosa) y una parte no polar con comportamiento lipofílico (afinidad por la fase oleosa) .

2.5.2 Agente estabilizante

Un agente estabilizante es un compuesto químico (o mezcla) que confiere estabilidad a la emulsión a largo plazo, posiblemente por un mecanismo de adsorción, pero no necesariamente. Los estabilizantes son generalmente biopolímeros (proteínas y *polisacáridos*).

El mecanismo por el que estabilizan los polisacáridos es vía modificación de las propiedades reológicas del medio de dispersión (viscosidad o gelación de la fase acuosa continua) (Dickinson, 2003); mientras que en el caso de las proteínas, la estabilización se debe a que tienen una fuerte tendencia a adsorberse en las interfases aceite-agua y formando capas estabilizadoras alrededor de las gotas de aceite, de tal manera que actúan como emulsificantes y estabilizantes.

2.5.3 Factores principales que afectan la estabilidad de emulsiones aceite-agua

Los factores que influyen en la estabilidad son:

- *Distribución y tamaño de las gotas*. Determinada por el tipo y tiempo de homogenización, concentración de emulsificante, tipo de emulsificante, relación aceite/agua y otros factores (pH, viscosidad, temperatura).

- *Naturaleza de la capa interfacial adsorbida.* Determinada por: concentración y tipo de emulsificante, interacción entre especies adsorbidas y competencia entre especies adsorbidas.
- *Naturaleza de la fase continua.* Determinada por sus propiedades reológicas, calidad del solvente, polímeros y compuestos anfifílicos no adsorbidos.
- *Naturaleza de la fase oleosa dispersa.* Depende del contenido de sólidos/líquido y solubilidad en la fase continua.

2.6 Biopolímeros como agente estabilizantes y/o emulsificantes

Para que un biopolímero sea un buen agente emulsificante debe ser ***superficialmente activo***; es decir, debe tener un carácter anfifílico que permita que las moléculas se adhieran y distribuyan en la interfase aceite-agua protegiendo a las gotas recién formadas. Deben tener la capacidad de disminuir la tensión en la interfase, de manera sustancial y rápida cuando se usa en concentraciones típicas durante la emulsificación. Por lo tanto, un agente emulsificante ideal, capaz de formar gotas pequeñas, está compuesto por especies de baja masa molecular con buena solubilidad en la fase continua acuosa (Dickinson, 1993).

En sistemas dispersos, una vez que se han obtenido gotas pequeñas exitosamente, las condiciones de actividad superficial o los gradientes de tensión interfacial ya no son relevantes. Lo importante en la estabilidad a largo plazo es que dadas las características moleculares del biopolímero adsorbido, se produce una barrera macromolecular robusta en la interfase, evitando que las gotas se agreguen o coalescan por estabilización estérica o electrostática.

Para que un biopolímero sea más efectivo en la estabilización de partículas dispersas o gotas de una emulsión, éste debe exhibir las siguientes cuatro características:

- q Fuerte adsorción, para lograr buen anclaje en la interfase.
- q Cobertura superficial completa. Suficiente polímero para saturar la superficie.
- q Formación de una capa estabilizante estérica gruesa. Polímero predominantemente hidrofílico y alto peso molecular (10^4 - 10^6 Da) en un medio acuoso con buenas propiedades de solvente.
- q Formación de una capa estabilizante cargada. Grupos cargados en el polímero contribuyendo a la interacción repulsiva neta entre la superficie de partículas, y en particular a bajas fuerzas iónicas.

2.6.1 Goma de mezquite

Varios hidrocoloides naturales pueden emplearse exitosamente como emulsificantes. El caso más notable es el de la goma arábica que es ampliamente utilizada en la emulsificación de aceites esenciales. Sin embargo, la goma de mezquite es un biopolímero originario de México, que tiene una estructura química similar a la goma arábica (2% de proteína), pero con un mayor contenido de fracción proteica (5.8%).

La goma de mezquite es el exudado en forma de lágrima de color ámbar producida por árboles de *Prosopis spp.* Ha sido reportada como un buen agente emulsificante, como un eficiente microencapsulante de aceites esenciales y de oleorresinas utilizadas como colorantes naturales, entre otras aplicaciones (Beristain y Vernon-Carter, 1994; Vernon-Carter y col., 2000; Beristain y col., 2001).

Se ha reportado que 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) conteniendo L-arabinosa (formas cíclicas de piranosa y furanosa), L-ramnosa, β -D-glucuronato y 4-o-metil- β -D-glucuronato como

azúcares simples o cadenas laterales de oligosacáridos. También contiene una pequeña cantidad de proteína (0.7-5.8%) ubicada en la parte central de la estructura primaria completa, siendo químicamente muy similar a la goma arábiga (Goycoolea y col., 1997 y Vernon-Carter y col., 2000). Orozco-Villafuerte y col. (2003) caracterizaron química y físicamente la goma de mezquite perteneciente a la *Prosopis laevigata* (Cuadro 1).

La goma de mezquite es una mezcla compleja constituida por cinco fracciones: la fracción 1 representa más del 85% del total de la goma, sin embargo se encontró que es particularmente baja en proteína (3.7% del total de proteína); las fracciones 2 y 3 contribuyen con aproximadamente el 11% del total de la goma y contienen aproximadamente el 25% del total proteico, mientras que las fracciones 4 y 5 contribuyen con aproximadamente el 72% del total proteico a pesar de constituir solamente el 3.7% del total de la goma. Pudiendo ser las fracciones 2 y 3 las responsables de las propiedades emulsificantes de la goma de mezquite, por el mayor contenido de proteína.

Cuadro 1. Composición de la Goma de mezquite (*Prosopis laevigata*) (Orozco-Villafuerte y col., 2003)

Componentes	
Humedad	10.6 ± 0.5%
Cenizas (550 °C)	2.2 ± 0.1%
Rotación específica	+ 77°
Nitrógeno (Kjeldahl)	0.4 ± 0.07
Proteína (Nx 6.25)	2.7 ± 0.06
Azúcares Totales	87.3 ± 6.3
Composición de azúcares después de Hidrólisis	
Ácido glucurónico	16.2 ± 1.3
Galactosa	43.3 ± 1.4
Arabinosa	40.4 ± 2.04
Ramnosa	1.3 ± 0.2

Las propiedades especiales para formar películas y actuar como agente emulsificante surge de la presencia de esta fracción proteíca. Se cree que los residuos hidrófobos de los aminoácidos se adsorben en la interfase aceite-agua y que los bloques de los carbohidratos hidrofílicos se extienden dentro de la solución acuosa, como se ilustra en la Figura 2.2., previniendo la floculación y coalescencia de las gotas a través de fuerzas de repulsión estérica (Garti y Reichman, 1993).

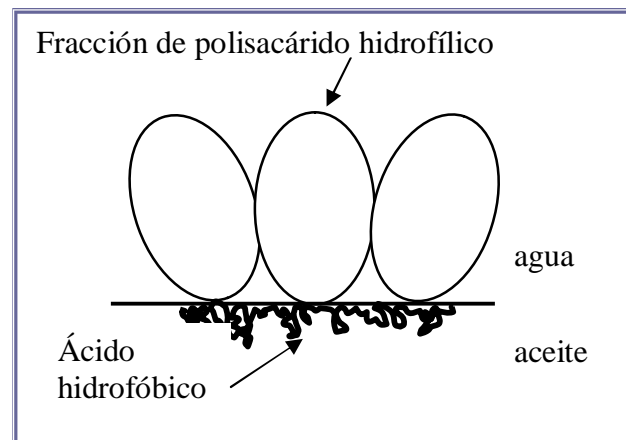


Figura 2.2. Arreglo estructural de la goma arábica durante el proceso de emulsificación (Garti y Reichman, 1993)

2.6.2 Quitosano

La mayoría de los polisacáridos poseen baja actividad superficial o en ocasiones carecen de ella pero se emplean ampliamente como agentes espesantes, retenedores de agua y 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 actúa como 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. Este compuesto es la forma N desacetilada de la quitina de la que se obtiene tras sustituir los grupos acetamido por grupos amino, es un polisacárido catiónico de alto peso molecular, químicamente está constituido de unidades de glucosamina

parcialmente desacetilado (2 amino-2 deoxy-D-glucosa), biodegradable y no tóxico, soluble en soluciones ácidas diluidas y cargado positivamente (Figura 2.3). Forma parte de la pared corporal de los crustáceos principalmente. Se biodegrada en el hombre por la acción de la lisozima.

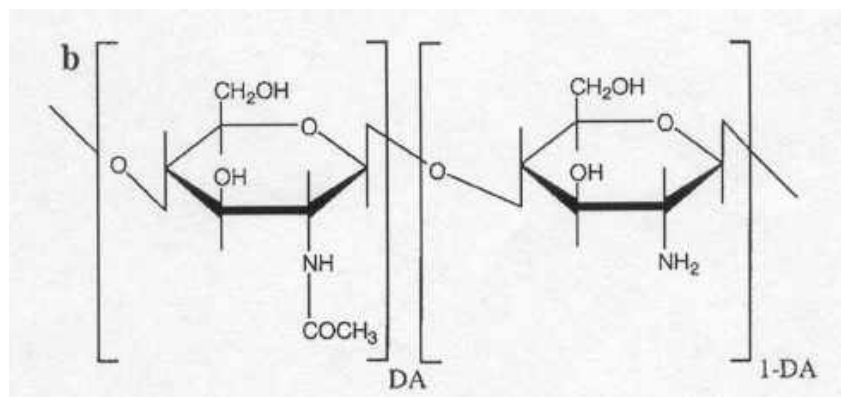


Figura 2.3. Estructura química del quitosano, donde DA es el grado de acetilación (Shahidi, 1999).

El quitosano es el segundo polisacárido más abundante después de la celulosa, posee propiedades funguicidas, bactericidas y nematocidas y actúa como cubierta protectora retardando la maduración de los frutos mediante la modificación de su atmósfera interna y por lo tanto limitando el desarrollo de los patógenos (El Ghaouth y col., 1991; Shahidi y col., 1999).

Las películas con quitosano son resistentes, duraderas y flexibles con propiedades mecánicas similares a polímeros comerciales de fuerzas medias. Se emplean junto con otros elementos en recubrimientos para frutas retrasando el envejecimiento, disminuyendo la oxidación las pérdidas por transpiración y protegiendo frente al ataque de hongos. Su acción como protector de alimentos frente a microorganismos (concentraciones del 0,02% protegen frente a *E. Coli*) como, bacterias, levaduras y hongos, es interesante para la obtención de alimentos escasamente procesados y para retrasar la aparición de sabores desagradables en la carne.

2.7 Interacción de hidrocoloides con proteínas

2.7.1 Interacción en la fase acuosa

La naturaleza y fuerza de la interacción proteína-polisacárido en el seno de la solución y en la interfase tiene una importante influencia en las propiedades de estabilización de alimentos dispersados y emulsiones (Dickinson, 1993).

En la fase acuosa, la mezcla proteína-hidrocoloide puede exhibir una de las tres diferentes situaciones de equilibrio: (a) miscibilidad, (b) incompatibilidad termodinámica y, (c) coacervación compleja (o acomplejación). Ocurre miscibilidad comúnmente a bajas concentraciones de biopolímero y tanto la incompatibilidad como la coacervación a altas concentraciones, dependiendo si la interacción proteína-hidrocoloide es netamente repulsiva o netamente atractiva, respectivamente (Albertsson, 1971).

La incompatibilidad termodinámica implica la separación de dos fases acuosas distintas dentro de la misma fase, una rica en proteína y la otra rica en hidrocoloide. En la coacervación compleja una fase es rica en los dos biopolímeros y la otra fase es baja en ambos. Estrictamente hablando, la coacervación compleja representa la mitad de una base de una fase separada (líquida) de mezcla de biopolímero que está fuertemente hidratada y osmóticamente “hinchada” por la retención de microiones (Grinberg y Tolstoguzov, 1997).

La extensión para la cual un biopolímero es involucrado en interacciones Coulombicas depende de que tan lejos o elevado esté del punto isoelectrico (pI) diferente de la solución pH. Muchas proteínas ($pI_p=5$), forman coacervantes complejos con hidrocoloides aniónicos ($pI_h=3$) en la región intermedia de pH donde las dos macromoléculas llevan carga neta opuesta ($pI_p < pH < pI_h$). La fuerza de complejación entre proteínas y polisacáridos depende de la distribución de los grupos ionizables sobre la superficie de la proteína, de la facilidad de desdoblamiento de la estructura de las proteínas, y la flexibilidad de la cadena principal y distribución de carga en el polisacárido (Ledward, 1994).

Cuando ambos biopolímeros llevan una carga negativa, complejos solubles pueden ser producidos. En este caso, una interacción electrostática involucra la interacción del polielectrolito aniónico con las cargas positivas de la proteína (Park y col., 1992). El incremento de la carga neta en la proteína tiene dos efectos:

- a) Aumentar la repulsión electrostática proteína-proteína
- b) Reducir la atracción proteína-hidrocoloide por apantallamiento o encubrimiento de interacciones de grupos cargados positivamente

2.7.2 Interacción de hidrocoloides con capas de proteína adsorbidas

Algunos hidrocoloides poseen funcionalidad interfacial en emulsiones, pero no todos pueden adsorberse directamente en la interfase aceite-agua durante la emulsificación. Sin embargo, después de la formación de la emulsión la estabilizan por las interacciones de otras moléculas con la capa de proteína es frecuente.

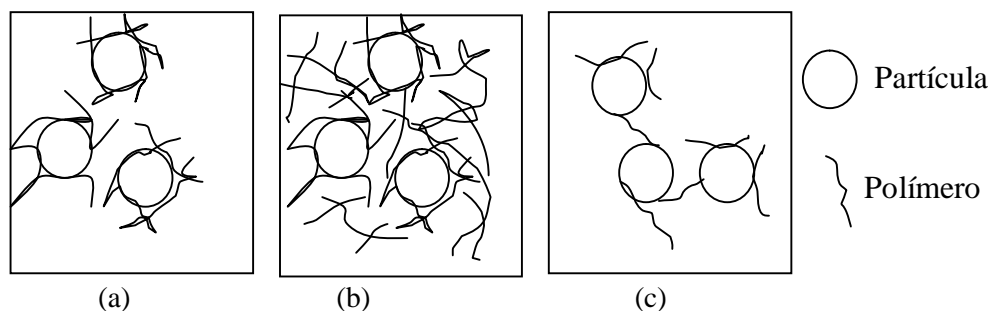


Figura 2.4. representación esquemática de tres efectos alternativos de la adsorción de polímeros de hidrocoloide rígidos en la superficie de las gotas de la emulsión dependiendo de la concentración de hidrocoloide y la naturaleza de la interacción hidrocoloide-proteína: (a) un sistema estabilizado estéricamente, (b) una emulsión gel y, (c) un sistema floculado por puenteo macromolecular (Dickinson, 2003).

La Figura 2.4 muestra las interacciones atractivas entre proteína adsorbida e hidrocoloides presentes con concentraciones suficientemente altas producen típicamente una segunda capa alrededor de las gotas de la emulsión por medio de estabilidad estérica. Un exceso de la concentración de hidrocoloide causa gelación en la fase acuosa, las gotas pueden llegar a ser inmovilizadas por la red del polímero gel e incrementar la estabilidad (una emulsión

gel). Consecuentemente las gotas de la emulsión pueden llegar a desestabilizarse por floculación, si la asociación proteína–coloide es débil, o si el hidrocoloide no está presente en concentraciones convenientes para saturar toda la superficie de la gota. El puenteo de floculación de las gotas de la emulsión puede también ser inducido por adhesión de cargas opuestas de las partículas del coloide (Dickinson, 2003).

2.8 Reología de emulsiones

Muchas emulsiones de alimentos no son líquidos ideales o sólidos ideales, pero tienen propiedades reológicas que son en parte viscosas y en parte elásticas. Un material viscoelástico exhibe comportamientos viscosos y elásticos simultáneamente. En un sólido elástico ideal, toda la energía mecánica aplicada al material es almacenada en la deformación y es retornada a energía mecánica cuando la fuerza es removida. Por otro lado, en un líquido ideal toda la energía mecánica aplicada al material es disipada debido a la fricción (la energía mecánica es convertida en calor). En un material viscoelástico, parte de la energía es almacenada como energía mecánica dentro del material, y parte de la energía es disipada. Las propiedades reológicas de materiales viscoelásticos son caracterizados por un módulo elástico complejo (E^*) el cual está constituido de una contribución elástica y una viscosa:

$$E^* = E' + iE'' \quad (\text{Ec.2.1})$$

donde, E' es conocida como el módulo de almacenaje y E'' como módulo de pérdida.

Existen dos tipos de pruebas experimentales comúnmente usadas en la caracterización de las propiedades reológicas de materiales viscoelásticos: una basada en movimientos estacionarios y la otra en mediciones dinámicas (Macosko, 1994).

2.8.1 Pruebas dinámicas

El comportamiento viscoelástico de fluidos puede ser determinado por pruebas dinámicas donde las muestras se someten a movimientos oscilatorios. En este caso, se aplica un esfuerzo sinusoidal a un material y la respuesta de la medición es una deformación sinusoidal o viceversa. Esta involucra la aplicación de una deformación relativa de cizalla sinusoidal al material, la cual puede representarse por una función seno o una función coseno (Rao, 1999).

Deformación relativa de cizalla

$$\dot{\gamma} = \gamma(\omega) = \gamma_o \cos \omega t \quad (\text{Ec. 2.2})$$

Esfuerzo de cizalla

$$\sigma = \sigma_o \cos(\omega t + \delta) \quad (\text{Ec. 2.3})$$

desarrollando el coseno en la ecuación (2.3) por relaciones trigonométricas

$$\sigma = \sigma_o (\cos \delta \cos \omega t - \text{sen} \delta \text{sen} \omega t) \quad (\text{Ec. 2.4})$$

$$\sigma = \sigma_o \cos \delta \cos \omega t - \sigma_o \text{sen} \delta \text{sen} \omega t \quad (\text{Ec. 2.5})$$

Dividiendo entre la amplitud de la onda de deformación relativa, γ_o

$$\frac{\sigma}{\gamma_o} = \left[\frac{\sigma_o \cos \delta}{\gamma_o} \right] \cos \omega t - \left[\frac{\sigma_o \text{sen} \delta}{\gamma_o} \right] \text{sen} \omega t \quad (\text{Ec. 2.7})$$

de donde

$$G' = \frac{\sigma_o}{\gamma_o} \cos \delta \quad (\text{Ec. 2.8})$$

representa el cociente de la amplitud del esfuerzo en fase con la deformación relativa y la amplitud de la deformación relativa, llamado módulo de almacenamiento, y

$$G'' = \frac{\sigma_o}{\gamma_o} \text{sen}\delta \quad (\text{Ec. 2.9})$$

Representa el cociente de la amplitud del esfuerzo fuera de fase con la deformación relativa y la amplitud de la deformación relativa, llamado módulo de pérdida.

El módulo de almacenamiento (G') expresa la magnitud de la energía que esta almacenada en el material por ciclo de deformación. Mientras que el módulo de pérdida (G'') es una medida de la energía que es pérdida como disipación viscosa por ciclo de deformación. Entonces, para un sólido elástico perfecto, toda la energía es almacenada; esto es, G'' es cero y la deformación y esfuerzo estarán en fase. En contraste, para un líquido sin propiedades elásticas, toda la energía es disipada como calor, esto es que G' es cero y el esfuerzo o deformación estarán fuera de fase por 90° (Figura 2.5).

Para un alimento específico, la magnitud de G' y G'' está influenciada por la frecuencia, temperatura, y deformación. Un barrido de esfuerzo o deformación es usado para determinar los límites del comportamiento viscoelástico lineal; en esta región las propiedades reológicas no dependen de la deformación o esfuerzo aplicado. La Figura 2.6 muestra la el módulo de almacenamiento y el módulo de pérdida contra el esfuerzo o deformación.

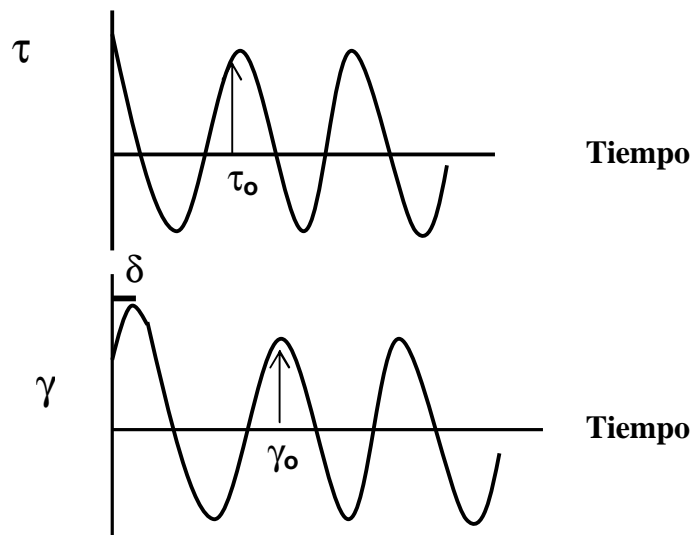


Figura 2.5. Representación del principio de aplicación de un esfuerzo o deformación sinusoidal (Rao, 1999).

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.

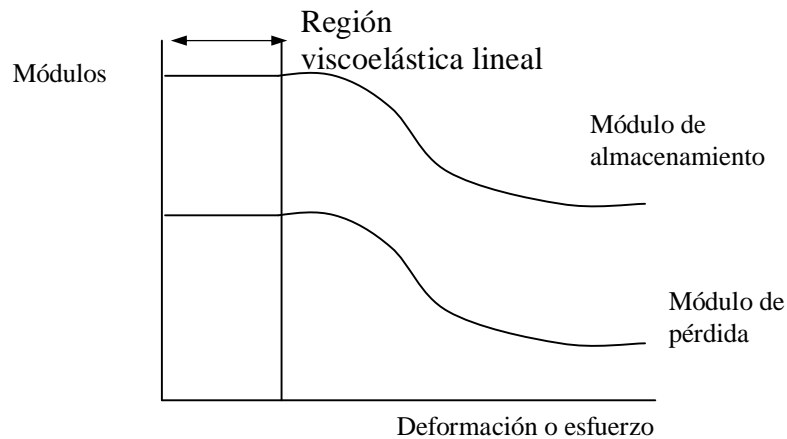


Figura 2.6. Respuesta típica de un barrido de deformación mostrando la región viscoelástica lineal (Steffe, 1992).

2.9 Permeabilidad

La permeabilidad se define como la resistencia al flujo de un penetrante o permeante a través de un recubrimiento impulsada por un gradiente de presión o concentración entre dos superficies específicas (Greener y Fennema, 1994; McHugh y Krochta, 1994a). Esta propiedad funcional es de vital importancia en la evaluación de un recubrimiento. Se ha utilizado una combinación de la primera Ley de Fick de difusión y la Ley de Henry de solubilidad para expresar la permeabilidad en estado estacionario de un gas a través de una barrera no porosa o con imperfecciones no significativas.

La primera Ley de Fick, es comúnmente usada para describir la permeabilidad de vapor de agua y otros permeantes a través de una película. La ecuación para evaluar la difusión es la siguiente:

$$J_{AZ} = -D_{AB} \frac{dC_A}{dz} \quad (\text{Ec. 2.10})$$

donde:

J_{AZ} es el flujo molar del componente A en la dirección z causado por la difusión molecular, D_{AB} es la difusión molecular de A a B en m^2/s a través del recubrimiento, C_A es la concentración de A en $\text{mol kg}/\text{m}^3$ y z es la distancia de la difusión (espesor de la película).

En caso de la transferencia de masa en estado estacionario, con coeficiente de difusión constante se deriva la siguiente expresión:

$$N_{AZ} = D_{AB} \frac{(C_{A1} - C_{A2})}{z} \quad (\text{Ec.2.11})$$

donde:

N_{AZ} describe el estado constante de la velocidad de transmisión del permeante, por unidad de área en la película, $C_{A1}-C_{A2}$ son las concentraciones del gas que difunde, en la superficie de la película.

La permeabilidad de gases y vapor de agua usualmente se compara calculando la permeabilidad (P_{AB}). La permeabilidad es igual al producto de la solubilidad y difusión del permeante en la película. Al aplicar la Ley de Henry, la concentración del permeante se puede expresar como el producto del coeficiente de solubilidad (S) y las presiones parciales (P_A), suponiendo que hay un equilibrio entre la superficie de la película y la atmósfera que lo rodea. Combinando la primera Ley de Fick y la Ley de Henry se obtiene la siguiente ecuación, aplicada para calcular las permeabilidades en un recubrimiento:

$$N_{AZ} = D_{AB} (S_{AB} P_{A1} - S_{AB} P_{A2}) / z \quad (\text{Ec. 2.12})$$

$$N_{AZ} = P_{AB} (P_{A1} - P_{A2}) / z \quad (\text{Ec. 2.13})$$

La permeabilidad al vapor de agua de una película comestible es muy compleja, ya que las consecuencias de la adsorción de vapor de agua en la matriz son la plastificación y la aglomeración, por lo tanto, existe una gran dependencia de las condiciones de humedad relativa a las que es sometido. Normalmente la permeabilidad al vapor de agua ocurre cuando un gas entra en contacto con un biopolímero y depende del grado de hidratación del recubrimiento o película.

La permeabilidad se ve afectada por factores tales como:

- Polaridad de los componentes
- Naturaleza estructural del biopolímero
- Naturaleza del penetrante
- Homogeneidad en la dispersión del material en el recubrimiento.

El espesor de la película también es un factor importante que afecta los valores de permeabilidad. La transferencia de vapor de agua en un recubrimiento emulsificado disminuye al incrementar la hidrofobicidad, ya que el paso de vapor de agua ocurre preferentemente a través de la matriz hidrofílica.

III. JUSTIFICACIÓN

La goma de mezquite (GM) tiene gran potencial en la industria alimenticia debido a que posee excelentes propiedades emulsificantes y formadoras de películas. Sin embargo, debido a que poseen un alto contenido de polisacáridos las películas formadas con GM requieren de la adición de conservadores, que muchas veces conlleva al rechazo por parte del consumidor, el cual demanda el consumo de productos “naturales”. Por otro lado el quitosano (Q) se ha empleado en la elaboración de películas con buena actividad antimicrobiana. Sin embargo, el uso de películas de quitosano está limitado debido a que son altamente hidrofílicas, no poseen la capacidad de emulsificar lípidos por carecer de grupos hidrofóbicos.

Por tal motivo en este trabajo se busca utilizar estos componentes (GM y Q) para explorar y estudiar si es posible formular una película emulsificada con potencial de aplicarse para conservar frutos frescos, aprovechando las propiedades de la goma de mezquite para emulsificar (actividad superficial) y las propiedades antimicrobianas del quitosano. Además que el uso de recubrimientos biodegradables ofrece no sólo ventajas al medio ambiente, sino también económicas y de uso en comparación con los sistemas sintéticos convencionales.

IV. HIPÓTESIS

La mezcla de biopolímeros GM - Q genera capas adsorbidas en la interfase de emulsiones O/W cuya estructura dependerá de la naturaleza, concentración y conformación de dichas moléculas. El arreglo estructural de estas membranas está íntimamente ligado a sus propiedades viscoelásticas (G' y G''), y a las propiedades funcionales de los recubrimientos formados a partir de las emulsiones.

V. OBJETIVOS

5.1 *Objetivo general*

Caracterizar las propiedades reológicas de la mezcla goma de mezquite (biopolímero con actividad superficial) y quitosano (biopolímero sin actividad superficial) en soluciones acuosas y en emulsiones aceite-en-agua (O/W) y establecer su relación con las propiedades de barrera de los recubrimientos obtenidos a partir de las emulsiones.

5.2 *Objetivos particulares*

- ∅ Determinar el efecto de la concentración relativa de GM y Q en las propiedades viscoelásticas en soluciones acuosas y emulsiones aceite mineral-en-agua.
- ∅ Determinar el efecto de la composición de la fase dispersa en emulsiones O/W en las propiedades reológicas (viscoelásticas y curvas de flujo) y de estabilidad (distribución y tamaño de partícula).
- ∅ Determinar el efecto de la adición de plastificante en la fase continua de emulsiones O/W en las propiedades reológicas y de estabilidad.
- ∅ Determinar la permeabilidad al vapor de agua y difusividad efectiva (como medida indirecta a la difusión de oxígeno) de los recubrimientos obtenidos de las distintas emulsiones O/W.

VI. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

6.1 Material

6.1.1 Material estructural

Goma de Mezquite (*Prosopis laevigata*). Se recolectó manualmente en forma de lágrimas en el estado de San Luis Potosí, México. Se purificó siguiendo el método reportado por Vernon-Carter y col. (1996).

Quitosano de peso molecular medio (2-Amino-2-deoxy-(1-4)- β -D-glucopiranosas)(85% de acetilado) (Fluka Chemie GMBH; Alemania). Este compuesto es soluble en soluciones diluidas de ácidos orgánicos.

6.1.2 Hidrofóbicos

Cera de candelilla, proveniente del estado de Coahuila (Ceras Desérticas S.A. de C. V.)

Aceite mineral (Hycel de México S. A. de C. V.).

6.1.3 Plastificante

Glicerol, anhidro ($C_3H_8O_3$) (J.T. Baker).

6.1.4 Sales

Para establecer los gradientes de humedad relativa se emplearon soluciones saturadas de sales con actividad de agua (a_w) conocidas:

Cloruro de Sodio (NaCl) $a_w = 0.751$ (J.T. Baker)

Nitrato de Potasio (KNO_3) $a_w = 0.9255$ (Phillipsburg, NJ)

6.2 Metodología experimental

6.2.1 Preparación de soluciones

Se prepararon soluciones acuosas de goma de mezquite (10 % en peso) con diferentes concentraciones de quitosano (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 % en peso). Se disolvió el quitosano en soluciones acidificadas (1% ácido acético) hasta disolución completa, posteriormente se incorporó la goma de mezquite manteniendo la mezcla en agitación continua hasta obtener una solución homogénea.

6.2.2 Formación de emulsiones O/W

Se formularon diferentes emulsiones con fracción volumétrica (ϕ) de 0.2 como fase dispersa, conteniendo en la fase acuosa goma de mezquite al 10% (p/p) y diferentes porcentajes de quitosano (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1% p/p). Se uso aceite mineral para la fase dispersa, la cual se adicionó lentamente a la fase continua hasta tener una dispersión homogénea. Las emulsiones fueron homogenizadas usando un Homogenizador Silverson L4R (Silverson Machines, Ltd., Waterside, Chesham. Bucks., Inglaterra) a 5800 rpm durante 20 minutos.

6.2.3 Caracterización de las emulsiones O/W

6.2.3.1 Análisis de tamaño de partícula

El diámetro promedio volumétrico ($D_{4,3}$) y la distribución de tamaño de partícula de las emulsiones formadas, se determinaron con un analizador de tamaño y distribución de partícula Malvern MasterSize 2600 (Malvern Instruments, Worcs, Inglaterra) definido como (Vernon-Carter, 2000):

$$D_{4,3} = (\sum n_i d_i^3 / \sum n_i)^{1/3} \quad (\text{Ec.6.1})$$

donde n_i es el número de gotas de diámetro d_i .

6.2.3.2 Estabilidad de las emulsiones

La tasa de coalescencia (C) se calculó a partir de la variación del tamaño de partícula por unidad de volumen de la emulsión con respecto al tiempo (30 días), en donde el número de gotas de la fase dispersa a cierto tiempo (N_t), está relacionado con el número inicial de gotas de fase dispersa (N_o) usando la ecuación de primer orden (Sherman, 1968).

$$N_t = N_o \exp(-Ct) \quad (\text{Ec. 6.2})$$

y

$$N_t = \frac{6\phi 10^{12}}{\pi (D_{4,3})^3} \quad (\text{Ec. 6.3})$$

donde:

ϕ es la fracción volumétrica de la fase dispersa

$D_{4,3}$ es el diámetro promedio volumétrico (μm) a un tiempo t (s).

El $\ln N_t$ contra t fue graficado para cada emulsión obteniendo una línea de la cual su pendiente corresponde al valor de C (s^{-1}) (Apéndice D). Las determinaciones del tamaño de partícula se realizaron a partir de las 24 h de la preparación de las emulsiones y cada tercer día durante un mes.

6.2.3.3 Pruebas reológicas

El estudio de las interacciones del quitosano (Q) con un agente emulsificante eficiente tal como la goma de mezquite (MG), en soluciones acuosas ligeramente acidificadas, y en emulsiones aceite en agua (O/W), se realizó usando técnicas reológicas oscilatorias de baja deformación, con un reómetro MCR 300 Physica Modular Compact Rheometer y empleando una geometría cilíndrica con espacio anular doble, cuyas dimensiones se muestran en la Figura 6.1.

Los parámetros reológicos que se determinaron fueron: el módulo de almacenamiento o módulo elástico y el módulo de pérdida (G' y G'' respectivamente). Se realizó un barrido

de deformación para determinar la región del comportamiento viscoelástico lineal; en esta zona los módulos no dependen de la velocidad de deformación. Para estas pruebas se aplicó una deformación de 0.1-10%, a una frecuencia constante de 1 Hz.

Una vez ubicada la región viscoelástica lineal, se realizó un barrido de frecuencia (0.01-10 Hz) manteniendo una deformación constante, la cual cae dentro de la región viscoelástica lineal.

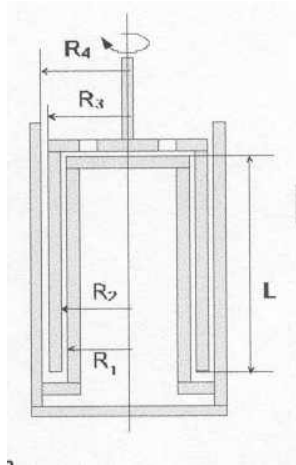


Figura 6.1. Esquema de la geometría utilizada (doble espacio anular)

Donde

R_1 radio interno en la copa:	11.913 mm
R_2 radio interno del rotor:	12.330 mm
R_3 radio externo del rotor:	13.330 mm
R_4 radio externo en la copa:	13.796 mm
L longitud del rotor =	40.00 mm

A las emulsiones se les aplicó un barrido de velocidad de deformación de cizallamiento ($\dot{\gamma}$) de 1 a 1000 s^{-1} aplicando una rampa logarítmica, durante 5 min. y cada 10 s se tomó la lectura de la viscosidad y esfuerzo de corte. Todas las mediciones se realizaron a $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

6.2.4 Caracterización de las películas

6.2.4.1 Formación de las películas

Las emulsiones formadas fueron aplicadas manualmente sobre placas de polimetilmetacrilato (Plexiglas) empleando un aplicador para películas húmedas (Paul N. Gardner Company, Inc., Pompano Beach, Florida, EUA); este último permite obtener ocho grosores diferentes. Se dejaron secar por convección natural en condiciones ambientales de 22-26 °C y 75-85% de humedad relativa. Una vez formadas, las películas se despegaron de la superficie plástica y cortadas en pequeñas secciones. Posteriormente se evaluó visualmente su apariencia física, para determinar si presentaban defectos como huecos o fisuras.

6.2.4.2 Espesor de las películas

Las películas cortadas en forma circular de aproximadamente 1 cm de diámetro, se les realizaron seis mediciones aleatorias en diferentes puntos, utilizando un micrómetro digital Mitutoyo (Mitutoyo Ltd., Tokio, Japón) para determinar el espesor. El valor promedio de las mediciones se empleó en todos los cálculos de la permeabilidad al vapor de agua.

6.2.5 Formación de emulsiones F1, F2, F3 y F4

Basado en los resultados de la caracterización anterior, se seleccionó la emulsión con concentración de 0.6% Q, la cual se denominó formulación F1. A partir de F1 se modificó la fase continua y la fase dispersa dando origen a las emulsiones cuya formulación se presenta en la Cuadro 2.

La emulsión F2 se formó sustituyendo la fase dispersa de F1 por la una mezcla de cera de candelilla con el aceite mineral, utilizando una relación 2:1. Se calentaron por separado tanto la fase continua como la fase dispersa hasta alcanzar una temperatura de 70 °C (temperatura de fusión de la cera). La fase dispersa fue adicionada gota a gota en la fase

continua bajo las mismas condiciones de homogenización que F1. Las emulsiones así preparadas se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

Debido a que las películas obtenidas de la emulsión F2 presentaron naturaleza quebradiza, se formuló la emulsión F3 la cual se formó incorporando a la fase continua de F1 glicerol (2% en peso respecto a la formulación total), el cual se adicionó a la mezcla de polisacáridos hasta mezclarse perfectamente.

Se realizó una cuarta formulación (F4) modificando tanto de la fase dispersa y fase continua de la emulsión F1, incorporando la mezcla de aceite mineral-cera de candelilla (2:1) en la fase dispersa y glicerol en la fase continua.

Cuadro 2 Formulación de las emulsiones F1, F2, F3 y F4

Formulación	Fase Continua	Fase Dispersa
F1	10% GM	Aceite Mineral
	0.6% Q	
F2	10% GM	Aceite Mineral
	0.6% Q	Cera de Candelilla
F3	10% GM	Aceite Mineral
	0.6% Q	
	2% Glicerol	
F4	10% GM	Aceite Mineral Cera de Candelilla
	0.6% Q	
	2% Glicerol	

6.2.6 Caracterización de las emulsiones F1, F2, F3 y F4

La caracterización de las diferentes emulsiones se realizó de acuerdo a las secciones 6.2.3.1, 6.2.3.2 y 6.2.3.3, a demás de ser secadas de forma isotérmica para la estimación de la difusividad efectiva, como se explica a continuación.

6.2.6.1 Secado isotérmico

Se colocaron muestras de 14 a 16 μL de cada emulsión fresca (F1, F2, F3 y F4) secándose isotérmicamente a 30, 40, 50, 60 $^{\circ}\text{C}$ durante 120 minutos en un analizador Termogravimétrico (TA Instruments, modelo TGA 2950). Se utilizó aire como gas de purga con una humedad relativa aproximadamente del 0.008% y con una velocidad de flujo de 40 a 60 cm^3/min . Las tasas de calentamiento durante las pruebas de secado fueron determinadas de acuerdo a lo reportado por Báez-González y col. (2004).

6.2.6.2 Estimación de la difusividad efectiva

Los coeficientes de difusividad efectiva se determinaron de acuerdo al método propuesto por Raghavan y col. (1995), aplicando una solución analítica aproximada a la segunda ley de Fick para una geometría esférica y considerando la dependencia del contenido de humedad dado por:

$$M = \frac{X - X_e}{X_o - X_e} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left[-n^2 \pi^2 D_{eff} \frac{t}{[R(X)]^2}\right] \quad (\text{Ec.6.4})$$

Donde M = contenido de humedad (adimensional), X = contenido de humedad en el tiempo (t) ($\text{kg H}_2\text{O}/\text{kg s.s.}$), X_o y X_e = contenido de humedad inicial y en el equilibrio ($\text{kg H}_2\text{O}/\text{kg s.s.}$), respectivamente, y $R(X)$ = radio de la gota del biopolímero como función del contenido de humedad (M).

Para el cálculo de los coeficientes de difusividad efectiva se utilizó el algoritmo propuesto por Pérez-Alonso y col. (2003), el cual se muestra a continuación:

- 1) Obtener experimentalmente las curvas de secado isotérmico a diferentes temperaturas y determinar el contenido de humedad adimensional experimental (M_{exp}).

$$M_{\text{exp}} = \frac{X - X_e}{X_o - X_e} \quad (\text{Ec. 6.5})$$

2) Calcular el volumen inicial de la gota del biopolímero:

$$V_o = \frac{m_o}{\rho_o} \quad (\text{Ec. 6.6})$$

donde V_o = volumen inicial de la gota del biopolímero (m^3), m_o = masa inicial de la gota del biopolímero (kg), ρ_o = densidad inicial de la gota del biopolímero (kg/m^3)

3) Calcular el radio inicial de la gota del biopolímero:

$$R_o = \left(\frac{3}{4\pi} V_o \right)^{1/3} \quad (\text{Ec. 6.7})$$

donde R_o = radio inicial de la gota del biopolímero (m)

4) De los datos experimentales del encogimiento de la gota, se obtiene una función polinomial que relaciona el encogimiento volumétrico de la gota como una función del contenido de humedad.

$$V_{sh} = \frac{V(X)}{V_o} = A + BX + CX^2 \quad (\text{Ec. 6.8})$$

donde V_{sh} = volumen de encogimiento de la gota de la emulsión de biopolímeros (m^3), A, B y C = coeficientes de encogimiento de los distintos biopolímeros (adimensional) (0.6565, 0.0063, 0.1411 respectivamente) obtenida del gráfico mostrado en el Apéndice C.

5) Determinar el radio de la gota del biopolímero como función del contenido de humedad (m):

$$R(X) = (A + BX + CX^2)^{1/3} R_o \quad (\text{Ec. 6.9})$$

- 6) Sustituir la ecuación (6.9) en la ecuación (6.4)
- 7) Suponer un coeficiente de difusividad aparente utilizando los primeros 50 términos de la serie de Fourier y calcular M de la ecuación (6.4)
- 8) Comparar M_{exp} con M y si:

$$\begin{aligned} |M - M_{exp}| > 1 \times 10^{-10} & \quad \text{regresar al paso 7 del algoritmo,} \\ |M - M_{exp}| < 1 \times 10^{-10} & \quad \text{termina el cálculo; si no, suponer otro} \\ & \quad \text{coeficiente de difusividad y repetir el procedimiento} \end{aligned}$$

Obtener para cada emulsión una gráfica de X contra D_{eff} para cada temperatura de secado isotérmico.

La determinación de la difusividad efectiva promedio $\overline{D_{eff}}$ en el rango de temperaturas de operación se obtiene con la siguiente ecuación:

$$\overline{D_{eff}} = \frac{\int_{x_0}^{x_1} D_{eff}(X) dX}{\int_{x_0}^{x_1} dX} \quad (\text{Ec. 6.10})$$

donde X_1 = contenido de humedad final al proceso de secado (kg H₂O/kg s.s.)

$D_{eff}(X)$ = difusividad efectiva a un contenido de humedad específico.

6.2.7 Caracterización de las películas F1, F2, F3 y F4

Las películas formadas a partir de las diferentes emulsiones fueron cortadas, medidas y evaluadas visualmente para ser empleadas en los cálculos de la permeabilidad al vapor de agua

6.2.7.1 Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad fue determinada a 25 °C aproximadamente, utilizando una variación del método gravimétrico sugerido por la ASTM E 96-80 (Association of Standard Testing Methods, EUA) reportado por McHugh y col. (1993), que a continuación se describe:

Muestras de las películas de espesor promedio 0.07 ± 0.0001 mm fueron utilizadas para calcular los valores de permeabilidad por medio de celdas de permeación. Básicamente, en este tipo de prueba se desea cuantificar el cambio en peso de una sal debido a un gradiente de humedad, y de este modo calcular la velocidad de vapor de agua. Un diagrama esquemático indicando el arreglo de la unidad experimental utilizada y la localización de los valores de la presión parcial de vapor de agua, los valores de la humedad relativa y del aire estancado se muestran en la Figura 6.2.

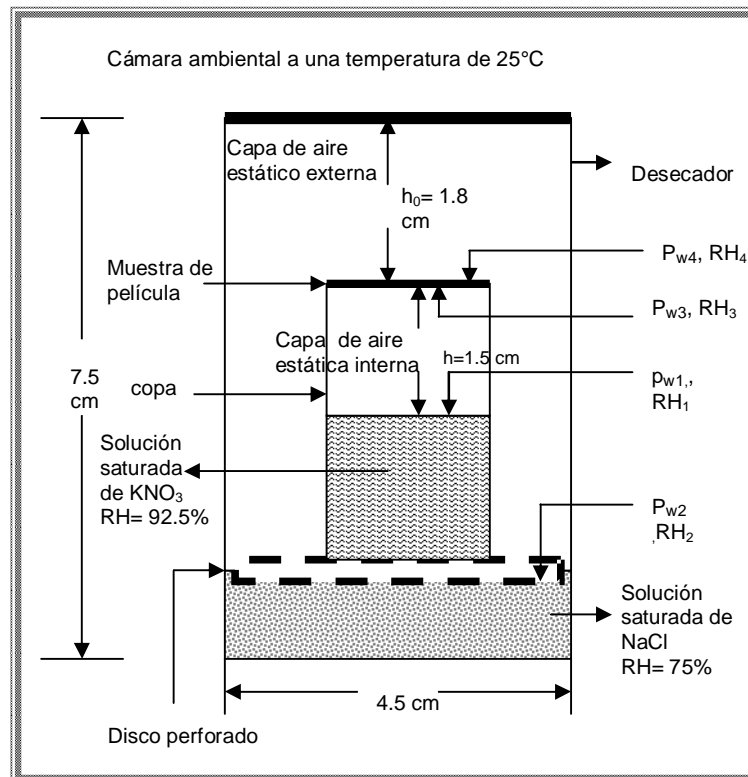


Figura 6.2. Esquema de condiciones para el análisis de permeabilidad al vapor de agua (Bosquez-Molina y col., 2003).

Una sección circular de película se colocó en la parte superior del vial y se fijó con un aro de aluminio. Dentro del vial se colocó una solución sobresaturada de nitrato de potasio para generar una humedad relativa constante ($HR_1 = 92.5\%$), de acuerdo a las condiciones de gradiente necesarias. El vial se colocó en una celda con tapa que contenía también una solución saturada de sal de cloruro de sodio que generó una humedad relativa constante ($HR_2 = 75\%$). Debido al gradiente de presión existente, el vapor de agua difunde a través de la membrana, observándose una pérdida de peso en la sal de mayor humedad relativa, durante el tiempo de la prueba. Cuando el peso de la sal de menor humedad relativa alcanza el equilibrio, ya no existe variación en el peso, y entonces éste se utiliza para calcular la velocidad de transmisión de vapor de agua.

La variación en el peso de la celda de permeación fue registrada cada hora en una balanza analítica Ohaus con precisión de 0.0001g.

El análisis de regresión de los datos registrados de la pérdida de peso en función del tiempo se empleó para calcular la velocidad de transmisión de vapor de agua ($WVTR_m$), en los casos en que se obtuvieron coeficientes de regresión mayores o iguales a 0.997 (McHugh y col., 1993).

$$WVTR_m = \frac{n}{t \times A} [=] g * m^{-2} * h^{-1} \quad (\text{Ec.6.11})$$

donde n es el cambio de peso (g) de la celda de permeación durante el tiempo t , con un área de película constante de $7.85 * 10^{-5} \text{ m}^2$.

La permeación es el segundo parámetro a determinar y se obtiene al dividir la $WVTR_m$ entre el gradiente de presión parcial del vapor de agua.

$$\text{Permeación} = \frac{WVTR_m}{\Delta P} [=] g * h^{-1} * m^{-2} * Pa^{-1} \quad (\text{Ec. 6.12})$$

donde ΔP es el gradiente de presión de vapor entre los lados de la película.

La determinación de permeabilidad (WVP_m) fue obtenida a través de la relación:

$$WVP_m = \text{Permeación} \times L [=] g * h^{-1} * m^{-1} * Pa^{-1} \quad (\text{Ec. 6.13})$$

donde L es el espesor de la película experimentada.

6.2.7.2 Estimación de la permeabilidad para condiciones estáticas

Los datos de permeabilidad obtenidos en esta etapa del trabajo de investigación fueron corregidos, utilizando las ecuaciones 7 y 8 reportadas por Gennadios y col. (1994) (Apéndice A) en la cual se considera el efecto que la resistencia del aire ejerce sobre la difusión de vapor de agua a través de películas de matriz hidrofílica (Figura 6.2).

El valor estimado de la velocidad de transmisión de vapor de agua ($WVTR_c$) es:

$$WVTR_c = WVTR_m \left[\frac{\Delta Pa}{\Delta Pr} \right]_T [=] g * m^{-2} * h^{-1} \quad (\text{Ec. 6.14})$$

donde:

$WVTR_c$ = velocidad de transmisión de vapor de agua corregida.

$WVTR_m$ = velocidad de transmisión de vapor de agua medida (g/m^2h)

T = Temperatura absoluta durante la prueba (K).

ΔPa = Diferencia de presión parcial aparente a través de la película (Pa)

ΔPr = Diferencia de presión parcial real a través de la película (Pa).

El valor de la permeabilidad corregida (WVP_c) fue calculado de la ecuación:

$$WVP_c = \frac{(1.157 \times 10^{-5}) WVTR_c * L}{\Delta Pa} \quad (\text{Ec. 6.15})$$

Donde:

WVP_c = Permeabilidad al vapor de agua corregida

L = Espesor de la película

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Aspecto físico visuales de las emulsiones O/W

Las emulsiones formadas con 10 % de goma de mezquite (GM) pura y adicionando 0.2, 0.4 y 0.6% de quitosano (Q), con aceite mineral como fase dispersa, tuvieron una estabilidad adecuada y presentaron un aspecto homogéneo. Por otro lado, las emulsiones con 0.8 y 1% de Q, tendían a mostrar inestabilidad en la forma de cremado a los 7 días después de ser preparadas. Al aplicar estas emulsiones sobre una superficie plástica y dejar que se secaran para formar las películas, las emulsiones con 0.2, 0.4 y 0.6% Q producían películas uniformes, mientras que aquellas con 0.8 y 1% Q formaban películas heterogéneas caracterizadas por “islas” de material hidrofóbico cremado sobre la matriz estructural. Todas las formulaciones con aceite mineral como fase dispersa, independientemente del contenido de Q, se sentían grasosas al tacto, y entre mayor era el contenido de Q más grasosas eran. El desprendimiento de las películas de la superficie de aplicación tuvo que realizarse con mucho cuidado, ya que aquellas con concentraciones de quitosano menores a 0.6% (formulación F1) podrían fracturarse debido a la gran adhesividad y baja maleabilidad que presentaban. Concentraciones de Q mayores de 0.6% se fracturaban por completo al tratar de desprenderlas.

Las películas formadas a partir de la emulsión F2 (aceite mineral y cera de candelilla) a diferencia de las obtenidas por F1 (aceite mineral), las obtenidas por F2 fueron relativamente fáciles de desprender de la superficie de aplicación, y no se sentían grasosas al tacto. Estos resultados confirman lo reportado por otros autores (Bosquez-Molina y col., 2003) que la naturaleza de la fase hidrofóbica tiene una marcada influencia en las propiedades físicas de las emulsiones y películas.

La formulación F1 hecha con aceite mineral, que es líquido a temperatura ambiente, tiende a mostrar una gran adherencia con la superficie de contacto, lo cual disminuye la maleabilidad de la película y dificulta su desprendimiento de la superficie. La formulación

F2 añadida con cera de candelilla, aumenta el punto de fusión de la fase dispersa a 68° C, y bajo estas condiciones predominan las fuerzas de interacción cohesivas entre las moléculas de la fase dispersa sobre las adhesivas entre las moléculas de esta fase y la superficie de aplicación. El resultado de esto es una película más maleable y fácilmente desprendible.

La emulsión F3 produjo películas más flexibles y más fácilmente desprendibles que las F2, posiblemente debido a que el glicerol tiende a formar puentes de hidrógeno entre segmentos de la matriz estructural de goma de mezquite, proveyendo a la película con mayor maleabilidad.

La formulación F4 formó películas flexibles y fácilmente desprendibles al igual que F3, con la diferencia que se adhieren mejor a la placa al momento de ser aplicadas.

7.2 Análisis de tamaño de partícula

Las características de permeabilidad al agua de una película van a depender del tamaño de partícula del material hidrofóbico utilizado y de la homogeneidad de éste dentro de la matriz estructural hidrofílica, ya que estos factores principalmente condicionan la estabilidad de una emulsión.

En la Figura 7.1 se muestra la variación en el tamaño promedio volumétrico ($D_{4,3}$) de los glóbulos de la emulsión que tiene como fase dispersa aceite mineral, en función del tiempo de envejecimiento. Se puede observar que la emulsión formulada con pura goma de mezquite proporcionó el $D_{4,3}$ menor, y el cual fue aumentando conforme se incrementó la concentración de Q de 0.2 a 1%. La variación en $D_{4,3}$ para todas las emulsiones durante los primeros 30 días fue prácticamente nula, indicando una gran estabilidad de las emulsiones, todas exhibiendo tasas de coalescencia del orden de 10^{-10} s^{-1} .

Todas estas emulsiones dieron tamaño de glóbulo monodisperso y con una amplitud de distribución cerrada que varió entre 0.79 para 0.2% Q y 0.84 para 1% Q. Estos resultados

respaldan lo observado visualmente referente a la formación de las “islas” de material hidrofóbico en las formulaciones 0.8% Q y 1% Q, ya que su $D_{4,3}$ es considerablemente mayor que para las formulaciones con $Q < 0.6\%$ y aún cuando los datos indican que tenemos emulsiones muy estables, la floculación de la fase dispersa en estas dos formulaciones procede a una tasa mucho mayor, dando origen a las “islas” observadas.

Con estos resultados se infiere que surgen interacciones entre los dos biopolímeros, y de que el quitosano a pesar de no poseer actividad superficial forma complejos con la GM, provocando la adsorción de capas más gruesas alrededor de las gotas.

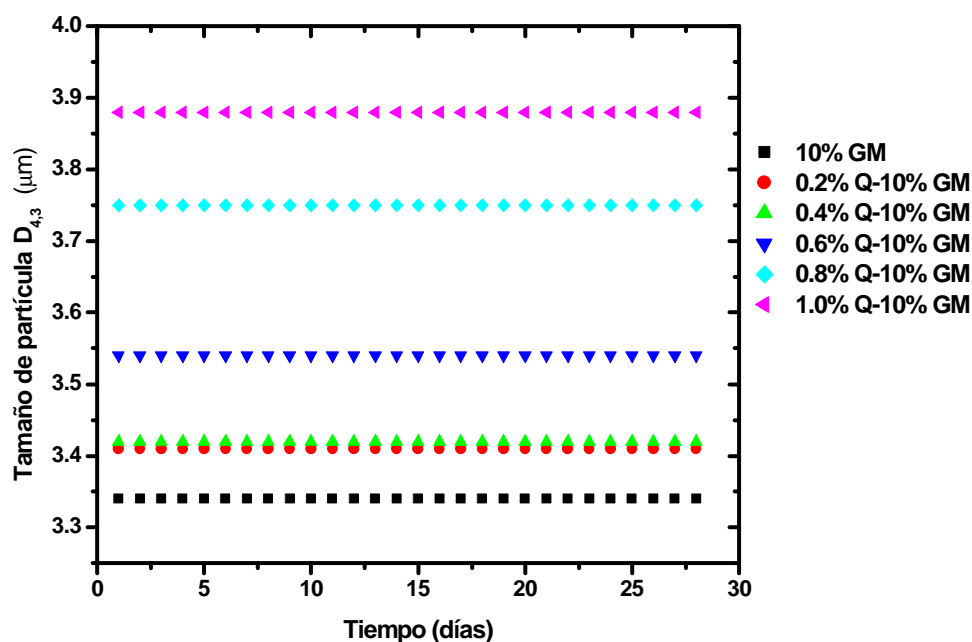


Figura 7.1. $D_{4,3}$ vs. tiempo de envejecimiento para las emulsiones F1.

7.3 Propiedades reológicas

7.3.1 Reología de las soluciones acuosas GM y Q

Para realizar el análisis reológico de las soluciones de los biopolímeros y poder comparar los resultados de las distintas soluciones se determinó la región viscoelástica lineal de los

mismos. En la Figura 7.2 se muestra la dependencia del módulo de almacenamiento (G') en función del porcentaje de deformación al cual se sometieron las muestras. Para todas las soluciones de los biopolímeros la zona por debajo de 0.5% de deformación indica que G' es independiente de ésta, y que por arriba de deformaciones de 0.5% G' se vuelve función de la deformación. Por lo tanto, todas las pruebas reológicas sobre las soluciones acuosas de los biopolímeros se realizaron a una deformación de 0.3%.

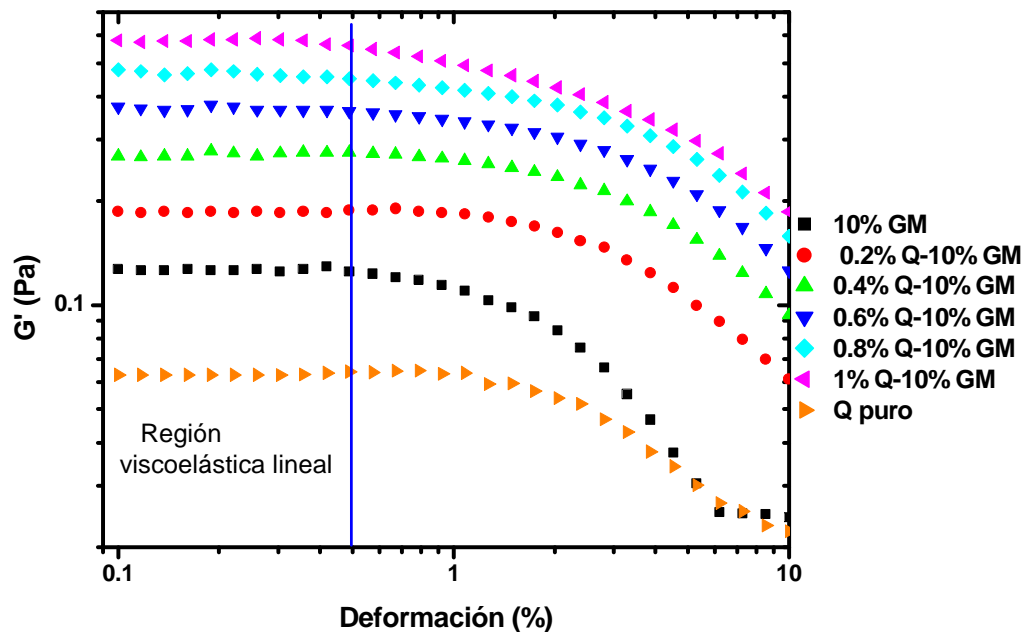


Figura 7.2. Ubicación de la región viscoelástica lineal en soluciones GM-Q

La Figura 7.3a. muestra la dependencia del módulo de almacenamiento en función de la frecuencia a una deformación constante (0.3%). La solución de GM pura muestra el valor más bajo de G' comparado con el de Q puro el cual tiene el valor más alto, y la mezcla de 0.2% Q-10% GM muestra un valor casi igual al obtenido con Q puro. En esta misma gráfica se muestra que al ir incrementando la concentración de Q de 0.2% a 1%, los valores de G' disminuyeron con respecto a aquellos exhibidos por Q pura.

Todas las soluciones acuosas de biopolímeros muestran un incremento en el módulo de almacenamiento (G') y el módulo de pérdida (G'') con el aumento en la frecuencia,

exhibiendo valores más altos de G' que G'' sobre todo el intervalo de frecuencias, como se observa en la Figura 7.3b.

Estos resultados nos indican que todas las soluciones de los biopolímeros muestran un comportamiento más elástico que viscoso ($G' > G''$), y sus módulos reológicos dependen de la frecuencia. Con esto se puede inferir el posible surgimiento de interacciones entre la GM y Q, ya que estos parámetros reológicos cambian al agregar Q a GM, y que en solución acuosa, aparentemente la máxima interacción se presenta en una concentración de 0.2% Q. Estas interacciones pueden ser de tipo electrostático, debido a que el Q presenta carga positiva y la GM carga negativa; sin embargo, no se puede asegurar este hecho, ya que sería necesario recurrir a otro tipo de pruebas fisicoquímicas específicas.

Al pH de las soluciones (~4.8) la GM se encuentra ionizada a un nivel intermedio entre su máximo grado de ionización (pH 7.0) y su mínimo grado de ionización (pH 3.0) (Vernon-Carter y col., 2000), mientras que el quitosano se encuentra cargado positivamente. Esto implica que la GM se encuentra en su conformación más extendida o más compacta, por lo que algunos grupos ionizables se encuentran “descubiertos” y aptos para interactuar, mientras que otros se encuentren “ocultos” en el interior de las biomoléculas teniendo limitaciones para interactuar. Aparentemente a una concentración de 0.2% Q se maximiza el grado de interacción entre las cargas positivas de Q y las negativas de GM. Al aumentar la concentración de Q el número de segmentos cargados positivamente exceden por mucho los segmentos negativos de la GM disponibles para reaccionar, y el efecto global es que la sobresaturación de cargas positivas de Q alrededor de las cargas negativas de GM hacen que estas cargas negativas sean “escudadas” y que la molécula de GM se contraiga, minimizando las interacciones con Q.

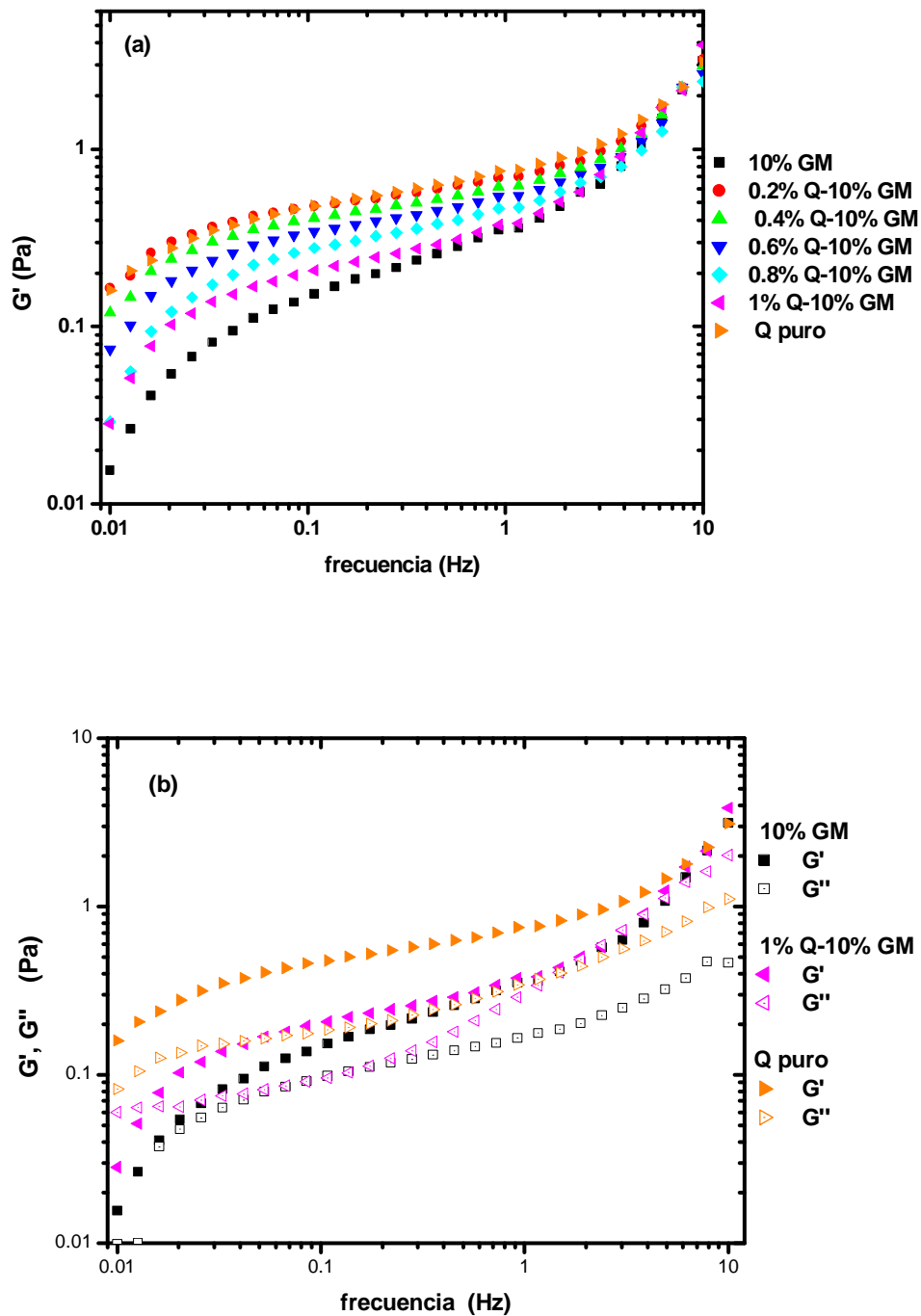


Figura 7.3. Comportamiento de propiedades reológicas de la mezcla Q-GM en soluciones: (a) respuesta en G' a diferentes concentraciones de Q, (b) Comparación de G' y G'' .

7.3.2 Reología de las emulsiones O/W

7.3.2.1 Viscoelasticidad de las emulsiones O/W

La Figura 7.4 muestra la región viscoelástica lineal para las emulsiones que poseen como fase dispersa aceite mineral. Esta región se encontró por debajo de 0.4% de deformación para todas las emulsiones independientemente de su contenido de Q, por lo que se aplicó una deformación de 0.3% en todas las pruebas viscoelásticas.

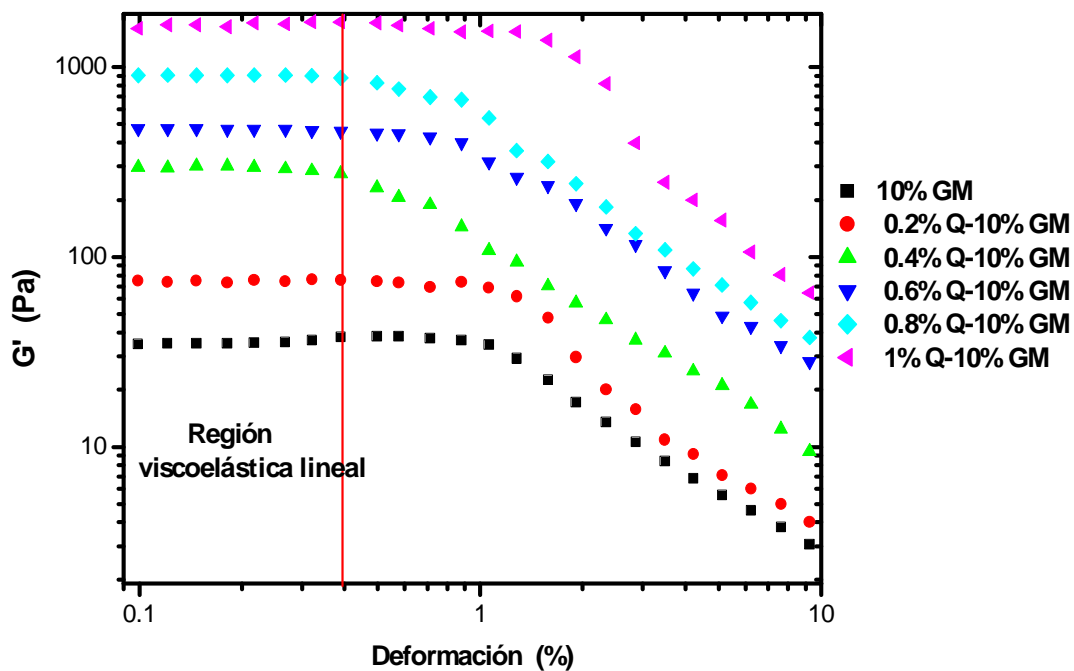


Figura 7.4. Región viscoelástica lineal de las emulsiones variando la concentración de Q.

En la Figura 7.5a. se muestra la variación de G' en función de la frecuencia para las emulsiones analizadas después de 5 min y 30 min de colocadas en el reómetro.

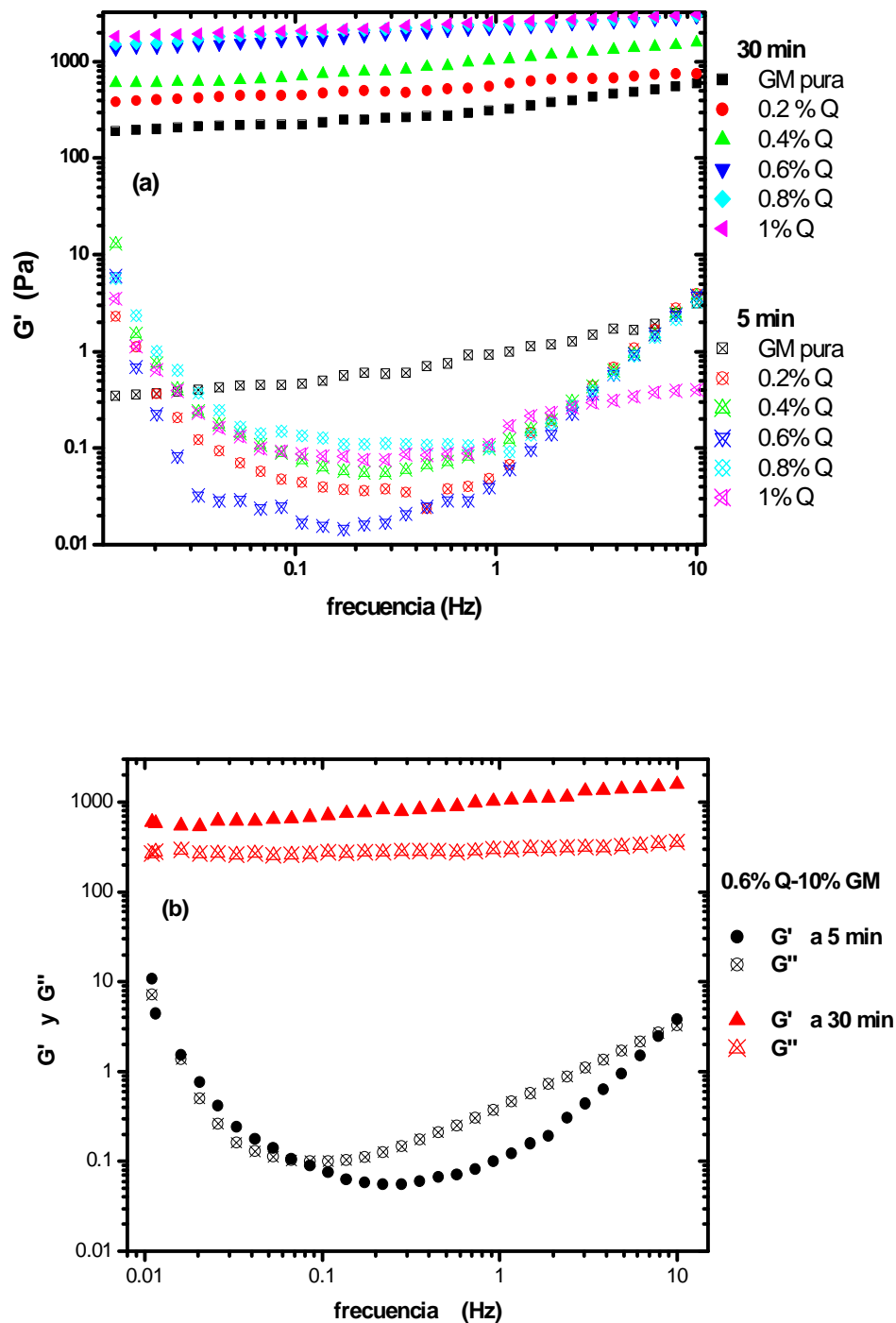


Figura 7.5. Comportamiento de G' y G'' como función del tiempo de estabilización: (a) respuesta de G' contra frecuencia para las diferentes concentraciones de Q, (b) G' y G'' contra frecuencia para la emulsión con 0.6%Q-10%GM.

Las emulsiones analizadas a los 5 min de colocadas en el reómetro muestran una dependencia de G' sobre la frecuencia muy complicada, en donde a bajas frecuencia (0.01-0.1 Hz) G' disminuye drásticamente, a frecuencias intermedias (0.1-1 Hz) G' se mantiene constante, y a altas frecuencias (1-10 Hz) G' aumenta. Este comportamiento indica una gran dependencia de G' en la frecuencia y es indicativo de que los esfuerzos aplicados a las muestras de las emulsiones para colocarlas en el reómetro rompieron su estructura interna, y que los 5 min que se permitieron para que se reformara la estructura no fueron suficientes. Aún más, a los 5 min G'' es mayor que G' para todas las emulsiones (en la Figura 7.5b. se ejemplifica este comportamiento para la emulsión F1 (0.6% Q)), indicando un comportamiento más fluido que elástico.

Al dejar reposar las emulsiones 30 min. en el reómetro las muestras recuperan su estructura y muestran un comportamiento ligeramente dependiente de G' sobre la frecuencia, indicando un sistema más estructurado. En todos los casos el valor de G' es mayor que el de G'' exhibiendo un comportamiento más elástico que viscoso (Figura 7.5b). Aún más, en la Figura 7.6 se observa que conforme la concentración de Q aumenta de 0.2 a 0.6% se incrementa el valor de G' , pero para concentraciones de Q entre 0.6 – 1.0% las diferencias en G' son mínimas.

Este comportamiento se puede explicar y contrastar con el comportamiento de los biopolímeros en solución acuosa. Al formular las emulsiones, la GM se difunde a la interfase aceite-agua en donde la fracción proteica de la molécula se adsorbe, y la cadena polisacárida macromolecular se proyecta en la fase acuosa. Esta adsorción de la molécula en la interfase hace que ocurra una reformación de la molécula de GM y que una mayor cantidad de segmentos cargados negativamente quedan disponibles posiblemente para interactuar electrostáticamente con moléculas de Q, y por ello es que G' incrementa al incrementar Q hasta 0.6%. Concentraciones mayores de Q no producen un aumento significativo en G' , ni producen un decremento como en el caso de las soluciones acuosas, debido a que tan solo una pequeña fracción de las biomoléculas se difunden y adsorben en

la interfase, permaneciendo la mayoría en el seno de la fase continua. Las interacciones en la interfase producen módulos elásticos 1000 veces mayores que los que se dan en el seno de la fase acuosa.

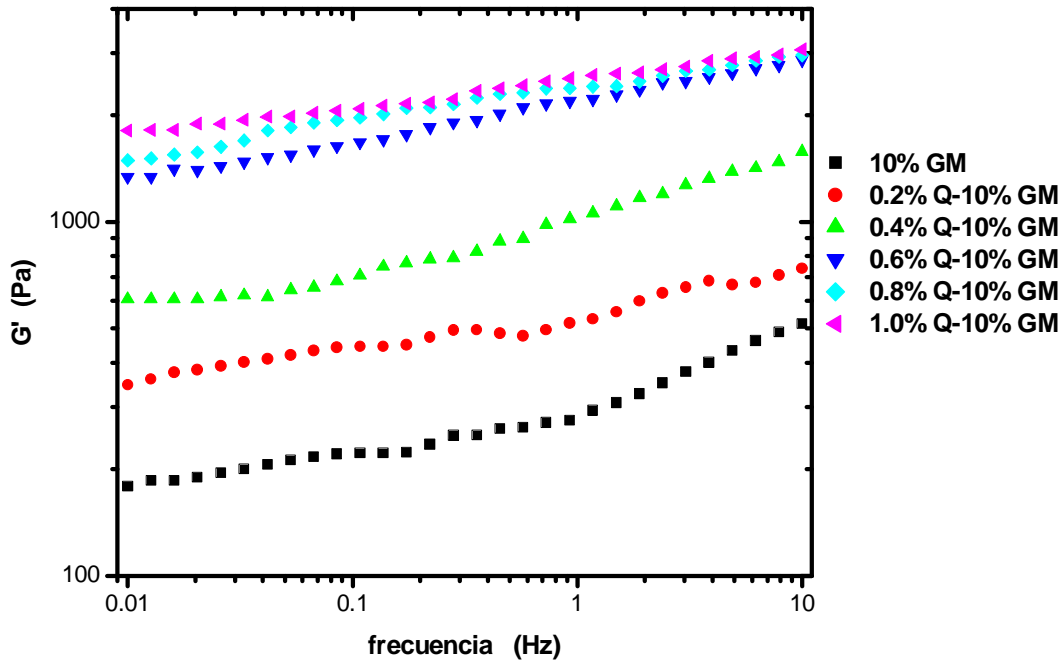


Figura 7.6. G' contra frecuencia para las diferentes concentraciones de Q, a 30 min de reposo.

Por este motivo se decidió trabajar de este punto en adelante con concentraciones de 0.6% Q y 10 % GM (F1) en las emulsiones para formar películas, independientemente si se modificaba su fase dispersa hidrofóbica, o si se incluía un plastificante en la fase acuosa.

7.3.2.2 Viscosidad de las emulsiones O/W

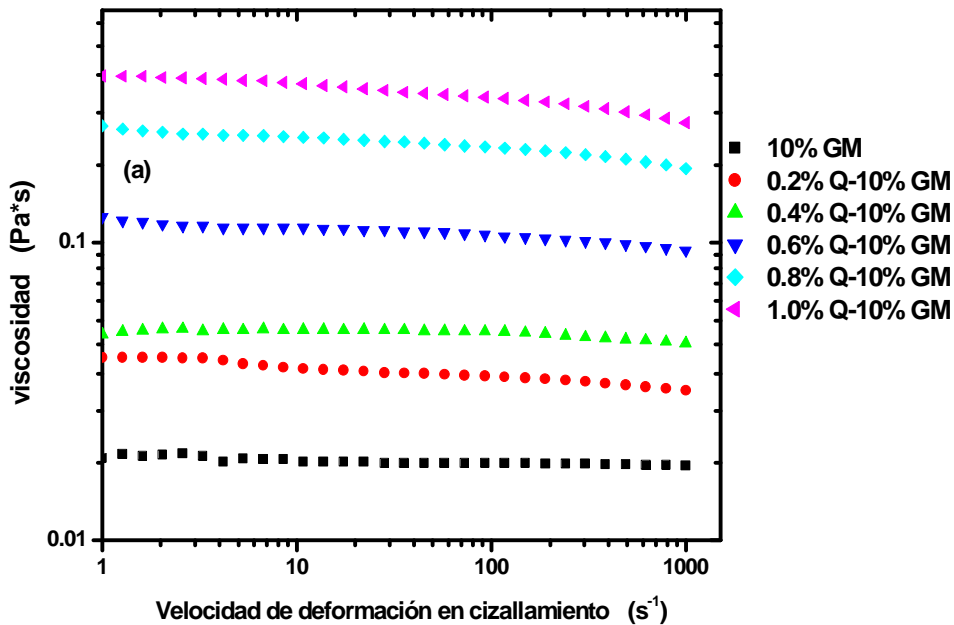
La Figura 7.7a muestra el efecto de la concentración de quitosano sobre la viscosidad (η) como función de la velocidad de deformación de cizallamiento. Para bajas concentraciones de Q, la viscosidad de la emulsión O/W exhibe un comportamiento newtoniano, pero al incrementar la concentración de Q (0.6% a 1%) la viscosidad decrece y tiende a un

comportamiento pseudoplástico. El Cuadro 3 muestra el ajuste al modelo de Ostwald-de Waele ($\tau = k(\dot{\gamma})^n$) de los datos de viscosidad obtenidos de la prueba rotacional.

La viscosidad de las emulsiones permanece prácticamente igual con el tiempo de envejecimiento (aproximadamente 7 días), lo cual confirma que la tasa de coalescencia de las emulsiones es muy baja, y que los fenómenos de agregación y floculación en las gotas dispersas de la emulsión tampoco ocurren a un nivel significativo, por lo que las capas adsorbidas alrededor de las gotas deben poseer cargas del mismo signo que suministran un potencial de repulsión considerable (ver Figura 7.7b).

Cuadro 3. Ajuste de los datos de viscosidad al modelo de Ostwald-de Waele

%Q	k (Pa*s ⁿ)	n
0.6	0.11579	0.962
0.8	0.24206	0.95313
1	0.34574	0.95152



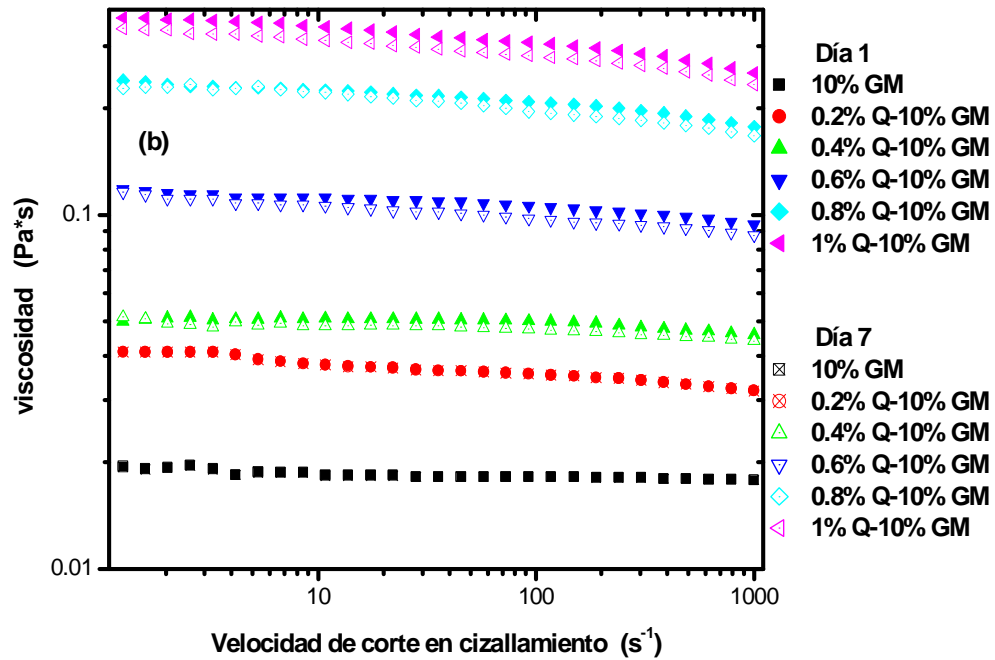


Figura 7.7. Curvas de flujo de emulsiones a: (a) diferentes concentraciones de Q-10% GM y, (b) siete días de almacenadas.

7.3.3 Reología de las emulsiones F1, F2, F3 y F4

La caracterización reológica de las diferente formulaciones se realizó para ver la influencia de la modificación en la fase continua o fase dispersa en los parámetros reológicos, tales como el módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y viscosidad (η).

En la Figura 7.8a se muestra la variación en G' con la frecuencia para las diferentes formulaciones. Se puede observar que la modificación de la fase dispersa incorporando un lípido con mayor punto de fusión incrementa el valor de G' , mientras que la adición del plastificante (glicerol) a la emulsión F2 disminuye G' , pero cuyo valor sigue siendo aproximadamente del doble que para la emulsión F1. Para la emulsión F3, la incorporación de plastificante a la fase acuosa de F1 afectó drásticamente el valor de G' disminuyéndolo por de bajo del valor de F1.

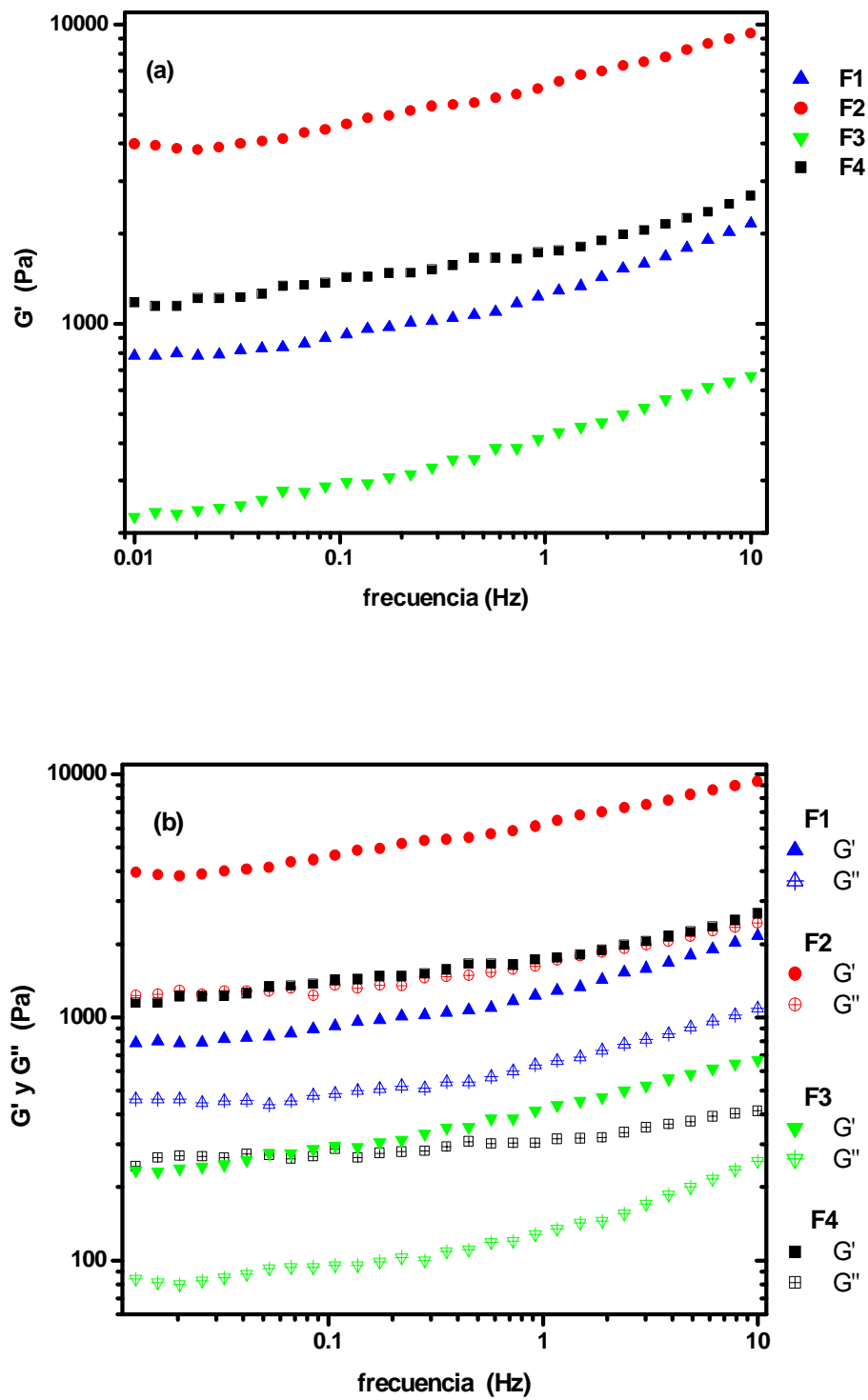


Figura 7.8. Comparación de a) G' y b) entre G' y G'' para las distintas formulaciones.

En las cuatro formulaciones existe una ligera dependencia de G' con la frecuencia por lo que la modificación de las formulaciones no afectará en gran medida la estructura de las mismas, y en la Figura 7.8b se observa el valor $G' \gg G''$ en todas las formulaciones.

El aumento en G' por la modificación de la fase dispersa se puede explicar en términos del punto de fusión de la fase hidrofóbica, la cual aumenta considerablemente con la adición de cera de candelilla (CC). A la temperatura de la prueba reológica (25° C) la fase dispersa se encuentra en estado sólido por lo que su deformación ante la aplicación de un esfuerzo se minimiza. Además, el aumento en G' se puede relacionar con $D_{4,3}$ que para F2 fue menor que para F1, por lo que el área interfacial de la emulsión F2 es mayor, y mayor el número de moléculas de biopolímero adsorbidos en la interfase, así como el grado de interacción interglobular.

El tamaño más pequeño de partícula en la emulsión F2 comparada con la F1 se puede explicar en los siguientes términos: la difusión de los biopolímeros hacia la interfase es lenta debido a su gran peso molecular, por lo que ocurre una coalescencia incipiente de las gotas de la fase dispersa entre el momento en que éstas se forman y el tiempo en que las biomoléculas arriban y se acomodan en la interfase. Debido a que la fase dispersa en F1 es mucho menos viscosa que en F2, esta coalescencia incipiente procede en un mayor grado en la emulsión F1 que en la F2.

El comportamiento que tuvo F3 frente a G' se puede explicar por la naturaleza de la fase dispersa, considerando que las gotas formadas son más fácilmente deformables cuando se encuentran bajo pequeños esfuerzos, que cuando las esferas son más rígidas y menos deformables. También, el glicerol debido a su bajo peso molecular y dimensiones hacen que durante la formulación de la emulsión, su difusión en la interfase de las gotas recién formadas, sea mucho más rápida que las de las moléculas de biopolímero, por lo que el tamaño de partícula permanezca casi igual que el de la emulsión F2.

La disminución en G' en F4 por la adición de plastificante puede explicarse por las

siguientes razones: el glicerol, es una molécula pequeña que tiene por función lograr un mayor grado de enrejado al formar puentes de hidrógeno entre las moléculas adyacentes de biopolímero adsorbido en la interfase. La modificación parcial del aceite mineral por cera de candelilla (CC) y el bajo peso molecular del glicerol provocan que la coalescencia incipiente sea reducida aún más, formándose gotas con $D_{4,3}$ más pequeñas (Figura 7.9).

Esta disminución en el tamaño de partícula debería provocar un incremento en G' debido al aumento en el área interfacial y al número de moléculas adsorbidas que están interactuando en la interfase. Sin embargo, el glicerol aparte de actuar como plastificante, también actúa como agente humectante, por lo que la membrana formada alrededor de las gotas de la emulsión retiene una cantidad mucho mayor de agua, y esto provoca una disminución en G' . El efecto humectante del glicerol predomina sobre la disminución en $D_{4,3}$ por lo que G' para F3 y F4 es menor que para F2. Sin embargo, el efecto combinado de la modificación de la fase dispersa y del plastificante incrementa G' con respecto a la emulsión F3.

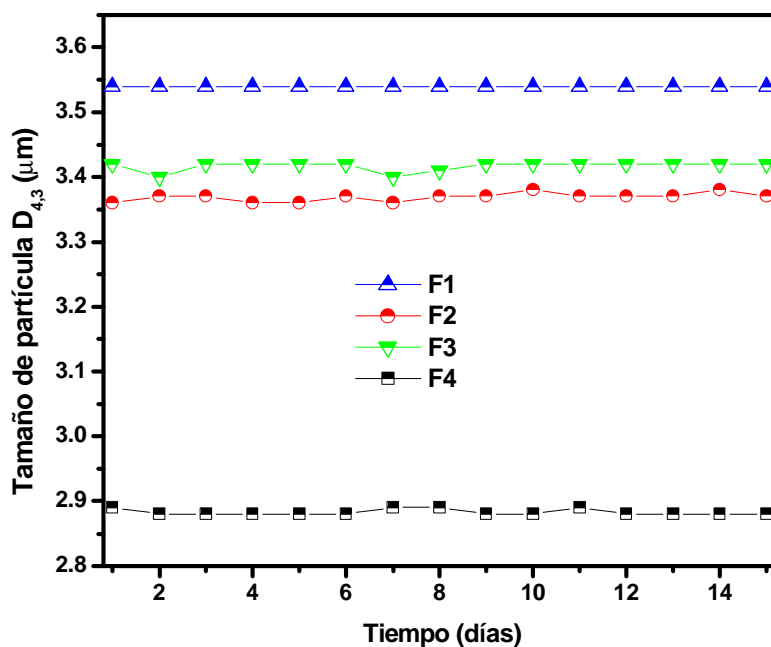


Figura 7.9. Comparación de tamaño de partícula para F1, F2, F3 y F4.

La confirmación de los resultados anteriores se ve reflejado en el comportamiento viscoso de las emulsiones. En la Figura 7.10 se muestra que la viscosidad aparente de menor a mayor es como sigue: $F4 > F3 > F2 > F1$. Esto concuerda con los tamaños de partícula, excepto para F3. A mayor tamaño de partícula el agua atrapada entre los espacios intersticiales entre las gotas es mayor, dejando que la cantidad de agua por la que fluyen las gotas bajo la acción del esfuerzo cortante sea menor de manera que existe una mayor distorsión en los patrones de flujo de las gotas ocasionando una mayor pérdida de energía y un aumento en la viscosidad.

También se observa en la Figura 7.10 un comportamiento pseudoplástico más marcado conforme disminuye el tamaño de partícula, debido a que con el esfuerzo cortante aplicado, es mayor el número de enlaces que se rompen.

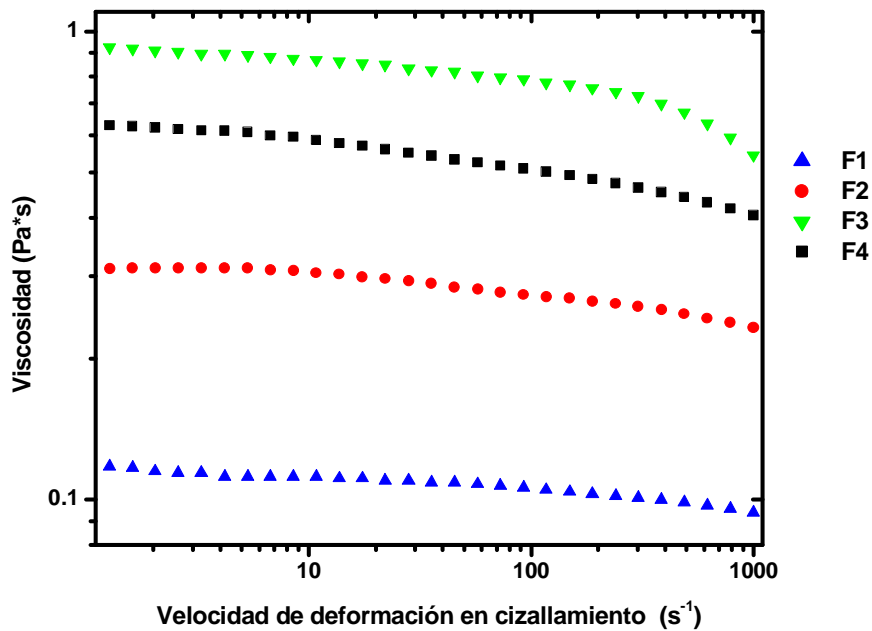


Figura 7.10. Curvas de flujo de las distintas emulsiones.

7.4 Permeabilidad

La permeabilidad al vapor de agua corregida (WVPc), considerando la resistencia de la capa de aire estático presente en la celda de prueba, de las películas adsorbidas obtenidas de las emulsiones F1, F2, F3 y F4 se reportan en el Cuadro 4.

La WVPc de menor a mayor fue en el siguiente orden $F2 < F3 < F4 < F1$. Estos resultados parecen estar íntimamente ligados al comportamiento viscoelástico de las emulsiones F1, F2 y F4. La emulsión F2 exhibió los mayores valores de G' , seguido por F4 y por F1, respectivamente; sin embargo, F3 obtuvo el menor valor de G' . Un valor mayor del módulo G' es indicativo de que existe un mayor grado de entrelazado entre las capas adsorbidas de los biopolímeros alrededor de las gotas de fase dispersa, de manera que cuando estas emulsiones se secan y forman el recubrimiento, éste se caracteriza por mostrar una estructura homogénea en donde los espacios intersticiales entre las gotas dispersas del recubrimiento son mínimos y muy tortuosos, dificultando el transporte de vapor de agua. Además, el alto carácter hidrofóbico de la fase dispersa reduce el grado de absorción de agua en la película.

En la película comestible obtenida de la emulsión F4, a pesar de tener la misma fase hidrofóbica que F2, y un menor tamaño de partícula y mayor estructuración de la matriz hidrofílica, el carácter hidrofílico del plastificante promueve la absorción de agua y aumenta el WVPc con respecto a F2.

El tamaño de partícula de la película obtenida por F1 es mayor y G' es menor, y los espacios intersticiales entre partículas hidrofóbicas dispersas es mucho mayor que en F2 y F4 y WVPc es mucho mayor.

En el caso de las películas obtenidas a partir de F3, a pesar de tener el tamaño de partícula muy similar al de la emulsión F2, el elevado carácter hidrofílico del plastificante y la

carencia de la parte hidrofóbica (cera de candelilla) en la fase dispersa facilita el transporte y absorción de vapor de agua a través de la matriz estructural.

Esto refuerza lo descrito por otros autores los cuales han reportado que la incorporación de materiales lipídico dentro de la matriz hidrofílica a través de la emulsificación provee alta funcionalidad en películas con buenas propiedades de barrera al vapor de agua.

Cuadro 4. Permeabilidad de vapor de agua para las diferentes formulaciones.

<i>Tipo de recubrimiento</i>	<i>Espesor (mm)</i>	<i>WVPc (g * mm / kPa * d * m²)</i>
F1	0.0711	24.2328
F2	0.0700	1.9898
F3	0.0702	2.2683
F4	0.0701	2.4167

7.5 Difusión de la humedad

Matsuno y Adachi (1993) propusieron un método cualitativo para seleccionar los materiales utilizados para la microencapsulación de lípidos que brindan mayor protección contra la oxidación. El método consiste en secar isotérmicamente una solución acuosa del material de pared y por la forma de la curva de secado obtenida se puede determinar cualitativamente que material tiende a formar películas densas y finas que disminuyen la difusión de oxígeno al interior de la microcapsula disminuyendo la oxidación de los lípidos encapsulados.

Las películas F1, F2, F3 y F4 mostraron el mismo tipo de curva de secado por lo que el método de Matsumo y Adachi no permite discriminar entre ellas. Así pues resulta conveniente determinar la difusividad del vapor de agua en función de la temperatura, para proporcionarnos un valor cuantitativo para valorar la eficiencia de la película contra la difusión de O₂ del proceso global. A menor difusividad de agua menor es la difusión de O₂ (Matsumo y Adachi, 1993).

En la Figura 7.11 se muestra la difusividad efectiva para la formulación F1 a las distintas temperaturas de operación (para las formulaciones F2, F3 y F4 ver Apéndice B). En esta figura se puede observar que la difusividad efectiva es dependiente de la temperatura, incrementando su valor con el aumento en T.

La Figura 7.12 muestra una gráfica del contenido de humedad contra la difusividad efectiva para las cuatro formulaciones a 40 °C (en el Apéndice B se presentan los gráficos correspondientes a las diferentes temperaturas de operación). Todas las curvas exhiben un comportamiento no lineal caracterizado por tres regiones principales: (1) Una región con un contenido de humedad alto (~1.9-1.3 kg H₂O/kg s.s.), donde los coeficientes de difusividad efectiva en un principio tienen valores bajos al inicio del proceso de secado debido a un proceso de inducción en el secado. Posteriormente, la difusividad efectiva comienza a incrementarse gradualmente conforme el biopolímero alcanza la temperatura de operación; (2) una región intermedia de contenido de humedad (~1.3-0.5 kg H₂O/kg d.s.), donde la difusividad efectiva depende en gran medida del contenido de humedad; y (3) una región con un contenido de humedad relativamente bajo (~0.5-0.1 kg H₂O/kg d.s.), en la cual la difusividad efectiva permanece casi constante a temperaturas bajas (30, 40 y 50° C) y a temperaturas altas (más de 60 °C) la difusividad efectiva disminuye con el decremento del contenido de humedad, se piensa que esto se debe a un cambio estructural de la emulsión durante el secado (formación de la película), asociado a la velocidad de secado decreciente y donde se alcanza el máximo encogimiento de la gota de emulsión.

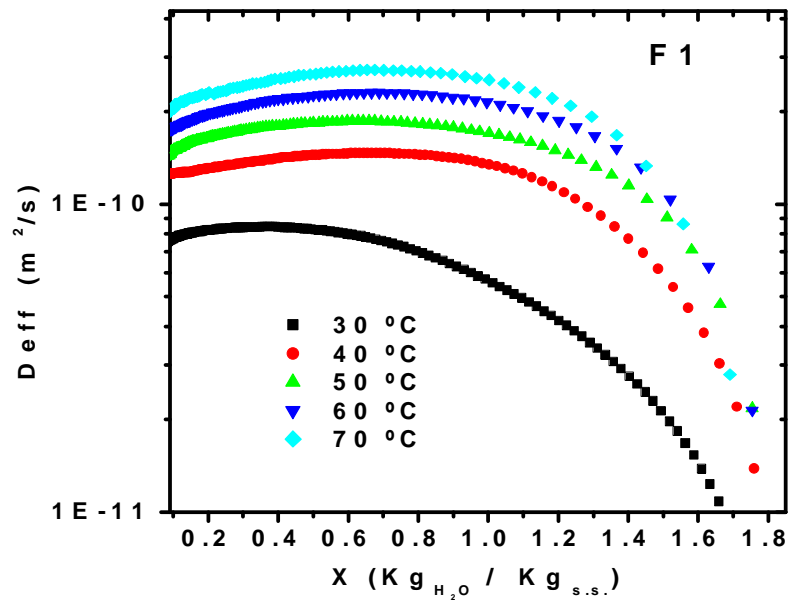


Figura 7.11 Influencia del contenido de humedad y temperatura en la D_{eff} de la formulación F1.

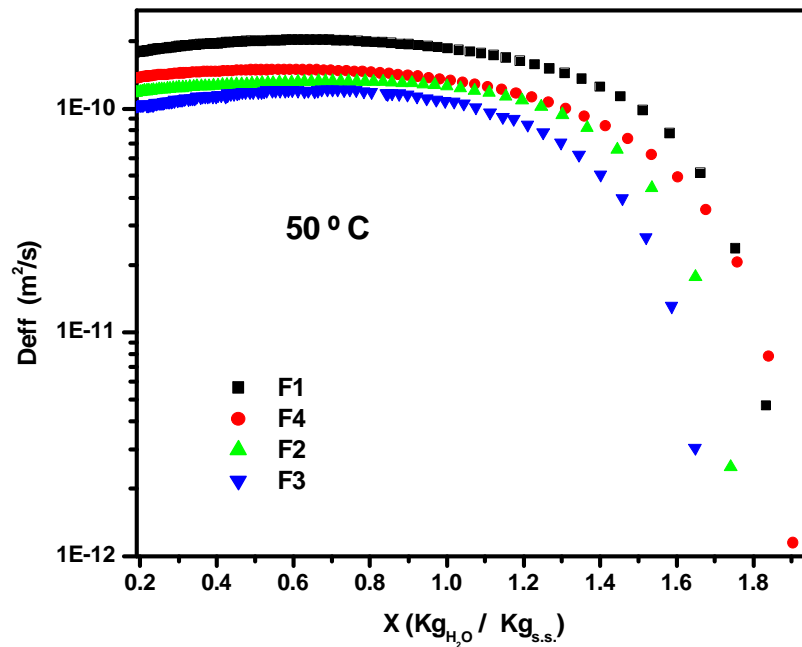


Figura 7.12. Influencia del contenido de humedad en la difusividad efectiva para las cuatro formulaciones a 50 °C

La Figura 7.13a. muestra una fotografía de la emulsión diluida (F1) donde se aprecia claramente un tamaño homogéneo de las gotas constituidas por la fase dispersa (aceite mineral), la interfase (GM, Q) y la fase continua (agua, GM y Q no adsorbidos), una representación esquemática se ilustra en la Figura 7.13 b. La figura 7.13c representa una solución de GM-Q.

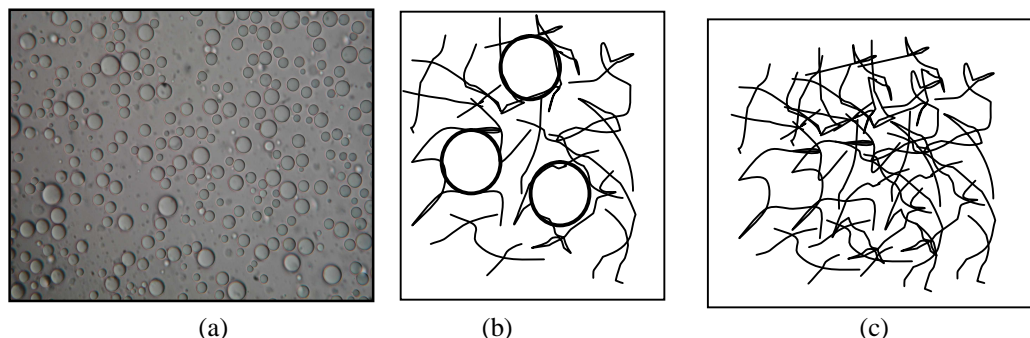


Figura 7.13 Representación esquemática de la emulsión: (a) fotografía de una emulsión diluida (O/W), (b) esquema de la emulsión diluida y, (c) esquema de una solución acuosa de GM.

El secado de una gota de solución de GM ha sido estudiado ampliamente (Báez-González y col., 2004 y Pérez-Alonso y col., 2003) donde se encontró que durante el secado isotérmico el coeficiente de difusión efectivo disminuye con el decremento en el contenido de humedad, esto se puede explicar al observar la Figura 7.13c, la cual representa un sistema homogéneo; durante el secado de una gota de solución al 40% de GM se forma una red fina y densa al inicio y durante el secado, por lo que al disminuir el contenido de humedad el coeficiente de difusividad también disminuye. En cambio al secar una gota de emulsión el proceso es diferente debido a que se tiene un sistema heterogéneo constituida por la fase dispersa (gotas de material lipofílico) y la fase continua (Figura 7.13 b y c). En este caso después del periodo de inducción, la difusión aumenta al disminuir el contenido de humedad debido a que durante el secado la fase dispersa de las gotas de la emulsión forma una red menos densa debido a que la fase dispersa de la emulsión tiene una geometría esférica y al disminuir el contenido de humedad el sistema tiende a encogerse, provocando la aglomeración de las gotas modificando la estructura formada durante el secado; esto posiblemente se deba a que al disminuir el contenido de humedad de alguna manera se

aumento el espacio intersticial provocando que la difusión aumente (1.3 a 0.5 kg_{H₂O}/kg s.s). A contenidos bajos de humedad (0.5 a 0.1 kg_{H₂O}/kg s.s) la difusividad se mantiene casi constante debido a que durante el secado el material formó una estructura estable; es decir, que los cambios con respecto al contenido de humedad son mínimos, manteniendo el valor de la difusión casi constante.

Para poder analizar si existe una relación entre D_{eff} y $WVPc$ se debe aclarar que en las pruebas realizadas la estructura de la muestra de estudio es distinta en comparación con las muestras para la prueba de permeabilidad. En el primer caso existe mayor cantidad de agua en la fase acuosa ya que se utiliza una gota de emulsión fresca, en cambio para las pruebas de permeabilidad la estructura de la muestra corresponde al de una película completamente seca. Es posible que la diferencia de agua presente para cada muestra modifica la conformación de la matriz estructural y afecte de manera sustancial el comportamiento del transporte de agua. Así, al comparar la relación entre D_{eff} y $WVPc$ para las formulación F1, F2 y F4 existe una relación directa entre la D_{eff} y $WVPc$, a mayor D_{eff} mayor es la permeabilidad. En cambio la F3 muestra una relación inversa entre la D_{eff} y la $WVPc$.

7.6 Evaluación visual de las propiedades antimicrobianas

El uso de recubrimientos con un alto contenido de polisacáridos puede acelerar la descomposición de los alimentos, por lo que es necesario la incorporación de conservadores o agentes antimicrobianos a la matriz estructural. En este trabajo, el quitosano tiene esa funcionalidad, como podemos apreciar en la Figura 7.14 la presencia de quitosano en los sistemas emulsificados inhibe el crecimiento de microorganismos.

Para la evaluación visual del efecto fungicida de las películas se utilizaron las formulaciones F1, F2, F3 y F4 y una emulsión control compuesto con 10% de GM. Se aislaron 20 mL de cada formulación en una caja Petri almacenándolas durante 7 días a condiciones ambientales. Después del periodo de reposo se tomaron fotografías de las

muestras las cuales se presentan en la Figura 14. Se observa claramente que la muestra control se contaminó con algún tipo de hongo o microorganismos; mientras que la formulación F1 permaneció libre de microorganismos. De igual manera sucedió con las formulaciones F2, F3 y F4. De este hecho se observa que la actividad antimicrobiana del Q persiste en mezclas con GM.

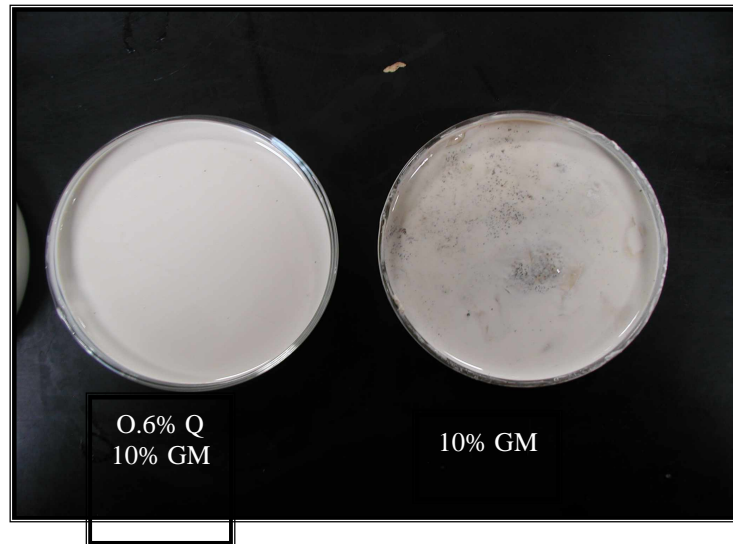


Figura 7.14. Influencia del quitosano como inhibidor en el crecimiento de microorganismos (7 días de formación).

VIII. CONCLUSIONES

La mezcla de goma de mezquite (GM) y el quitosano (Q), bajo las condiciones del experimento, mostraron la existencia de interacciones sinergistas, tanto en soluciones acuosas como en emulsiones aceite-en-agua, probablemente de tipo estérico y/o electrostático. El grado de interacción entre los dos biopolímeros dependió de la proporción relativa entre ambos.

La solución acuosa formada con 0.2% de Q y 10% de GM presentó mayor módulo de almacenamiento (G'), en comparación con las soluciones de mayor contenido de Q. Mientras que para emulsiones, el mayor módulo de almacenaje se presentó para la mezcla con 0.6% de Q y 10 % de GM. En todos los casos se obtuvo un comportamiento más elástico que viscoso, esto es el módulo de almacenamiento G' fue mayor que el módulo de pérdida (G'').

En emulsiones (O/W) aparentemente a una relación 0.6% Q-10% GM las interacciones entre los dos biopolímeros se maximizan en la interfase aceite-agua, dando como resultado la formación de emulsiones altamente estables, que muestran un comportamiento elástico ligeramente dependiente de la frecuencia, en donde posiblemente las capas poliméricas adsorbidas alrededor de las gotas de aceite están caracterizadas por estar constituidas por multicapas altamente estructuradas.

El efecto del plastificante a la fase acuosa de la emulsión F1 fue reducir el valor del módulo G' por debajo de los que tenían en la fase dispersa una mezcla de cera de candelilla-aceite mineral; sin embargo, estas películas presentaron mejores propiedades de maleabilidad.

La adición de cera de candelilla a la fase dispersa, permite mejorar las propiedades de barrera contra el vapor de agua y la maleabilidad de las películas obtenidas a partir de las emulsiones, por lo que es deseable que la fase hidrofóbica posea un punto de fusión relativamente alto.

Los recubrimientos obtenidos a partir de las formulaciones F2 y F4 presentaron mejores propiedades de barrera al vapor de agua en comparación con los obtenidos de F1 y F3. Esto concuerda con los reportes existentes en la bibliografía sobre películas y recubrimientos que mencionan que los recubrimientos formados con alguna cera, en este caso cera de candelilla, son más apropiados para la formación de los mismos.

Las emulsiones mostraron una difusión de humedad de menor a mayor en el siguiente orden $F3 < F2 < F4 < F1$, la cual representó una medida indirecta de la difusión del oxígeno.

No existe una relación directa entre las propiedades viscoelásticas, el cálculo de la difusividad efectiva y la permeabilidad de las películas formadas.

En todas las emulsiones la adición de Q a la matriz estructural mostró ser un inhibidor efectivo al desarrollo de hongos.

IX. Referencias

- Albertsson, P.A. (1971). "Partition of cell particles and macromolecules", New York: Wiley.
- ASTM. 1989. Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials E 96-80. En *Annual book of ASTM standards*. Filadelfia, EUA. *American Society for Testing and Materials* 15, 745-754.
- Báez-González, J.G., Pérez-Alonso, C., Beristain, C.I., Vernon-Carter, E.J. y Vizcarra-Mendoza, M.G. (2004). Effective moisture diffusivity in biopolymer drops by regular regime theory. *Food Hydrocolloids* 18, 315-323.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. y Baker R.A.. (1995). Edible coatings for lightly processed fruits and vegetables. *Hort Science* 30 (1), 35-38.
- Baldwin, E.A., Nispero, M.O., Hagenmaier, R.D., y Baker, R.A. (1997). Use of lipids en coatings for food products. *Food Technology* 51, 56-63.
- Beristain, C.I. y Vernon-Carter, E.J. 1994. Utilization of mesquite (*Prosopis juliflora*) gum as emulsion stabilizing agent for spray-dried encapsulated orange peel oil. *Drying Technology* 12, 1727-1733.
- Beristain, C.I., García, H.S., y Vernon-Carter, E.J. 2001. Spray-dried cardamom essential oil mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 34, 398-401.
- Bosquez-Molina, E., Vernon-Carter, E.J., Pérez-Flores, L. y Guerrero-Legarreta, I. (2000). Películas y recubrimientos comestibles para la conservación en fresco de frutas y hortalizas. *Industria Alimentaria* 22(1),14-29, 32-36.
- Bosquez-Molina, E., Guerrero-Legarreta, I. y Vernon-Carter, E.J. (2003). Moisture barrier properties and morphology of mesquite gum-candelilla wax based edible emulsion coatings. *Food Research International* 36, 885-893.
- Coma V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., y Deschamps, A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Food Microbiology and Safety* 67, 1162-1169.
- Díaz-Sobac, R., García H., Beristain C. I. y Vernon-Carter, E.J. (2002). Morphology and water vapor permeability of emulsion films based on mesquite gum. *Food Processing and Preservation* 26, 129-141.

-
- Dickinson, E. (1993). Protein-polysaccharide interactions in food colloids. *Food Colloids and Polymers Stability and Mechanical Properties*. En: E. Dickinson & P. Walstra (Eds). Elsevier Science LTD, Inglaterra, pp 77-83.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids* 17, 25-39.
- Dickinson, E. y Pawlowsky, K. (1996). Rheology as a probe of protein-polysaccharide interactions in oil-in-water emulsions. En: *Gums and stabilizers for the Food Industry* 8. Oxford University Press, Inglaterra.
- El Ghaouth, A., Arul, J. Ponnampalam, R., y Boulet, M. (1991). Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *Journal of Food Science* 56,1618-1620.
- Fennema O, R. (1982). "Introducción a la Ciencia de los Alimentos". Reverte, S.A., España.
- Garti, N. y Reichman, D. (1993). Hydrocolloids as foods emulsifiers and stabilizer. *Food Structure* 12, 411-426.
- Gennadios, A., Mc Hugh, T.H., Weller, C.L. y Krochta, J.M.(1994). Edible coatings and films based on proteins. En: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Krochta, M.J., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O (Eds). Technomic, Lancaster, VA.
- Grinberg, V.Y. y Tolstoguzov, V.B. (1997). Thermodynamic incompatibility of proteins and polisaccharides in solutions. *Food Hydrocolloids*, 11, 145-148.
- Goycoolea, F.M., Calderón de la Barca, A.M., Balderrama, J.R. y Valenzuela, J.R.(1997). Immunological and functional properties of the exudate gum from northwestern mexican mesquite (*Prosopis spp.*) in comparison with gum arabic. *International Journal Biological Macromolecules* 21, 29-36.
- Greener, D.I. y Fennema, O. 1994. Edible Films and Coatings: Characteristics, Formation, Definitions and testing methods. En: *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*. Krochta, J.M., Baldwin, E.A. y Nisperos-Carriedo, M. (Eds.) Technomic, Lancaster, Pensilvania, EUA. 1-21.
- Han, H.J. (2000). Antimicrobial food packaning. *Food Technology* 54, 54-65.
- Ibanoglu, E. (2002). Rheological behaviour of whey protein stabilized emulsions en the presence of Gum Arabic. *Journal of Food Engineering* 52, 273-277.
- Ledward, D.A. (1994) Protein-polisaccharide interactions. In N.S. Hettiarachchy y G.R. Ziegler, *Protein functionality in food systems*, 225-259. New York: Dekker.

Kamper S.L. y Fennema, O. (1985). Use of and edible film to maintain water vapor gradients in foods. *Journal of Food Science* 50, 382-384.

Krochta, J.M. y De Mulder-Johnston C. 1997. Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology* 51(2), 61-74.

Macosko, C.W. (1994). "Principles, Measurements, and Applications". Wiley-VCH.

Matsuno, R. y Adachi, S. (1993). Lipid encapsulation technology & techniques as applications to foods. *Trends Food Science Technology* 4, 256-261.

McClements, D.J. (1999). "Food Emulsion: Principles, Practice ad Techniques". CRC Press. Boca Raton, FL., EUA.

Mc Hugh, T.H., Avena-Bustillos, R. y Kochta, J.M. (1993). Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of thickness effects. *Journal Food Science* 58, 899-903.

Mc Hugh T.H. y Krochta J.M. (1994a) Sorbitol vs glycerol-plastified whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(4), 841-845.

Mc Hugh T.H., Aujard, J.-F., y Krochta J.M. (1994) Plasticized whey protein edible films: water vapor permeability properties. *Journal of Food Science* 59(2), 416-419.

Mc Hugh, T.H. y Krochta. J.M. (1994b). Permeability properties of edible films. En: edible coatings and films to improve food quality. J.M Krochta, E.A. Baldwin y M. Nisperos-Carriedo (Eds). Technomic, Lancaster, EUA.

Nisperos-Carriedo, M. (1994). Edible coatings and films based on polysaccharides. En: Edible coatings and films to improve food quality. (Eds.) Krochta, J.M., Baldwin, E.A. y Nisperos-Carriedo, M. (Eds.) Technomic, Lancaster.

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, 323-333.

Park, J.M, Muhoberac, B.B., DUBIN, p.l., Y Xial, J. (1992). Effects of protein charge heterogeneity in protein-polyelectrolyte complexation. *Macromolecules*, 25, 290-295.

Pérez-Alonso, C., Báez-González, J.G., Beristain, C.I. y Vernon-Carter, E.J. (2003). 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, 197-203.

-
- Raghavan, G.S. V., Tulasidas, T.N., Sablani, S.S., y Ramaswamy, H.S. (1995). A method of determination of concentration dependent effective moisture diffusivity. *Drying Technology* 13, 1477-1488.
- Rao, A. M. (1999). "Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications", Aspen publication, Gaithersburg, Maryland.
- Rendell-Dunn, A.J. (1990). General News: Protein films from maize, wheat and soybeans – Will they extend fruit and vegetable shelf life. *Postharvest News & Information* 1, 435-444.
- Shahidi, F., Anchchi, J.K. y Jeon, Y-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Food Science and Technology* 10, 37-51.
- Sherman, P. (1968). "General Properties of Emulsions and Their Constituents". Sherman (Ed.), *Emulsion Science*, Londres, Inglaterra, 168, 332-333.
- Siew, D.C.W., Heilmann, C., Easteal, A.J. y Cooney, R.P. (1999). Solution and film properties of sodium caseinate/glycerol and sodium caseinate/polyethylene glycol edible coating systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 3432-3440.
- Sothornvit, R y Krochta, J.M. (2000). Plasticizer effect on oxygen permeability of β -lactoglobulin films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 6298-6302.
- Steffe, J.F. (1992). "Rheological Methods in Food Process Engineering", Freeman Press, USA.
- Vernon-Carter, E.J., Gomez, S.A., Beristain, C.I., Mosqueira, G., Pedroza-Islas, R. y Moreno-Terrazas, R.C. (1996). Color degradation and coalescence kinetics of aztec marigold oleoresin-in-water emulsions stabilized by mesquite or arabic gums and their blends. *Journal Texture Studies* 27, 625-641.
- Vernon-Carter E.J., Beristain, C.I. y Pedroza-Islas, R. (2000). Mesquite gum (*Prosopis gum*). En Novel Macromolecules in Food systems. G. Doxastakis y V. Kloseoglov (Eds.). Elsevier Science, LTD, Holanda
- Wong, D.W.S., F.A., Tillin, S.J., Hudson, J.S. y Pavlath A.E.(1994). Gas exchange in cut apples with bilayer coatings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42, 2278- 2285.

Apéndices

Apéndice A. Cálculo de la permeabilidad

El efecto de la resistencia del aire estancado genera una diferencia de presión parcial aparente ($\Delta p_a = p_{w1} - p_{w2}$) y una diferencia de humedad relativa aparente ($\Delta HR_a = HR_1 - HR_2$) con respecto a las que realmente prevalecen a través de la película, ($\Delta p_r = p_{w3} - p_{w4}$) y ($\Delta HR_r = HR_3 - HR_4$). Considerando los espacios de aire estático y el efecto de la resistencia de aire ejercida sobre la difusión del vapor de agua en esta prueba, se hicieron correcciones en los cálculos para obtener la permeabilidad al vapor de agua corregida (WVP_c), aplicando las ecuaciones reportadas por Gennadios y col. (1994):

$$p_{w1} = p_0 \left(\frac{HR_1}{100} \right) \quad \text{Ec. (A.1)}$$

$$p_{w3} = p_0 \left(\frac{HR_2}{100} \right) \quad \text{Ec. (A.2)}$$

$$p_{w2} = P_T - (P_T - p_{w1}) \exp\left(\frac{WVTR_m RTh_i}{P_T D} \right) \quad \text{Ec. (A.3)}$$

$$p_{w4} = P_T - (P_T - p_{w3}) \exp\left(-\frac{WVTR_m RTh_0}{P_T D} \right) \quad \text{Ec. (A.4)}$$

$$HR_3 = \frac{100 p_{w2}}{Tp_0} \quad \text{Ec. (A.5)}$$

$$HR_4 = \frac{100 p_{w4}}{Tp_0} \quad \text{Ec. (A.6)}$$

$$WVTR_c = WVTR_m \left(\frac{p_{w1} - p_{w4}}{p_{w2} - p_{w3}} \right) \quad \text{Ec. (A.7)}$$

$$WVTR_m = WVTR_c \left(\frac{L}{p_{w1} - p_{w4}} \right) \quad \text{Ec. (A.8)}$$

$$WVP_c = WVTR_c \left(\frac{L}{p_{w2} - p_{w3}} \right) \quad \text{Ec. (A.9)}$$

En donde :

P_T = Presión total atmosférica (kPa)

p_0 = Presión del vapor de agua a la temperatura de la prueba (3.167 kPa)

D = Difusividad del vapor de agua a través del aire a 25 °C = (2.81956 m² / día)

R = Constante universal de los gases (0.000462 m³ kPa/ g°K)

T = Temperatura absoluta durante la prueba (298°K)

L = Grosor del recubrimiento o película (mm)

h_i = Espacio de aire entre la película y la solución de KNO₃ (m)

h_0 = Espacio de aire entre la película y la tapa del desecador (m)

HR_1 = Humedad relativa de la solución saturada en el interior de la celda (%)

HR_2 = Humedad relativa de la solución saturada en el interior de la celda (%)

HR_3 = Humedad relativa real en el lado interno inmediato a la película (%)

HR_4 = Humedad relativa real en el lado externo inmediato a la película (%)

p_{w1} = Presión parcial de vapor de agua sobre la solución saturada de KNO₃ (Pa)

p_{w2} = Presión parcial de vapor de agua sobre la solución saturada de NaCl (Pa)

p_{w3} = Presión parcial de vapor de agua sobre el lado interno de la película (Pa)

p_{w4} = Presión parcial de vapor de agua sobre el lado externo de la película (Pa)

$WVTR_m$ = Valor medido de la transmisión de vapor de agua (g /m² día)

$WVTR_m$ = Valor corregido de la transmisión de vapor de agua (g /m² día)

WVP_m = Permeabilidad al vapor de agua medida (g mm /kPa m² dia)

WVP_c = Permeabilidad al vapor de agua corregida (g mm /kPa m² dia)

Ejemplo:

1) Primero se determina la tasa de transmisión del vapor de agua ($WVTR_m$) con los datos obtenidos de los cambios en peso de las celdas de permeación a través del tiempo y empleando la ecuación 4, de la siguiente manera :

$$WVTR_m = \frac{\text{pendiente}}{\text{area pelicula o recubrimiento}} \quad \text{Ec. (A.10)}$$

El análisis de regresión debe realizarse para asegurar que se obtiene el equilibrio y los coeficientes de regresión deben ser > 0.97 .

La pendiente para el ejemplo es de 0.00116 [g/día]

El área del recubrimiento fue de 0.0000785 [m²]

$$WVTR_m = \frac{0.00116}{0.000075} = 14.7770701 \left[\frac{\text{g}}{\text{m}^2 \text{ día}} \right] \quad \text{Ec. (A.11)}$$

2) De acuerdo con el sistema estático empleado la presión parcial del vapor de agua en el aire sobre la superficie de la solución saturada de KNO₃ (p_{w1}) es $>$ la presión parcial del vapor de agua en el lado interno de la película (p_{w3}), la que a su vez es mayor que la presión parcial del vapor de agua en lado externo de la película (p_{w4}), y ésta última es $>$ la presión parcial del vapor de agua en la superficie de la solución saturada de NaCl en el desecador (p_{w2}).

Esta condición del sistema genera una diferencia de presión parcial aparente:

$$\Delta p_a = p_{w1} - p_{w2} \quad \text{Ec. (A.12)}$$

y una diferencia de presión parcial de vapor real a través de la película:

$$\Delta p_r = p_{w3} - p_{w4} \quad \text{Ec. (A.13)}$$

3) El valor de p_{w1} y de p_{w3} , se pueden calcular de la siguiente manera:

$$p_{w1} = P_0 \left(\frac{HR_1}{100} \right) \quad \text{Ec. (A.14)}$$

$$p_{w3} = P_0 \left(\frac{HR_2}{100} \right) \quad \text{Ec. (A.15)}$$

en donde P_0 es la presión de vapor de agua a la temperatura de la prueba (en este caso a 25°C) y se obtiene de tablas reportadas en la literatura, y equivale a 3.167 kPa.

Sustituyendo datos en las ecuaciones (A.14) y (A.15), se tiene:

$$p_{w1} = 3.167 \left(\frac{92.5}{100} \right) = 2.929475 \text{ kPa} \quad \text{Ec. (A.16)}$$

$$p_{w1} = 3.167 \left(\frac{75}{100} \right) = 2.37525 \text{ kPa} \quad \text{Ec. (A.17)}$$

4) Las ecuaciones que permiten calcular la presión parcial de vapor corregida en el lado interno y externo de la película o recubrimiento hidrofílico, son las siguientes:

$$p_{w2} = P_T - (P_T - p_{w1}) \exp\left(\frac{WVTR_m RTh_i}{P_T D}\right) \quad \text{Ec. (A.18)}$$

$$p_{w4} = P_T - (P_T - p_{w3}) \exp\left(-\frac{WVTR_m RTh_0}{P_T D}\right) \quad \text{Ec. (A.19)}$$

en donde P_T es la presión atmosférica total, que considerando la altura de la Ciudad de México, equivale a 78 kPa; T es la temperatura absoluta durante la prueba y es igual a 298°K; R es la constante universal de los gases y tiene un valor de 0.000462 m³ kPa / g °K; D es el coeficiente de difusión del vapor de agua en el aire, el cual dadas las condiciones de la prueba, puede estimarse mediante la siguiente ecuación:

$$D = \frac{10^{-3} T^{1.75} \left[\frac{1}{M_A} + \frac{1}{M_B} \right]^{1/2}}{P \left[\left(\sum_A v_i \right)^{1/3} + \left(\sum_B v_i \right)^{1/3} \right]^2} \quad \text{Ec. (A.20)}$$

En donde M_A y M_B son los pesos moleculares del agua y del aire, respectivamente, T en °K, P es la presión absoluta en kPa, v_i representa el volumen de difusión atómica (datos obtenidos de tablas) y D está dado en m²/día.

Para el caso en particular $D = 2.819561$ m²/día, $h_i = 1.5$ cm, es el espacio de aire entre la película y la superficie de la solución saturada de KNO₃ en el interior de la celda (vial), y $h_0 = 1.8$ cm es el espacio que se encuentra entre la película y la parte superior de la tapa del desecador que contiene a la celda.

Sustituyendo datos en las ecuaciones (A.18) y (A.19), se tiene que:

$$p_{w2} = 78 - (78 - 2.929) \exp\left(\frac{-14.777 * 0.000462 * 298 * 0.015}{78 * 2.81956}\right) = 2.9192 \text{ kPa} \quad \text{Ec. (A.21)}$$

$$p_{w2} = 78 - (78 - 2.3752) \exp\left(\frac{-14.777 * 0.000462 * 298 * 0.018}{78 * 2.81956}\right) = 2.3876 \text{ kPa} \quad \text{Ec. (A.22)}$$

5) Con los datos anteriores se puede obtener la tasa de transmisión de vapor de agua corregida con la siguiente ecuación:

$$WVTR_c = WVTR_m \left(\frac{P_{w1} - P_{w4}}{P_{w2} - P_{w3}} \right) \quad \text{Ec. (A.23)}$$

Sustituyendo datos:

$$WVTR_c = 14.7188 \frac{\text{g}}{\text{m}^2 \text{dia}} \quad \text{Ec. (A.24)}$$

6) Con la tasa de transmisión de vapor de agua corregida y considerando el grosor de la película o recubrimiento, entonces se puede calcular la permeabilidad al vapor de agua medida del recubrimiento hidrofílico con la ecuación siguiente:

$$WVP_m = \frac{WVTR_m (\text{grosor})}{P_{w1} - P_{w4}} \quad \text{Ec. (A.25)}$$

Sustituyendo datos,

$$WVTR_c = \frac{14.777 * 0.152}{2.9294 - 2.3876} = 1.3683 \frac{\text{g mm}}{\text{kPa m}^2 \text{dia}} \quad \text{Ec. (A.26)}$$

7) La permeabilidad al vapor de agua corregida, puede entonces obtenerse con la siguiente ecuación:

$$WVP_c = \frac{WVTR_c (\text{grosor})}{P_{w2} - P_{w3}} \quad \text{Ec. (A.27)}$$

Y sustituyendo datos, se obtiene que:

$$WVP_c = \frac{14.7188 * 0.152}{2.9192 - 3.3752} = 1.3575 \frac{\text{g mm}}{\text{kPa m}^2 \text{dia}} \quad \text{Ec. (A.28)}$$

8) Finalmente, el porcentaje de error se calcula de la siguiente manera:

$$\% \text{ error} = \frac{WVP_m - WVP_c}{WVP} * 100 \quad \text{Ec. (A.29)}$$

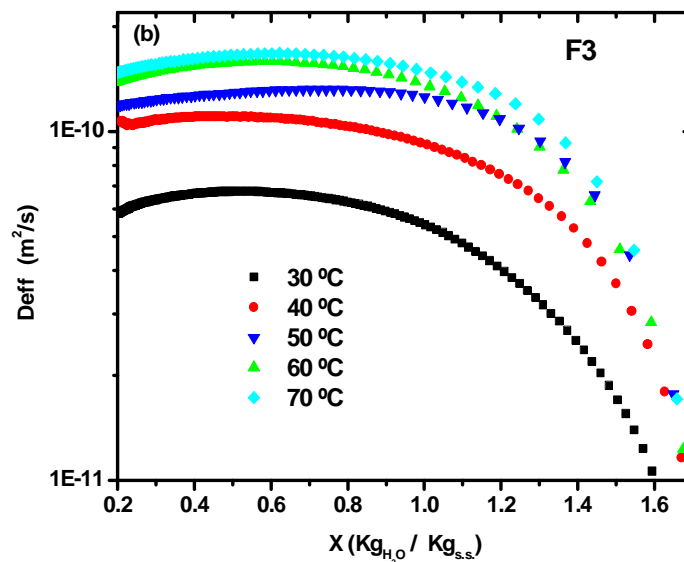
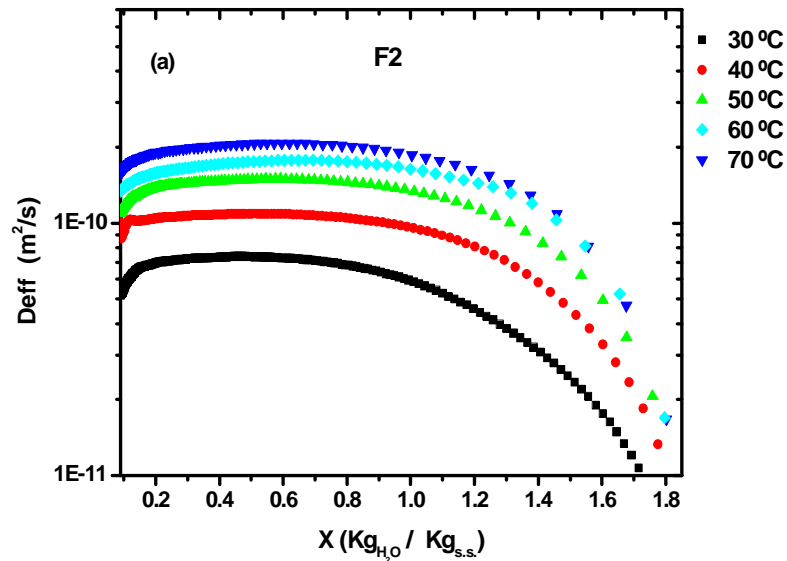
el cual para el ejemplo es de:

$$\% \text{ error} = \frac{1.368 - 1.357}{1.357} * 100 = 0.79\% \quad \text{Ec. (A.30)}$$

Estos cálculos se realizan para cada una de las películas de prueba formuladas y para cada grosor.

Apéndice B. Gráficos de difusividad efectiva

A continuación se muestran el comportamiento de la difusividad efectiva frente al contenido de humedad. El algoritmo para los cálculos de D_{eff} se describe en la metodología.



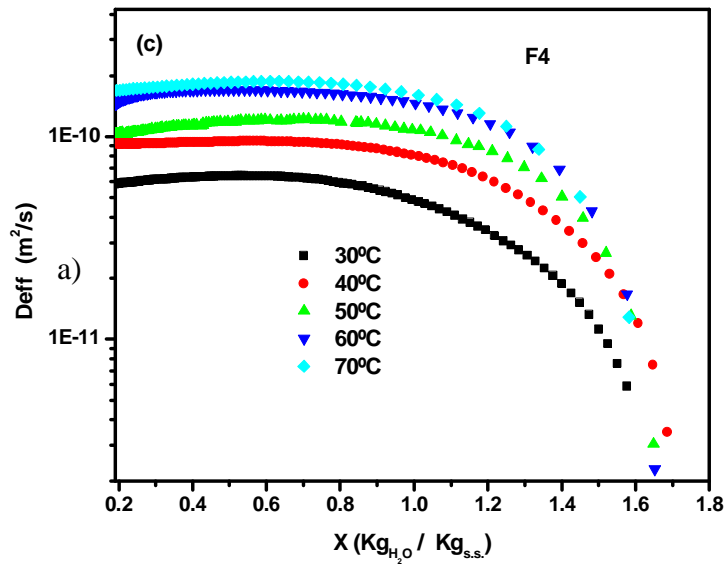
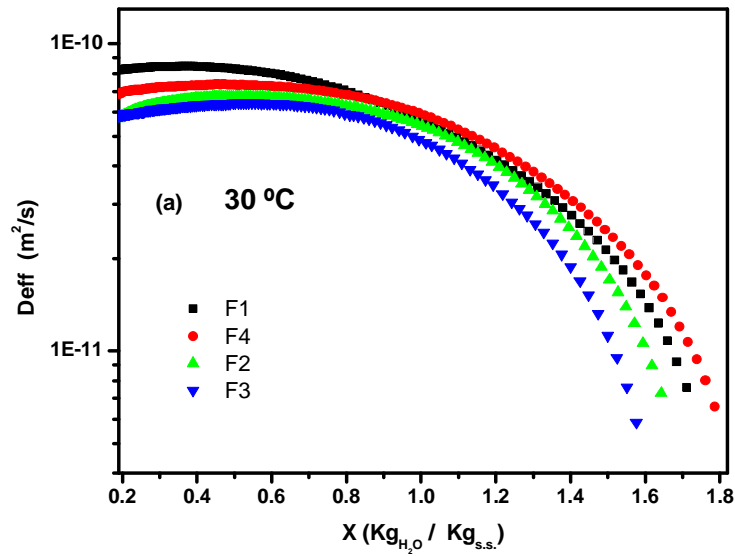


Figura B.1 Influencia del contenido de humedad y temperatura en la difusividad efectiva de la formulación (a)F2, (b) F3 y (c) F4.



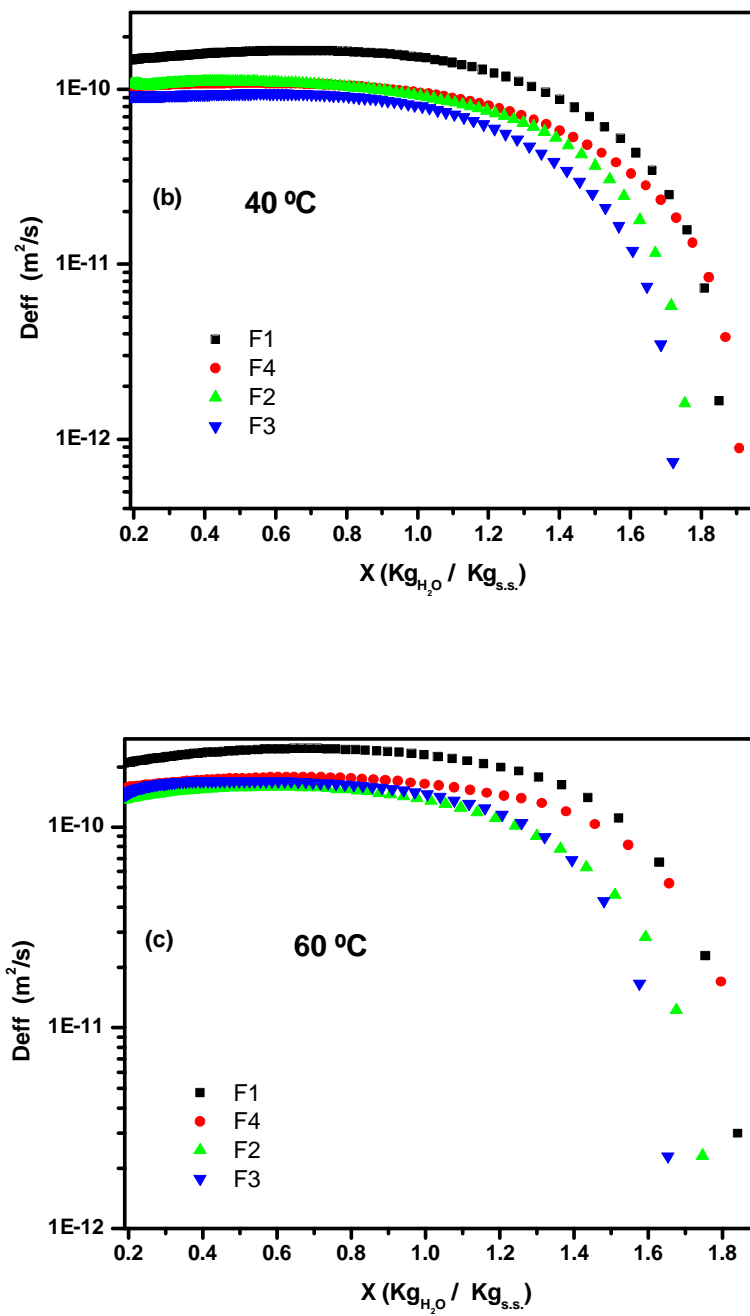


Figura B.2. Influencia del contenido de humedad en la difusividad efectiva para las cuatro formulaciones (a) 30 °C, (b) 40 °C y (c) 60 °C

Apéndice C. Determinación del volumen de la gota de emulsión

Con estos datos del volumen normalizado para cada corrida se obtiene una curva promedio; como lo muestra la Figura C.1.

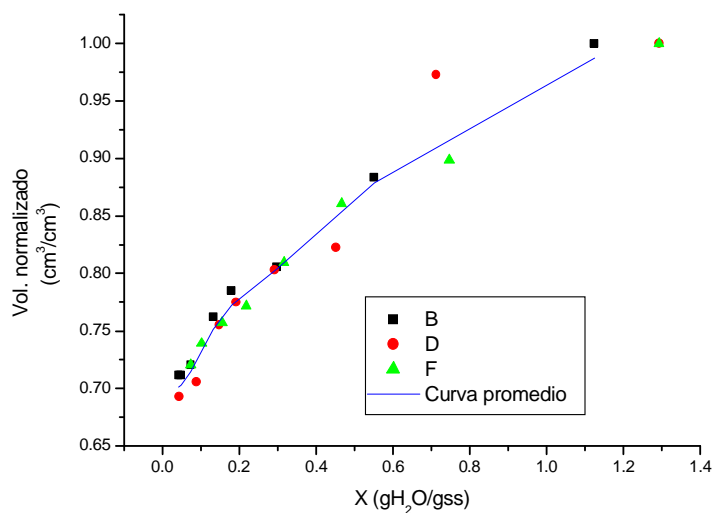


Figura C.1 Obtención de una curva promedio para el cálculo del volumen normalizado.

A partir de la curva promedio se realiza un ajuste polinomial, como lo muestra la figura C.2

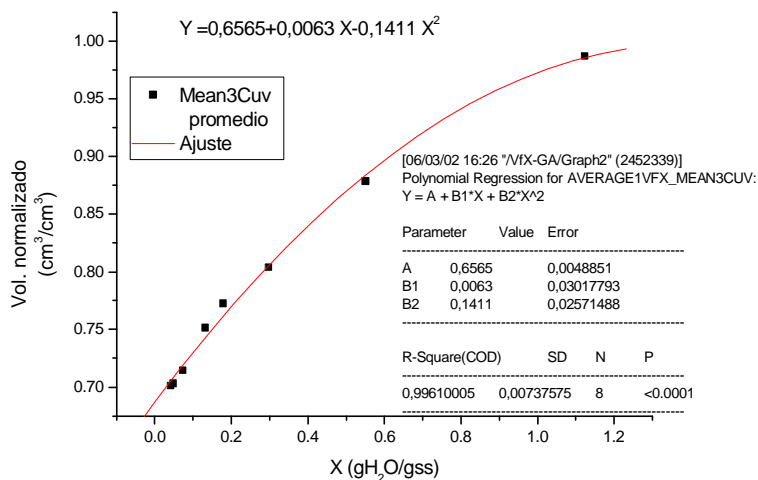


Figura C.2 Ajuste a un polinomio de grado 2 para el volumen normalizado como función del contenido de humedad de una gota de emulsión durante el secado isotérmico.

Apéndice D. Cálculo de la tasa de coalescencia

La tasa de coalescencia se define como el tiempo que tarda la fase dispersa en aumentar su tamaño, al unirse unas gotas con otras.

Es importante su determinación ya que permite conocer el grado de estabilidad de la emulsión. Se calcula a partir de la variación del tamaño de partícula por unidad de volumen de la emulsión con respecto al tiempo, en donde el número de gotas de la fase dispersa a cierto tiempo (N_t), está relacionado con el número inicial de gotas de fase dispersa (N_o) mediante la siguiente expresión:

$$N_t = N_o e^{-Ct} \quad \text{Ec. (D.1)}$$

Donde C es la tasa de coalescencia, y N_t está dado por:

$$N_t = (6 \theta \times 10^{12}) / (\pi D(t))^3 \quad \text{Ec. (D.2)}$$

Donde θ es la fracción volumétrica de la fase oleosa, $D(t)$ es el tamaño promedio de partícula a un tiempo t y 10^{12} es un factor de conversión de micras a cm^3 . Dado que existe una relación lineal entre el logaritmo natural de N_t y t (en segundos); C. o sea la tasa de coalescencia, estará dada por la pendiente de la recta resultante.

En la presente investigación, el diámetro utilizado fue el diámetro volumétrico $D_{4,3}$, el cual se obtuvo de la gráfica que proporciona el analizador de tamaño de partícula Malvern MasterSize 2600. Se calcula el Ln de N_t , donde estos valores se grafican con respecto al tiempo convertido en segundos, posteriormente se realiza una regresión lineal para obtener el valor de la pendiente que representa en la ecuación D.1 la tasa de coalescencia.

Estos cálculos realizan para todas las formulaciones, tomando como criterio la escala reportada (Sherman, 1968).

Intervalos de C (Sherman, 1968).

$< 10^{-11}$	Muy estable
$10^{-6} - 10^{-11}$	Estable
$> 10^{-6}$	muy inestable