

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
IZTAPALAPA**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA



TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
(INGENIERÍA QUÍMICA)

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESTABILIDAD Y DEGRADACIÓN DE
CAROTENOIDES NATURALES INCORPORADOS EN EMULSIONES ACEITE-
AGUA (O/W) Y AGUA-ACEITE-AGUA (W/O/W)”**

PRESENTA

I. Q. Arturo Pérez Román

ASESOR

Dr. E. Jaime Vernon Carter

SINODALES

Dra. Consuelo Silvia Olivia Lobato Calleros

Dr. Humberto Vázquez Torres

Agradecimientos

A CONACYT, por financiar este proyecto a través del proyecto 81157-U “Estudio comparativo de la estabilidad y degradación de carotenoides naturales incorporados en emulsiones aceite-agua (O/W) y agua-aceite-agua (W/O/W)”.

A mis asesores de Tesis por todo el apoyo y toda la paciencia que me han tenido para la conclusión de este trabajo.

A mis padres Raymundo y Elodia por haberme llenado de principios, valores, educación, y muy en especial, por mostrarme siempre ese amor incondicional de padres.

A mis hermanos Juan Jesús y Daniel Benjamin por ser siempre fuente de admiración, inspiración y apoyo para seguir adelante.

A mis Tías y Tíos quienes siempre han estado a mi lado siendo parte de mi formación. Muy en especial, a quien ha sido ejemplo de vida y guía en mi camino, muchas gracias Tía Chuy.

A mis sobrinos Jesús Raúl (Yisus) y Carlos Alejandro (Alex) quienes han venido a llenar mi casa de alegría y esperanza.

A ti Favi por escuchar y entender mis problemas, además de ser la persona más linda, tierna y noble que pude haber encontrado, y con quien pienso compartir un hermoso futuro.

A mis grandes amigos J. Juan, J. Alfredo, J. Luis y Julio que me apoyaron en todo momento durante los desvelos en el glorioso T-146 y con quienes compartí grandes e inolvidables parrandas. Sin Uds. tampoco lo hubiera logrado.

A todos aquellos que han sido parte de mi historia y han dejado un recuerdo inolvidable en mi ser.

A ti vida, por seguirme retando con obstáculos día a día que me permitan recordar lo hermosos que es sentirse vivo.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 Colorantes	5
1.2 Colorantes Naturales y la Industria Alimentaria	8
1.3 Aspectos Legales de los Colorantes Alimentarios	9
1.4 Carotenoides	10
1.5 Estructura de los Carotenoides	11
1.6 Presencia y Distribución	12
1.7 Propiedades Físicas, Extracción y Análisis	13
1.8 Propiedades Químicas	14
1.9 Estabilidad durante el Procesado	17
1.10 Emulsiones Simples y Múltiples: Definición y Clasificación	19
1.11 Estabilidad y Tipos de Inestabilidad	21
1.12 Agentes Emulsificantes y Estabilizantes	26
1.13 Biopolímeros	27
1.14 Gomas; Arábica y Mezquite	27
2. JUSTIFICACIÓN	29
3. HIPÓTESIS	30
4. OBJETIVOS	30
5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	31
5.1 Materiales	31
5.2 Formulación y Preparación de Emulsiones Simples (O/W)	31

5.3	Formulación de Emulsiones Múltiples ($W_1/O/W_2$)	33
5.4	Análisis de Tamaño de Gota y Estabilidad de las Emulsiones	34
5.4	Microscopía Óptica (Morfología de las Emulsiones)	35
5.5	Espectrofotometría y Concentración de Carotenoides Totales	36
5.6	Análisis Estadístico	36
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
6.1	Distribución del Tamaño de Gota y Determinación de la Cinética de Coalescencia	37
6.1.1.	Emulsiones Simples	37
6.1.2.	Emulsiones Múltiples	43
6.2.	Microscopía Óptica (Morfología de las Emulsiones)	50
6.2.1.	Emulsiones Simples	50
6.2.2.	Emulsiones Múltiples	50
6.3.	Cinética de Degradación y Vida Media de Carotenoides	57
6.3.1	Emulsiones Simples	58
6.3.2	Emulsiones Múltiples	63
7.	CONCLUSIONES	68
8.	BIBLIOGRAFÍA	69
9.	ANEXOS	73
	Anexo A	74
	Anexo B	77

RESUMEN

El presente trabajo muestra la formulación de emulsiones simples aceite-agua (O/W_2) y emulsiones múltiples agua-aceite-agua $W_1/O/W_2$, usando como emulsionantes y agentes protectores, goma de mezquite, goma arábiga y la mezcla de ambas. Las emulsiones fueron evaluadas por difracción de luz, microscopía óptica, y espectrofotometría. Los resultados obtenidos mostraron que una relación de biopolímero : fase oleosa de entre 2:1 y 3:1 favorece diámetros volumétricos inicial y final, así como su cinética de coalescencia tanto en emulsiones simples como en emulsiones múltiples. Sin embargo ésta relación no afecta de manera significativa ni la cinética de degradación ni el tiempo de vida media para ningún tipo de sistema de emulsificación. Por otra parte la composición de la fase de biopolímeros sí afecto de manera significativa los diámetros volumétricos inicial y final, la tasa de coalescencia, la cinética de degradación y el tiempo de vida media de emulsiones simples y múltiples, obteniendo que una composición de biopolímeros de 40% goma de mezquite y 60% de goma arábiga brinda mayor la estabilidad a ambos sistemas de emulsiones. Sin embargo, las muestras con mayor porcentaje en goma de mezquite fueron las que mayor protección ofrecieron contra la degradación de los carotenoides en ambos sistemas de emulsificación.

Palabras clave: Carotenoides, emulsiones simples emulsiones múltiples, biopolímeros, goma de mezquite, goma arábiga.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Colorantes

Para comprender los colorantes de los alimentos se requiere primero precisar algunos términos. El color se relaciona a la percepción humana de los materiales coloreados: rojo, verde, azul, etc. Un colorante es cualquier sustancia química natural o sintética que confiera color. La coloración de los alimentos se debe a la capacidad que tienen para reflejar o emitir diferentes cantidades de energía a longitudes de onda que estimulen la retina del ojo. El intervalo de energía al cual es sensible el ojo humano se conoce como luz visible y éste depende de la sensibilidad individual, pero, por lo general, abarca longitudes de onda aproximadamente de entre 380-770 nm. Este intervalo comprende sólo una porción muy pequeña del espectro electromagnético (Figura 1.1). Cabe destacar que, además de los colores obvios, el negro, blanco y los grises intermedios también son considerados como colores.

Los pigmentos son sustancias naturales, derivados de las células y tejidos vegetales y animales que confieren color. El término colorante se utiliza usualmente en la industria textil. En la industria alimentaria de los EE UU se entiende por colorante aquél que posee una pureza de grado alimentario, es soluble en agua y está certificado por la U.S. Food and Drug Administration (FDA). Estos colorantes específicos se conocen como «colores certificados», asignándose a cada uno un número FD&C. La designación FD&C significa que el colorante se puede utilizar en los alimentos, los medicamentos y los cosméticos.

En conjunto con la lista aprobada de colorantes certificados, existe también la FD&C para lacas. Las lacas son colorantes que se extienden sobre un sustrato y son dispersables en aceite. La combinación colorante/sustrato se obtiene por adsorción, coprecipitación o reacción química. El complejo está formado por la sal de un colorante primario soluble en agua y un estrato base insoluble aprobado. La alúmina es el único sustrato aprobado para preparar lacas FD&C. A parte de los ya mencionados existen otros colorantes y lacas aprobados para su uso en otros países, en los que las especificaciones son establecidas por la Comunidad Económica Europea (CEE) o la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los colorantes exentos de certificación son pigmentos naturales o sustancias artificiales idénticas al pigmento natural. La Tabla 1.1 presenta una clasificación de los colorantes y un ejemplo de cada clase de los mismos (Delgado-Vargas y Paredes-López, 2003; Badui-Delgar, 1999; Fennema, 2000).

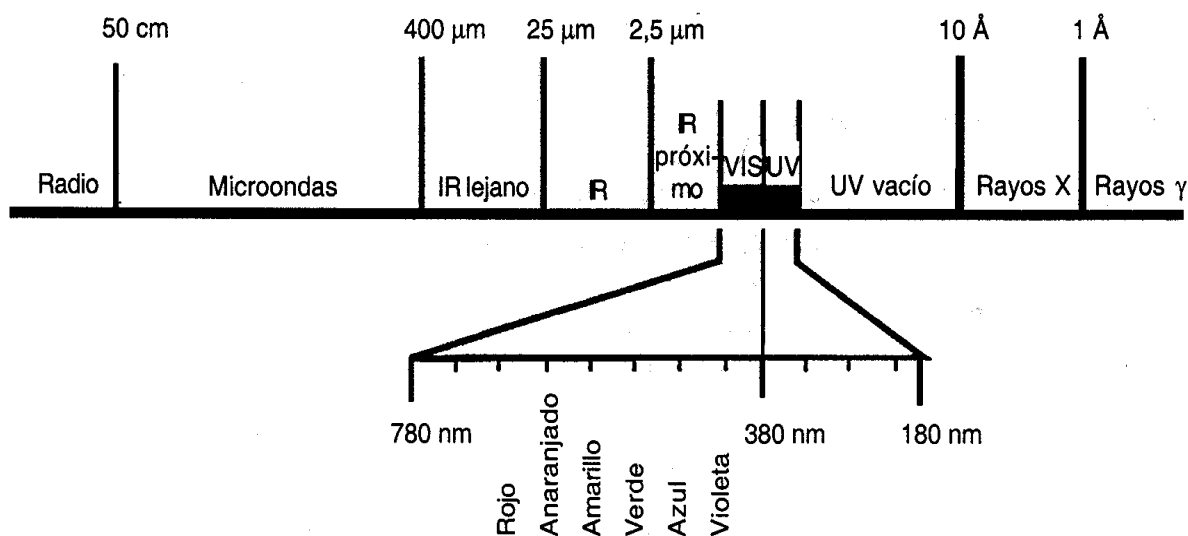


Figura 1.1 Espectro Electromagnético.

Los atributos de calidad más importantes de los alimentos son quizá el color y la apariencia. Debido a la capacidad y facilidad para percibir estas características, son las primeras evaluadas por el consumidor al adquirir los alimentos. Se pueden ofrecer al consumidor los alimentos más nutritivos, sanos y económicos, pero si no son atractivos, no se provocará su venta. Los consumidores también relacionan colores específicos con la calidad. El color específico de las frutas suele asociarse con su madurez, en tanto que el color rojo de la carne cruda se asocia con su frescura, y una manzana verde se puede juzgar poco madura (aunque algunas manzanas verdes están maduras) y las carnes de color rojo pardo pueden ser juzgadas como no frescas.

El color también influye en la percepción del sabor. El consumidor espera que las bebidas rojas sean de fresa, frambuesa o cereza, las amarillas de limón y las verdes de lima. También se ha demostrado el impacto del color en la percepción del sabor dulce. Téngase en cuenta, además, que algunas sustancias como el β -caroteno o la riboflavina no son sólo colorantes, sino también nutrientes. Por tanto, el color de los alimentos tiene múltiples efectos sobre el consumidor y es erróneo considerar el color como algo puramente estético (Fennema, 2000).

Desafortunadamente, la mayoría de los pigmentos alimentarios son inestables durante el desarrollo del proceso y su almacenamiento. Prevenir los cambios no deseados es comúnmente difícil o casi imposible. Dependiendo del pigmento, su estabilidad se verá alterada por factores como la presencia de luz, oxígeno, metales pesados y agentes oxidantes o reductores, la temperatura, la actividad de agua y el pH. (Delgado-Vargas y Paredes-López, 2000).

Tabla 1.1 Clasificación de los colorantes

Colorante	Ejemplo
A Certificado	
1 Colorante (Sintético)	FD & C Rojo No. 40
2 Laca	Laca de FD & C Rojo No. 40
B Exento de Certificación	
1 Pigmentos Naturales	Antocianina, jugo concentrado, extracto de bija
2 Artificiales homólogos de derivados naturales (Sintéticos idénticos a los naturales)	β -Caroteno

En general, la mayoría de los pigmentos biológicos son agrupados dentro de no más de seis tipos de estructuras; tetrapirroles, isoprenoides, quinonas, benzopiranos, compuestos N-heterocíclicos y metaloproteínas. (Delgado-Vargas y Paredes-López 2003)

De manera específica, los isoprenoides, también llamados terpenoides, constituyen una gran familia de compuestos naturales; se encuentran en todo el reino natural donde pueden llevar a cabo múltiples funciones. Aproximadamente 23,000 compuestos isoprenoides individuales han sido identificados y cada año se reportan nuevas estructuras.

En la industria alimentaria se dividen de manera general ocho categorías de colorantes: carotenoides, clorofilas, antocianinas, flavonoides, betalainas, taninos, mioglobina y hemoglobina (Badui-Delgar, 1999).

Las clorofilas y los carotenoides son los pigmentos más abundantes en la naturaleza. Ellos están involucrados en procesos fundamentales, y la vida sobre la Tierra depende de ellos. Plantas, bacterias

fotosintéticas, y microorganismos (plancton) son las principales fuentes de la materia orgánica que se requiere para el desarrollo de otros organismos vivos tales como animales vertebrados e invertebrados. Las clorofilas no se encuentran en animales pero los carotenoides se acumulan en algunos órganos (ojos) y tejidos (en la piel de peces o plumajes de aves). Habitualmente, los carotenoides de los animales son obtenidos de la dieta común.

1.2 Colorantes Naturales y la Industria Alimentaria

Los productos naturales fueron usados para dar una apariencia atractiva a productos hechos por el hombre desde el comienzo de las primeras civilizaciones. Para dar el color amarillo a una gran variedad de alimentos se utilizaba frecuentemente el azafrán y otras especies y hay evidencias de que la mantequilla era coloreada con estos productos. El uso de colorantes provenientes de minerales se da durante el siglo diecinueve, pero algunos de ellos causaron graves daños a la salud.

En la pigmentación de dulces eran utilizados el cromato de plomo y el sulfato de cobre, pero durante el proceso de pigmentación se adicionaban, muy a menudo, impurezas venenosas como el arsénico. Simultáneamente, el alquitrán y otros derivados del petróleo eran usados como colorantes en alimentos, medicinas y cosméticos; pero a través de los años su importancia disminuyó. Actualmente sólo siete pigmentos sintéticos pueden ser usados en la pigmentación alimentaria bajo las regulaciones de la FDA. Sin embargo, en los últimos 30 años los aditivos sintéticos han sido severamente criticados y los consumidores muestran algún rechazo hacia esos productos y, como consecuencia, el consumidor ha ido prefiriendo los colorantes naturales (Delgado-Vargas y col, 2000).

Esta reducción de los colorantes sintéticos comenzó alrededor de la década de los cuarenta, y todos los comestibles sufrieron severas críticas; entre ellos los aditivos sintéticos y, particularmente, los pigmentos alimentarios fueron atacados. Los movimientos activistas ambientales de la década de los sesentas y los setentas en los Estados Unidos fueron directamente enfocados sobre los aditivos alimenticios, y éste rechazo se difundió a través del mundo entero. Los colorantes fueron el punto perfecto, ya que se argumentaba que los pigmentos sólo tenían un valor cosmético y que podían causar daño.

Ante estos acontecimientos, la industria alimentaria comenzó a desarrollar alimentos más saludables, tomando a las características nutricionales como un arma de venta. De este modo, se comenzó a dar una tendencia mundial al uso de los colorantes naturales. Hoy en día, la mayoría de las

personas relacionan la incorporación de productos químicos a los alimentos como un contaminante. Esta creencia se refuerza día a día, y todo indica que continuará en el futuro (Delgado-Vargas y col. 2000, 2003).

Resaltando estas condiciones, se puntualiza que cerca de dos millones de patentes han sido registradas para colorantes naturales, y sólo 71 colorantes sintéticos. El número de ventajas de los colorantes naturales sobre los sintéticos se ha ido incrementado debido a las propiedades farmacológicas de los pigmentos naturales. Sin embargo, es preciso mencionar que los colorantes sintéticos tienen ciertas ventajas sobre los colorantes naturales; entre éstas destacan el mayor poder de pigmentación, mayor estabilidad durante el almacenamiento, facilidad en el procesamiento, al mismo tiempo de ser más baratos y de encontrarse en cantidades ilimitadas. Por otra parte, ciertos productos aumentan su valor de mercado sólo si son tintados con productos naturales (Delgado-Vargas y col, 2000).

1.3 Aspectos Legales de los Colorantes Alimentarios

Los colorantes fueron unos de los primeros productos hechos por el hombre regulados por leyes. La pigmentación de productos lácteos fue el primer proceso sujeto a regulación gubernamental. En 1900 en una reunión en los E. U., sobre colores y preservativos, se determinó que el gobierno tenía la responsabilidad de investigar la seguridad de esos productos antes de emitir alguna regulación. La FDA publicó en 1938 una lista de colorantes de alquitrán que podrían ser utilizados como aditivos en alimentos; de igual manera, se decretó que la FDA tenía la autoridad para certificar los lotes de colorantes. Debido a lo anterior, los aditivos de color serían las primeras sustancias en ser revisadas antes de su comercialización (Delgado-Vargas y col. 2000,2003; Christopher-Bauernfeind, 1981)

Inicialmente, los colorantes sintéticos fueron prohibidos por considerarse productos dañinos a la salud, pero en 1958 se dio un importante cambio; los aditivos fueron redefinidos y surgió una nueva clasificación: 1) Sustancias aprobadas por la FDA o la USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos) sustancias sancionadas anteriormente (1938-1958). 2) Sustancias que son reconocidas generalmente como seguras (denominadas GRAS por sus siglas en inglés), las cuales no requieren de una previa evaluación por la FDA para ser comercializadas y, 3) Todas las sustancias adicionales suministradas como aditivos alimentarios, las cuales deben ser evaluadas por la FDA antes de su comercialización. Dentro de esta última categoría fueron incluidos los aditivos de color.

Asimismo, a finales de los cincuentas, se incluyó la cláusula Delaney que dicta lo siguiente: “ningún aditivo debe ser juzgado como seguro si se encuentra que induce cáncer cuando es ingerido por el hombre o por un animal o si esto se comprueba después de ensayos apropiados, para la evaluación de la seguridad de aditivos para alimentos”.

Durante ese mismo periodo y con la mejora de la FD&C, el congreso determinó que todos los aditivos de color requerían la aprobación de la FDA para ser comercializados. Cabe señalar que la nueva regulación también incluye los colores sancionados durante el periodo entre 1938 y 1958. Es importante resaltar que todos los aditivos de color deben ser considerados como aditivos y no como sustancias GRAS, así la regulación para aditivos de color es más fuerte que para otros aditivos. A comienzo de los noventas, se aprobó la obligación de los productores a etiquetar todos los productos bajo cierta reglamentación. Con respecto al color, se estableció que todos los colores certificados usados en alimentos deben estar indicados en la etiqueta, pero los exentos de certificación (estos incluyen los pigmentos naturales aceptados) deben ser genéricamente agrupados como colorantes. Esto dio una clara ventaja al uso de los colorantes naturales sobre los sintéticos, ya que los consumidores tienen desconfianza de estos últimos. Por otro lado, los aditivos exentos de certificación provienen de productos naturales comunes: Betabel, zanahoria, frutas, chile, entre otros, y se debe esperar que la reglamentación sea menos severa para estos productos (Delgado-Vargas y col. 2000,2003; Christopher-Bauernfeind, 1981).

1.4 Carotenoides

Los Carotenoides son los pigmentos más ampliamente distribuidos en la naturaleza, con una producción anual de biomasa en el planeta estimada en alrededor de 100 millones de toneladas al año. La gran mayoría de estos pigmentos son biosintetizados por la población de algas en los océanos. En las plantas superiores, los carotenoides de los cloroplastos están a menudo enmascarados por los pigmentos de clorofilas más dominantes (Christopher-Bauernfeind, 1981 y 1972; Britton, 1996; B-Hutchings, 1999).

Desde hace varias décadas se sabe que los carotenoides juegan funciones importantes en la fotosíntesis y fotoprotección de los tejidos vegetales (Goodwin, T. W. 1980). En todos los tejidos que contienen clorofila, los carotenoides funcionan como pigmentos secundarios en la captación de energía

luminosa. El papel fotoprotector de los carotenoides se debe a su capacidad para fijar e inactivar las especies reactivas del oxígeno formadas por exposición a la luz y al aire. Además, los carotenoides específicos presentes en las raíces y en las hojas actúan como precursores del ácido abscísico, un compuesto que funciona como mensajero químico y regulador del desarrollo (Davies, 1991; Parry y Horgan, 1992).

El papel más importante de los carotenoides en la dieta humana y de otros animales es su capacidad para funcionar como precursores de la vitamina A. Aunque el β -caroteno posee la mayor actividad pro-vitamina A debido a sus dos anillos de β -ionona (Anexo A), otros carotenoides consumidos ordinariamente, como el α -caroteno y la β -criptoxantina, también poseen actividad provitamina A. Se estima que los carotenoides presentes en frutas y hortalizas proporcionan del 30% al 100% de las necesidades de vitamina A de la población humana. Un prerrequisito para la actividad de la vitamina A es la existencia en el carotenoide de la estructura retinoide (con el anillo de β -ionona). Así, sólo unos pocos carotenoides poseen actividad vitamina A (Fennema, 2000).

Existen numerosos estudios que han llamado la atención sobre estos pigmentos como consecuencia de sus beneficios farmacológicos, según los cuáles la composición de frutas y hortalizas con un contenido alto de carotenoides se asociaba a un descenso de la incidencia de ciertos tipos de cáncer (Peto, Doll, Buckley and Sporn, 1981). Más recientemente, el interés se ha centrado en la presencia de isómeros de los carotenoides en la dieta, incluidos por el procesado y su importancia fisiológica. Estos hallazgos han estimulado un sustancial aumento de la investigación sobre los carotenoides (Britton, 1996; Delgado-Vargas y col, 2000, 2003).

1.5 Estructura de los Carotenoides

Los carotenoides pertenecen a dos grupos estructurales, los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantofilas que están oxigenadas. Los carotenoides oxigenados (xantofilas) forman un grupo de derivados que frecuentemente contiene grupos hidroxilo, epoxilo, aldehído y cetona. Por otro lado, cuando se consideran los isómeros de las formas *cis* o *trans* es posible una mayor cantidad de configuraciones (Badui-Delgar, 1999; Britton, 1996).

El esqueleto estructural básico de los carotenoides está formado por unidades de isopreno

enlazadas covalentemente, bien cabeza-cola, o bien, cola-cola, creándose moléculas simétricas (Anexo A). Otros carotenoides se derivan de esta estructura primaria de 40 carbonos. Algunas estructuras contiene grupos finales cíclicos (metacaroteno, Anexo A), en tanto que otras poseen una ciclación o ninguna (licopeno, el principal pigmento de los tomates) (Anexo A) (Fennema, 2000).

El carotenoide hallado más frecuentemente en los tejidos vegetales es el β -caroteno. Este carotenoide también se utiliza como colorante de los alimentos. Tanto las formas naturales como las sintéticas se pueden añadir a los productos alimenticios. El Anexo A presenta algunos carotenoides de las plantas; b-caroteno (zanahorias), capsantina (pimientos rojos y pimentón), luteína, un diol de un α -caroteno, sus esteres (pétalos de caléndula) y bixina (extracto de semilla de bija). Otros carotenoides comunes presentes en los alimentos son la zeaxantina (un diol de β -caroteno diol), la violaxantina (un carotenoide epóxico), la neoxantina (un triol alénico) y la β -criptoxantina (un derivado hidroxilado del β -caroteno) (Badui-Delgar, 1999; Britton, 1996, 1995; Fennema, 2000).

1.6 Presencia y Distribución

Los tejidos vegetales comestibles contienen una gran diversidad de carotenoides. Las frutas rojas, amarillas y naranjas, las raíces comestibles y las hortalizas son ricas en carotenoides. Ejemplos sobresalientes son los tomates (licopeno), las zanahorias (α y β -carotenos), los pimientos rojos (capsantina), las calabazas (β -caroteno), los zumos de cítricos con pulpa (β -caroteno), el maíz (luteína y zeaxantina) y el boniato (β -caroteno). Todas las hortalizas de hojas verdes contienen carotenoides, pero su color está enmascarado por el verde de las clorofilas. En general, las mayores concentraciones de carotenoides existen en aquellos tejidos con mayores cantidades de clorofilas. Por ejemplo, las espinacas y la alfalfa son ricas en carotenoides y los guisantes, judías verdes y espárragos los contienen en cantidades significativas. Además, están ampliamente distribuidos en la naturaleza los esteres de carotenoides hidroxilados con ácidos grasos. Más de 300 carotenoides fueron identificados para 1972, y aproximadamente unas 600 estructuras de carotenoides para 1992 (Fennema, 2000; Badui-Delgar, 1999; Britton, 1996; Delgado-Vargas y col., 2000, 2003).

Son muchos los factores que influyen en el contenido de los carotenoides de las plantas. En algunas frutas, la maduración puede ocasionar cambios drásticos de los carotenoides. Por ejemplo, en

los tomates el contenido de carotenoides, especialmente licopeno, aumenta significativamente durante el proceso de maduración. Así, las concentraciones difieren según el estado de madurez de la planta, y después de ser recolectados, los carotenoides del tomate continúan siendo sintetizados. Como quiera que la luz estimule la biosíntesis de carotenoides, el aumento de exposición a la luz aumenta su concentración. Otros factores que alteran la presencia y cantidad de carotenoides son: el clima en que se desarrollan, los pesticidas, los fertilizantes utilizados y el tipo de suelo (Gross, 1991).

1.7 Propiedades Físicas, Extracción y Análisis

Todas las clases de carotenoides (hidrocarburos; carotenos y licopeno, y las xantofilas oxigenadas) son compuestos lipófilos, por lo tanto son solubles en los aceites y en los disolventes orgánicos. Son moderadamente termoestables y pierden el color por oxidación. Los carotenoides se isomerizan fácilmente debido al calor, los ácidos o la luz. Como quiera que su color varíe del amarillo al rojo, las longitudes de onda para la detección de los carotenoides oscilan en un intervalo de aproximadamente 400-500 nm. Las longitudes de ondas mayores suelen utilizarse para algunas xantofilas a fin de prevenir la interferencia de las clorofilas. Muchos carotenoides manifiestan desplazamientos espectrales después de reaccionar con diversos agentes y estos cambios espectrales son útiles para ayudar a su identificación (Badui-Delgar, 1999, Fennema, 2000).

La compleja naturaleza y diversidad de los compuestos carotenoides presentes en las plantas exige su separación cromatográfica (Schanderl, Marsh, and Chichester, 1965). Los procedimientos de extracción para la separación cuantitativa de los carotenoides de los tejidos utilizan disolventes orgánicos que tienen que penetrar en la matriz hidrófila. Comúnmente, se emplean las mezclas hexano-acetona para este fin, pero a veces es necesario utilizar disolventes y tratamientos especiales para alcanzar una separación satisfactoria (Khachik, Beecher, and Whittaker. 1986).

Se han desarrollado muchos procedimientos cromatográficos, incluso HPLC, para la separación de carotenoides. Retos analíticos especiales se presentan cuando hay que separar e identificar esteres de los carotenoides, isómeros *cis/trans* e isómeros ópticos (Tee and Lim. 1991; Scott, 1992).

1.8 Propiedades Químicas

Oxidación

La estabilidad de un pigmento particular a la oxidación depende mucho del medio en el que se encuentra. La estructura poliénica de los carotenoides los hace altamente reactivos. La estructura es rica en electrones y susceptible a ser atacada por agentes electrofilicos responsables de la inestabilidad de los carotenoides contra la oxidación y dándoles la característica de radical. Los carotenoides, después de su aislamiento, son susceptibles a la oxidación y su degradación es muy rápida si son almacenados en presencia de trazas de oxígeno (Britton, 1996; Klaui y Bauernfeind, 1981). Además, mantener los carotenoides en disolventes orgánicos suele acelerar su descomposición. Debido a la estructura altamente conjugada e insaturada de los carotenoides, los procesos de degradación son muy complejos. Estos productos están casi todos sin caracterizar, excepto el β -caroteno. La Figura 1.2 muestra diversos productos de degradación del β -caroteno durante su oxidación y tratamientos térmicos. Durante la oxidación, inicialmente se forman epóxidos y compuestos carbonilo. Cuando la oxidación continúa, se forman compuestos mono y dioxigenados de cadena corta, entre ellos la epoxi- β -ionona. Por lo general, los epóxidos se forman principalmente en los anillos terminales, en tanto que la escisión oxidativa ocurre en una diversidad de lugares a lo largo de la cadena. Para carotenoides provitamina A, la formación de epóxidos en el anillo se acompaña de pérdida de la actividad provitamina. Cuando la auto-oxidación es extensa, ocurre el blanqueo de los carotenoides y la pérdida de color (Fennema, 2000).

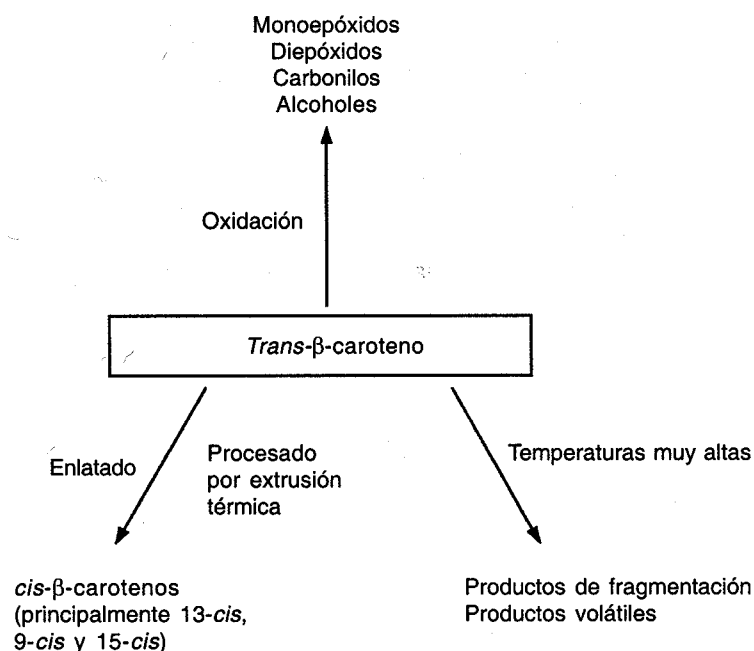


Figura 1.2 Degradación del todo- β -caroteno.

La actividad enzimática, especialmente lipo-oxigenasa, acelera la degradación oxidativa de los carotenoides; esto ocurre por un mecanismo indirecto. La lipo-oxigenasa cataliza primero la oxidación de los ácidos grasos insaturados o poli-insaturados para producir peróxidos y éstos, a su vez, reaccionan fácilmente con los carotenoides. De hecho, este esquema de reacción acoplada es muy eficiente y la pérdida de color del caroteno y el descenso de la absorbancia en disolución a menudo se utilizan para el ensayo de actividad lipooxigenasa (Aziz, Grossman, Ascarelli and Budowski, 1971).

Actividad Antioxidante

A pesar de que los carotenoides se oxidan fácilmente, no sorprende que tengan propiedades antioxidantes. En presencia de oxígeno molecular, fotosensibilizadores (por ej., la clorofila) y luz, se puede producir oxígeno singulete que es una especie del oxígeno altamente reactiva. Es sabido que los carotenoides fijan el oxígeno singulete y, por tanto, protegen de la lesión oxidativa celular. No todos los carotenoides son igualmente eficaces como protectores fotoquímicos. Por ejemplo, se sabe que el licopeno es especialmente eficiente para captar el oxígeno singulete en comparación con otros carotenoides (Di Mascio, Kaiser and Sies, 1989 y 1992).

Se ha propuesto que las funciones antioxidantes de los carotenoides juegan un papel para limitar el cáncer, las cataratas, la aterosclerosis y el proceso de envejecimiento (Canfield, Krinsky and Olson, 1993).

Estudios *in vivo* e *in vitro* han mostrado que el papel fotoprotector de los carotenoides está relacionado con su actividad antioxidante. También se ha establecido que la estructura de los carotenoides tiene una gran influencia en su actividad antioxidante; por ejemplo, la cantaxantina y la astaxantina muestran mejor actividad antioxidante que el β -caroteno y la zeaxantina. No obstante, la actividad antioxidante depende también del sistema en el que se utilicen o se encuentren (Delgado-Vargas y col. 2003).

La actividad antioxidante de la luteína, el licopeno, la bixina, el β -caroteno y el γ -tocoferol fue evaluada en triglicéridos en presencia de aire y luz. Se reportó que la luteína, el licopeno y el β -caroteno actúan como prooxidantes, favoreciendo la formación de hidroperóxidos; no obstante si se adiciona una pequeña cantidad de γ -tocoferol a estos pigmentos, el fenómeno es revertido y entonces actúan como antioxidantes con una actividad mayor que la que podría proporcionar el γ -tocoferol por sí mismo (Haila y col. 1996).

Halliwell (1996), evaluó la actividad antioxidante de los carotenoides contra radicales y estableció el siguiente orden de actividad decreciente: licopeno > β -criptoxantina > luteína = zeaxantina > α -caroteno > cantaxantina = astaxantina. El licopeno mostró tres veces más actividad que γ -tocoferol y se concluyó que la actividad antioxidante es influida por la polaridad que se incrementan con la presencia de grupos funcionales en el anillo terminal.

Muchas enfermedades como el cáncer involucran procesos oxidativos mediados por radicales libres. Los carotenoides, por su efecto antioxidante, pueden proporcionar beneficios en tales enfermedades; sin embargo, su función no está completamente demostrada (Woodall y col. 1997; Giovannucci, 1999).

Sies (1997) indicó que los carotenoides, radicales α -tocoferol y ácido ascórbico desarrollan su función disminuyendo el contenido de compuestos nitrogenados dañinos. También fue observado un efecto sinérgico entre el β -caroteno y las vitaminas E y C, en la protección celular. Esto fue explicado en función de que el β -caroteno no sólo destruye oxiradicales, sino que también repara radicales tocoferoles producidos cuando el α -tocoferol destruye oxiradicales.

Se han realizado numerosos estudios en los que se relaciona la ingesta de carotenoides con la disminución de riesgo de tener varios tipos de cáncer. Por ejemplo, se ha observado una relación inversa entre el consumo de tomate y el riesgo de cáncer gástrico. Esta consistente relación, advertida en diversas poblaciones de Europa, Asia y Estados Unidos, sugiere un efecto protector del consumo de tomate o licopeno contra el cáncer gástrico. Cabe mencionar que el cáncer de estómago es una de las mayores causas de muerte por cáncer en el mundo. También se ha sugerido que el licopeno tiene efectos benéficos en cáncer de próstata, pulmón, páncreas, colon-rectal, esófago, seno y cérvico-uterino (Giovannucci, 1999).

Otros estudios evaluaron el efecto anticarcinogénico de α -caroteno, β -caroteno, luteína, β -criptoxantina, zeaxantina, que son carotenoides encontrados en frutas y vegetales de consumo general. Encontraron que α -caroteno y β -caroteno previnieron la formación de tumores cancerígenos de piel, pulmón, hígado y colon. La luteína disminuyó la tendencia a formar tumores pulmonares; la zeaxantina evita la tumorigénesis espontánea en hígado de ratones en concentración de 0.005% suministrada como emulsión en el agua de beber. La β -criptoxantina, encontrada en naranjas, tiene un gran potencial, ya que en estudios *in vitro* ha mostrado la actividad más fuerte de inhibición de formación de tumores cancerígenos, entre los carotenoides (Nishino y col., 1999).

Isomerización cis-trans

En general, los dobles enlaces conjugados de los carotenoides existen en configuración *todo-trans*. Los isómeros *cis* de unos pocos carotenoides se pueden hallar en los tejidos vegetales, especialmente en algas, que actualmente se utilizan como fuente de carotenoides. Las reacciones de isomerización son fácilmente inducidas por tratamientos térmicos, exposición a disolventes orgánicos, contactos durante períodos prolongados con ciertas superficies activas, tratamiento con ácidos e iluminación de las disoluciones, especialmente si hay yodo presente. La isomerización catalizada por yodo es un medio útil para estudiar la fotoisomerización, porque se forma una mezcla en equilibrio de las configuraciones isoméricas. Teóricamente resulta posible un gran número de configuraciones geométricas por isomerización, debido al gran número de dobles enlaces presentes en los carotenoides. Por ejemplo, el β -caroteno tiene potencialmente 272 formas *cis* diferentes. Debido a la complejidad de los diversos isómeros *cis-trans* dentro de un mismo carotenoide, sólo recientemente se han desarrollado métodos precisos para el estudio de estos compuestos en los alimentos (O'Neil and Schwartz, 1992). La isomerización *cis-trans* afecta a la actividad provitamina de los carotenoides. La actividad provitamina A de los isómeros *cis* del β -caroteno oscila, dependiendo de la forma isomérica, entre el 13 y el 53%, comparada con la del *todo-trans*- caroteno. Se desconoce la razón de esta reducción de la actividad provitamina A (Bauernfeind, 1972; Zechmeister, 1962).

1.9 Estabilidad durante el Procesado

Los carotenoides son relativamente estables durante el almacenamiento y manejo clásico de casi todas las frutas y hortalizas. La congelación apenas produce cambios en el contenido de caroteno. Sin embargo, se sabe que el escaldado influye en el nivel de carotenoides. A menudo, los productos procedentes de plantas escaldadas exhiben un aparente aumento del contenido de carotenoides con relación a los tejidos crudos. El pelado con álcalis, que se usa comúnmente en los boniatos, produce poca destrucción o isomerización de los carotenoides.

Aunque históricamente se creía que el caroteno era muy estable durante el calentamiento, ahora se sabe que la esterilización induce reacciones de isomerización *cis-trans* como se muestra en la Figura 1.2. Para disminuir la isomerización excesiva, deberá minimizarse cuando sea posible la intensidad del tratamiento térmico. En los casos decocción por extrusión y el calentamiento a altas temperaturas en aceite, no sólo se isomerizan los carotenoides sino que se produce su degradación térmica. Temperaturas muy altas pueden dar productos de fragmentación que son volátiles. Los productos queso generan a consecuencia del calentamiento intenso del β -caroteno en presencia de aire son similares a aquéllos que

se forman durante la oxidación del β -caroteno a altas temperaturas (Figura 1.2). En contraste, la deshidratación al aire expone los carotenoides al oxígeno, con lo cual se puede producir una extensa degradación de los mismos. Los productos deshidratados que tienen un cociente superficie/masa grande, como las zanahorias o los copos de boniato, son especialmente susceptibles a la descomposición durante la desecación y almacenamiento al aire.

Cuando se generan isómeros *cis*, solamente ocurren ligeros desplazamientos espectrales y, por consiguiente, el color del producto apenas se ve afectado; sin embargo, se produce descenso de la actividad provitamina A. Estas reacciones tienen efectos nutricionales importantes que deberán considerarse cuando se seleccionen los métodos analíticos para la determinación de provitamina A. Los métodos antiguos para la determinación de vitamina A en los alimentos no dan cuenta de las diferencias en la actividad provitamina A de los carotenoides individuales o de sus formas isómeras. Por tanto, los datos nutricionales más antiguos para los alimentos son erróneos, especialmente para los alimentos que contienen grandes cantidades de carotenoides provitamina A distintos del caroteno y de aquéllos que contienen una cantidad significativa de isómeros *cis* (Fennema, 2000).

En consecuencia, los carotenoides, son sustancias muy inestables y sensibles a la luz, al oxígeno y al calor. En su forma natural, son insolubles en agua y ligeramente solubles en aceite a temperatura ambiente. Un incremento en la temperatura del aceite, incrementa también la solubilidad de los carotenoides (Bauernfeind y col., 1958) aunque pueden obtenerse formas solubles en agua por saponificación de las oleorresinas (Britton, 1996; Delgado-Vargas y col., 2000).

La aplicación de los carotenoides en los alimentos para dar color no se realiza a partir de los pigmentos purificados (Britton, 1996). El mercado potencial para las preparaciones de carotenoides naturales dispersables en agua es enorme, por ejemplo: yogur, quesos, cremas, postres, bebidas, helados, dulces, etc., (Britton, 1996; Vernon-Carter y col., 1996, 1998; Delgado-Vargas y col., 2000, 2003).

Sin embargo, para que estos productos tengan una importante aplicación tecnológica es necesario minimizar los efectos deteriorativos que puedan tener en el tiempo; es decir, que sean estables en el tiempo. Por otra parte, estos productos deben tener buena estabilidad contra la oxidación, la isomerización, y poseer propiedades adecuadas de solubilidad. Lo anterior, permitiría lograr una mayor actividad biológica y menor pérdida de color que el que se pudiera obtener tan sólo utilizando los carotenoides liposolubles de manera individual. Una manera de lograr esto sería por medio de emulsiones del tipo aceite-agua (O/W) o bien agua-aceite-agua (W/O/W).

1.10 Emulsiones Simples y Múltiples: Definición y Clasificación

Descripción

Las emulsiones son sistemas dispersos de por lo menos, dos fases líquidas inmiscibles, que por lo regular son agua y aceite. Por lo general, se designa el término de fase continua a aquella que se encuentra en mayor cantidad, mientras que a la que se encuentra en menor cantidad, fase dispersa. Comúnmente se utilizan homogeneizadores de alta presión, o ultrasónicos y sistemas de roto/estator, tales como vasos agitados, molinos coloidales, entre otros equipos. Las variables más importantes que determinan sus propiedades son (McClements, 1999; Sherman, 1968):

- a) Tipo, es decir, O/W o W/O. El tipo determina entre otras cosas, con qué líquido puede diluirse una emulsión. Las emulsiones O/W son muy frecuentes; por ejemplo: la leche y diversos productos lácteos, salsas, aderezos, sopas, entre otros (Figura 1.3). La mantequilla y la margarina son emulsiones W/O, pero contiene otros elementos estructurales (Figura 1.3). También pueden existir emulsiones múltiples del tipo W/O/W ó O/W/O.
- b) Distribución de tamaño de las gotas. Repercute de un modo importante en la estabilidad física; generalmente las gotas más pequeñas constituyen emulsiones más estables. La energía y la cantidad emulgente necesarias para producir la emulsión depende del tamaño de partícula deseado. Un diámetro típico de las dispersiones se encuentra en el intervalo de 1 a 100 μm . La amplitud de la distribución del tamaño es igualmente importante, por la gran dependencia de la estabilidad con respecto al tamaño de partícula.
- c) Fracción volumétrica de la fase dispersa (ϕ). En la mayor parte de los alimentos, ϕ oscila entre 0.01 y 0.4. En la mayonesa, puede ser de 0.8, que es un valor superior al máximo para el empaquetamiento de esferas rígidas, aproximadamente 0.7; esto significa que las gotas de aceite tienen que estar algo distorsionadas.
- d) Composición y grosor de la película superficial en torno a las gotículas. Determina la tensión interfásica, las fuerzas de interacción coloidales, etc.
- e) Composición de la fase continua, que determina la relación entre el disolvente y el surfactante y, por tanto, las interacciones coloidales. La viscosidad de la fase continua afecta considerablemente al «desnatado».

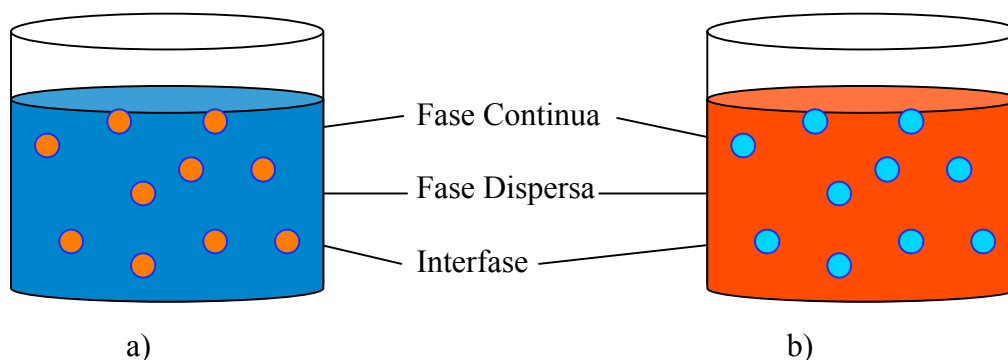


Figura 1.3 Tipos de Emulsiones; a) agua/aceite, W/O, b) aceite/agua, O/W.

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, pero al incorporar ciertos compuestos químicos es posible formar emulsiones cinéticamente estables (Dickinson, 2003). Estos compuestos químicos son a menudo agentes emulsionantes o estabilizantes, los cuales promueven la formación de la emulsión y, a su vez, brindan estabilidad a corto plazo como resultado de su actividad superficial (Tesch y Schubert, 2002). Son tres las regiones que constituyen una emulsión; la fase dispersa, la fase continua y la interfase (Figura 1.3). Cada región exhibe propiedades fisicoquímicas diferentes. Todos los componentes de una emulsión se distribuyen según su concentración y polaridad a lo largo de cada una de las tres regiones. Las moléculas polares se dirigen a la fase acuosa, las moléculas no polares a la fase oleosa, y las moléculas anfifílicas quedan establecidas en la interfase.

Las emulsiones son sistemas en constante cambio, donde las moléculas viajan de una región a otra modificando las condiciones físicas y químicas del sistema. Lo anterior aunado a la concentración e interacción de los componentes, influyen significativamente en las propiedades fisicoquímicas, texturales y de aplicación de estos sistemas dispersos (McClements, 1999; Dickinson, 2003). Es posible dividir a los componentes de una emulsión en dos grandes grupos; 1) Macrocomponentes, como por ejemplo: agua, aceite, proteínas y carbohidratos, y 2) Microcomponentes, como son: ácidos, sales, minerales, gomas, saborizantes, vitaminas y colorantes entre otros.

En la actualidad las emulsiones juegan un papel importante en la formulación de diversos productos en la industria cosmética, farmacéutica, ambiental, petrolera, de pinturas y muy en especial en la alimentaria.

1.11 Estabilidad y Tipos de Inestabilidad

Una emulsión estable es aquella que no presenta cambios apreciables (en determinado tiempo de observación) de algunas de sus propiedades como son: distribución del tamaño de gotas, estado de agregación, o en su arreglo espacial. Sin embargo, como ya se mencionó, las emulsiones son sistemas dispersos en constante movimiento, lo que genera entornos con alta energía libre, que a su vez se asocia con el número de gotas presentes en el sistema; por lo tanto, cuanto mayor número de gotas dispersas se encuentren en la emulsión, mayor será la energía libre del sistema, y viceversa. Además, el número de gotas en la emulsión es directamente proporcional al área interfacial entre los líquidos inmiscibles que forman la emulsión. Se sabe que un sistema termodinámico tiende a su estado de mínima energía o equilibrio y, en el caso de los sistemas dispersos, como son las emulsiones, este estado de mínima energía se genera cuando el área interfacial o de contacto es la mínima; las gotas de la emulsión tienden a juntarse hasta que las dos fases presentes en el sistema se separan totalmente, disminuyendo con esto el área interfacial y la energía libre del sistema. La tensión superficial o interfacial es la fuerza que origina la reducción del área de contacto, y se ha observado que tiende a ser menor en presencia de dos líquidos inmiscibles con densidades similares, originando con esto sistemas que se mantienen por más tiempo dispersas. Por consiguiente, la tensión superficial es una energía que se asocia con cualquier tipo de interfase fluido-fluido. Para reducir la tensión interfacial en emulsiones, en las que se desea mantener la dispersión de una fase en otra por mayor tiempo, comúnmente se agrega al sistema un tensoactivo, el cual actúa como estabilizante y neutraliza las distintas fuerzas de naturaleza química o mecánica que tienden a desestabilizar al sistema (Dickison, 2003).

A pesar de que el cambio de energía libre asociada con la formación de la emulsión determina si una emulsión es o no termodinámicamente estable, no da información alguna de la velocidad con la que las propiedades de una emulsión cambiaran a través del tiempo, menos aún el tipo de cambios que pueden ocurrir o los mecanismos físicos responsables de esos cambios. Sin embargo en la industria alimenticia es fundamental conocer cuál es la dependencia del tiempo en la estabilidad de las emulsiones, ya que se desea formular productos alimenticios que retengan sus propiedades por tiempos suficientemente largos y bajo diferentes condiciones ambientales. De ahí el interés por estudiar en mayor medida la estabilidad cinética que la estabilidad termodinámica en sistemas emulsificados. La importancia de los efectos cinéticos se acentúa al comparar la estabilidad a largo plazo de las emulsiones con la misma composición pero con diferentes tamaños de glóbulos. Una emulsión que contiene glóbulos pequeños normalmente tiene una mayor vida de anaquel (estabilidad cinética más grande) que

una que contenga glóbulos grandes, aunque sea más inestable termodinámicamente (porque tiene un área interfacial mayor) (McClements, 1999).

Otros de los factores que influyen en la estabilidad son: 1) Distribución y tamaño de gotas, ésta se encuentra en función del tipo y tiempo de homogenización, concentración y tipo de emulsificante, relación aceite/agua, pH, viscosidad y temperatura; 2) Naturaleza de la capa interfacial adsorbida, la cual se establece por la concentración y tipo de emulsificante e interacción y competencia entre especies adsorbidas; 3) Naturaleza de la fase continua, está en función de sus propiedades reológicas, calidad del solvente, polímeros y compuestos anfífilicos no adsorbidos; 4) Naturaleza de la fase oleosa dispersa, depende del contenido de sólidos/líquido y solubilidad en la fase continua.

Los principales mecanismos fisicoquímicos causantes de los cambios en las propiedades y de inestabilidad en las emulsiones son: 1) separación por gravedad, 2) agregación de gotas, 3) inversión de fases (Figura 1.4) y 4) mecanismos químicos. El primer mecanismo se subdivide en: sedimentación y cremado. La Sedimentación es aquel fenómeno en el que las gotas migran al fondo del sistema debido a la diferencia de densidades en las fases, mientras que el cremado es el fenómeno opuesto, esto es, las gotas tienden a depositarse en la parte superior del sistema. El segundo mecanismo también tiene una subdivisión: floculación y coalescencia. La floculación ocurre cuando dos o más gotas se agregan, debido a las colisiones provocadas por movimientos Brownianos, conservando su individualidad; este fenómeno depende de varios factores tales como la protección que brindan los biopolímeros a la superficie de los glóbulos, el espesor de la capa, la densidad de la carga superficial, y las condiciones de la solución acuosa. Por otra parte, la coalescencia es el fenómeno en el que dos o más gotas forman una sola, perdiendo individualidad. La inversión de fases es el proceso mediante el cual una emulsión agua en aceite se convierte en una emulsión aceite en agua, o viceversa. Y por último, los mecanismos de inestabilidad química se originan esencialmente por oxidación e hidrólisis de los componentes.

En particular las emulsiones aceite-agua son sistemas coloidales en los que el principal mecanismo de inestabilidad suele originarse en el seno de la fase acuosa o en la superficie de las gotas; esto depende de la naturaleza química de los ingredientes involucrados. Los hidrocoloides alimenticios intervienen en la estabilidad de las emulsiones debido a su acción interfacial. Los hidrocoloides son biopolímeros de alto peso molecular y se utilizan para controlar la microestructura, textura, sabor y vida de anaquel de alimentos (Fennema, 2000).

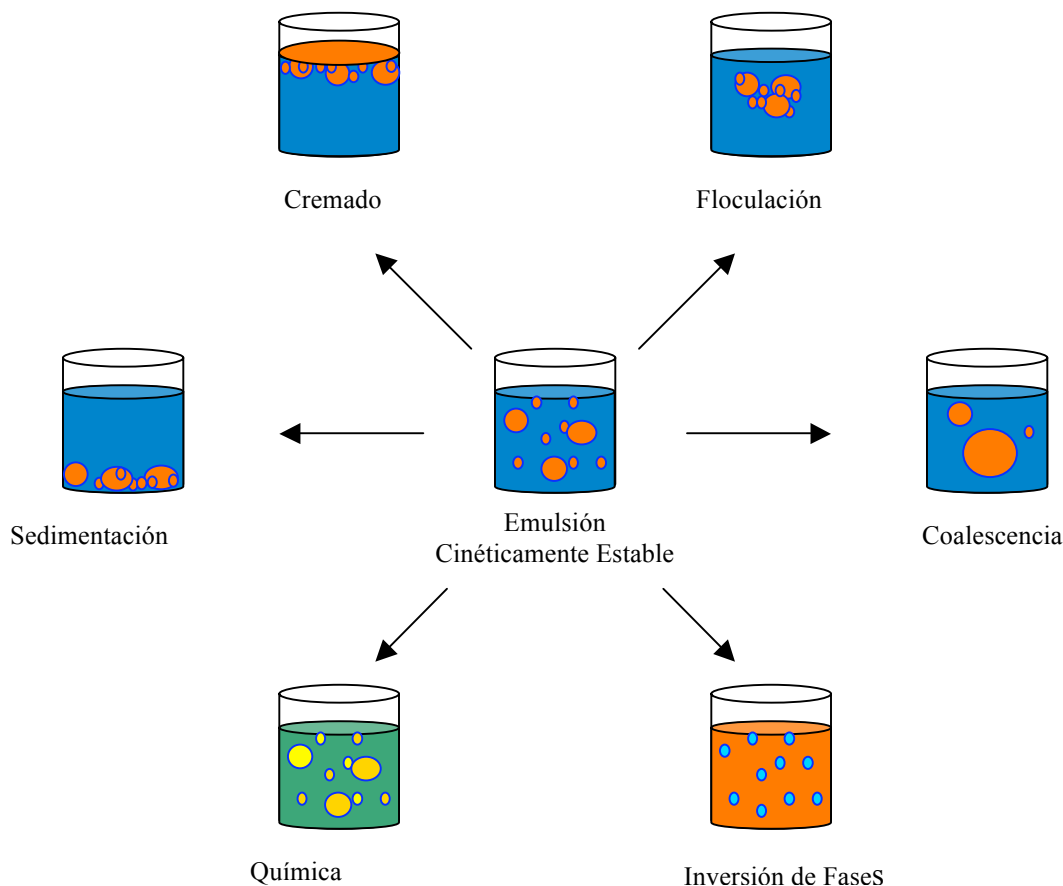


Figura 1.4 Mecanismos fisicoquímicos de inestabilidad.

Es posible formar emulsiones que sean 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. Una emulsión metaestable es aquella en la que no se presentan cambios apreciables en la distribución del tamaño de los glóbulos, o su estado de agregación, o su arreglo espacial en la escala del tiempo de estudio (Dickinson, 2003).

Las emulsiones múltiples también denominadas “emulsiones de emulsiones”, se caracterizan porque los glóbulos de la fase dispersa contienen dentro de ellos gotas dispersas más pequeñas. En emulsiones dobles de agua-aceite-agua, cada gota dispersa forma una estructura vesicular con compartimentos acuosos sencillos o múltiples que se encuentran separados de la fase acuosa continua por una capa de fase oleosa (Garti, 1997). En la figura 1.5 se presenta una representación esquemática de posibles morfologías de emulsiones dobles W/O/W, comúnmente denominadas tipo A, B y C.

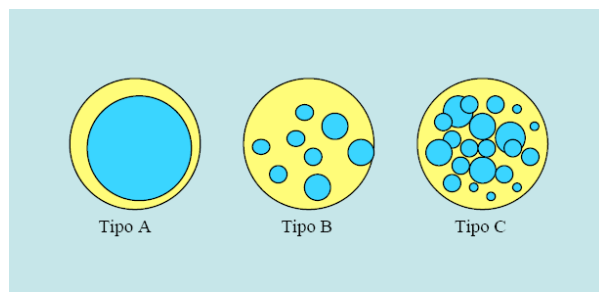


Figura 1.5. Posibles morfologías de emulsiones múltiples

La morfología tipo A se caracteriza principalmente por tener gotas de emulsión múltiple conteniendo tan solo una gota interna. En la de morfología tipo B, hay una gran proporción de gotas de emulsión múltiple conteniendo más de una gota interna. En el sistema tipo C, la mayoría de las gotas de emulsión múltiple contienen un elevado número de gotas internas flocculadas y densamente empaquetadas. El tipo de morfología resultante depende del método de preparación de la emulsión W/O/W y del tipo de agentes emulsificantes empleados (Dickinson y McClements, 1996). En la práctica el método de las dos etapas de emulsificación es el que se ha empleado para lograr emulsiones de tamaño de gota reproducibles e involucra el formar una fina emulsión agua-en-aceite (W/O) usando una alta proporción de emulsificante lipofílico, y luego dispersando la emulsión primaria en agua utilizando un nivel bajo de un emulsificante hidrofílico. Hasta hace pocos años la mayoría de los estudios relacionados a emulsiones múltiples reportaban el uso de agentes emulsificantes de bajo peso molecular (como los Spans, Tweens y Brijs), lo cual permitió establecer una serie de recomendaciones empíricas para lograr una preparación exitosa de las emulsiones múltiples. Así pues, por ejemplo, el emulsificante lipofílico (emulsificante primario) puede desestabilizar la emulsión múltiple si migra de la interfase agua-aceite interna a la interfase aceite-agua externa. Además, el emulsificante hidrofílico presente durante la segunda etapa de emulsificación puede desestabilizar a la emulsión primaria original. Por ello se ha buscado optimizar el balance hidrofílico-lipofílico (BHL) de la mezcla de emulsificantes, definido como un BHL ponderado, que la experiencia indica que, cuando éste es menor a 10 se obtiene un sistema W/O/W resistente a una “inversión” a una emulsión O/W (Dickinson y McClements, 1996). Otro efecto detrimental es cuando se usa una concentración alta de emulsificante hidrofílico (emulsificante secundario) en la fase acuosa externa, ya que las gotas externas de la emulsión W/O/W se vuelven tan pequeñas, que durante el proceso de la segunda etapa de emulsificación las gotas acuosas internas son alteradas o rotas. Por esta razón se emplean por lo general muy bajas concentraciones de emulsificante

hidrofílico en la formulación de emulsiones múltiples (W/O/W) (Dickinson y McClements, 1996).

La fracción volumen de la fase acuosa de la emulsión primaria (W/O) que se retiene como la fase acuosa interna en la emulsión múltiple final W/O/W, denominada rendimiento, es una medida para establecer el éxito de la emulsión múltiple. Este rendimiento se ve severamente afectado por muchos factores. Cualquier proceso que promueva la desestabilización de la emulsión múltiple afecta el rendimiento. El proceso de desestabilización en sistemas de emulsiones múltiples son necesariamente mucho más variado que en las emulsiones sencillas (Figura 1.6).

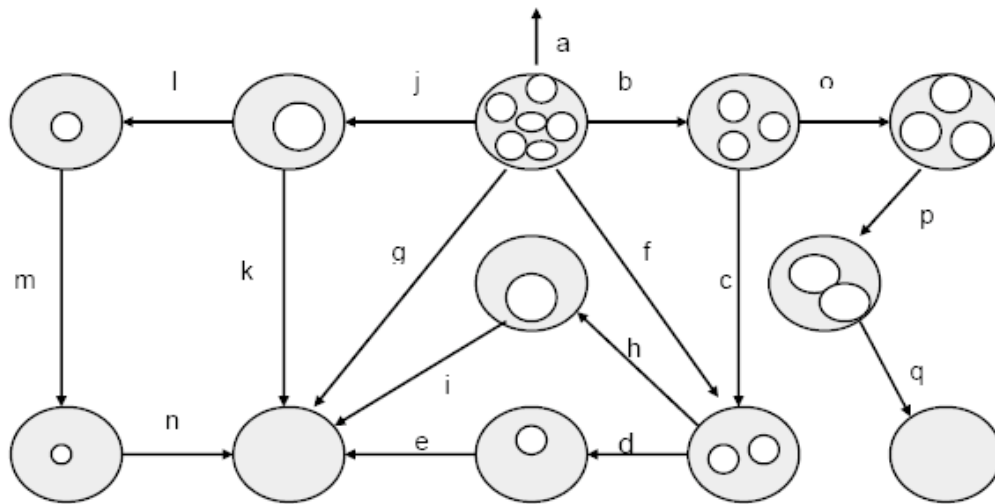


Figura 1.6. Posibles rutas de desestabilización en emulsiones múltiples.

Por ejemplo, el proceso (b)-(c)-(d)-(e) representa un mecanismo mediante el cual las gotas acuosas internas son expulsadas de los glóbulos en forma individual y secuencial. También puede haber expulsiones simultáneas como los procesos (g) y (f). Cada uno de estos eventos involucra la ruptura de la película oleosa entre ambas fases acuosas.

Pueden presentarse procesos donde dos o más gotas internas coalescen, como por ejemplo en (h), (j) y (p). Por otro lado, debido a la diferencia de presión osmótica entre la fase acuosa interna y externa, puede haber migración de agua de la fase interna a la externa, proceso (l)-(m)-(n), o viceversa, proceso (b)-(o), dependiendo la dirección del gradiente de presión. Además, pueden presentarse combinaciones de los mecanismos ya descritos (Dickinson y McClements, 1996).

El uso de emulsiones múltiples formuladas con emulsificantes de bajo peso molecular no ha resultado exitoso en la práctica, ya que estos sistemas por lo general no pueden ser usados en procesos

donde ocurren perturbaciones hidrodinámicas que causan rompimiento de la emulsión interna y de la emulsión múltiple. Se han realizado muchos esfuerzos para “sellar mejor” las interfases interna y externa (Garti, 1997). Para ello, en tiempos recientes, se ha recurrido al uso de emulsificantes poliméricos con buenas propiedades superficiales (Dickinson y McClements, 1996), que proporcionen emulsiones termodinámicamente metaestables contra procesos agregativos debido principalmente a contribuciones repulsivas estéricas (Garti, 1997), y a estabilidad contra la coalescencia debido a las propiedades mecánicas de las películas poliméricas adsorbidas (Dickinson, 2003). Para mejorar la estabilidad de las emulsiones múltiples, también se ha propuesto la incorporación de un espesante o un polímero gelificante en la fase acuosa interna de la emulsión primaria. La idea es que la presencia de este polisacárido conduzca a una estructura viscoelástica tipo gel en todas las gotas acuosas internas o a la interfase entre la fase acuosa interna y la fase oleosa intermedia. La formación de una membrana gelatinosa en la interfase agua-aceite actúa como una barrera física para evitar la coalescencia de las gotas de la emulsión interna (Dickinson y McClements, 1996).

1.12 Agentes Emulsificantes y Estabilizantes

Los Agentes emulsificantes son moléculas superficialmente activas las cuáles se adsorben en la superficie de las gotas de la fase dispersa, promoviendo la formación de una estructura protectora que minimiza el fenómeno de agregación y genera una mayor estabilidad en la emulsión. Los agentes emulsificantes se subdividen en dos grandes grupos que son: Surfactantes de bajo peso molecular y emulsificantes macromoleculares. Los primeros son moléculas anfifílicas, esto es, presentan afinidad tanto por la fase acuosa (parte polar) como por la oleosa (parte no polar) o bien un comportamiento hidrofílico y lipofílico, respectivamente. Algunos ejemplos de estas moléculas son: lecitina, esteres de sacarosa, polisorbatos, monoglicéridos. Algunos ejemplos de emulsificantes moleculares son: proteínas de huevo y leche.

Un agente estabilizante es una mezcla o compuesto químico que provee de estabilidad a sistemas emulsificados a largo plazo, algunos de estos estabilizantes son, por lo general, biopolímeros como polisacáridos o proteínas. Algunas de sus características se presentan en el Anexo B. Los polisacáridos modifican las propiedades reológicas del medio de dispersión, tales como viscosidad o gelación, brindando estabilidad al sistema. Por otra parte, las proteínas tienden a adsorberse en las interfases aceite-agua formando capas estabilizadoras alrededor de las gotas de aceite, por lo que intervienen como emulsificantes y estabilizantes (Dickinson, 2003).

1.13 Biopolímeros

Un biopolímero debe de presentar ciertas características esenciales para ser considerado como buen agente emulsificante y estabilizante, estas características son: a) Fuerte adsorción que permita al polímero anfifílico, y con cierto carácter hidrofílico, se mantenga anclado a la interfase de manera casi permanente; b) Cobertura superficial completa, para que exista suficiente polímero que inunde la interfase de los glóbulos dispersos; c) Capacidad de crear una capa robusta alrededor de las gotas que estabilice de manera estérica, lo que implica que el estabilizante sea predominantemente hidrofílico y de alto peso molecular (10^4 - 10^7 Da); d) Potencial en la formación de una capa con carga, debido a la presencia de grupos cargados en el biopolímero que contribuyan a la interacción electrostática repulsiva neta entre las superficies de las gotas, y en particular a bajas fuerzas iónicas (Dickinson, 1993).

En la actualidad son incontables los productos que ofrece la industria y en especial la alimentaria. La mayoría de estos productos son puestos en el mercado como sistemas dispersos, donde se encuentran presentes hidrocoloides alimenticios, o mejor dicho, biopolímeros hidrofílicos de alto peso molecular que controlan la microestructura, textura, sabor, color y vida de anaquel (Damodaran, 2005). El término hidrocoloide abarca prácticamente todos aquellos polisacáridos que son extraídos de algas marinas, plantas y fuentes microbianas; también se considera como hidrocoloides a las gomas exudadas por diversas plantas y algunos biopolímeros modificados química y/o enzimáticamente a partir de la celulosa (Dickinson, 2003).

Ciertos hidrocoloides como la goma arábica (GA) y la goma de mezquite (GM) presentan actividad superficial, por lo que pueden ser utilizados en la formulación de emulsiones (Dickinson, 2003; Vernon-Carter y col., 2000). Estos biopolímeros muestran una parte proteica, por lo que se adsorben en la interfase de las gotas formando una membrana protectora que previene la agregación mediante efectos estéricos y/o electrostáticos, y les provee de una mayor resistencia bajo gradientes hidrodinámicos, así como un mayor control sobre los procesos difusivos (Fauconnier y col, 2000; Ibanoglu, 2002; Tesh y Schubert, 2002).

1.14 Gomas Arábica y Mezquite

La goma arábica es el hidrocoloide natural que más se ha utilizado en la industria alimentaria y farmacéutica, entre otras, debido a sus propiedades como agente emulsificante de aceites esenciales. Sin embargo, la mayor cantidad de goma arábica que se comercializa en el mundo proviene de la Acacia Senegal la cual crece principalmente en Sudán, por lo que su importación resulta costosa. Debido a esto,

la industria alimentaria ha buscado materiales que permitan sustituir a la goma arábica por otros polímeros, tal como la goma de mezquite (Vernon-Carter y col, 2000). 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 leavigata*.

En general, ambas gomas son heteropolielectrolitos ramificados complejos que contiene una cadena central de unidades de 1,3 β -galactopiranosas y cadenas laterales de 1,6 galactopiranosas finalizando en residuos de ácido glucurónico o ácido 4-O-metilglucurónico. Tanto la Goma arábica como la de mezquite contienen una pequeña cantidad de proteína (que va de 2 a 7%) unida covalentemente al carbohidrato generando una mezcla de complejos arabinogalactanos-proteína, cada uno conteniendo varias unidades polisacáridas unidas a un centro proteínico común (Connolly y col., 1988; Orozco-Villafuerte y col., 2003). A esta estructura se le conoce como el modelo “Wattle Blossom” (Anexo B). También se ha demostrado que ambas gomas son una mezcla compleja de tres o cuatro fracciones con estructuras químicas distintas (Williams y col., 1990; Orozco-Villafuerte y col., 2003) con un componente principal el cuál contiene muy o poca o nada de proteína (Anexo B). Se cree que la proteína está asociada a una fracción de alta masa molecular que representa menos del 30 % de la goma total. Esta fracción parece ser la responsable de las propiedades emulsificantes y estabilizantes de ambas gomas. En el Anexo B se muestra una esquematización de cómo la cadena proteínica más hidrofóbica ancla firmemente al híbrido proteína-polisacárido en la interfase, y proyecta a los bloques carbohidratos hidrofílicos unidos a esta cadena proporcionando una fuerte barrera estérica contra la floculación y la coalescencia.

Las goma arábica, goma de mezquite y/o mezclas de estos biopolímeros son esencialmente hidrosolubles por lo que se emplean para emulsionar materiales de naturaleza lipídica susceptibles a procesos de deterioro oxidativo (Rodríguez-Huezo y col., 2004).

Debido a lo anterior surge la necesidad de realizar estudios que permitan obtener formulaciones que retarden la degradación de los carotenoides y que a su vez brinden una mayor estabilidad a los sistemas emulsionados. El objetivo del presente trabajo fue emplear membranas poliméricas, obtenidas de distintas formulaciones de goma de mezquite y goma arábica, que permitan estabilizar la emulsión y retardar la degradación de carotenoides en presencia de antioxidantes.

2. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha experimentado un crecimiento sin precedentes a nivel mundial por el consumo de productos naturales, de este modo se ha generado un mercado altamente competitivo en el que es posible introducir productos alimenticios únicamente si éstos ofrecen ventajas superiores a aquellas de los productos que se encuentran ya en el mercado.

Nuestro país cuenta con una gran biodiversidad de plantas que son generadoras de una inmensa cantidad de productos, entre los que se encuentran colorantes y gomas naturales, los cuales por su funcionalidad tienen un gran valor agregado en el mercado nacional e internacional. Este tipo de sustancias pueden ser incorporadas en formulaciones de alimentos novedosos, completamente naturales.

Los colorantes naturales son usados ampliamente en la industria alimentaria, ya que el color es uno de los atributos más importantes de la calidad sensorial de un alimento. Sin embargo, los colorantes, y en particular los carotenoides, son compuestos altamente inestables, susceptibles a isomerización y oxidación durante el procesamiento de los alimentos, dando como consecuencia pérdidas de color. Uno de los métodos o técnicas más empleadas para proteger a los colorantes, consiste en su incorporación en gotas de emulsión, las cuales a su vez poseen una membrana polimérica que actúa como barrera a agentes externos causantes de su descomposición. Para la elaboración de dichas membranas poliméricas es necesario el uso de agentes emulsificantes/estabilizantes; si bien existe una amplia gama de ellos, cada uno tiene características propias. Uno de los agentes emulsificantes/estabilizantes de mayor uso en el mundo es la goma arábiga, que se extrae de la *Acacia senegal* y se exporta de África a todo el mundo; situación que otorga a esta zona el control de los precios y la producción.

Con el fin de beneficiar al sector industrial alimentario en México en el ahorro de insumos, es conveniente proponer alternativas para reducir la importación de goma arábiga. En este sentido, la goma de mezquite de origen nacional, constituye una buena opción para la sustitución parcial o total de goma arábiga, debido a su alto potencial como agente emulsificante/estabilizante. Sin embargo, es necesario el estudio del efecto de las propiedades de barrera interfaciales de la goma de mezquite y de sus mezclas con goma arábiga, tanto en la estabilización de emulsiones aceite-agua y agua-aceite-agua, como en la protección de carotenoides incluidos en las emulsiones antes mencionadas.

3. HIPÓTESIS

Las propiedades de las películas interfaciales formadas por goma de mezquite, o mezclas de ésta con goma arábica en las que predomine la goma de mezquite, proporcionan estabilidad a emulsiones aceite-agua (O/W) y agua-aceite-agua ($W_1/O/W_2$) y brindan una protección a los carotenoides incluidos en la fase oleosa de estos sistemas, mayor o comparable a la proporcionada por películas interfaciales constituidas por goma arábica.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Retardar la degradación de carotenoides mediante su incorporación en la fase oleosa de emulsiones aceite-agua (O/W) y agua-aceite-agua ($W_1/O/W_2$), estabilizadas con goma de mezquite, goma arábica o mezclas de ambas.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Determinar el efecto de la concentración y la relación de goma de mezquite: goma arábica en la estabilidad de emulsiones aceite-agua y agua-aceite-agua.

Determinar el efecto protector de películas interfaciales constituidas por goma de mezquite, goma arábica y mezclas de ambas, contra el deterioro de carotenoides incluidos en la fase oleosa de emulsiones aceite-agua y agua-aceite-agua, a través del tiempo.

5. METODOLOGIA EXPERIMENTAL

5.1 Materiales.

El colorante empleado fue una oleorresina de chile rojo (OCR) (Rodofila; lote número 00012419; con una concentración de carotenoides totales de 59.4 g/Kg; y una composición de: β -caroteno 7.47%; criptoxantina 8.17%; como-luteína 9.34%; *trans*-luteína 3.03%; *trans*-zeaxantina 4.23%; *trans*-capsantina 42.41%; violaxantina 1.23%; *cis*-capsantina 17.66%; *cis-trans*-capsantina 2.87%). La composición y concentración de los carotenoides totales (CCT) del colorante fue facilitada por Bioquimex-Reka, S.A de C.V. (Querétaro, México).

Una mezcla comercial de aceites de girasol-canola-cártamo (GCC) (Aceites, Grasas y Derivados, S.A. de C.V., México), se utilizó como parte de la fase oleosa de las emulsiones O/W y W₁/O/W₂.

El emulsificante lipofílico (EL) (Grindsted PGPR 90, ésteres de ácidos grasos de poliglicerol y poliricinoleato) y el emulsificante hidrofílico (EH) (Panodan SDK, ésteres de monoglicéridos y diglicéridos del ácido diacetil tartárico) fueron suministrados por Danisco México, S.A. de C.V.

Los biopolímeros usados fueron; goma gelana (GG) (K3B408) proporcionada por Merck & Co. (Kelco Div., Rahway, N.J., E.U.A), goma arábiga (GA) (*Acacia senegal*) proporcionada por Industrias Ragar, S.A. de C.V. (Ciudad de México, México) y goma de mezquite (GM) (*Prosopis leavigata*) recolectada manualmente y proporcionada por agricultores del Estado de San Luis Potosí. Ambas gomas se encontraban en forma de lágrima, por lo que fueron disueltas en agua destilada y filtradas por varias ocasiones para eliminar impurezas, obteniendo así soluciones de goma de mezquite y goma arábiga con 23 y 25 °Brix, respectivamente. El agua usada en la preparación de cada una de las muestras fue agua destilada.

5.2 Formulación y Preparación de Emulsiones Simples (O/W).

Se formularon emulsiones simples O/W usando por cada 100 g: 75 g de agua y 1.05 g de oleorresina. Los restantes 23.95 g estuvieron compuestos el aceite y por los biopolímeros (GA, GM o mezclas de ambos). Tres tipos generales de emulsiones O/W se obtuvieron al variar la relación en peso biopolímeros : fase oleosa (aceite + oleorresina); 2:1, 3:1 y 4:1, resultando emulsiones simples, codificadas como ES², ES³ y ES⁴, respectivamente (Tabla 5.1).

Tabla 5.1 Composición general de las emulsiones aceite-agua por cada 100 g.

Componente	Relación		
	Biopolímero : fase oleosa* / Código de la emulsión		
	2:1/ES ²	3:1/ES ³	4:1/ES ⁴
Biopolímeros (g)	16.67	18.75	20.00
Agua (g)	75.00	75.00	75.00
Oleorresina (g)	1.05	1.05	1.05
Aceite (g)	7.28	5.20	3.95

* Fase oleosa = oleorresina + aceite

Para cada relación biopolímero : fase oleosa también se varió la relación porcentual en peso goma de mezquite : goma arábica: 100GM:0GA, 80GM:20GA, 60GM:40GA, 40GM:60GA, 20GM:80GA y 0GM:100GA (Tabla 5.2). Empleando el método anterior se obtuvieron emulsiones O/W, que se codificaron como ES^x_y, donde el superíndice *x* significa la relación de biopolímeros : fase oleosa y el subíndice “*y*” el porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros (Tabla 5.2).

Tabla 5.2 Códigos de las emulsiones simples de acuerdo a las relaciones biopolímeros : fase oleosa y goma de mezquite : goma arábica.

Relación GM:GA	Relación								
	Biopolímeros : fase oleosa								
	2:1			3:1			4:1		
	GM (g)	GA (g)	Código	GM (g)	GA (g)	Código	GM (g)	GA (g)	Código
100:0	16.67	0.00	ES ² ₁₀₀	18.75	0.00	ES ³ ₁₀₀	20.00	0.00	ES ⁴ ₁₀₀
80:20	13.33	3.33	ES ² ₈₀	15.00	3.75	ES ³ ₈₀	16.00	4.00	ES ⁴ ₈₀
60:40	10.00	6.67	ES ² ₆₀	11.25	7.50	ES ³ ₆₀	12.00	8.00	ES ⁴ ₆₀
40:60	6.67	10.00	ES ² ₄₀	7.50	11.25	ES ³ ₄₀	8.00	12.00	ES ⁴ ₄₀
20:80	3.33	13.33	ES ² ₂₀	3.75	15.00	ES ³ ₂₀	4.00	16.00	ES ⁴ ₂₀
0:100	0.00	16.67	ES ² ₀	0.00	18.75	ES ³ ₀	0.00	20.00	ES ⁴ ₀

GM = goma de mezquite; GA = goma arábica

Mediante balances de materia y la determinación de grados Brix, se determinaron las cantidades de soluciones de GM y GA requeridas para obtener tanto la relación de biopolímeros : fase oleosa como

la relación GM:GA deseadas.

Las emulsiones fueron preparadas a temperatura ambiente de la siguiente manera; se mezcló la oleorresina (OCR) con el aceite (GCC) para así obtener la fase oleosa, la cual fue incorporada por goteo a la fase acuosa W (agua destilada + biopolímero (s)), usando un homogenizador modelo ULTRA TURRAX T50 Basic (Grupo IKA® Works, Wilmington, North Carolina, EUA) a 4000 rpm por 10 min. Se usó un baño de agua helada para mantener la temperatura de las emulsiones por debajo de los 25 °C.

Todas las emulsiones se prepararon por duplicado y almacenaron durante un periodo de treinta días, bajo condiciones ambientales.

5.3 Formulación y Preparación de Emulsiones Múltiples ($W_1/O/W_2$).

Emulsiones múltiples fueron formuladas variando la relación en peso biopolímeros : fase oleosa; esta última contenida en una emulsión interna del tipo W_1/O (método anterior) (Tabla 5.3). Para cada relación biopolímero : fase oleosa también se varió la relación en peso goma de mezquite : goma arábica: 100GM:0GA, 80GM:20GA, 60GM:40GA, 40GM:60GA, 20GM:80GA y 0GM:100GA (Tabla 5.4). De este modo se obtuvieron emulsiones $W_1/O/W_2$, que se codificaron en forma general como EM^x_y , donde el superíndice x significa la relación de biopolímeros : fase oleosa y el subíndice “y” el porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros (Tabla 5.4).

Tabla 5.3 Composición general de las emulsiones múltiples por cada 100 g.

$W_1/O/W_2$	Componente	Relación		
		Biopolímeros : fase oleosa		
		1.48:1	2.73:1	3.98:1
Fase Acuosa	Biopolímeros (g)	14.79	18.19	19.89
Externa (W_2)	Agua (g)	72.71	73.48	73.86
Emulsión Interna (W_1/O)	Oleorresina (g)	1.05	1.05	1.05
	Aceite (g)	8.15	5.08	3.55
	Grindsted (g)*	0.8	0.53	0.4
	Gelana (g)	0.01	0.01	0.01
	Panodan (g)**	0.2	0.13	0.1
	Agua (g)	2.29	1.53	1.14

*8% (w/w en base a la fase oleosa), **8% (w/w en base a la fase acuosa interna).

Las emulsiones múltiples se prepararon a temperatura ambiente usando un procedimiento de emulsificación de dos etapas (Dickinson y McClements, 1996). En la primera etapa se elaboraron emulsiones internas W_1/O conteniendo todas 20% (w/w) de fase acuosa interna dispersa, con una concentración de GG de 0.5% (w/w en base a la fase acuosa interna) y una concentración total de emulsificantes de bajo peso molecular del 8% (w/w) (1 parte de EH : 4 partes de EL). En todos los casos la fase acuosa interna (W_1) (agua destilada + GG + EH) fue incorporada gota a gota a la fase oleosa (O) (GCC + OCR + EL) usando un homogenizador IKA modelo ULTRA TURRAX T50 Basic a 7600 rpm por 5 min. En la segunda etapa las emulsiones internas fueron re-emulsificadas en soluciones acuosas de los biopolímeros solos o en mezclas, de acuerdo a la emulsión múltiple a preparar. Para la dispersión de las emulsiones (W_1/O) en las soluciones acuosas de biopolímeros se usó un homogenizador modelo ULTRA TURRAX T50 Basic operado a 4000 rpm por 10 min. Se usó un baño de agua helada para mantener la temperatura de las emulsiones por debajo de los 25 °C. Todas las emulsiones se prepararon por duplicado y se almacenaron durante un periodo de treinta días, bajo condiciones ambientales.

Tabla 5.4 Códigos de las emulsiones múltiples de acuerdo a las relaciones biopolímeros : fase oleosa y goma de mezquite : goma arábica.

Relación GM:GA	Relación Biopolímero : fase oleosa								
	1.48:1			2.73:1			3.98:1		
	GM (g)	GA (g)	Código	GM (g)	GA (g)	Código	GM (g)	GA (g)	Código
100:0	14.79	0.00	EM ¹ ₁₀₀	18.19	0.00	EM ² ₁₀₀	19.89	0.00	EM ³ ₁₀₀
80:20	11.83	2.96	EM ¹ ₈₀	14.55	3.64	EM ² ₈₀	15.92	3.98	EM ³ ₈₀
60:40	8.87	5.92	EM ¹ ₆₀	10.92	7.28	EM ² ₆₀	11.94	7.96	EM ³ ₆₀
40:60	5.92	8.87	EM ¹ ₄₀	7.28	10.92	EM ² ₄₀	7.96	11.94	EM ³ ₄₀
20:80	2.96	11.83	EM ¹ ₂₀	3.64	14.55	EM ² ₂₀	3.98	15.92	EM ³ ₂₀
0:100	0.00	14.79	EM ¹ ₀	0.00	18.19	EM ² ₀	0.00	19.89	EM ³ ₀

GM = goma de mezquite; GA = goma arábica

5.4 Análisis del Tamaño de Gota y Estabilidad de las Emulsiones.

El diámetro medio volumétrico ($d_{4,3}$) y la distribución del tamaño de los glóbulos de las emulsiones (O/W y $W_1/O/W_2$), se determinaron empleando un Analizador de Tamaño de Gota por difracción de luz, Malvern, serie Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Malvern, Worcestershire,

Reino Unido). El diámetro $d_{4,3}$ ha sido definido como: (Sherman, 1968)

$$d_{4,3} = (\sum n_i d_i^3 / \sum n_i)^{1/3}$$

Donde n_i es el número de gotas de diámetro d_i .

La tasa de coalescencia (C) se calculó a partir de la variación del tamaño de gota por unidad de volumen de la emulsión con respecto al tiempo (30 días), para ello se determinó el número de gotas de la fase dispersa a cierto tiempo (N_t), y se relacionó con el número inicial de gotas de la fase dispersa (N_0) mediante la siguiente ecuación (Sherman 1968):

$$N_t = N_0 \exp(-Ct)$$

$$N_t = (6\phi 10^{-12}) / (\pi(d_{4,3})^3)$$

Donde ϕ es la fracción volumétrica de la fase dispersa y $d_{4,3}$ es el diámetro promedio volumétrico (μm) a un tiempo t (s).

Al graficar $\ln(N_t)$ contra t se obtiene para cada emulsión una línea de la cual su pendiente corresponde al valor de C (s^{-1}). El tamaño de gota inicial se midió en las emulsiones después de 24 h de preparadas y variaciones en este parámetro se determinaron cada tercer día por un periodo de 30 días.

5.5 Morfología de las Emulsiones.

La morfología de las emulsiones se observó cada 5 días durante 30 días con un microscopio óptico BX 45 series Olympus (Olympus Optical Co. Ltd., Tokio, Japón) acoplado a una cámara de película digital Olympus C-3030 E imagen Pro Plus software versión 4.1 (Media Cybernetics, Silver Spring, Md., E.U.A.). Por medio de este equipo fue posible establecer el cambio morfológico y el aumento gradual de las gotas de las emulsiones a través del tiempo. Antes de cada observación, se realizaron diluciones volumétricas 1: 10 a cada una de las emulsiones, usando agua destilada como diluyente. Todas las emulsiones se mantuvieron a temperatura ambiente.

5.6 Espectrofotometría y Concentración de Carotenoides Totales.

La concentración de carotenoides totales iniciales los cambios en concentración con el tiempo fueron determinados a diferentes intervalos de tiempo (de 2 a 3 días), por un máximo de 30 días, utilizando un espectrofotómetro Génesis 2 UV/Vis (Spectronic Unicam, Rochester, N.Y., EUA). Aproximadamente 0.05 g de emulsión se disolvieron en 2 mL de una mezcla de NaCl 10 % : metanol (1:1 (v/v)) contenida en un tubo de ensayo. El tubo de ensayo fue sellado y agitado en un vortex durante 5 min, para posteriormente agregarle 10 mL de una mezcla de hexano : acetona, 1:1 (v/v) y centrifugar a 3000g durante 10 min a 10°C en una centrífuga refrigerada Hermle Z 323 K (Hermle Labortechnik GMBH, Wehingen, Alemania). La densidad óptica de la fracción orgánica superior fue medida a 445 nm. La cantidad de carotenoides (g) presentes en las emulsiones fue calculada mediante la siguiente ecuación (Britton, 1996).

$$x = \frac{Ay}{(A^{1\%}_{1cm} \cdot 100)}$$

Donde x es la masa de carotenoides (g), y el volumen de la solución, A la absorbancia medida, y $A^{1\%}_{1cm}$ el coeficiente de absorción específica de una solución de 1 g de esos carotenoides en 100 mL de solución. Un valor del coeficiente de absorción específica usado frecuentemente es de 2500 (Britton, 1996).

5.7 Análisis Estadístico.

Análisis de varianza multifactorial y pruebas de Tukey ($P \leq 0.05$) fueron realizadas a los resultados de tamaño de partícula, cinética de coalescencia y cinética de degradación, utilizando como factores la relación biopolímeros : fase oleosa y la composición de la mezcla de biopolímeros GM : GA, mediante el paquete estadístico Statgraphics versión 5.1 (Statistical Graphics Corp. Manugistics Inc., Cambridge, MA).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Distribución de Tamaño de Gota y Cinética de Coalescencia.

6.1.1. Emulsiones Simples.

La figura 6.1 muestra la distribución del diámetro volumétrico ($d_{4,3}$) medio de las gotas de las distintas ES^4_y y conteniendo una relación biopolímeros : fase oleosa de 4:1 al día 1 y al día 30. En la figura mencionada puede observarse un comportamiento monodisperso en la distribución del tamaño de gota de las emulsiones simples, durante todo el tiempo de observación. Las emulsiones simples formuladas con relación biopolímeros : fase oleosa de 2:1 y 3:1, presentaron comportamientos similares, por lo que las figuras correspondientes no son mostradas.

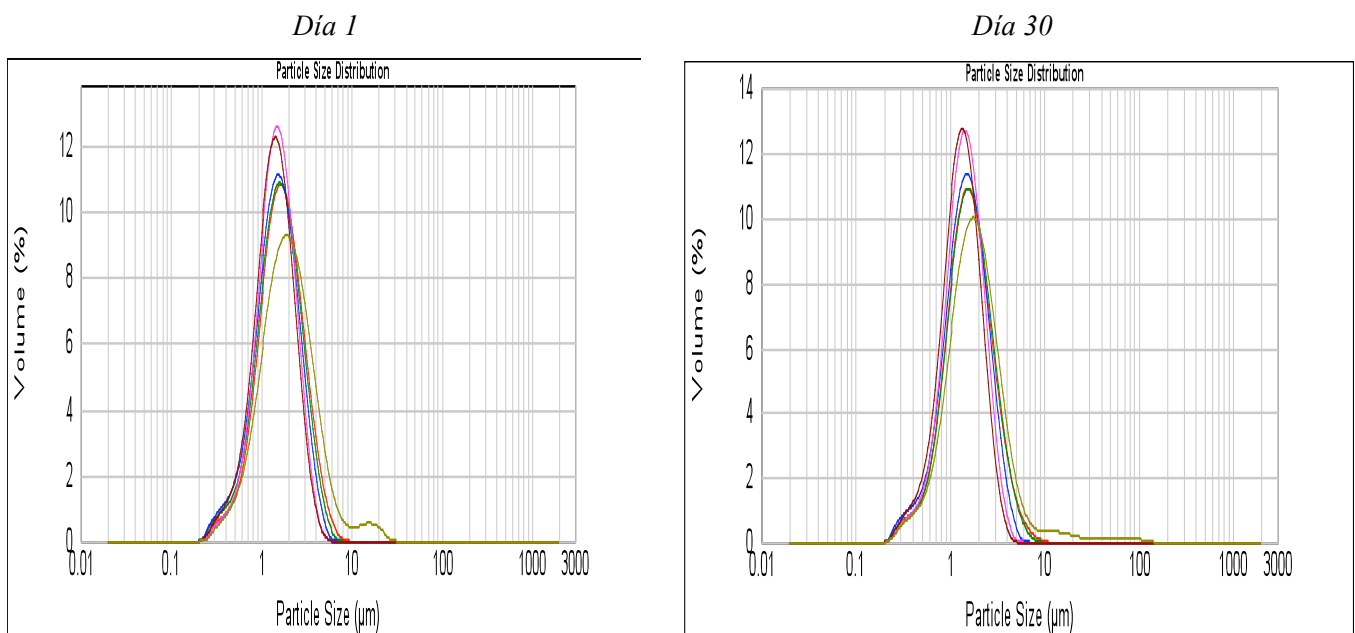


Figura 6.1. Distribución del tamaño de gota; emulsiones con relación de biopolímero : fase oleosa 4:1, --- ES^4_{100} , --- ES^4_{80} , --- ES^4_{60} , --- ES^4_{40} , --- ES^4_{20} , --- ES^4_0

En las Tablas 6.1, 6.2 y 6.3, se presentan los valores de los diámetros volumétricos ($d_{4,3}$) medios inicial y final, así como los valores de las tasas de coalescencia de las ES^2_y , ES^3_y y ES^4_y , respectivamente. Las emulsiones ES^2_y formuladas con una relación de biopolímeros : fase oleosa de 2:1, mostraron valores de $d_{4,3}$ iniciales y finales que variaron de 2.20 (ES^2_{40}) a 3.51 (ES^2_0) μm y de 2.37 (ES^2_{20}) a 8.16 (ES^2_0) μm , respectivamente (Tabla 6.1). Los valores de tasa de coalescencia de las emulsiones ES^2_y estuvieron en el rango de 1.38×10^{-7} (ES^2_{20}) a 6.10×10^{-7} (ES^2_0) s^{-1} (Tabla 6.1). Las emulsiones ES^3_y formuladas con una relación de biopolímeros : fase oleosa de 3:1, mostraron valores de $d_{4,3}$ iniciales y finales que variaron de 2.15 (ES^3_{40}) a 3.13 (ES^3_0) μm y de 2.59 (ES^3_{20}) a 4.34 (ES^3_0) μm ,

respectivamente (Tabla 6.2). Los valores de tasa de coalescencia de las emulsiones ES^3_y estuvieron en el rango de 1.30×10^{-7} (ES^3_{40}) a 2.40×10^{-7} (ES^3_0) s^{-1} (Tabla 6.2).

Tabla 6.1. Diámetro volumétrico y tasa de coalescencia (medias \pm desviación estándar) de las emulsiones simples conteniendo una relación biopolímeros : fase oleosa de 2:1.

Código de la Emulsión *	$d_{4,3}$ (μm)		Tasa de Coalescencia, C (s^{-1}) ($\times 10^7$)
	Inicial	Final	
ES^2_{100}	3.18 ± 0.05	4.83 ± 0.46	4.59 ± 0.60
ES^2_{80}	2.59 ± 0.35	2.70 ± 0.39	2.76 ± 0.26
ES^2_{60}	2.30 ± 0.20	2.50 ± 0.40	2.45 ± 0.65
ES^2_{40}	2.20 ± 0.22	2.46 ± 0.47	2.88 ± 0.84
ES^2_{20}	2.24 ± 0.16	2.37 ± 0.20	1.38 ± 0.38
ES^2_0	3.51 ± 0.07	8.16 ± 0.52	6.11 ± 0.32

* ES^2_y : Códigos de las emulsiones, donde el superíndice 2: relación biopolímeros : fase oleosa de 2:1 y el subíndice “y”: porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Tabla 6.2. Diámetro volumétrico y tasa de coalescencia (medias \pm desviación estándar) de las emulsiones simples conteniendo una relación biopolímeros : fase oleosa de 3:1.

Código de la Emulsión *	$d_{4,3}$ (μm)		Tasa de Coalescencia, C (s^{-1}) ($\times 10^7$)
	Inicial	Final	
ES^3_{100}	2.69 ± 0.50	2.79 ± 0.90	1.81 ± 0.75
ES^3_{80}	2.72 ± 0.30	2.91 ± 0.53	1.57 ± 0.11
ES^3_{60}	2.41 ± 0.66	2.73 ± 0.84	1.49 ± 0.45
ES^3_{40}	2.15 ± 0.99	2.63 ± 0.78	1.30 ± 0.41
ES^3_{20}	2.67 ± 0.17	2.59 ± 0.87	2.21 ± 0.93
ES^3_0	3.13 ± 0.32	4.34 ± 0.39	2.40 ± 0.61

* ES^3_y : códigos de las emulsiones, donde el superíndice 3: relación biopolímeros: fase oleosa de 3:1 y el subíndice “y”: porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Finalmente las emulsiones ES^4_y formuladas con una relación de biopolímeros : fase oleosa de 4:1, mostraron valores de $d_{4,3}$ iniciales y finales que variaron de 2.16 (ES^4_{20}) a 3.03 (ES^4_{100}) μm y de 2.41 (ES^4_{40}) a 4.22 (ES^4_0) μm , respectivamente (Tabla 6.3). Los valores de tasa de coalescencia de las emulsiones ES^4_y estuvieron en el rango de 1.00×10^{-7} (ES^4_{40}) a 2.99×10^{-7} (ES^4_0) s^{-1} (Tabla 6.3). Los resultados antes señalados, indican que las emulsiones formadas y estabilizadas mediante mezclas de

GA y GM (en especial las emulsiones ES₂₀ y ES₄₀), mostraron gotas de aceite de menores tamaños inicial y final y valores más bajos de tasa de coalescencia, en comparación con las gotas de las emulsiones (en particular la emulsión ES₀) en las que se utilizó sólo una de las gomas como agente emulsionante/estabilizante.

Tabla 6.3. Diámetro volumétrico y tasa de coalescencia (medias \pm desviación estándar) de las emulsiones simples conteniendo una relación biopolímeros : fase oleosa de 4:1.

Código de la Emulsión*	D _{4,3} (μ m)		Tasa de Coalescencia, C (s ⁻¹) ($\times 10^7$)
	Inicial	Final	
ES ₁₀₀ ⁴	3.03 \pm 0.07	3.18 \pm 0.91	2.41 \pm 0.25
ES ₈₀ ⁴	2.43 \pm 0.70	2.45 \pm 0.94	1.13 \pm 0.11
ES ₆₀ ⁴	2.29 \pm 0.81	2.44 \pm 0.91	1.07 \pm 0.05
ES ₄₀ ⁴	2.24 \pm 0.68	2.41 \pm 0.83	1.01 \pm 0.01
ES ₂₀ ⁴	2.16 \pm 0.79	2.94 \pm 0.58	2.69 \pm 0.49
ES ₀ ⁴	2.97 \pm 0.50	4.22 \pm 0.62	2.99 \pm 0.58

*ES_y⁴: códigos de las emulsiones, donde el superíndice 4: relación biopolímeros: fase oleosa de 4:1 y el subíndice "y": porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Al realizar un Análisis de Varianza Multifactorial de los valores de los diámetros volumétricos inicial y final y la tasa de coalescencia de las ES, para conocer el efecto ejercido sobre éstos por la relación biopolímeros : fase oleosa y la composición de los biopolímeros (porcentajes de goma arábica y goma de mezquite), se encontró que el diámetro inicial de las gotas de aceite de las ES no fue afectado ($p \geq 0.05$) por variaciones en la relación biopolímeros : fase oleosa (Tabla 6.4), pero sí fue alterado ($p \leq 0.05$) por modificaciones en la composición de los biopolímeros (Tabla 6.5). Las emulsiones ES₆₀, ES₄₀ y ES₂₀, formuladas con mezclas de GA y GM mostraron diámetros volumétricos iniciales más pequeños ($p \leq 0.05$), que aquellos exhibidos por la emulsión ES₀, conteniendo GA únicamente (Tabla 6.5). Las emulsiones ES₈₀ y ES₁₀₀, la primera formulada con 80 % de goma de mezquite y 20 % de goma arábica y la última solamente con goma de mezquite, exhibieron gotas con diámetros volumétricos iniciales intermedios a los presentados por las emulsiones antes mencionadas (Tabla 6.5).

El diámetro volumétrico final de las emulsiones fue afectado tanto por la relación biopolímeros : fase oleosa (Tabla 6.4), como por la composición de los biopolímeros (Tabla 6.5). Una relación

biopolímeros : fase oleosa de 2:1 resultó en diámetros volumétricos finales significativamente mayores a los observados mediante el uso de las relaciones 3:1 y 4:1 (Tabla 6.4). Respecto a la composición de los biopolímeros, la emulsión ES₀, conteniendo sólo GA, mostró un diámetro volumétrico final significativamente mayor que aquellos observados en el resto de las emulsiones (Tabla 6.5).

Tabla 6.4. Resultados de las pruebas de comparación de medias de los diámetros volumétricos iniciales y finales, y tasas de coalescencia de las emulsiones simples, en función de la relación biopolímeros : fase oleosa.

Relación biopolímeros: fase oleosa	Diámetro volumétrico inicial (D _{4,3}) (µm)	Diámetro volumétrico final (D _{4,3}) (µm)	Tasa de coalescencia (C)(× 10 ⁷) (s ⁻¹)
2:1	2.67 ^a	3.84 ^b	3.36 ^b
3:1	2.62 ^a	3.00 ^a	1.80 ^a
4:1	2.51 ^a	2.94 ^a	1.88 ^a

^{a, b} Superíndices diferentes en una columna, indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Tabla 6.5. Resultados de las pruebas de comparación de medias de los diámetros volumétricos iniciales y finales, y tasas de coalescencia de las emulsiones simples, en función de la composición de biopolímeros.

Goma de Mezquite (GM) (%)	Goma Arábica (GA) (%)	Diámetro volumétrico inicial (D _{4,3}) (µm)	Diámetro volumétrico final (D _{4,3})(µm)	Tasa de coalescencia (C) (× 10 ⁷) (s ⁻¹)
100	0	2.97 ^{bc}	3.60 ^a	2.93 ^{ab}
80	20	2.58 ^{abc}	2.69 ^a	1.82 ^a
60	40	2.33 ^{ab}	2.56 ^a	1.67 ^a
40	60	2.16 ^a	2.50 ^a	1.73 ^a
20	80	2.36 ^{ab}	2.64 ^a	2.09 ^a
0	100	3.2 ^c	5.57 ^b	3.55 ^b

^{a, b, c} Superíndices diferentes en una columna, indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Los valores de tasa de coalescencia de las emulsiones, fueron afectados ($p \leq 0.05$) tanto por la relación biopolímeros : fase oleosa, como por la composición de los biopolímeros. Una relación 2:1 de biopolímeros : fase oleosa de 2:1 rindió emulsiones con tasas de coalescencia más elevadas ($p \leq 0.05$) que aquellas obtenidas en las emulsiones en las que se utilizaron relaciones 3:1 y 4:1 (Tabla 6.4). Asimismo, el uso de mezclas de GM y GA, resultó en emulsiones (ES₈₀, ES₆₀, ES₄₀ y ES₂₀) con tasas de coalescencia menores significativamente a las mostradas por las emulsiones ES₁₀₀ y ES₀, conteniendo

GM y GA únicamente, respectivamente (Tabla 6.5).

Todas las emulsiones mostraron un comportamiento cinético de primer orden. A manera de ejemplo, en la Figura 6.2 se presenta el comportamiento de las emulsiones preparadas con mayor cantidad de biopolímeros (biopolímeros : fase oleosa de 4:1). Los valores de las tasas de coalescencia (C) de las gotas de las emulsiones, durante un tiempo de envejecimiento de 30 días, fueron del orden de 10^{-7} a 10^{-9} (Tablas 6.1, 6.2 y 6.3); valores que indican una alta estabilidad según el criterio de Sherman (1968). Vernon-Carter y col. (1996) formularon emulsiones O/W conteniendo oleorresina de aztec marigold en agua, usando como agentes protectores y emulsionantes goma de mezquite, goma arábiga y sus mezclas, a valores de pH de 3, 5 y 7. Ambas gomas y sus mezclas generaron emulsiones O/W altamente estables contra coalescencia y pérdida de color. La goma de mezquite proveyó mayor estabilidad a las emulsiones que la conferida por la goma arábiga y mezclas de ambas gomas mostraron efecto estabilizante sinérgico, proporcionando así mayor estabilidad a las emulsiones que de manera individual.

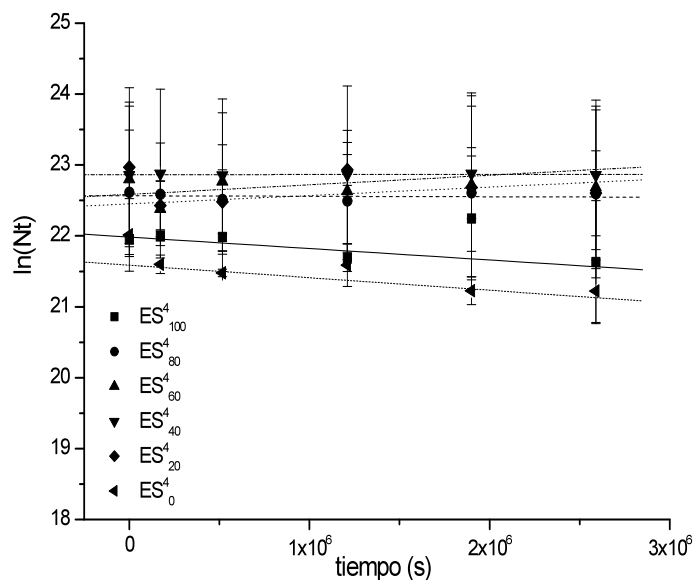


Figura 6.2. Cinéticas de coalescencia de las emulsiones (ES^d) con relación biopolímeros : fase oleosa de 4:1.

Algunos biopolímeros, principalmente proteínas y polisacáridos solubles en agua, han encontrado múltiples aplicaciones como agentes estabilizantes y texturizantes en un amplio rango de

productos alimenticios. El uso funcional de estos hidrocoloides está relacionado con su capacidad de incrementar la viscosidad de sistemas acuosos, con sus propiedades para formar geles, así como con su capacidad para estabilizar partículas coloidales diversas (1-100 μm), a las cuales dispersan o emulsifican. Esta última propiedad, característica de materiales como la goma arábica y de mezquite, se basa en la capacidad de las cadenas arabinogalactanas proteicas (AGP) para adsorberse en interfases líquido-líquido, líquido-sólido o líquido-aire. La funcionalidad depende de la forma en la cual estos polímeros se adsorben en la interfase aceite-agua (Vernon-Carter y Sherman, 1980a; Garti y Lesser, 2001).

Generalmente en las emulsiones O/W, la adición de polímeros hidrosolubles provoca un aumento en la viscosidad de la fase acuosa continua y por lo tanto disminuye la movilidad de las gotas de aceite, descendiendo así la probabilidad de que colisionen y se agreguen. En cambio, si la concentración de polímero es muy pequeña, el efecto es el inverso debido a la floculación por depleción (Aranberri, y col., 2006).

La goma de mezquite y la goma arábica en particular, son hidrocoloides que contienen proteína que les brinda capacidad estabilizante en interfases aceite-agua. Estas gomas contienen suficientes grupos hidrofóbicos para actuar como puntos de anclaje o unión en la fase oleosa. Asimismo contienen numerosos grupos hidrofílicos para reducir la tensión superficial en interfases aceite-agua. Aunado a lo anterior, aumentos en la concentración de los biopolímeros en el sistema, generan incrementos en la viscosidad, lo cual disminuye la movilidad de las gotas, confiere estabilidad al sistema y rinde valores de tasa de coalescencia menores.

6.1.2. Emulsiones Múltiples

La figura 6.3 muestra la distribución del diámetro volumétrico ($d_{4,3}$) medio de las gotas de las emulsiones múltiples formuladas con una biopolímeros : fase oleosa de 2.73 : 1, al día 1 y al día 30. En esta figura puede observarse que la distribución del tamaño de gota de las emulsiones múltiples al día 1 de preparación, tuvo un comportamiento unimodal; en contraste, en el día 30 se presentó desestabilización de las emulsiones, tendiendo a exhibir gotas de tamaño con comportamiento bimodal. Las emulsiones múltiples formuladas con relaciones biopolímeros : fase oleosa de 1.48 : 1 y 3.98 : 1 presentaron tendencias similares (figuras no mostradas).

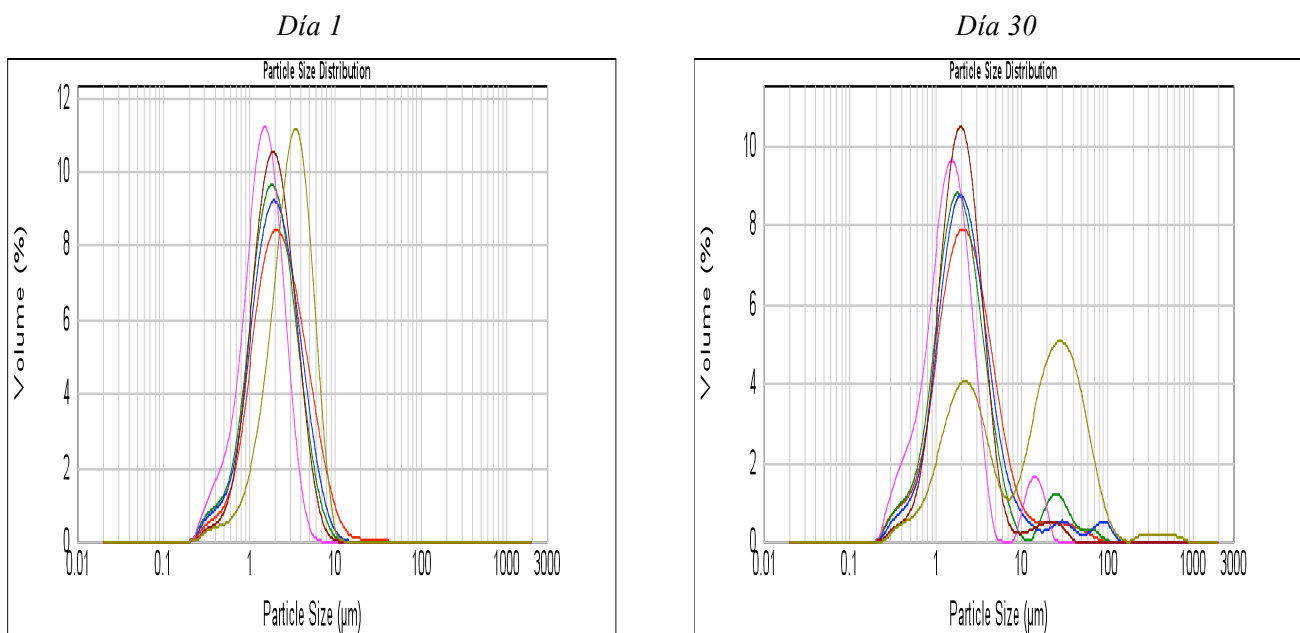


Figura 6.3. Distribución del tamaño de gota de emulsiones múltiples con relación de biopolímero: fase oleosa 2.73:1, --- EM²₁₀₀, --- EM²₈₀, --- EM²₆₀, --- EM²₄₀, --- EM²₂₀, --- EM²₀

Los valores de los diámetros volumétricos ($d_{4,3}$) medios inicial y final, así como los valores de las tasas de coalescencia de las emulsiones, dependiendo de su relación biopolímeros : fase oleosa, se presentan en las Tablas 6.6, 6.7 y 6.8. Las emulsiones EM¹_y formuladas con una relación de biopolímeros : fase oleosa de 1.48 : 1, mostraron valores de $d_{4,3}$ iniciales y finales que variaron de 3.05 (EM¹₆₀) a 4.31 (EM¹₀) μm y de 3.62 (EM¹₆₀) a 38.50 (EM¹₀) μm , respectivamente (Tabla 6.6). Los valores de tasa de coalescencia de las emulsiones EM¹_y estuvieron en el rango de 1.88×10^{-7} (EM¹₆₀) a 25.10×10^{-7} (EM¹₀) s⁻¹ (Tabla 6.6).

Tabla 6.6. Diámetro volumétrico y cinética de coalescencia (medias \pm desviación estándar) de las emulsiones múltiples conteniendo una relación biopolímeros : fase oleosa de 1.48 : 1.

Código de la Emulsión*	$d_{4,3}$ (μm)		Tasa de Coalescencia, C (s^{-1}) ($\times 10^7$)
	Inicial	Final	
EM ¹ ₁₀₀	3.56 \pm 0.21	6.28 \pm 0.28	6.33 \pm 0.95
EM ¹ ₈₀	3.52 \pm 0.03	4.40 \pm 0.18	2.14 \pm 0.79
EM ¹ ₆₀	3.05 \pm 0.23	3.62 \pm 0.34	1.88 \pm 0.28
EM ¹ ₄₀	3.50 \pm 0.18	4.56 \pm 0.29	2.86 \pm 0.59
EM ¹ ₂₀	4.28 \pm 0.37	6.67 \pm 0.54	4.72 \pm 0.30
EM ¹ ₀	4.31 \pm 0.98	38.50 \pm 1.88	25.10 \pm 2.83

*EM¹_y: Códigos de las emulsiones, donde el superíndice 1: relación biopolímeros : fase oleosa de 1.48:1 y el subíndice "y": porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Las emulsiones EM²_y formuladas con una relación biopolímeros : fase oleosa de 2.73 : 1, mostraron valores de $d_{4,3}$ iniciales y finales que variaron de 1.50 (EM²₄₀) a 3.51 (EM²₁₀₀) μm y de 2.39 (EM²₄₀) a 32.72 (EM²₀) μm , respectivamente (Tabla 6.7). Los valores de tasa de coalescencia de las emulsiones EM²_y estuvieron en el rango de 1.88×10^{-7} (EM²₁₀₀) a 27.10×10^{-7} (EM²₀) s^{-1} (Tabla 6.7).

Tabla 6.7. Diámetro volumétrico y cinética de coalescencia (medias \pm desviación estándar) de las emulsiones múltiples conteniendo una relación biopolímeros : fase oleosa de 2.73 : 1.

Código de la Emulsión*	$d_{4,3}$ (μm)		Tasa de Coalescencia, C (s^{-1}) ($\times 10^7$)
	Inicial	Final	
EM ² ₁₀₀	3.51 + 0.14	4.12 + 0.20	1.88 + 0.31
EM ² ₈₀	2.33 + 0.16	4.26 + 0.22	6.84 + 0.95
EM ² ₆₀	2.21 + 0.28	4.72 + 0.37	7.91 + 0.42
EM ² ₄₀	1.50 + 0.16	2.39 + 0.16	5.65 + 0.32
EM ² ₂₀	2.36 + 0.22	3.07 + 0.38	3.14 + 0.78
EM ² ₀	2.71 + 0.98	32.72 + 3.84	27.10 + 2.55

*EM²_y: códigos de las emulsiones, donde el superíndice 2: relación biopolímeros : fase oleosa de 2.73 : 1 y el subíndice "y": porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Finalmente las emulsiones EM³_y formuladas con una relación biopolímeros : fase oleosa de 3.98 : 1, mostraron valores de $d_{4,3}$ iniciales y finales que variaron de 1.49 (EM³₈₀) a 2.26 (EM³₁₀₀) μm y de 3.67 (EM³₂₀) a 52.42 (EM³₀) μm , respectivamente (Tabla 6.8). Los valores de tasa de coalescencia de las

emulsiones EM^3_y estuvieron en el rango de 0.74×10^{-6} (EM^3_{20}) a 3.30×10^{-6} (EM^3_0) s^{-1} (Tabla 6.8).

Tabla 6.8. Diámetro volumétrico y cinética de coalescencia (medias \pm desviación estándar) de las emulsiones múltiples conteniendo una relación biopolímeros : fase oleosa de 3.98 : 1.

Código de la Emulsión *	$d_{4,3}$ (μm)		Tasa de Coalescencia, C (s^{-1}) ($\times 10^6$)
	Inicial	Final	
EM^3_{100}	2.60 + 0.63	11.89 + 0.57	1.39 + 0.09
EM^3_{80}	1.49 + 0.15	5.67 + 0.18	1.45 + 0.14
EM^3_{60}	1.57 + 0.21	4.47 + 0.37	1.04 + 0.06
EM^3_{40}	1.92 + 0.25	4.79 + 0.58	1.00 + 0.03
EM^3_{20}	1.79 + 0.19	3.67 + 0.22	0.74 + 0.09
EM^3_0	2,28 + 0.65	52.42 + 10.38	3.30 + 0.68

* ES^3_y : códigos de las emulsiones, donde el superíndice 3: relación biopolímeros : fase oleosa de 3.98:1 y el subíndice "y": porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Los resultados antes señalados, indican que las emulsiones formadas y estabilizadas mediante mezclas de GA y GM, en especial aquellas conteniendo 40 y 60 % de goma de mezquite, mostraron gotas de aceite de menores tamaños inicial y final, y valores más bajos de tasa de coalescencia, en comparación con las gotas de las emulsiones en las que se utilizó sólo una de las gomas como agente emulsionante/estabilizante, en especial de aquellas conteniendo sola GA.

Al realizar un Análisis de Varianza Multifactorial de los valores de los diámetros volumétricos inicial y final y la tasa de coalescencia de las EM, para conocer el efecto ejercido sobre éstos por la relación biopolímeros : fase oleosa y la composición de la fase de biopolímeros (porcentajes de goma arábica y goma de mezquite), se encontró que el diámetro inicial de las gotas de aceite de las EM fue afectado tanto por variaciones en la relación biopolímeros : fase oleosa ($p \leq 0.05$) (Tabla 6.9), como por modificaciones en la composición de los biopolímeros ($p \leq 0.05$) (Tabla 6.10). La relación biopolímeros : fase oleosa 1.48 : 1 resultó en diámetros volumétricos iniciales significativamente ($p \leq 0.05$) mayores a los observados mediante el uso de las relaciones 2.73 : 1 y 3.98 : 1 (Tabla 6.9).

Tabla 6.9. Resultados de las pruebas de comparación de medias de los diámetros volumétricos iniciales y finales, y tasas de coalescencia de las emulsiones múltiples, en función de la relación biopolímeros: fase oleosa.

Relación biopolímeros : fase oleosa	Diámetro volumétrico inicial ($D_{4,3}$) (μm)	Diámetro volumétrico final ($D_{4,3}$) (μm)	Tasa de coalescencia (C)($\times 10^7$) (s^{-1})
1.48:1	3.70 ^b	10.67 ^{ab}	7.17 ^a
2.73:1	2.43 ^a	8.54 ^a	8.75 ^a
3.98:1	1.94 ^a	13.81 ^c	14.8 ^b

^{a, b, c} Superíndices diferentes en una columna, indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Las emulsiones EM^x₆₀, y EM^x₄₀, formuladas con mezclas de GM y GA mostraron diámetros volumétricos iniciales más pequeños ($p \leq 0.05$), que aquellos exhibidos por la emulsión EM₁₀₀, conteniendo GM únicamente (Tabla 6.10). Las emulsiones EM^x₈₀, EM^x₂₀ y EM^x₀, la primera formulada con 80 % de goma de mezquite y 20 % de goma arábica, la segunda formulada con 20 % goma de mezquite y 80 % de goma arábica y la última solamente con goma arábica, exhibieron gotas con diámetros volumétricos iniciales intermedios a los presentados por las emulsiones antes mencionadas (Tabla 6.10).

Tabla 6.10. Resultados de las pruebas de comparación de medias de los diámetros volumétricos iniciales y finales, y tasas de coalescencia de las emulsiones múltiples, en función de la composición de los biopolímeros.

Goma de Mezquite (GM) (%)	Goma Arábica (GA) (%)	Diámetro volumétrico inicial ($D_{4,3}$)(μm)	Diámetro volumétrico final ($D_{4,3}$)(μm)	Tasa de coalescencia (C)($\times 10^7$) (s^{-1})
100	0	3.22 ^b	7.43 ^a	7.37 ^a
80	20	2.44 ^{ab}	4.78 ^a	7.83 ^a
60	40	2.28 ^a	4.27 ^a	6.73 ^a
40	60	2.31 ^a	3.91 ^a	6.17 ^a
20	80	2.81 ^{ab}	4.47 ^a	5.08 ^a
0	100	3.10 ^{ab}	41.21 ^b	28.40 ^b

^{a, b, c} Superíndices diferentes en una columna, indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

El diámetro volumétrico final de las EM fue afectado tanto por la relación biopolímeros : fase oleosa, como por la composición de los biopolímeros. Una relación biopolímeros : fase oleosa de 2.73 : 1 resultó en diámetros volumétricos finales significativamente menores a los observados mediante el uso de la relación 3.98 : 1 (Tabla 6.9), mientras que la relación biopolímeros : fase oleosa de 1.48:1, resultó

en diámetros volumétricos finales intermedios a las otras dos relaciones ya mencionadas.

Respecto a la composición de los biopolímeros, las emulsiones EM^x_0 , conteniendo sólo GA, mostraron un diámetro volumétrico final significativamente mayor al de aquellos observados en el resto de las emulsiones (Tabla 6.10). Los valores de tasa de coalescencia de las emulsiones, también fueron afectados ($p \leq 0.05$) tanto por la relación biopolímeros : fase oleosa, como por la composición de los biopolímeros. Una relación biopolímeros : fase oleosa de 3.98 : 1 rindió emulsiones con tasas de coalescencia más elevadas ($p \leq 0.05$) que aquellas obtenidas en las emulsiones en las que se utilizaron relaciones 1.48 : 1 y 2.73 : 1 (Tabla 6.9). Asimismo, el uso de mezclas de GM y GA, resultó en emulsiones EM^x_0 con tasas de coalescencia mayores significativamente a las mostradas por el resto de las emulsiones (Tabla 6.10).

Todas las EM, al igual que las ES, mostraron un comportamiento cinético de primer orden. A manera de ejemplo, en la Figura 6.4 se presenta el comportamiento de las emulsiones múltiples preparadas con una relación biopolímeros : fase oleosa de 3.98 :1. Los valores de las tasas de coalescencia (C) de las gotas de las emulsiones durante un tiempo de envejecimiento de 30 días, fueron del orden de 10^{-7} (Tablas 6.11, 6.12 y 6.13); valores que indican una alta estabilidad según el criterio de Sherman (1968).

En términos generales, se ha informado que la molécula de goma de mezquite tiene un mayor peso molecular que la goma arábica (Smith y col. 1959). En la preparación de emulsiones con mezclas de biopolímeros existe una difusión de las distintas especies a la interfase, que dependerá de su concentración relativa, su peso molecular y su conformación en solución, entre otros. Al difundirse a la interfase, los biopolímeros compiten por sitios interfaciales donde se adsorben y a través de lentos procesos de reacomodo e interacciones, que depende de la naturaleza de sus grupos funcionales forman una estructura entretejida alrededor de las gotas (Wilde, 2000).

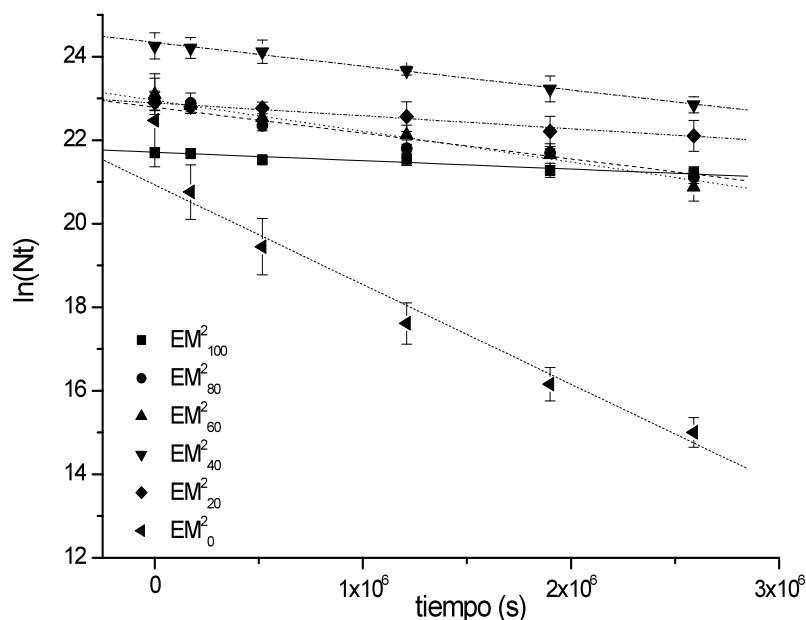


Figura 6.4. Cinéticas de coalescencia de las emulsiones (EM^3) con relación biopolímeros : fase oleosa de 3.98:1.

Vernon-Carter y col. (1998), demostraron que la goma de mezquite (*Prosopis juliflora*) con 0.49 % de nitrógeno forma emulsiones más estables que la goma arábiga (*Acacia senegal*) y que la goma acacia (*Acacia ssp.*) con contenidos de nitrógeno de 0.35% y 0.36% respectivamente.

La goma de mezquite (*P. Laevigata*) tiene la habilidad para encapsular aceite de naranja (80.5%: Berinstain y Vernon-Carter, 1994), en porcentajes un poco menores a los encontrados al usar goma arábiga (93.5%). Así también, la capacidad encapsulante de la goma arábiga es ligeramente más alta que la de las gomas de mezquite nativas y de la baja en taninos (Goycoolea y col. 1998). Aunado a lo anterior, se han estudiado mezclas de ambas gomas (60:40; Vernon-Carter y col. 1995) y mezclas de goma de mezquite-maltodextrinas en diferentes proporciones (0:1, 1:4, 2:3, 3:2, 4:1, 1:0; Berinstain y col. 1999). Los resultados sugieren que las mezclas de goma arábiga y goma de mezquite son capaces de encapsular la misma cantidad de aceite de naranja que la goma arábiga pura. Además, la relación 3:2 maltodextrina-goma de mezquite presentó mejor capacidad encapsulante (84% del total del aceite de naranja) que los polisacáridos en forma independiente.

Tanto la goma arábica como la de mezquite son hidrocoloides de alto peso molecular y con características muy similares, por lo que es posible suponer que las cabezas hidrofílicas de ambos biopolímeros interactúan de tal manera que al disolverse en el agua, sus fuerzas eléctricas o enlaces puente de hidrogeno con el agua se incrementan generando una estructura de mayor orden. Por otra parte, las colas hidrofóbicas de ambos hidrocoloides también sufren algún tipo de interacción similar y son atraídas a la fase oleosa donde de igual forma entretejen otra estructura ordenada. Ambas estructuras forman una bicapa o membrana polimérica que brinda de estabilidad a las emulsiones. Sin embargo al aumentar la concentración de biopolímeros en emulsiones múltiples, más allá de un determinado valor, es posible desestabilizar la emulsión generando así una mayor tasa de coalescencia.

6.2. Morfología

6.2.1. Emulsiones Simples

La Figura 6.5a presenta el cambio morfológico en el tiempo (30 días) de las emulsiones ES^2_{100} , ES^2_{20} y ES^2_0 las cuales contenían una relación biopolímero : fase oleosa; 2:1. Se observa que al usar la mezcla de gomas con una composición de 20 % goma de mezquite y 80 % goma arábica (ES^2_{20}) la estabilidad de la emulsión es mejor que con el uso de las gomas por si solas, esto es; 100 % goma de mezquite y 100 % goma arábica (ES^2_{100} y ES^2_0). De igual manera la figura 6.5b muestra el cambio morfológico, al inicio y al final del muestreo, de las emulsiones con relación de biopolímero : fase oleosa; 3:1. Para este caso la mezcla entre gomas en una relación de 40 % goma de mezquite y 60 % goma arábica (ES^3_{40}) brindan de una mayor uniformidad a través del tiempo que el uso de las gomas por si solas (ES^3_{100} , y ES^3_0). Por último, las emulsiones formuladas con una relación de biopolímero : fase oleosa; 4:1 presentaron (Figura 6.5c), al igual que aquellas emulsiones formuladas con una relación de biopolímero : fase oleosa; 3:1, la mejor estabilidad de las emulsiones con la mezcla de gomas con relación de 40 % goma de mezquite y 60 % goma arábica (ES^4_{40}). Estas imágenes concuerdan con los resultados obtenidos de tamaño de gota de la sección anterior.

6.2.2. Emulsiones Múltiples

La Figura 6.6a muestra las emulsiones múltiples formuladas con relación de biopolímeros : fase oleosa; 1.48:1. Se observa que la emulsión con 60 % goma de mezquite y 40 % goma arábica (EM^1_{60}) brinda mejor estabilidad, a diferencia de aquellas emulsiones preparadas con alguna otra relación entre gomas o con el uso de las gomas por si solas (EM^1_{100} y EM^1_0). Por otra parte, cuando se formulan emulsiones con relación de biopolímeros : fase oleosa; 2.73:1 se observa que la mejor estabilidad se obtiene con el uso de únicamente goma de mezquite. La figura 6.6b muestra el cambio morfológico de aquellas emulsiones con 100% goma de mezquite (EM^2_{100}), 100 % goma arábica (EM^2_0) y una de las emulsiones con mezcla de ambas gomas (EM^2_{20}). La última formulación de las emulsiones múltiples con relación de biopolímeros : fase oleosa; 3.98:1 mostró nuevamente que la mezcla entre gomas mejora la estabilidad de las emulsiones (Figura 6.6c), por lo que la mayor estabilidad se obtiene con una mezcla de gomas del 20 % goma de mezquite y 80 % goma arábica. Estas imágenes refuerzan los resultados obtenidos de tamaño de gota presentados en el apartado anterior.

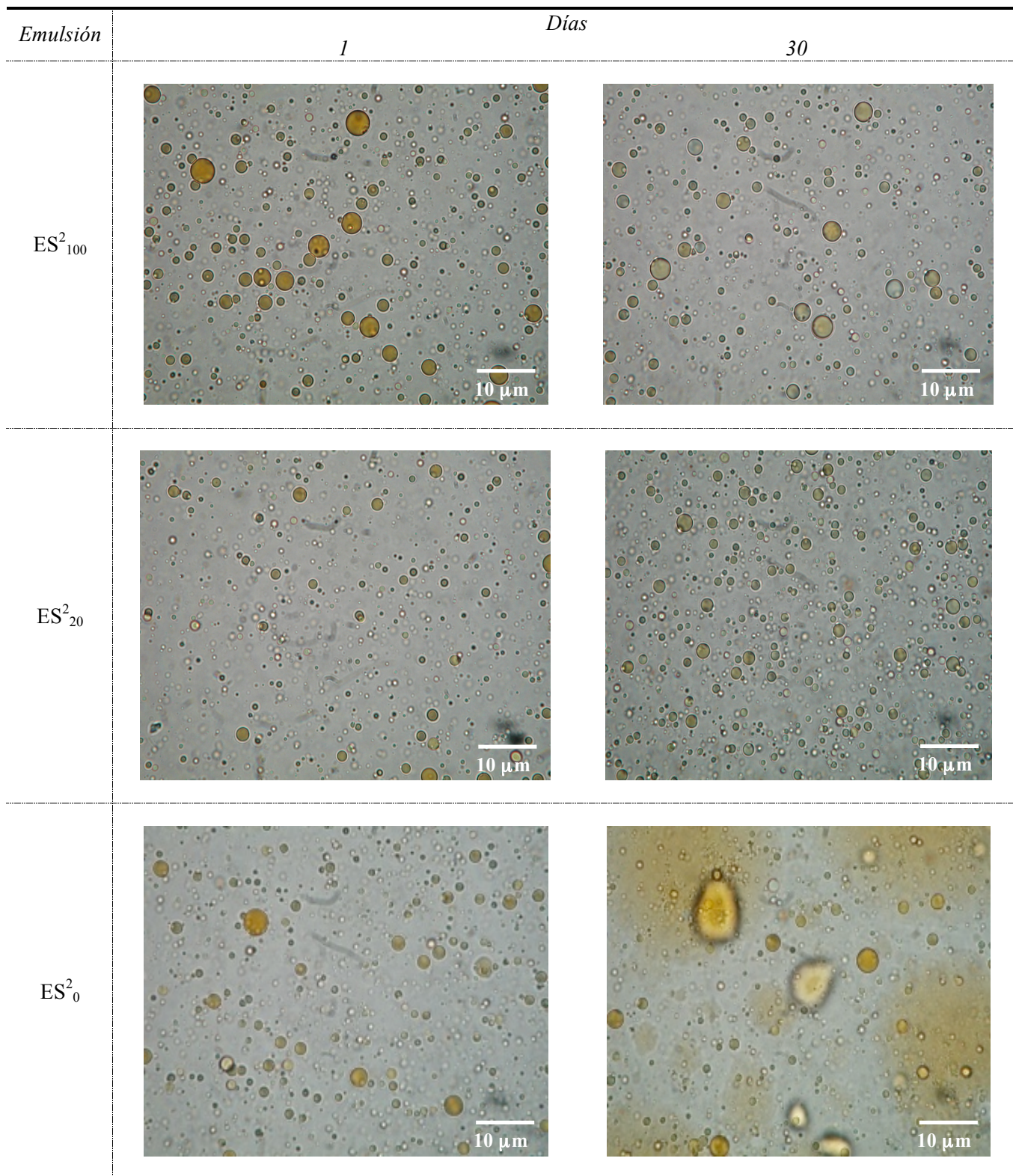


Figura 6.5a. Cambio morfológico a través del tiempo de las emulsiones simples ES²₁₀₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 2 : 1 y 100 % de goma de mezquite), ES²₂₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 2 : 1, 20 % de goma de mezquite y 80% goma arábica) y ES²₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 2 : 1 y 100 % de goma arábica).

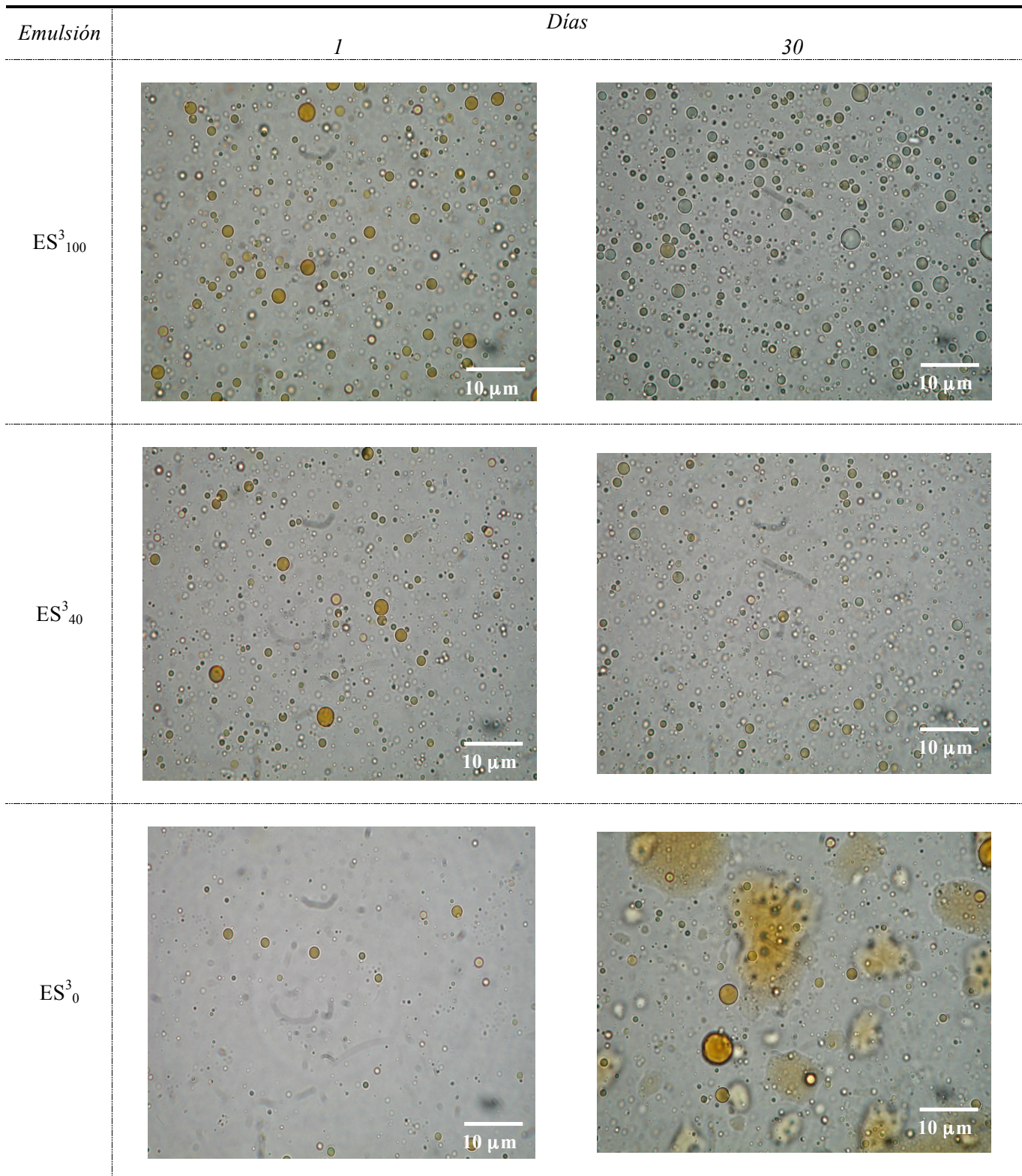


Figura 6.5b. Cambio morfológico a través del tiempo de las emulsiones simples; ES³₁₀₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 3 : 1 y 100 % de goma de mezquite), ES³₄₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 3 : 1, 40 % de goma de mezquite y 60% goma arábica) y ES³₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 3 : 1 y 100 % de goma arábica).

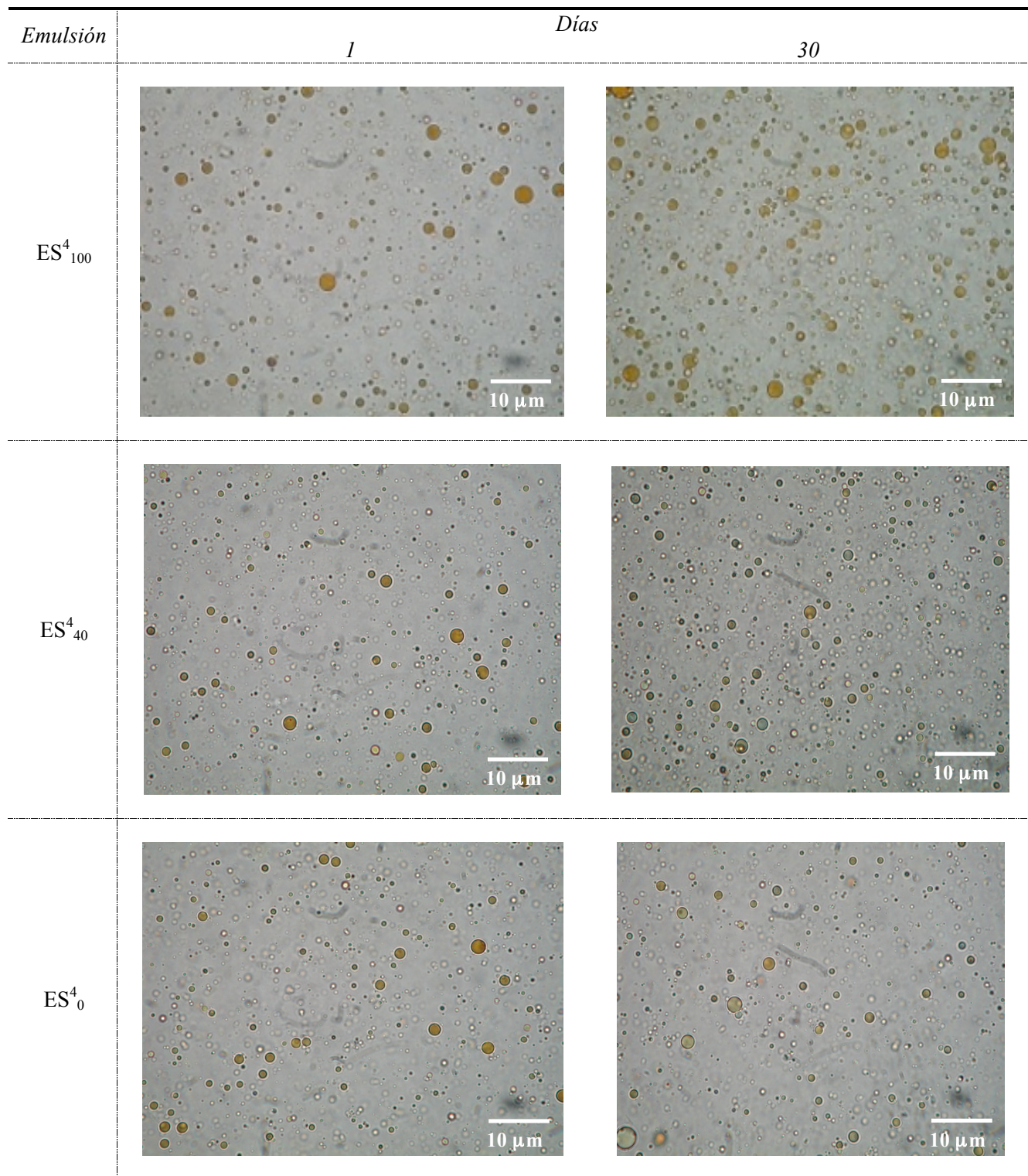


Figura 6.5c. Cambio morfológico a través del tiempo de las emulsiones simples ES⁴₁₀₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 4 : 1 y 100 % de goma de mezquite), ES⁴₄₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 4 : 1, 40 % de goma de mezquite y 60 % goma arábica) y ES⁴₀ (relación biopolímeros : fase acuosa de 4 : 1 y 100 % de goma arábica).

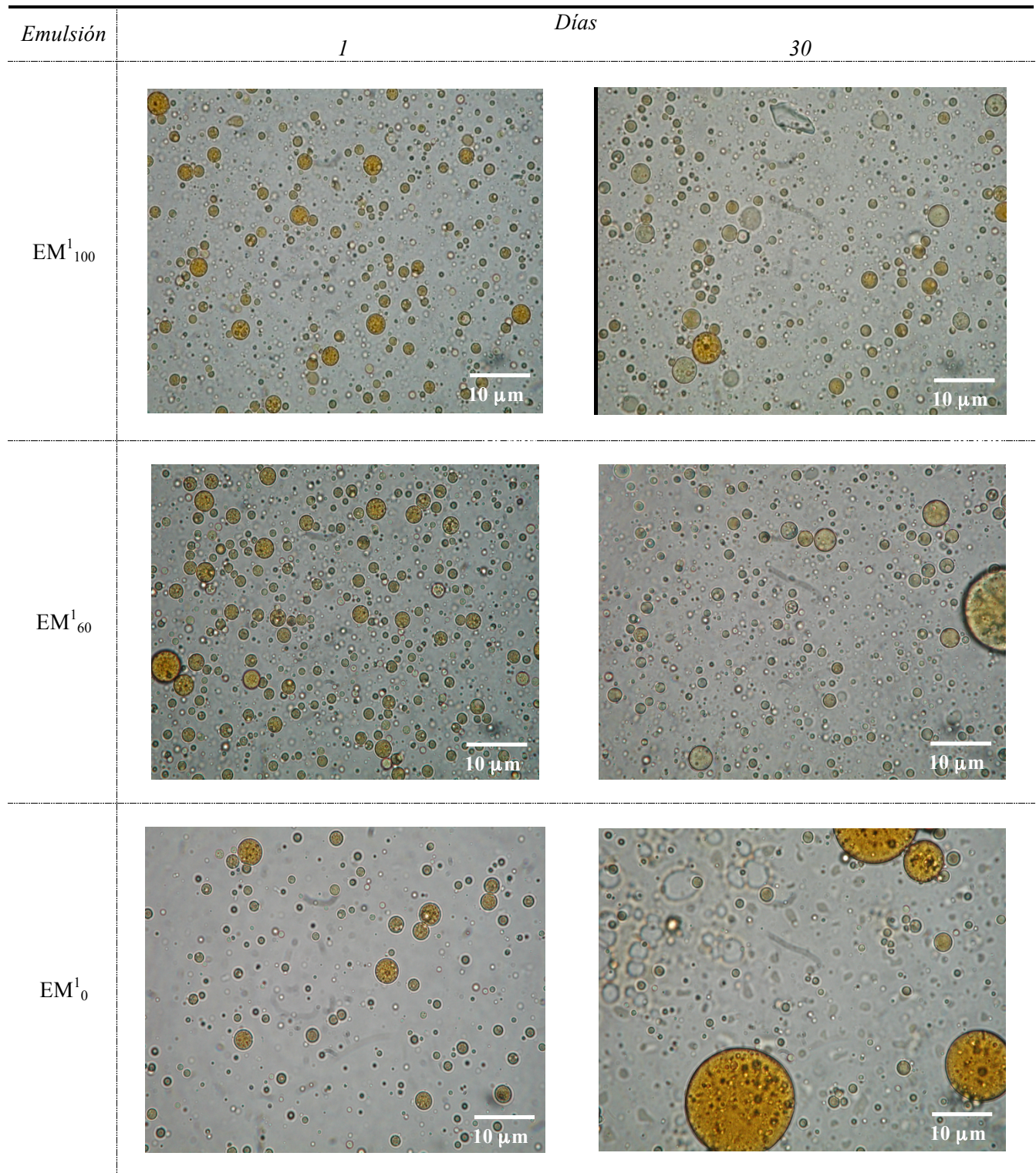


Figura 6.6a. Cambio morfológico a través del tiempo de las emulsiones múltiples relación biopolímeros : fase acuosa de 1.48 : 1; EM¹₁₀₀ (100 % de goma de mezquite), EM¹₆₀ (60 % de goma de mezquite y 40 % goma arábica) y EM¹₀ (100 % de goma arábica).

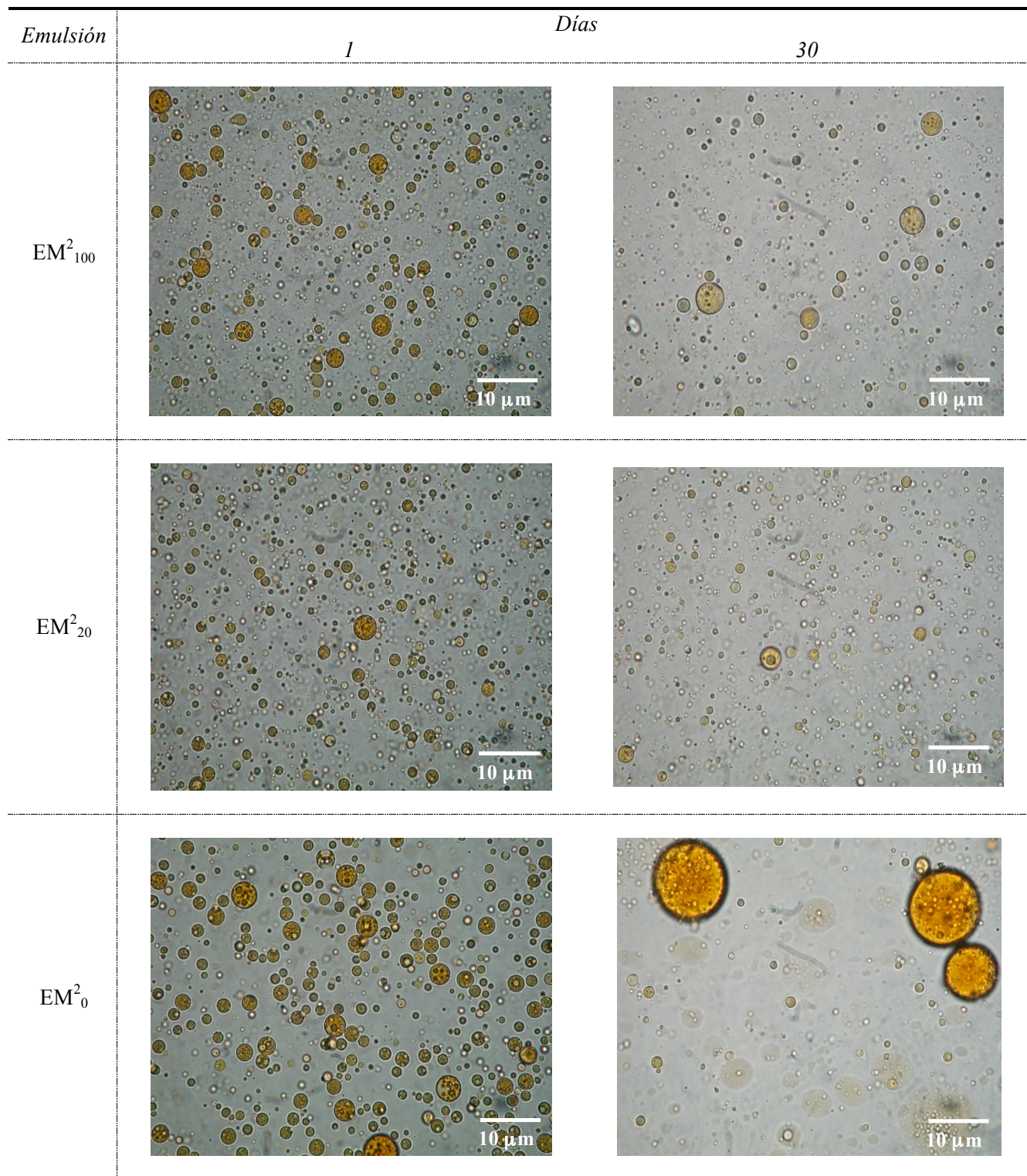


Figura 6.6b. Cambio morfológico a través del tiempo de las emulsiones múltiples relación biopolímeros : fase acuosa de 2.73 : 1; EM²₁₀₀ (100 % de goma de mezquite), EM²₂₀ (20 % de goma de mezquite y 80 % goma arábica) y EM²₀ (100 % de goma arábica).

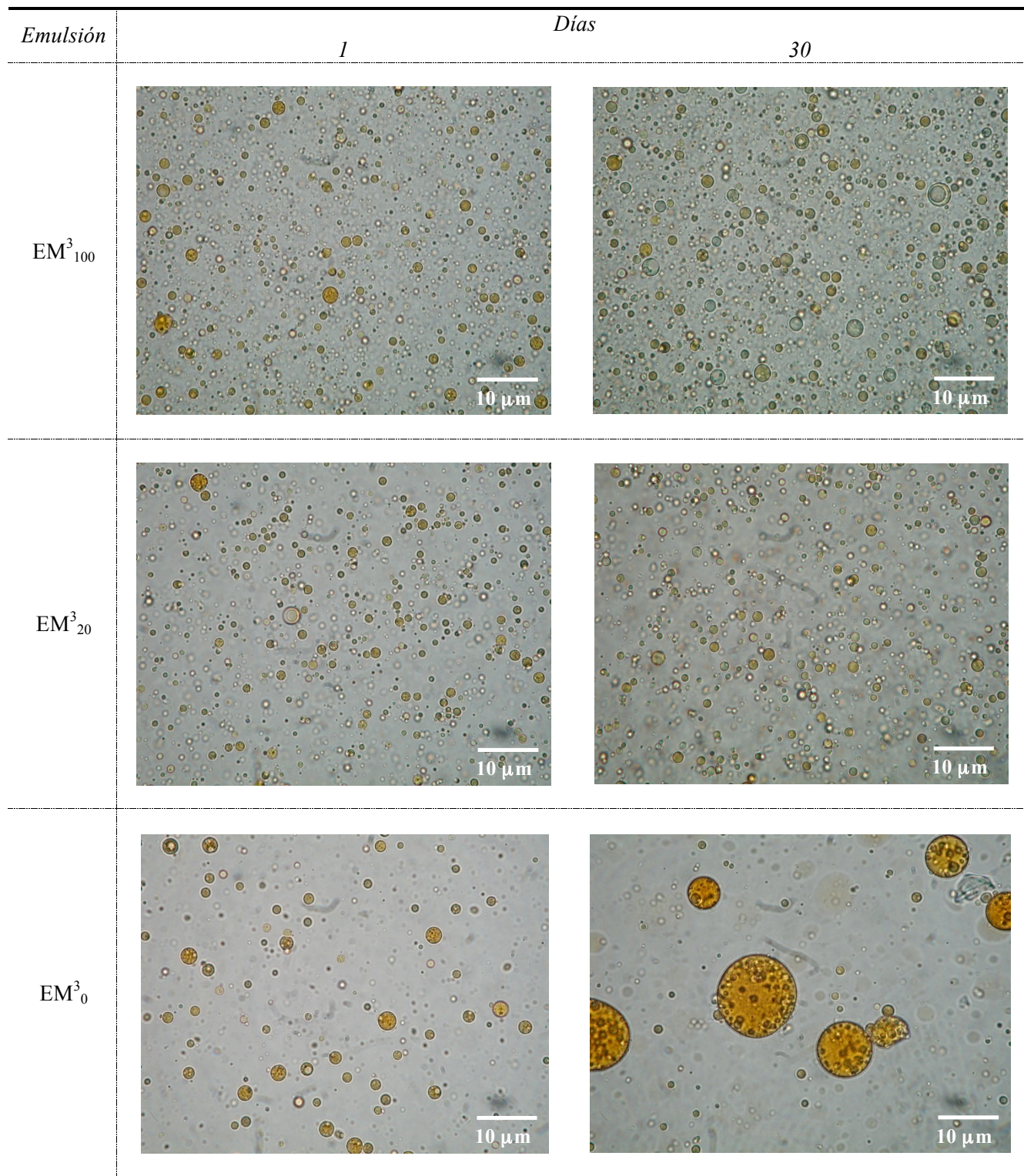


Figura 6.6c. Cambio morfológico a través del tiempo de las emulsiones múltiples relación biopolímeros : fase acuosa de 3.98 : 1; EM³₁₀₀ (100 % de goma de mezquite), EM³₂₀ (20 % de goma de mezquite y 80 % goma arábica) y EM³₀ (100 % de goma arábica).

6.3. Cinética de degradación y vida media de los carotenoides totales.

Tomando en cuenta que la degradación de los carotenoides totales es una reacción química, es permitido establecer una velocidad de degradación aplicando el modelo de velocidad de reacción química:

$$r_A = kC_A^n$$

o bien

$$dC_A/dt = kC_A^n$$

Donde:

r_A : Velocidad de reacción

C_A : Concentración del material de interés (CCT/CCT_0 , donde CCT_0 es la concentración de carotenoides totales en el tiempo t_0 y CCT la concentración de carotenoides totales en el tiempo t).

t : Tiempo

n : Orden de reacción

k : Constante cinética de reacción (que en este caso es la constante cinética de degradación)

Sustituyendo C_A por CCT/CCT_0 y considerando $n = 0$, es posible integrar la última ecuación:

$$CCT/CCT_0 = kt$$

Por medio de esta ecuación es posible determinar la constante cinética de degradación de carotenoides totales.

Por otra parte, si se define a la vida media de la concentración de carotenoides totales (CCT) incluidos en las emulsiones, como el tiempo ($t_{1/2}$) necesario para que su concentración inicial (CCT_0) decrezca a la mitad (Levenspiel, 1972), se tiene:

$$t_{1/2} = \frac{2^{n-1} - 1}{k(n-1)} CCT_0^{1-n}$$

Donde $t_{1/2}$: tiempo de vida media; CCT_0 = concentración de carotenoides totales a tiempo 0; n : orden de la reacción y k : velocidad constante de la cinética de degradación. Cuando $n = 0$, la vida media está dada por:

$$t_{1/2} = \frac{CCT_0}{2k} = \frac{0.5 CCT_0}{k}$$

Como en este estudio CCT_0 fue normalizada (CCT/CCT_0), éste adquiere un valor de 1, así que;

$$t_{1/2} = \frac{0.5}{k}$$

6.3.1. Emulsiones Simples

Los valores de la constante cinética de degradación (k) y del tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de los carotenoides (CCT) incluidos en las diferentes emulsiones se muestran en las Tablas 6.11 a 6.13. Las emulsiones, dependiendo de la relación biopolímeros : fase oleosa, mostraron los siguientes valores de k : ES^2_y , de 1.04×10^{-2} (ES^2_{80}) a 1.85×10^{-2} (ES^2_0) d^{-1} (Tabla 6.11); ES^3_y , de 0.56 (ES^3_{100}) $\times 10^{-2}$ a 1.87 (ES^3_0) $\times 10^{-2}$ d^{-1} (Tabla 6.12) y ES^4_y , de 0.37×10^{-2} (ES^4_{100}) a 1.62×10^{-2} (ES^4_0) d^{-1} (Tabla 6.13). Las emulsiones, dependiendo de la relación biopolímeros : fase oleosa, mostraron los siguientes valores de tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de los CCT incluidos en su fase oleosa: ES^2_y , de 27.29 (ES^2_0) a 48.29 (ES^2_{80}) días (Tabla 6.11); ES^3_y , de 26.78 (ES^3_0) a 90.26 (ES^3_{100}) días (Tabla 6.12) y ES^4_y , de 30.92 (ES^4_0) a 139.00 (ES^4_{100}) días (Tabla 6.13).

Los datos antes citados, indican que en las emulsiones formuladas con GM sola (ES_{100}) o en altas proporciones (ES_{80}) se encontraron los valores menores de k y mayores de $t_{1/2}$ de los CCT incluidos en las mismas; mientras que en las emulsiones formuladas únicamente con GA se observó el comportamiento opuesto; esto es, los valores mayores de k y menores de $t_{1/2}$ de los carotenoides. En general, disminuciones en el porcentaje de GM y aumentos en el porcentaje de GA, originaron aumentos en los valores de k y reducciones en los de $t_{1/2}$ de los CCT.

Tabla 6.11. Constantes cinéticas de degradación y tiempos de vida media de los carotenoides incluidos en las emulsiones sencillas con relación biopolímeros : fase oleosa de 2 : 1.

Código de la Emulsión *	k (d ⁻¹)		t _{1/2} (d)	
	(CCT/CCT ₀)		(25 °C)	
	(× 10 ²)			
ES ² ₁₀₀	1.40	± 0.06	35.74	± 1.44
ES ² ₈₀	1.04	± 0.07	48.29	± 3.42
ES ² ₆₀	1.23	± 0.23	41.57	± 7.92
ES ² ₄₀	1.27	± 0.06	39.41	± 1.76
ES ² ₂₀	1.26	± 0.16	39.99	± 4.94
ES ² ₀	1.85	± 0.22	27.29	± 3.24

*ES²_y: códigos de las emulsiones, donde el superíndice 2: relación biopolímeros : fase oleosa de 2:1 y el subíndice “y”: porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Tabla 6.12. Constantes cinéticas de degradación y tiempos de vida media de los carotenoides incluidos en las emulsiones sencillas con relación biopolímeros : fase oleosa de 3 : 1.

Código de la Emulsión *	k (d ⁻¹)		t _{1/2} (d)	
	(CCT/CCT ₀)		(25 °C)	
	(× 10 ²)			
ES ³ ₁₀₀	0.56	± 0.09	90.26	± 13.78
ES ³ ₈₀	0.96	± 0.07	54.87	± 3.98
ES ³ ₆₀	1.06	± 0.18	47.92	± 8.35
ES ³ ₄₀	1.13	± 0.16	44.67	± 6.15
ES ³ ₂₀	1.50	± 0.13	33.58	± 3.02
ES ³ ₀	1.87	± 0.10	26.78	± 1.42

*ES³_y: códigos de las emulsiones, donde el superíndice 3: relación de biopolímeros: fase oleosa de 3:1 y el subíndice “y”: porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Al realizar un Análisis de Varianza Multifactorial de los valores de las constantes de velocidad (k) de degradación y los tiempos de vida media (t_{1/2}) de los CCT incluidos en las emulsiones, como función de la relación biopolímeros : fase oleosa y la composición de los biopolímeros (porcentajes de goma arábica y goma de mezquite), se observó que los valores de k no fueron afectados por variaciones en la relación biopolímeros : fase oleosa (p ≥ 0.05) (Tabla 6.14), pero sí lo fueron por modificaciones en

la composición de los biopolímeros ($p \leq 0.05$) (Tabla 6.15). Las emulsiones ES^x_{100} , formuladas con GM únicamente, presentaron valores de k significativamente menores que aquellos mostrados por las emulsiones con bajas concentraciones de GM (ES^x_{40} y ES^x_{20}) o conteniendo únicamente GA (ES^x_0) (Tabla 6.15). Las emulsiones ES^x_{80} y ES^x_{60} exhibieron valores bajos de k , comparables ($p \geq 0.05$) a los observados para las emulsiones ES_{100} (Tabla 6.15).

Tabla 6.13. Constantes cinéticas de degradación y tiempos de vida media de los carotenoides incluidos en las emulsiones sencillas con relación biopolímeros : fase oleosa de 4 : 1.

Código de la Emulsión *	k (d^{-1})		$t_{1/2}$ (d)	
	(CCT/CCT ₀)		(25 °C)	
	($\times 10^2$)			
ES^4_{100}	0.37	± 0.08	139.00	± 28.62
ES^4_{80}	1.17	± 0.13	42.99	± 4.68
ES^4_{60}	1.33	± 0.16	38.02	± 4.67
ES^4_{40}	1.35	± 0.09	37.26	± 2.5
ES^4_{20}	1.58	± 0.09	31.80	± 1.86
ES^4_0	1.62	± 0.10	30.92	± 1.89

* ES^4_y : códigos de las emulsiones, donde el superíndice 4: relación de biopolímeros : fase oleosa de 4:1 y el subíndice "y": porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Los valores de $t_{1/2}$ de las emulsiones, al igual que aquellos de k , no fueron afectados por la relación biopolímeros : fase oleosa ($p \geq 0.05$) (Tabla 6.14), pero sí por la composición de la fase de biopolímeros ($p \leq 0.05$) (Tabla 6.15). Las emulsiones ES^x_{100} , formuladas solamente con GM, exhibieron valores de $t_{1/2}$ mayores significativamente a los mostrados por el resto de las emulsiones conteniendo únicamente GA o mezclas de GM y GA (Tabla 6.15).

Todas las emulsiones simples siguieron una cinética de degradación de CCT de orden cero. La Figura 6.7, muestra el comportamiento cinético de las emulsiones ES^4_y . El comportamiento cinético para las emulsiones con relación biopolímero : fase oleosa de 2:1 y 3:1 fue similar al de estas emulsiones.

Tabla 6.14. Resultados de las pruebas de comparación de medias de la constante cinética de degradación y del tiempo de vida media de los carotenoides totales incluidos en las mismas, en función de la relación biopolímeros : fase oleosa.

Relación biopolímeros : fase oleosa	Constante cinética de degradación de carotenoides totales (k) ($\times 10^2$)(d ⁻¹)	Tiempo de vida media (t _{1/2}) (días)
2:1	1.34 ^a	38.72 ^a
3:1	1.18 ^a	49.25 ^a
4:1	1.23 ^a	53.33 ^a

^a. Superíndices iguales en una columna, indican que las medias no difieren significativamente ($p \geq 0.05$).

Tabla 6.15. Resultados de las pruebas de comparación de medias de la constante cinética de degradación y del tiempo de vida media de los carotenoides totales incluidos en las mismas, en función de la composición de los biopolímeros.

Goma de mezquite (%)	Goma arábica (%)	Constante cinética de degradación de carotenoides totales (k) ($\times 10^2$)(d ⁻¹)	Tiempo de vida media (t _{1/2}) (días)
100	0	0.78 ^a	88.33 ^b
80	20	1.06 ^{ab}	47.87 ^a
60	40	1.20 ^{ab}	42.50 ^a
40	60	1.25 ^b	40.44 ^a
20	80	1.44 ^{bc}	35.12 ^a
0	100	1.78 ^c	28.33 ^a

^{a, b, c}. Superíndices diferentes en una columna, indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Cuando la concentración de oxígeno no es limitante, los carotenoides siguen una reacción de degradación de 1er orden (Von Elbe, 1987). La mayoría de los trabajos informan que los carotenoides sufren una reacción de degradación de 1er orden (Desobry y col., 1997,1999; Wagner y Warthesen, 1995), ocurriendo la degradación generalmente en 2 periodos distintos: un periodo con una tasa de degradación inicial rápida alrededor de 4 a 6 semanas, y un periodo con tasa de degradación más lenta a tiempos mayores. En este trabajo la degradación de los pigmentos fue seguida por un periodo máximo de 30 días, así que probablemente la degradación de los CCT caería en este primer periodo rápido de degradación donde el orden de reacción es cero.

En emulsiones sencillas formuladas con goma de mezquite, goma arábica y sus mezclas, se determinó que la goma de mezquite de manera individual o mezclada en altos porcentajes con goma arábica, brindó una mayor protección contra la degradación de los pigmentos que la goma arábica sola o mezclada en altos porcentajes con goma de mezquite, a valores de pH de 3, 5 y 7 (Vernon-Carter y col. 1996). Sin embargo, a un valor de pH de 5, la pérdida de color o degradación del pigmento fue retardada por mayor tiempo que a valores de pH de 3 y 7. Los autores mencionados asumieron que la naturaleza polielectrolítica de las gomas y su alto peso molecular jugaron un papel importante en el mecanismo de protección, así como el inherente color oscuro de la goma de mezquite que actuó como un filtro solar.

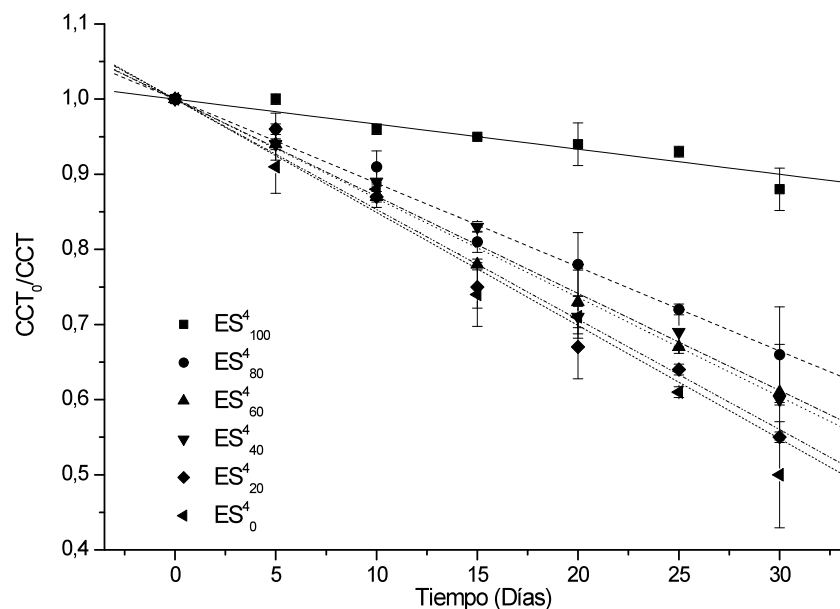


Figura 6.7. Cinéticas de degradación de carotenoides totales de primer orden para emulsiones con relación biopolímeros : fase oleosa de 4:1

De manera semejante en emulsiones formuladas con oleoresina de chile en agua (O/W) y estabilizadas a muy bajas concentraciones de gomas de mezquite, goma arábica y goma acacia a diferentes valores de pH, se estableció que el polisacárido que exhibió la mejor capacidad emulsificante y proporcionó mejor estabilidad contra la coalescencia y la degradación del pigmento, fue la goma de mezquite, seguida de la goma arábica y la goma acacia (Vernon-Carter y col. 1998). El pH tuvo un efecto dramático sobre la estabilidad de las emulsiones contra la coalescencia de las gotas y la

degradación del color. Los mecanismos que estabilizan y gobiernan estos dos procesos fueron totalmente opuestos, ya que mientras que la coalescencia fue menor a valores elevados de pH, la cinética de degradación del pigmento mostró valores altos en constante. Varios factores intervinieron en la capacidad emulsificante, la estabilidad contra la coalescencia de las gotas de emulsión y la estabilidad del color; entre ellas, el contenido de proteína, el peso molecular, la carga superficial y la configuración estérica adoptada a diferentes valores de pH por las gomas.

Se ha reportado que la vida media de los carotenoides encapsulados de b-caroteno con maltodextrina, dentro de rangos de temperatura de entre 25 a 35 °C, el periodo cinético de oxidación se presenta durante las primeras 3 semanas (Desobry y col. 1999, y Rodríguez y col. 2004), lo cual coincidió con el rango de $t_{1/2}$ de este estudio.

6.3.2. Emulsiones Múltiples

Los valores de la constante de cinética de degradación (k) y vida media ($t_{1/2}$) de los CCT incluidos en las diferentes EM se muestran en las Tablas 6.16 a 6.18. Las EM, dependiendo de la relación biopolímeros : fase oleosa, mostraron los siguientes valores de k : EM^1_y , de 0.99×10^{-2} (EM^1_{60}) a 1.37×10^{-2} (EM^1_0) d^{-1} (Tabla 6.16); EM^2_y , de 0.43×10^{-2} (EM^2_{80}) a 1.54×10^{-2} (EM^2_0) d^{-1} (Tabla 6.17) y EM^3_y , de 0.61×10^{-2} (EM^3_{60}) a 1.41×10^{-2} (EM^3_0) d^{-1} (Tabla 6.18). Las EM dependiendo de la relación biopolímeros : fase oleosa, mostraron los siguientes valores de vida media ($t_{1/2}$) de los CCT: EM^1_y , de 36.50 (EM^1_0) a 50.69 (EM^1_{60}) días (Tabla 6.16); EM^2_y , de 32.65 (EM^2_0) a 116.69 (EM^2_{80}) días (Tabla 6.17) y EM^3_y , de 35.49 (EM^3_0) a 82.94 (EM^3_{60}) días (Tabla 6.18).

Los datos antes citados, indican que en las emulsiones múltiples EM^x_{80} y EM^x_{60} se encontraron los valores menores de k y mayores de $t_{1/2}$ de los CCT; mientras que en las EM formuladas únicamente con GA o altas concentraciones de ella (EM^x_{20}) se observó el comportamiento opuesto; esto es, los valores mayores de k y menores de $t_{1/2}$ de los CCT. En general, disminuciones en el porcentaje de GM y aumentos en el porcentaje de GA, originaron aumentos en los valores de k y reducciones en los de $t_{1/2}$ de los carotenoides.

Tabla 6.16. Constantes de cinéticas de degradación y tiempos de vida media de los carotenoides incluidos en las emulsiones múltiples con relación biopolímeros : fase oleosa de 1.48 : 1.

Código de la emulsión *	k (d ⁻¹)		t _{1/2} (d)	
	(CCT/CCT ₀)		(25 °C)	
	(× 10 ²)			
EM ¹ ₁₀₀	1.10	± 0.08	45.78	±3.25
EM ¹ ₈₀	1.14	±0.04	44.07	±1.37
EM ¹ ₆₀	0.99	±0.03	50.69	±1.67
EM ¹ ₄₀	1.29	±0.11	39.04	±3.22
EM ¹ ₂₀	1.30	±0.05	38.64	±1.48
EM ¹ ₀	1.37	±0.03	36.50	±0.75

*EM¹_y: códigos de las emulsiones múltiples, donde el superíndice 1: relación biopolímeros: fase oleosa de 1.48:1 y el subíndice "y": porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Tabla 6.17. Constantes de cinéticas de degradación y tiempos de vida media de los carotenoides incluidos en las emulsiones múltiples con relación biopolímeros : fase oleosa de 2.73:1.

Código de la emulsión *	k (d ⁻¹)		t _{1/2} (d)	
	(CCT/CCT ₀)		(25 °C)	
	(× 10 ²)			
EM ² ₁₀₀	1.26	±0.07	39.75	±2,23
EM ² ₈₀	0.43	± 0.06	116.69	±14,90
EM ² ₆₀	1.23	± 0.02	40.82	±0,71
EM ² ₄₀	1.12	± 0.08	44.95	±3,14
EM ² ₂₀	1.35	± 0.06	37.07	±1,55
EM ² ₀	1.54	± 0.11	32.65	±2,26

*EM²_y: códigos de las emulsiones múltiples, donde el superíndice 2: relación biopolímeros: fase oleosa de 2.73:1 y el subíndice "y": porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábica.

Al realizar un Análisis de Varianza Multifactorial de los valores de las constantes de cinéticas de degradación (k) y los tiempos de vida media (t_{1/2}) de los CCT, como función de la relación biopolímeros : fase oleosa y la composición de los biopolímeros, se observó que los valores de k no fueron afectados por variaciones en la relación biopolímeros : fase oleosa (p ≥ 0.05) (Tabla 6.19), pero sí lo fueron por modificaciones en la composición de los biopolímeros (p ≤ 0.05) (Tabla 6.20). Las emulsiones múltiples

EM^x₈₀ y EM^x₆₀, presentaron valores de k significativamente menores que aquellos mostrados por las emulsiones con bajas concentraciones de GM (EM^x₂₀) o conteniendo únicamente GA (EM^x₀) (Tabla 6.20). Las emulsiones EM^x₁₀₀ y EM^x₄₀ exhibieron valores bajos de k, comparables ($p \geq 0.05$) a los observados para las emulsiones EM^x₈₀ y EM^x₆₀ (Tabla 6.20).

Tabla 6.18. Constantes de cinéticas de degradación y tiempos de vida media de los carotenoides incluidos en las emulsiones múltiples con relación biopolímeros : fase oleosa de 3.98:1.

Código de la emulsión *	k (d ⁻¹) (CCT/CCT ₀) (× 10 ²)	t _{1/2} (d) (25 °C)
EM ³ ₁₀₀	1.10 ±0.09	45.82 ±3.85
EM ³ ₈₀	0.85 + 0.09	59.37 ±6.00
EM ³ ₆₀	0.61 + 0.07	82.94 ±9.66
EM ³ ₄₀	1.22 + 0.09	41.27 ±3.12
EM ³ ₂₀	1.33 + 0.09	37.67 ±2.40
EM ³ ₀	1.41 + 0.06	35.49 ±1.42

*EM³_y: códigos de las emulsiones múltiples, donde el superíndice 3: relación biopolímeros: fase oleosa de 3.98:1 y el subíndice "y": porcentaje de goma de mezquite en la mezcla de biopolímeros; el resto para alcanzar el valor de 100, corresponde a goma arábiga.

Tabla 6.19. Resultados de las pruebas de comparación de medias de la constante cinética de degradación y del tiempo de vida media de los carotenoides totales incluidos en las emulsiones múltiples, en función de la relación biopolímeros: fase oleosa.

Relación biopolímeros : fase oleosa	Constante cinética de degradación de carotenoides totales(k) (× 10 ²) (d ⁻¹)	Tiempo de vida media (t _{1/2}) (días)
1.48:1	1.19 ^a	42.45 ^a
2.73:1	1.15 ^a	51.99 ^a
3.98:1	1.08 ^a	50.43 ^a

^aSuperíndices iguales en una columna, indican que las medias no difieren significativamente ($p \geq 0.05$).

Tabla 6.20. Resultados de las pruebas de comparación de medias de la constante cinética de degradación y del tiempo de vida media de los carotenoides totales incluidos en las mismas, en función de la composición de los biopolímeros.

Goma de mezquite (%)	Goma arábica (%)	Constante cinética de degradación de carotenoides totales(k) ($\times 10^2$) (d^{-1})	Tiempo de vida media ($t_{1/2}$) (días)
100	0	1.15 ^{bc}	43.78 ^a
80	20	0.80 ^a	73.38 ^b
60	40	0.94 ^{ab}	58.15 ^{ab}
40	60	1.21 ^{bc}	41.76 ^a
20	80	1.33 ^c	37.79 ^a
0	100	1.44 ^c	34.88 ^a

a, b, c, Superíndices diferentes en una columna, indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

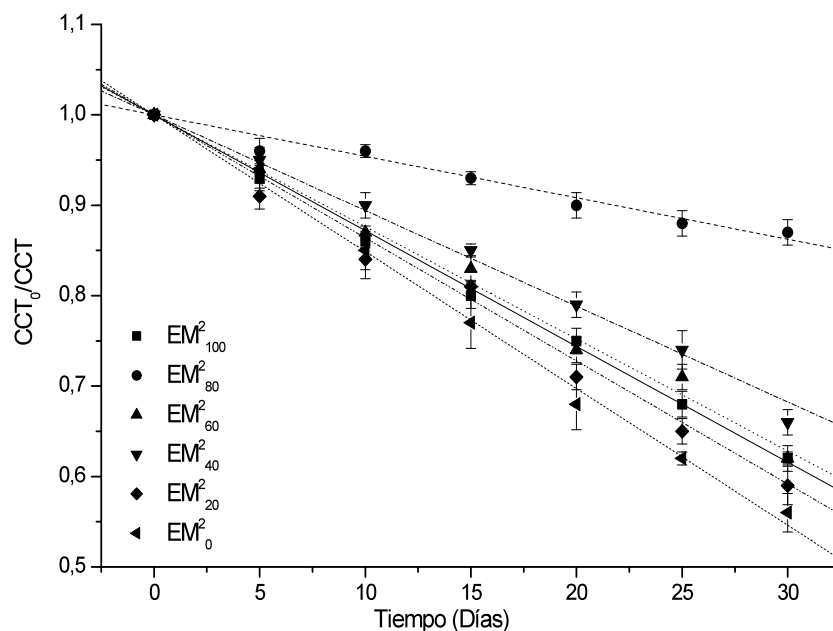


Figura 6.8. Cinéticas de degradación de carotenoides totales de primer orden para emulsiones múltiples con relación biopolímeros : fase oleosa de 2.73:1

Los valores de $t_{1/2}$ de las emulsiones múltiples, al igual que aquellos de k , no fueron afectados por la relación biopolímeros : fase oleosa ($p \geq 0.05$) (Tabla 6.19), pero sí por la composición de los

biopolímeros ($p \leq 0.05$) (Tabla 6.20). Las emulsiones múltiples EM^x_{80} , formuladas con 80 % de goma de mezquite y 20 % de goma arábica, exhibieron valores de $t_{1/2}$ mayores significativamente a los mostrados por el resto de las emulsiones EM_{100} , EM_{40} , EM_{20} y EM_0 (Tabla 6.20). Los valores de $t_{1/2}$ de las emulsiones múltiples EM^x_{60} no mostraron diferencias significativas con aquellos del resto de los tratamientos.

Todas las EM siguieron una cinética de degradación de CCT de orden cero. La Figura 6.8, muestra el comportamiento cinético de las emulsiones con relación biopolímeros : fase oleosa de 2.73:1 (EM^2_y). El comportamiento cinético para las emulsiones con relación biopolímero: fase oleosa de 1.48:1 y 3.98:1 fue similar al de estas emulsiones.

7. CONCLUSIONES

Variaciones en la relación biopolímeros : fase oleosa no afectaron el diámetro volumétrico inicial de las gotas de las emulsiones simples, pero sí influyeron en el diámetro volumétrico inicial de las gotas de las emulsiones múltiples. Una relación biopolímeros : fase oleosa de 1 : 1 generó gotas de emulsiones múltiples de mayor tamaño que las encontradas en las emulsiones formuladas con relaciones biopolímeros : fase oleosa de 2 : 1 y 3 : 1.

Disminuciones en el valor de la relación biopolímeros : fase oleosa originaron incrementos en el tamaño y la tasa de coalescencia de las gotas de las emulsiones simples; el comportamiento opuesto fue exhibido por las emulsiones múltiples.

El uso de una mezcla constituida por 40 % de goma de mezquite y 60 % de goma arábica, rindió gotas de emulsiones simples y múltiples con menores diámetros volumétricos iniciales, en comparación con los obtenidos mediante el uso de 100 % de goma de arábica para el caso de las emulsiones simples, y 100 % de goma de mezquite para el caso de las emulsiones múltiples. La mezcla de goma de mezquite : goma arábica mencionada, rindió gotas de emulsión con los diámetros volumétricos finales y tasas de coalescencia menores, en comparación con aquellos obtenidos mediante el uso de cualquier otra mezcla de las gomas y en particular cuando se utilizó solamente goma arábica.

Variaciones en la relación biopolímeros : fase oleosa no afectaron la cinética de degradación y el tiempo de vida media de los carotenoides incluidos en las emulsiones simples y múltiples; mientras que la composición de la fase de biopolímeros sí afectó la cinética de degradación y el tiempo de vida media de los carotenoides, tanto en emulsiones simples como en múltiples. La presencia de goma de mezquite en 100 % para el caso de emulsiones simples y en 80 % para las emulsiones múltiples estuvo relacionada con menor degradación de los carotenoides.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Badui-Dergal. S. 1999. *Química de los Alimentos*. Longman de México Editores, S.A de C.V. México.
- Bauernfeind, J. C. 1972. Carotenoid vitamin A precursor and analogs in foods and feeds. *J. Agric. Food Chem.* 20:456-473.
- AzizB. B. A., Grossman S., Ascarelli I., Budowski P. 1971. Carotene-bleaching activities of lipoxigenase and heme proteins as studied by a direct spectrophotometric method. *Phytochemistry.* 10:1145-1452.
- Britton G. 1995. UV/Vis spectroscopy. En: Britton G, Liassen-Jensen S, Pfander H, editors. *Carotenoids*. Vol.1B: Spectroscopy. Basel: Birkhäuser Verlag. p 13-62.
- Britton G. 1996. Carotenoids. En: Hendry GAF, Houghton JD, editors. *Natural food colorants*. Londres: Blackie Academic & Professional. Pp. 109-243.
- Buc-Calderon R. M. 1995. *Free radicals and oxidation phenomena in biological systems*. Nueva York: Marcel Dekker, Inc.
- Burton G. W. 1989. Antioxidant action of carotenoids. *J. Nutr.* 119:109-111.
- Burton G. W., IngoldK. U. 1984. β -carotene: An unusual type of lipid antioxidant. *Fd Sci* 224:569-573.
- Canfield L. M., Krinsky N. I., y Olson J. A. 1993. Carotenoids in Human health, (vol. 691), Nueva York Acad. of Sci.Nueva York.
- Cristopher-Baurenfeind. J. 1981. Carotenoids as Colorants and Vitamin a Precursors. *Fd Sci and Technology*, Academic Press Nueva York.
- Davies W. J. y Zhang J. 1991. Rood singals and the regulation of growth and development of plantsin

drying soil. *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 42:55-76.

Delgado-Vargas. F., Jiménez A. R., Paredes-López. O. 2000. Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins, and betalains- characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Crit Rev Fd Sci Nut* 40: 173-289.

Delgado-Vargas. F., Paredes-López. O. 2003. *Natural colorants for foods and nutraceutical uses*. Boca Raton, FL: CRC Press.

Dickinson E. 1992. *An introduction to food colloids*. Oxford: University Press. 207 p.

Dickinson E., McClements D. J. 1996. *Advances in food colloids*. Londres: Blackie Academic & Professional. 333 p.

Di Mascio, R., Kaiser S. y Sies H. 1989. Lycopene as the most efficient biological crotenoid singlet oxigen quencher. *Arch. Biochem. Biophys.* 274:532-538.

Dickinson E. 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Fd Hydro* 17: 25-39.

Garti N. 1997. Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsions in food Applications. *Lebensm Wiss u Technol* 30: 222-235.

Goodwin, T. W. 1980. Función of carotenoids, in *The Biochemistry of the Carotenoids*, vol. 1, 2nd ed. (T. W. Gondwin, ed), Chapman and Hall, Nueva York, pp. 77-95.

Gross, J. 1991. *Pigments in Vegetables: Chlorophylls and Carotenoids*, Van Nostrand Reinhold, Nueva York.

Friberg-Stig. E. 1997. *Food Emulsions*. Marcel Dekker, Inc. Nueva York.

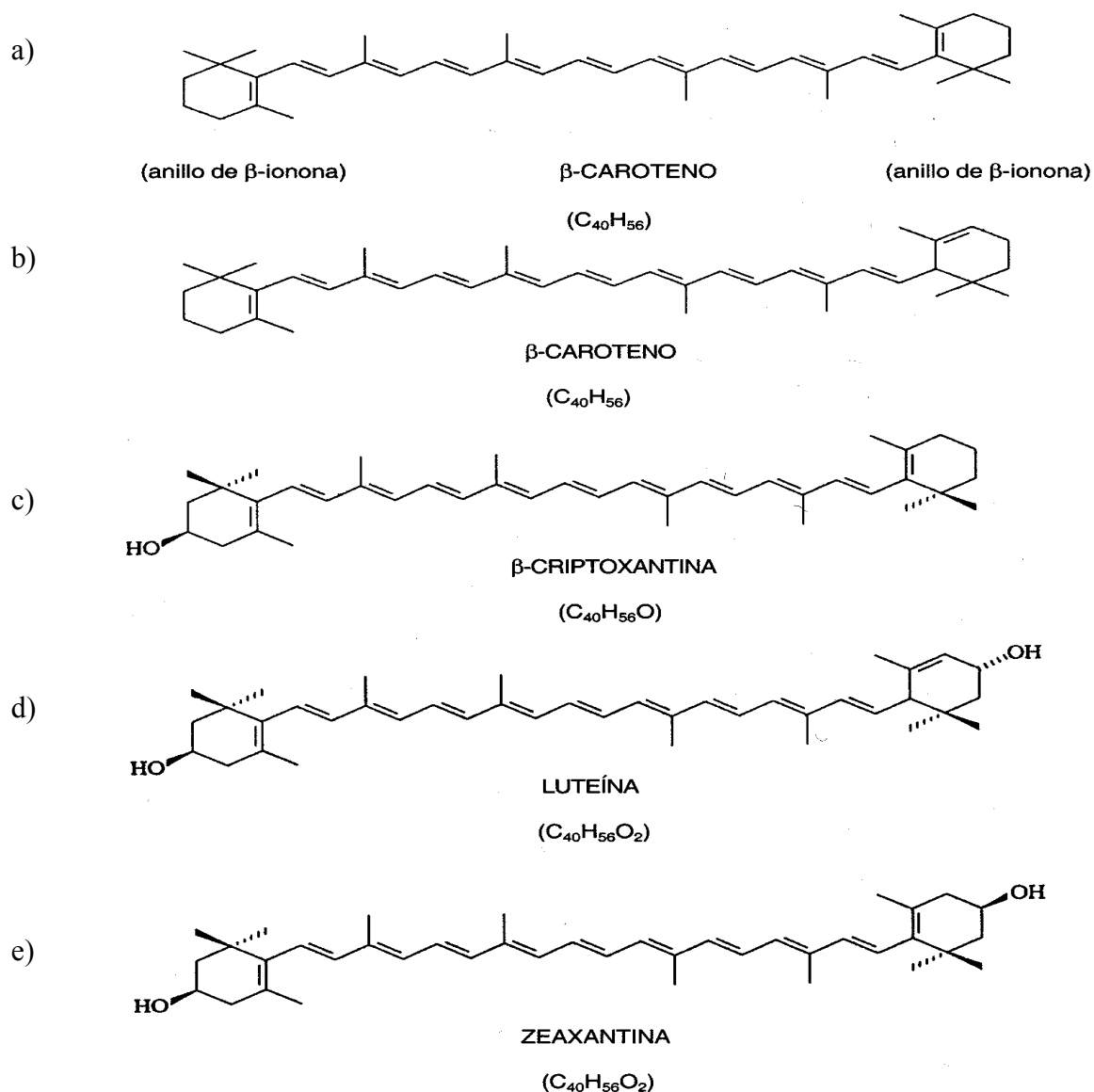
- Heinrich-Zollinger. 2001. Color Chemistry. Wiley-VCH, USA, Nueva York.
- Houghton J. D. 1992. Natural Food Colorants. Ed. G. A. F. Hendry. Chapman & Hall. USA, Nueva York.
- Hutchings J. B. 1999. Food Colours and Appearance. Blackie Academic & Professional. Chapman & Hall. Colmworth, Bedford, UK.
- Isler O. 1971. Carotenoids, Birkhauser Verlag, Basel.
- IUPAC-IUB (International Union of Pure and Applied Chemistry-International Union of Biochemistry). 1975. Nomenclature of carotenoids. Pure Appl. Chem. 41:407-419.
- Khachik F., Beecher G. R. y Whittaker N. E. 1986. Separation, identification, and quantification of the major carotenoid and chlorophyll constituents in extracts of several green vegetables by liquid chromatography. Agric. Fd Chem. 34:603-616.
- O'Neil C. A. y Schwartz S. J. 1992. Chromatographic analysis of cis/trans carotenoid isomers. J. Chromatogr. 624:235-252.
- Fennema O. R., Tannembaum S. R.. 2000. Química de los Alimentos.
- Parry A. D., y Horgan R. 1992. Abscisic acid Biosynthesis in roots: The identification of potential abscisic acid precursor, and other carotenoids. Planta 187:185-191.
- Peiser G. D. y Yang S. F. 1979. Sulfite-mediated destruction of β -carotene. J. Agric. Food Chem. 27:446-449.
- Peto R., Doll R., Buckley J. D., y Sporn M. B. 1981. Can dietary betacarotene materially reduce human cancer rates? Nature 290:201-208.

- Schanderl S. H., Marsh G. L., y Chichester C. O. 1965. Color reversion in processed vegetables. I. Studies on regreened pea puree. *J. Food Sci.* 30:312-316.
- Scott K. J. 1992. Observations on some of the problems associated with the analysis of carotenoids in foods by HPLC. *Food Chem.* 45:357-364.
- Sies H. 1992. Antioxidant functions of vitamins: Vitamins E And C, β -carotene and other carotenoids. *Ann. NY Acad. Sci.*, 669:7-20.
- Straub O. 1987. Key to Carotenoids, 2nd ed. H. Pfander, M. Gerspacher, M. Rychener, and R. Schawabe, eds. Birkhauser Verlag, Boston.
- Tee E. S. y Lim C. L. 1991. Carotenoid composition and content of Malaysian vegetables and fruits by the AOAC and HPLC methods. *Fd Chem.* 41:309-339.
- Vernon-Carter. E. J., Gomez S. A., Beristain C. I., Mosqueira G., Pedroza-Islas. R., 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. *J Texture Stud* 27: 625-41.
- Vernon-Carter E. J., Pedroza-Islas. R., Beristain C. I. 1998. Stability of *Capsicum annuum* oleoresin-in-water emulsions containing *Prosopis* and *Acacia* gums. *J Texture Stud* 29: 553-67.
- Vernon-Carter E. J., Ponce-Palafox J. T., Arredondo-Figueroa. J. L., Pedroza-Islas. R. 2001. Development of microcapsules containing water and lipid soluble natural colorants for trout pigmentation. *J Aquatic Fd Product Technol* 10(2): 59-74.
- Zechmeister L. 1962. *Cis-Trans Isomeric Carotenoids, Vitamins A and Arylpolyenes*, Academic Press, Nueva York.

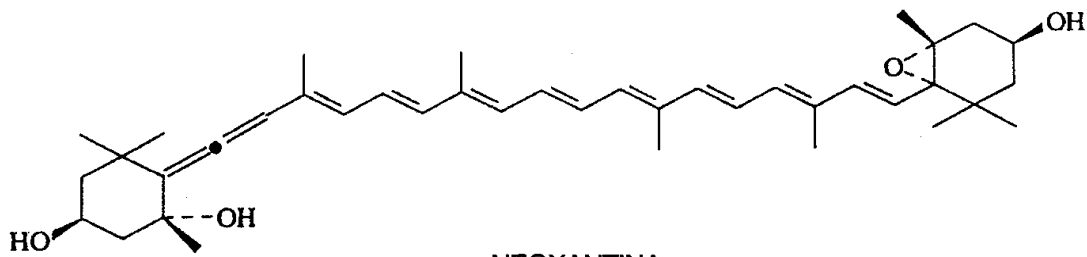
ANEXOS

ANEXO A

Estructura de los carotenoides más comunes. a) β -caroteno (amarillo) de las zanahorias; b) β -caroteno (amarillo) de las zanahorias y boniatos; c) β -criptoxantina (amarilla) del maíz; d) Luteína (amarilla) de las hojas verdes, el maíz y la caléndula; e) zeaxantina (amarilla) del maíz y el azafrán; f) neoxantina (amarilla) de las hojas verdes; g) capsantina (roja) de los alimentos rojos; h) violaxantina (amarilla) de las hojas verdes y i) bixina (amarilla) del extracto de las semillas de bija.



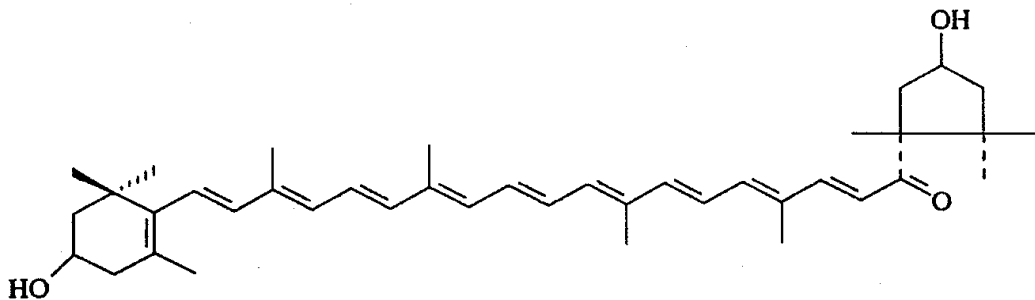
f)



NEOXANTINA

 $(C_{40}H_{56}O_4)$

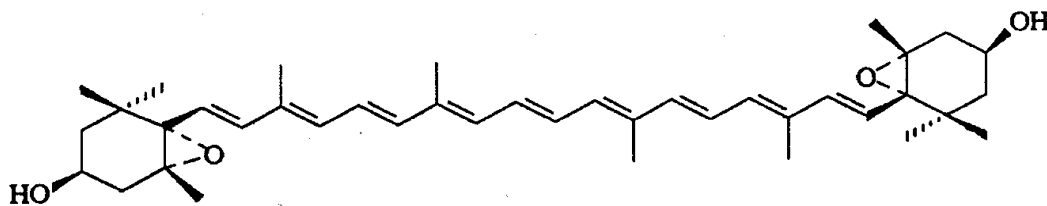
g)



CAPSANTINA

 $(C_{40}H_{56}O_3)$

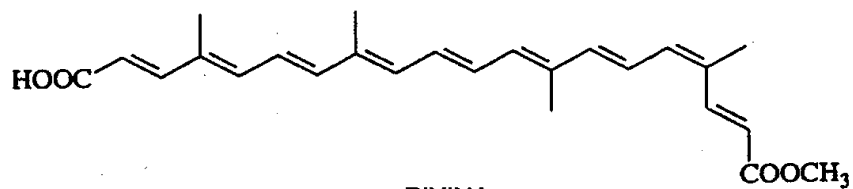
h)



VIOLAXANTINA

 $(C_{40}H_{56}O_4)$

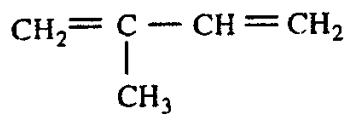
i)



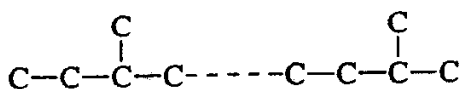
BIXINA

 $(C_{25}H_{30}O_4)$

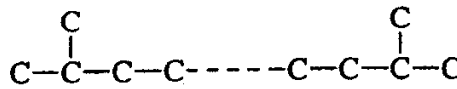
Unión de unidades isopreno para formar licopeno (principal pigmento rojo de los tomates).



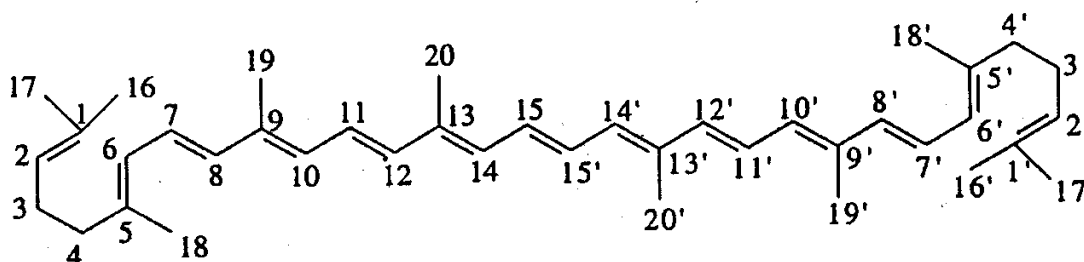
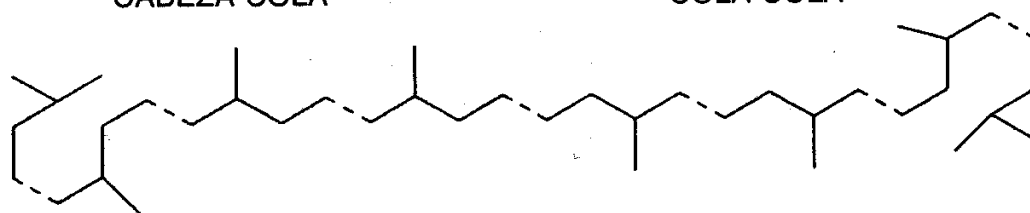
ISOPRENO



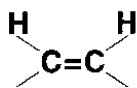
CABEZA-COLA



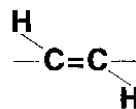
COLA-COLA



LICOPENO



CIS



TRANS

ANEXO B

Similitudes y Diferencias entre proteínas y polisacáridos usados en sistemas alimenticios como biopolímeros funcionales.***Similitudes***

 Polímeros Naturales

Ampliamente distribuidos en alimentos

Usados en producto farmacéuticos, cosméticos y algunos otros personales

Polímeros amigables con el medio ambiente

Estructura compleja

Complicado comportamiento de agregación

Agentes gelantes/estabilizantes

Diferencias***Proteínas******Polisacáridos***

Estructuras muy diversas

Estructuras similares

Reactivas

No reactivos

Monodispersas

Polidispersos

Muchos tipos de segmentos

Pocos tipos de segmentos

Cadena lineal

Cadena lineal o ramificada

Cadena flexible

Cadena rígida

Peso molecular medio

Alto peso molecular

Volumen molecular pequeño

Alto volumen molecular

Amfifílicas

Hidrofílicos

Superficialmente activas

Sin actividad superficial

Poliectrolitos

No iónicos o cargados

Emulsificante/espumante

Espesante/retención de agua

Sensibles a la temperatura

Insensibles a la temperatura

Fuerte interacción con surfactantes

Baja interacción con surfactantes

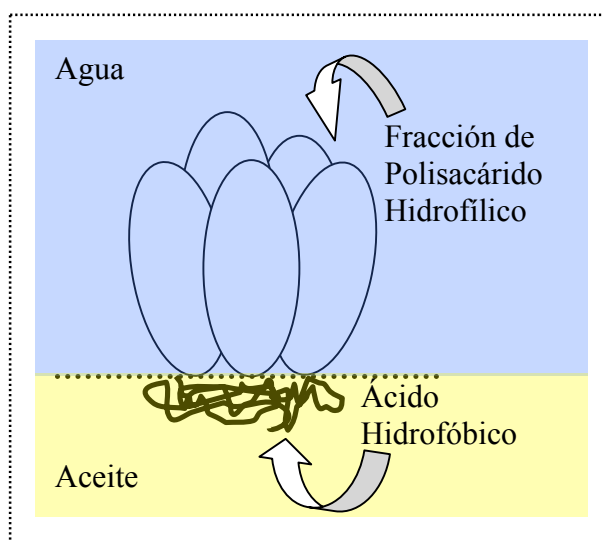
Composición de la Goma de Mezquite (*Prosopis laevigata*) (Orozco-Villafuerte y col., 2003)

Componentes	
Humedad	10.6 ± 0.5%
Cenizas (550 °C)	2.2 ± 0.1%
Rotación Especifica	+ 77°
Nitrógeno (Kjeldahl)	0.4 ± 0.07
Proteína (Nx 6.25)	2.7 ± 0.06
Azucares Totales	87.3 ± 6.3

Composición de Azucare después de la Hidrólisis

Ácido Glucurónico	16.2 ± 1.3
Galactosa	43.3 ± 1.4
Arabinosa	40.4 ± 2.04
Ramnosa	1.3 ± 0.2

Esquematzación del Modelo de "Wattle Blossom". Muestra como la pequeña fracción proteica de la goma arábica se adsorbe en la fase oleosa y la fracción carbohidrato se retiene en la fase acuosa continua.





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00049

Matricula: 204382147

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ESTABILIDAD Y DEGRADACION DE CAROTENOIDES NATURALES INCORPORADOS EN EMULSIONES ACEITE-AGUA (o/w) Y AGUA-ACEITE-AGUA (w/o/w)

En México, D.F., se presentaron a las 11:00 horas del día 25 del mes de febrero del año 2010 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. HUMBERTO VAZQUEZ TORRES
DRA. CONSUELO SILVIA OLIVIA LOBATO CALLEROS
DR. EDUARDO JAIME VERNON CARTER

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

MAESTRO EN CIENCIAS (INGENIERIA QUIMICA)

DE: ARTURO PEREZ ROMAN

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

aprobar

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



ARTURO PEREZ ROMAN
ALUMNO

REVISO

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBI

DRA. VERONICA MEDINA BAÑUELOS

PRESIDENTE

DR. HUMBERTO VAZQUEZ TORRES

VOCAL

DRA. CONSUELO SILVIA OLIVIA LOBATO CALLEROS

SECRETARIO

DR. EDUARDO JAIME VERNON CARTER