



TESIS DE DOCTORADO

Aplicación de hidrocoloides en el desarrollo de emulsiones alimentarias saludables y masas no fermentadas para celíacos

Gabriel Lorenzo

Presentada ante la Facultad de Ingeniería de la
Universidad Nacional de La Plata
como requisito para la obtención del grado académico de

DOCTOR EN INGENIERÍA

Director: Dra. Alicia N. Califano

Co-Director: Dra. Noemí E. Zaritzky

Jurados de Tesis

Dra. Lía N. Gerschenson

Dr. Jorge E. Lozano



10/12/2010

El presente trabajo de Tesis fue realizado como parte de los requisitos para optar al Grado Académico de Doctor en Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Fue realizado bajo la dirección de la Dra. Alicia N Califano y la co-dirección de la Dra. Noemí E. Zaritzky en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) (CONICET La Plata – Fac. Cs. Exactas, UNLP)

AGRADECIMIENTOS

“Es tan grande el placer que se experimenta al encontrar un hombre agradecido que vale la pena arriesgarse a no ser un ingrato.”

Séneca.

Adelantándome al inevitable final de terminar siendo injusto con aquellas personas que han hecho un invaluable aporte a estas páginas, quiero pedirles disculpas por si su nombre no se encuentra en estas líneas y sepan que su ausencia carece de intencionalidad alguna, sólo responde a desperfectos de fábrica de la mente de quien escribe.

El principal y más directo agradecimiento va hacia mis directoras Alicia y Mimí, quienes encauzaron a este manojito de buenas intenciones e ideas desperdigadas para que pueda redondear el presente manuscrito.

Al CIDCA en general; no sólo a sus instalaciones que permitieron el desarrollo de la mayoría de los ensayos de esta Tesis, sino también como “organismo vivo” que, a pesar de las inevitables diferencias entre sus constituyentes, me ha hecho sentir que vale la pena ser un engranaje más en su funcionamiento.

A la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de La Plata, por permitirme optar al grado académico de Doctor en Ingeniería que otorga.

Al Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Buenos Aires y al Departamento de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Quilmes por permitirme realizar en sus instalaciones parte de los ensayos que se muestran en esta tesis.

Desde un aspecto menos académico quisiera agradecer a: Victoria, Micaela, Alejandro, Virginia, Natalia, Silvina, Edgardo, Lorena, Natalia, Nadia, Lucas, Gustavo, Daniela, Diego, Elisa, Daniela, Bernarda, Mercedes, etc., quienes han sido puntales fundamentales (por mayor o menor tiempo) para que esta tesis pueda ser finalizada,

algunos dentro del laboratorio, otros en la oficina o en los pasillos y el resto tolerándome y conteniéndome para que no me desarme, aun en los peores momentos.

Un infinito agradecimiento a mis dos hermanos, Nico y Juan y a mis cuñadas, Sole y Laura que, a pesar de los kilómetros, me han sostenido con su afecto incondicional y me han transmitido su integridad en todo momento.

Por último quiero dejar en claro que esta tesis no podría haberse realizado sin la esencial contribución de cuatro rayitos de luz como son Ariana, Lourdes, Julián y Bernardo. Su inmenso amor ha sido un aporte fundamental y completamente desinteresado (por la falta de interés que les produce lo que dice) al contenido de este manuscrito.

A mi viejo.

Parte de los resultados que se exponen en el presente trabajo de Tesis han sido publicados en:

En Revistas Internacionales con Referato

2008. Lorenzo, G., Zaritzky, N. E. and Califano, A. N.. Optimization of non-fermented gluten-free dough composition based on rheological behaviour for industrial production of "empanadas" and pie-crusts. *Journal of Cereal Science*. Vol. 48 (1), pag. 224–231.

2008. G Lorenzo, N. Zaritzky and A. Califano. Modeling rheological properties of low-in-fat o/w emulsions stabilized with xanthan/guar mixtures. *Food Research International*. Vol 41(5), pag. 487-494.

2009. Lorenzo, G., Zaritzky, N. E., and Califano, A. N. Rheological characterization of refrigerated and frozen non-fermented gluten-free dough: effect of hydrocolloids and lipid phase. *Journal of Cereal Science*. Vol. 50, pag. 255–261.

2010. Lorenzo, G., Checmarev, G., Zaritzky, N., and Califano A. Linear viscoelastic assessment of cold gel-like emulsions stabilized with bovine gelatine. *LWT - Food Science and Technology*, Vol. 44 (2), pag. 457-464.

Patentes

2007. Lorenzo, Gabriel; Zaritzky, Noemí E. y Califano, Alicia N. "Masa para la elaboración de tartas y empanadas aptas para celíacos, pre-masa y procedimientos de elaboración", Acta N° P070102517 (en trámite), Instituto Nacional de la Propiedad Industrial. Administración Nacional de Patentes, Buenos Aires, Argentina.

Capítulos de libros

2007. J.M. Quintana, G. Lorenzo, N.E. Zaritzky and A.N. Califano. Hydrocolloids as o/w emulsion stabilizers: effect of the structural features during storage. In: C.E. Lupano, *Functional Properties of Food Components* (pp: 1-22). Kerala, India: Research Signpost.

ÍNDICE GENERAL

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 1. | INTRODUCCIÓN GENERAL | 1 |
| 1.1. | HIDROCOLOIDES | 1 |
| 1.1.1. | Factores que afectan el comportamiento de los hidrocoloides | 5 |
| 1.1.2. | Clasificación de los hidrocoloides | 6 |
| 1.1.2.1. | Hidrocoloides exudados de plantas | 7 |
| 1.1.2.2. | Hidrocoloides provenientes de plantas | 7 |
| 1.1.2.3. | Hidrocoloides provenientes de semillas | 7 |
| | <i>Goma Guar</i> | 8 |
| 1.1.2.4. | Hidrocoloides derivados de almidón y celulosa | 9 |
| | <i>Hidroxipropilmetilcelulosa</i> | 9 |
| 1.1.2.5. | Hidrocoloides de origen microbiano | 11 |
| | <i>Goma Xántica</i> | 11 |
| | <i>Goma Gellan</i> | 13 |
| 1.1.2.6. | Hidrocoloides de origen animal | 14 |
| | <i>Gelatina</i> | 14 |
| 1.1.3. | Elección adecuada del hidrocoloide | 16 |
| 1.2. | REOLOGÍA DE ALIMENTOS | 19 |
| 1.2.1. | Introducción a la reología | 19 |
| 1.2.2. | Aspectos generales de reología | 20 |
| 1.2.2.1. | Deformación por esfuerzo de corte | 22 |
| 1.2.2.2. | Clasificación de un material de acuerdo a su comportamiento reológico | 24 |
| 1.2.2.3 | Viscosidad de flujo estacionario | 27 |
| 1.2.2.3.1 | <i>Fluidos pseudoplásticos o dilatantes</i> | 28 |
| 1.2.2.3.2 | <i>Plástico de Bingham</i> | 28 |
| 1.2.2.3.3 | <i>Plásticos generales (Herschel-Bulkley)</i> | 29 |
| 1.2.2.4. | Tixotropía | 31 |
| 1.2.2.5. | Viscoelasticidad | 32 |
| 1.2.2.5.1 | <i>Ensayos oscilatorios</i> | 34 |
| 1.2.2.5.2 | <i>Ensayos de fluencia (creep)</i> | 37 |
| 1.2.2.5.3 | <i>Ensayos de relajación</i> | 37 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1.2.2.5.4 | <i>Modelos analógicos mecánicos de materiales viscoelásticos</i> | 38 |
| 1.3 | ESQUEMA GENERAL DE LA TESIS | 43 |

| | | |
|-----------|----------------------------|-----------|
| 2. | OBJETIVOS GENERALES | 45 |
|-----------|----------------------------|-----------|

| | | |
|-----------|--|--|
| A. | APLICACIÓN DE HIDROCOLOIDES EN EL DESARROLLO DE MASAS NO FERMENTADAS LIBRES DE GLUTEN | |
|-----------|--|--|

| | | |
|-------------|---|-----------|
| A.1 | <i>Introducción sección A</i> | 48 |
| A.1.1 | Celiaquía | 48 |
| A.1.1.1. | Manifestación clínica | 49 |
| A.1.1.2 | Modelo del "iceberg" de la enfermedad celiaca | 51 |
| A.1.1.3 | Tratamiento clínico de la enfermedad celiaca | 51 |
| A.1.2. | El rol del gluten en los productos de panadería | 53 |
| A.1.3 | El almidón | 55 |
| A.1.4 | Las proteínas de suero | 58 |
| A.1.5 | Proteínas de huevo | 60 |
| A.1.5.1 | Proteínas del albumen | 61 |
| A.1.5.2 | Proteínas de la yema | 62 |
| A.1.6 | Formulación de productos libres de gluten | 63 |
| A.1.7. | Mercado de empanadas y tartas | 64 |
| A.2. | <i>Objetivos sección A</i> | 66 |
| A.3. | <i>Optimización de la composición de masas libres de gluten respecto a los parámetros de textura</i> | 67 |
| A.3.1. | INTRODUCCIÓN | 67 |
| A.3.2. | MATERIALES Y MÉTODOS | 69 |
| A.3.2.1 | Materiales utilizados | 69 |
| A.3.2.2 | Preparación de las muestras | 70 |
| A.3.2.3 | Diseño de las experiencias | 71 |
| A.3.2.4 | Análisis texturales | 73 |
| A.3.2.4.1 | Ensayos de punción | 73 |

| | | |
|-------------|--|------------|
| A.3.2.4.2 | Ensayos de elongación | 74 |
| A.3.2.5. | Análisis reológicos | 74 |
| A.3.2.6. | Análisis estadístico | 75 |
| A.3.3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 76 |
| A.3.3.1 | Análisis de textura | 76 |
| A.3.3.1.1 | Ensayos de punción | 76 |
| A.3.3.1.2 | Ensayos de elongación | 82 |
| A.3.3.2. | Análisis reológico | 88 |
| A.3.3.3 | Determinación de la formulación óptima a partir de la Función Objetivo | 94 |
| A.3.4. | CONCLUSIONES | 97 |
| A.4. | <i>Efecto de distintos hidrocoloides y de la fase lipídica en las características reológicas y texturales de masas no levadas aptas para celíacos</i> | 98 |
| A.4.1 | INTRODUCCIÓN | 98 |
| A.4.2. | MATERIALES Y MÉTODOS | 99 |
| A.4.2.1 | Materiales utilizados | 99 |
| A.4.2.2. | Preparación de la muestras | 100 |
| A.4.2.2.1 | Efecto de los hidrocoloides | 100 |
| A.4.2.2.2 | Efecto de la fase lipídica | 101 |
| A.4.2.3. | Determinación del contenido de grasas totales | 102 |
| A.4.2.5. | Análisis texturales | 103 |
| A.4.2.5.1 | Ensayos de punción | 103 |
| A.4.2.5.2 | Ensayos de elongación | 103 |
| A.4.2.6. | Análisis reológicos | 104 |
| A.4.2.7. | Microscopía electrónica ambiental de barrido | 104 |
| A.4.2.8. | Análisis estadístico | 104 |
| A.4.3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 105 |
| A.4.3.1 | Efecto de los hidrocoloides en la reología de las masas | 105 |
| A.4.3.2 | Efecto de la fase lipídica en la reología de las masas | 109 |
| A.4.4. | CONCLUSIONES | 113 |
| A.5. | <i>Efecto del almacenamiento refrigerado y congelado sobre masas no fermentadas libres de gluten</i> | 115 |

| | | |
|-----------|--|-----|
| A.5.1. | INTRODUCCIÓN | 115 |
| A.5.2. | MATERIALES Y MÉTODOS | 116 |
| A.5.2.1. | Materiales utilizados | 116 |
| A.5.2.2. | Preparación de la muestras | 116 |
| A.5.2.3. | Almacenamiento | 117 |
| A.5.2.3.1 | Almacenamiento refrigerado de discos de masa | 117 |
| A.5.2.3.2 | Almacenamiento de empanadas congeladas | 117 |
| A.5.2.4. | Análisis texturales | 117 |
| A.5.2.4.1 | Ensayos de punción sobre muestras crudas | 117 |
| A.5.2.4.2 | Ensayos de punción sobre muestras cocidas | 118 |
| A.5.2.4.3 | Ensayos de elongación | 118 |
| A.5.2.5. | Análisis reológicos | 118 |
| A.5.2.6. | Microscopía electrónica ambiental de barrido | 119 |
| A.5.2.7. | Análisis sensorial | 119 |
| A.5.2.8. | Análisis estadístico | 120 |
| A.5.3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 121 |
| A.5.3.1 | Almacenamiento | 121 |
| A.5.3.1.1 | Almacenamiento refrigerado de discos de masa | 121 |
| A.5.3.1.2 | Almacenamiento de empanadas congeladas | 123 |
| A.5.3.2. | Evaluación sensorial | 125 |
| A.5.4. | CONCLUSIONES | 126 |

B. APLICACIÓN DE HIDROCOLOIDES EN EL DESARROLLO DE EMULSIONES ACEITE-EN-AGUA DE BAJO CONTENIDO LIPÍDICO

| | | |
|-------------|---|------------|
| B.1. | Introducción sección B | 129 |
| B.1.1. | Consideraciones generales | 129 |
| B.1.2. | Definiciones | 130 |
| B.1.3. | Estabilidad de emulsiones | 131 |
| B.1.4. | Mecanismos físicos de desestabilización de emulsiones | 135 |
| B.1.4.1. | Separación gravitacional (cremado) | 135 |
| B.1.4.2. | Floculación | 137 |
| | Floculación por formación de puentes (Bridging floccultation) | 138 |
| | Floculación por depleción o exclusión (Depletion floccultation) | 138 |

| | | |
|-------------|---|------------|
| B.1.4.3. | Coalescencia | 139 |
| B.1.4.4. | "Oiling off" | 140 |
| B.1.4.5. | Maduración de Ostwald | 140 |
| B.1.4.6. | Inversión de fases | 141 |
| B.1.5. | Interacciones coloidales entre las gotas | 141 |
| B.1.5.1. | Interacciones de Van der Waals | 144 |
| B.1.5.2. | Interacción electrostática | 145 |
| B.1.5.3. | Interacción estérica de polímeros | 146 |
| B.1.5.4. | Interacciones originadas por polímeros no adsorbidos | 149 |
| B.1.5.5. | Interacciones hidrofóbicas | 150 |
| B.1.5.6. | Otras interacciones repulsivas | 150 |
| B.1.5.7. | Potencial de interacción total | 151 |
| B.1.6. | Agentes emulsificantes y estabilizantes | 153 |
| B.2. | Objetivos sección B | 156 |
| B.3. | Emulsiones de bajo contenido lipídico: incidencia de la composición en el comportamiento reológico | 157 |
| B.3.1. | INTRODUCCIÓN | 157 |
| B.3.2. | MATERIALES Y MÉTODOS | 158 |
| B.3.2.1 | Materiales utilizados | 158 |
| B.3.2.2 | Preparación de las muestras | 158 |
| B.3.2.3. | Distribución del tamaño de gotas y estabilidad | 160 |
| B.3.2.4 | Medición de la densidad | 162 |
| B.3.2.5 | Ensayos reológicos | 162 |
| B.3.2.5.1 | Ensayos oscilatorios | 162 |
| B.3.2.5.2 | Comportamiento de flujo en estado estacionario | 163 |
| B.3.2.6. | Análisis estadístico | 163 |
| B.3.3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 164 |
| B.3.3.1. | Distribución de tamaños de gotas de las emulsiones y estabilidad | 164 |
| B.3.3.2. | Ensayos reológicos dinámicos | 167 |
| B.3.3.3. | Curvas de flujo en estado estacionario | 171 |
| B.3.4. | CONCLUSIONES | 178 |

| | | |
|-------------|---|------------|
| B.4. | <i>Aplicación de gelatinas en el desarrollo de emulsiones o/w de bajo contenido lipídico</i> | 179 |
| B.4.1 | INTRODUCCIÓN | 179 |
| B.4.2. | MATERIALES Y MÉTODOS | 181 |
| B.4.2.1. | Materiales utilizados | 181 |
| B.4.2.2. | Preparación de las fases acuosas | 181 |
| B.4.2.3. | Preparación de las emulsiones | 182 |
| B.4.2.4. | Distribución del tamaño de gotas y estabilidad | 182 |
| B.4.2.5. | Ensayos Reológicos | 182 |
| B.4.2.5.1 | <i>Ensayos de fluencia y recuperación</i> | 183 |
| B.4.2.5.2 | <i>Ensayos oscilatorios</i> | 183 |
| B.4.2.6. | Análisis estadístico | 183 |
| B.4.3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 184 |
| B.4.3.1. | Distribución de tamaño de gotas y estabilidad | 184 |
| B.4.3.2. | Ensayo de fluencia y recuperación de las emulsiones | 186 |
| B.4.3.3. | Efecto del peso molecular de la gelatina | 189 |
| B.4.3.4. | Efecto del tiempo de almacenamiento | 196 |
| B.4.4. | CONCLUSIONES | 200 |
| B.5. | <i>Emulsiones gelificadas aceite – en – agua formuladas con goma gellan</i> | 202 |
| B.5.1 | INTRODUCCIÓN | 202 |
| B.5.2. | MATERIALES Y MÉTODOS | 204 |
| B.5.2.1. | Materiales utilizados | 204 |
| B.5.2.2. | Preparación de las muestras | 205 |
| B.5.2.3. | Ensayos Reológicos | 206 |
| B.5.2.3.1 | <i>Barridos de temperatura</i> | 206 |
| B.5.2.3.2 | <i>Ensayos de fluencia y recuperación</i> | 207 |
| B.5.2.3.3 | <i>Ensayos oscilatorios</i> | 207 |
| B.5.2.4. | Análisis estadístico | 207 |
| B.5.3. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 208 |
| B.5.3.1. | Análisis reológico de las fases continuas | 208 |
| B.5.3.2. | Análisis reológico de las emulsiones gelificadas | 212 |
| B.5.3.3. | Ensayos de fluencia y recuperación | 214 |
| B.5.3.3. | Determinación del espectro continuo de relajación | 217 |

| | | |
|--------|--------------|-----|
| B.5.4. | CONCLUSIONES | 223 |
|--------|--------------|-----|

| | | |
|-----------|-------------------------------|------------|
| 3. | CONCLUSIONES GENERALES | 225 |
|-----------|-------------------------------|------------|

| | | |
|------|--|-----|
| 3.1. | MASAS NO FERMENTADAS APTAS PARA CELÍACOS | 225 |
|------|--|-----|

| | | |
|------|--|-----|
| 3.2. | EMULSIONES ALIMENTARIAS DE BAJO CONTENIDO LIPÍDICO | 227 |
|------|--|-----|

| | | |
|-----------|-----------------------------|------------|
| 4. | BIBLIOGRAFÍA GENERAL | 231 |
|-----------|-----------------------------|------------|

1. INTRODUCCION GENERAL

1.1 HIDROCOLOIDES

El término “hidrocoloides” hace referencia a un amplio rango de polisacáridos y proteínas que por ser sustancias hidrofílicas se dispersan en soluciones acuosas formando soluciones coloidales. En la actualidad son comúnmente empleados en una diversa variedad de sectores industriales con un vasto número de funciones que incluyen el espesamiento y la gelificación de soluciones acuosas, estabilización de espumas, emulsiones y dispersiones, inhibición del crecimiento de cristales, liberación controlada de sabores, etc. Todas sus aplicaciones dependen de las propiedades de un gran número de macromoléculas en diversos estados de hidratación. Dado que los alimentos son materiales muy complejos, y dada la diferente funcionalidad de los hidrocoloides, en muchas aplicaciones se emplean mezclas de los mismos.

Es común encontrarse en la bibliografía con el término “gomas” empleado como sinónimos de hidrocoloides. Estrictamente, las gomaz pueden corresponder a moléculas de alto peso molecular tanto hidrofílicas como hidrofóbicas, en general con propiedades coloidales, que en el solvente adecuado producen geles o suspensiones de elevada viscosidad. Las sustancias hidrofóbicas conocidas como “gomaz” son polisacáridos de elevado peso molecular y derivados del petróleo como caucho, algunos polímeros sintéticos, como el chicle, o la savia de algunos árboles que suele usarse para obtener goma resina o bálsamo. Si bien existe una amplia diversidad de este tipo de gomaz, el gran consumo de hidrocoloides por parte de la industria ha hecho que estos dos términos se asimilen como sinónimos. Dentro de este trabajo de tesis, para simplificar la escritura, se empleará indistintamente las palabras “hidrocoloides” o “gomaz” para referirse al mismo tipo de sustancias.

Particularmente, el uso de hidrocoloides en la industria alimentaria ha tenido un amplio incremento en las últimas décadas. Aunque en la mayoría de los casos se encuentran presentes en concentraciones inferiores al 1%, su presencia ha resultado en una gran influencia en las propiedades texturales y organolépticas de los productos alimenticios.

Los cambios en el estilo de vida moderna, la creciente concientización sobre la vinculación entre el tipo de dieta y la salud, junto con las nuevas tecnologías productivas, han conducido a un rápido crecimiento en la industria de alimentos "listos para consumir", productos novedosos y el desarrollo de formulaciones con alto contenido de fibras y bajo contenido de grasas. Estos cambios han sido la causa principal de un abrupto crecimiento en el mercado de los hidrocoloides que a principios del siglo XXI ha alcanzado alrededor de los U\$S 4.4 billones anuales con un volumen total de 260000 toneladas (Phillips y Williams, 2003)

Cada hidrocoloide consiste en una mezcla de moléculas similares pero no idénticas, y las propiedades físicas que exhiben son afectadas por las diversas fuentes de obtención, métodos de preparación, procesamiento térmico y el ambiente dentro del alimento (pH, contenido de sal, temperatura). Las descripciones de hidrocoloides suelen presentar estructuras idealizadas pero se debe recordar que son productos naturales (o sus derivados), con estructuras determinadas por la acción enzimática estocástica y no exactamente por el código genético. Están compuestos por mezclas de moléculas de diferente peso molecular y, con la excepción de la celulosa, probablemente ninguna molécula es conformacionalmente idéntica o estructuralmente idéntica a ninguna otra.

Las mezclas de hidrocoloides muestran tal complejidad en sus propiedades no aditivas, que sólo recientemente éstas pueden ser interpretadas como una ciencia más que como un arte. En la Figura 1.1-1 se puede ver de modo general, cómo varía el efecto de los hidrocoloides a medida que aumenta su concentración en una solución acuosa (Chaplin y Kennedy, 1994). A bajas concentraciones influyen sobre grandes volúmenes de agua dentro de su radio de giro (Figura 1.1-1a). A medida que la concentración aumenta las moléculas individuales pueden formar estructuras globulares (Figura 1.1-1b), este proceso gobernado por la entropía permite la retención de la libertad de rotación. Una concentración mayor (Figura 1.1-1c y d) puede llegar a provocar, en algunos casos, una separación de fases debido a las diferentes formas en que pueden influir sobre la estructura del agua. Es frecuente observar que los hidrocoloides retengan su estructura extendida en la solución formada. Esto puede llevar a entrecruzamientos mixtos en raras ocasiones (Figura 1.1-1f), o más frecuentemente, a entrecruzamientos con fases separadas (Figura 1.1-1e). Los entrecruzamientos mixtos pueden llegar a producir geles a concentraciones aún más altas (Figura 1.1-1g). Por otro lado, las separaciones de fase pueden generar una disminución en la entropía del sistema, ya que pueden permitir mayor libertad de

movimiento debido a que se encuentran agrupadas en regiones de moléculas con formas similares (Figura 1.1-1h).

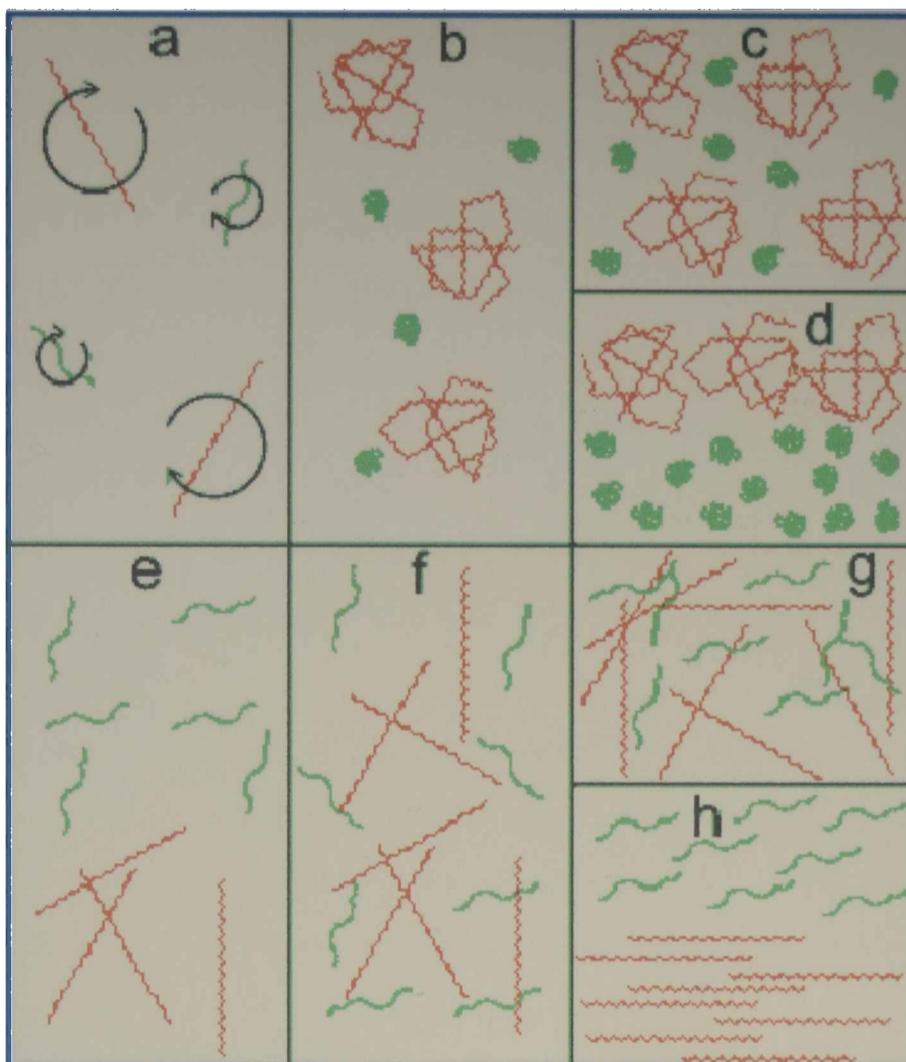


Figura 1.1-1. Efecto de la concentración y tipo de hidocoloides presentes en una solución acuosa.

Existe un enorme potencial si se combinan el conocimiento sobre la relación estructura-función de los hidocoloides y sobre la estructura del agua. Los parámetros particulares de cada aplicación deben examinarse cuidadosamente, estudiando los efectos requeridos (por ej. textura, flujo, contenido acuoso, estabilidad, cohesividad, resiliencia, adhesividad).

Todos los hidocoloides interactúan con el agua, reduciendo su difusión y estabilizándola. Generalmente los hidocoloides neutros son menos solubles mientras que los polielectrolitos son más solubles. El agua puede ser retenida específicamente por puentes de hidrógeno, por estructuración de la misma, o dentro de los espacios inter e intra moleculares. En las interacciones entre los hidocoloides y el agua hay un balance reversible entre la pérdida de entropía y la ganancia de entalpía pero el proceso puede ser limitado cinéticamente y la red óptima no alcanzarse nunca (Chaplin y Kennedy, 1994). Los hidocoloides pueden exhibir un gran número de

conformaciones en solución, ya que las uniones a lo largo de las cadenas poliméricas pueden rotar libremente dentro los valles de energía potencial. Hidrocoloides de alto peso molecular, conformacionalmente rígidos presentan esencialmente superficies estáticas favoreciendo una estructuración extensiva en el agua que los rodea. La atracción de las moléculas de agua afecta la textura y las características de procesamiento, previene la sinéresis y puede tener un beneficio económico substancial. En particular, los hidrocoloides pueden proveer agua para aumentar la flexibilidad (plasticidad) de otros componentes del alimento. También pueden afectar la formación y crecimiento de cristales de hielo.

Muchos hidrocoloides también pueden formar geles. Los geles son redes que contiene agua líquida pero que presentan un comportamiento tipo sólido dependiente de la concentración de las macromoléculas; su dureza y fragilidad están asociadas a la estructura del hidrocoloide presente.

Los hidrocoloides gelan cuando los puentes de hidrógeno intra e intermoleculares son favorecidos lo suficiente, con respecto a los puentes de hidrógeno (y algunas veces interacciones iónicas) formados con las moléculas de agua, para superar el costo entrópico (Stephen y col., 2006). A menudo, los hidrocoloides exhiben un delicado balance entre hidrofobicidad e hidrofiliidad. Los hidrocoloides extendidos tienden a “enredarse” a más altas concentraciones y moléculas similares pueden envolverse una alrededor de la otra (formando zonas de uniones tipo hélice) sin pérdida de uniones puente de hidrógeno pero reduciendo la heterogeneidad conformacional y minimizando la superficie hidrofóbica de contacto con el agua. En esas circunstancias se puede necesitar la formación de un mínimo número de uniones para superar el efecto entrópico y formar una unión estable. Cuando las zonas de unión crecen lentamente, las interacciones eliminan agua y puede aparecer sinéresis (Whistler, 1993).

Los hidrocoloides pueden estabilizar las emulsiones principalmente por aumento de la viscosidad pero también pueden actuar como emulsificantes. En particular, la interacción electrostática entre hidrocoloides polisacáridos iónicos y proteínas pueden aumentar la capacidad emulsificante aportando una estabilidad considerable, mientras se mantengan un pH y fuerza iónica apropiados. La denaturalización de las proteínas también puede mejorar la capacidad emulsificante y la estabilidad de la emulsión.

Las mezclas de hidrocoloides pueden evitar el autoagregado a altas concentraciones debido a la heterogeneidad estructural, la que dificulta la cristalización

pero facilita su solubilidad. Los hidrocoloides pueden interactuar con otros componentes de los alimentos facilitando la emulsificación de lípidos, estabilizando las micelas proteicas de la leche o afectando la adhesividad del gluten.

1.1.1 Factores que afectan el comportamiento de los hidrocoloides

Podrían identificarse cuatro factores principales que afectan las propiedades de los hidrocoloides: peso molecular, los monómeros involucrados en la cadena principal, el tipo de ramificaciones y la distribución de estas ramificaciones laterales (Hoefer, 2001; Kuntz, 1999).

El peso molecular es básicamente la longitud de la cadena. Considerando, por ejemplo, un hidrocoloide lineal que ocupa determinado volumen y se distribuye homogéneamente en solución acuosa, si se duplica la longitud de la cadena, la molécula ocupará ocho veces el volumen inicial, con lo cual resultará ocho veces más probable que colisione con moléculas adyacentes. Estas colisiones e impedimentos están relacionados con la resistencia al flujo y consecuentemente con la viscosidad de la solución (Hoefer, 2001).

La composición del esqueleto principal también muestra las propiedades de los hidrocoloides. La secuencia de monómeros influye sobre la estabilidad frente a cambios en el pH de la solución o en la capacidad de espesamiento o gelación en sistemas alimenticios (Hegenbart, 1993). Vinculado a este último aspecto también aparece la influencia de la composición de las cadenas laterales del polímero. Éstas pueden variar ampliamente en tamaño y propiedades de espesamiento o gelificación. En el caso de las pectinas o los carragenanos, las cadenas de ramificación son pequeñas, involucrando un grupo carboxilo o sulfato, respectivamente. Sin embargo, los galactomananos o la goma xántica por ejemplo, presentan como cadenas laterales polisacáridos complejos que les confieren características diversas.

El último de los factores que influye en las propiedades de los hidrocoloides es la forma en que se distribuyen las cadenas laterales en la molécula (Kuntz, 1999). La distribución de estos sustituyentes puede afectar características tan diversas como la solubilidad en agua del hidrocoloide o las propiedades de sinergismo con otros polisacáridos en solución. Las ramificaciones pueden presentarse uniformemente distribuidas en el esqueleto de la molécula o de manera aleatoria. Al distribuirse de modo desparejo, aparecen zonas "lisas" donde la cadena principal se encuentra

escasamente sustituida, y zonas “ramificadas” donde se encuentran concentradas la mayor parte de las cadenas laterales. Un ejemplo claro de esta distribución irregular se observa en la mayoría de los galactomananos, los cuales presentan mayor o menor grado de uniformidad en la sustitución dependiendo del hidrocoloide específico, lo que conlleva a que exhiban distintas propiedades específicas (Hegenbart, 1993; Hoefler, 2001; Sikora y Kowalski, 2007).

1.1.2 Clasificación de los hidrocoloides

Si bien existe una gran abundancia de biopolímeros disponibles de modo natural, en muchos casos se presentan en mezclas cuya separación en componentes individuales conlleva procesos complejos tanto desde el punto de vista químico como mecánico. Los costos de estas operaciones son tan elevados que se buscaron fuentes alternativas de hidrocoloides que faciliten su obtención en grandes cantidades. En la Tabla 1.1-1 se muestran los hidrocoloides de mayor importancia comercial, clasificados de acuerdo a su origen.

Tabla 1.1-1. Clasificación de los hidrocoloides principales de acuerdo a su fuente.

| | | |
|-------------------|---------------------------|--|
| | Árboles | <i>celulosa</i> |
| | gomas exudadas de plantas | <i>goma arábica, goma karaya, goma tragacanto</i> |
| Botánico | Planta | <i>almidón, pectinas, celulosa</i> |
| | Semillas | <i>goma guar, garrofín, goma tara, goma tamarindo</i> |
| | Tubérculos | <i>goma konjac</i> |
| Algas | algas rojas | <i>Agar, carragenanos</i> |
| | algas marrones | <i>Alginato</i> |
| Microbiano | | <i>goma xántica, dextrano, goma gellan, wellan, celulosa</i> |
| Animal | | <i>gelatina, caseinato, quitosano, proteína de suero</i> |

1.1.2.1. Hidrocoloides exudados de plantas

Corresponden al grupo de gomas más antiguos; casi todas las familias de plantas tienen alguna especie que exude gomas, pero sólo algunas lo hacen de modo abundante como para permitir su recolección. Alrededor del 10-15% de las gomas comercialmente disponibles corresponden a este grupo. En general son arbustos o pequeños árboles los que producen este tipo de gomas, que son recogidas manualmente y clasificadas en diferentes grados de pureza. Debido a los escasos tratamientos que requieren previo a su comercialización, es uno de los grupos de gomas de menor costo en la actualidad y es esto lo que le da una ventaja competitiva en el mercado.

1.1.2.2. Hidrocoloides provenientes de algas

Los hidrocoloides industriales derivados de algas comprenden tres grupos principales: alginatos (derivados del ácido algínico), agar y carragenanos. Las primeras se extraen solamente de algas marrones mientras que las otras dos se encuentran únicamente en algas rojas. El proceso de extracción, originalmente practicado en países orientales y después extendido a diferentes partes del mundo, es relativamente simple, permitiendo remover una gran cantidad del peso seco de las algas y dejando el producto relativamente puro.

1.1.2.3. Hidrocoloides provenientes de semillas

Muchas semillas contienen reservas de polisacáridos diferentes del almidón y algunas de ellas son cosechadas para obtener varias de las gomas que se encuentran en el mercado actual. Las semillas más antiguas fueron las del membrillo, *psyllium*, lino y algarroba, y algunas de ellas en la actualidad siguen siendo de gran importancia en la actualidad. La mayoría de ellas provienen de plantas anuales que pueden ser cosechadas de manera similar al resto de los cultivos. Una de las gomas más importantes dentro de este género es la goma guar, que si bien su cultivo era conocido desde principios del siglo XX, recién en la década del 1940 comenzó a emplearse para obtener su hidrocoloide, convirtiéndose en uno de los más importantes del mercado.

Goma Guar

La goma guar es un polisacárido de la familia de los galactomananos (al igual que las gomas *garrofín*, *tara* y *fenogreco*) que se obtiene a partir de extractos de la semilla de la leguminosa *Cyamopsis tetragonolobus*, más específicamente del endospermo donde actúa como reserva de alimento y agua (Maier y col., 1993). La cadena principal la constituyen unidades de β -D-manopiranosas unidas mediante enlaces (1 \rightarrow 4); aproximadamente la mitad de las unidades posee una ramificación constituida por unidades de α -D-galactopiranosas que se unen a la cadena principal mediante un enlace en la posición 6 (Figura 1.1-2). La estructura presenta una relación manosa galactosa de 2:1 (o mejor estimado en 1.8:1). Su peso molecular se encuentra entre 1 a 2×10^6 daltons.

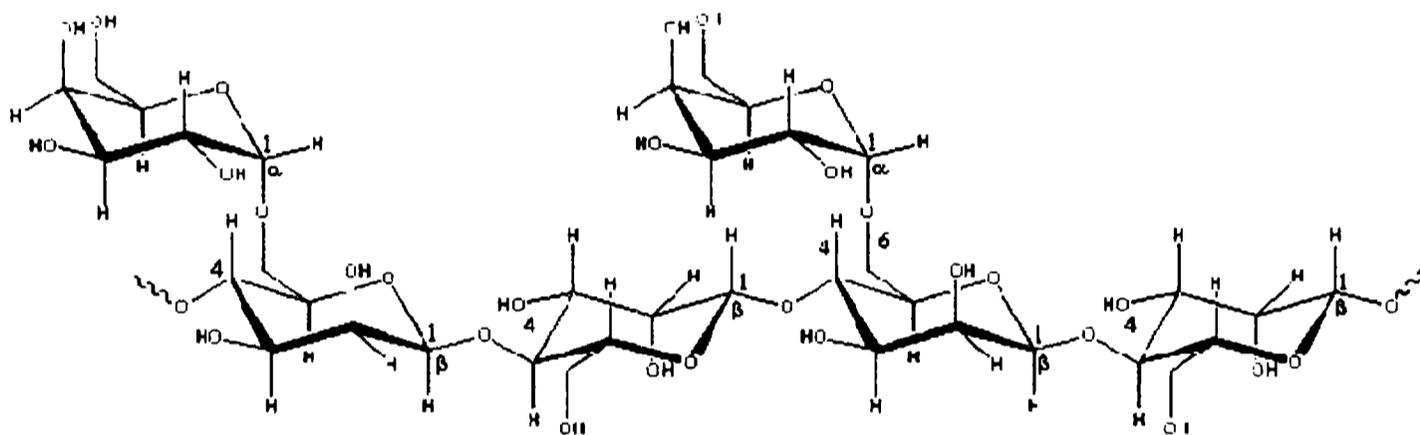


Figura 1.1-2. Estructura molecular de la goma guar.

La goma guar está conformada por polímeros no iónicos polidispersos con forma de varillas, compuestos por más de 10000 residuos moleculares. Al contener mayor sustitución de galactosa que la goma garrofín (la relación manosa-galactosa es alrededor de 3.5:1), la molécula presenta mayor rigidez y una menor extensibilidad global y radio de giro de las cadenas aisladas (Petkowicz y col., 1998). Los residuos de galactosa impiden una fuerte interacción entre las cadenas, mientras que las regiones libres son las que posibilitan la formación de zonas de unión. Los residuos de galactosa se presentan en la molécula en forma de "bloques" en algunas regiones y de manera alternada en otras, lo que le confiere a la molécula regiones rígidas y regiones más flexibles, respectivamente.

La goma guar es uno de los espesantes y estabilizantes más económicos. Tiene la particularidad de hidratarse rápidamente en agua fría, permitiendo lograr soluciones pseudoplásticas de elevada viscosidad a bajos esfuerzos. Tiene la ventaja

de ser más soluble y mejor agente emulsificante que la goma garrofin, Interactúa sinérgicamente con la goma xántica, lo que produce un aumento en la viscosidad de la solución. La viscosidad que se obtiene a partir de sus dispersiones depende de la temperatura, el pH, tiempo, concentración, grado de agitación y tamaño de las partículas de goma. Es muy estable en soluciones de pH entre 4 y 10 debido a que la goma guar es no iónica (Dziezak, 1991).

1.1.2.4. Hidrocoloides derivados de almidón y celulosa

Tanto el almidón como la celulosa se encuentran fácilmente disponibles en diversa cantidad de planta y suelen ser buenas materias primas para el desarrollo de distintas gomas. Mediante tratamientos térmicos, oxidación o derivatizaciones es posible el desarrollo de hidrocoloides adecuados para cada aplicación en particular. Si bien el costo de las materias primas resulta relativamente bajo, los procesos de modificación pueden llegar a ser demasiado complejos, lo que llevaría a un precio elevado que le impida competir en el mercado.

Si bien existen numerosos derivados obtenidos por modificaciones químicas de la celulosa natural, sólo unos pocos éteres de celulosa han encontrado aplicación en la industria alimentaria. Los derivados más comúnmente usados son la carboximetilcelulosa, metilcelulosa, e hidroxipropilmetilcelulosa. Estos dos últimos son empleados debido a la capacidad de formar geles termorreversibles y por sus propiedades interfaciales (Kobashashi y col, 1999; Sarkar y Walker, 1995).

Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)

La hidroxipropilmetilcelulosa es un derivado de celulosa que forma parte de una familia que incluye entre otros a la metilcelulosa (MC), en la cual los sustituyentes son grupos metilo y a la metilhidroxietilcelulosa (MHEC) la que posee como sustituyentes grupos hidroxietilo hasta en un 5%. La HPMC presenta en su cadena grupos metilo e hidroxipropilos (Figura 1.1-3). Difieren principalmente entre si en su peso molecular, viscosidad, grado de sustitución (DS) y sustitución molar (MS).

A lo largo de la cadena de celulosa, los grupos metilos constituyen zonas hidrofóbicas mientras que los grupos hidroxipropilos son más hidrofílicos. La introducción de estos substituyentes permite a la HPMC comportarse como surfactante.

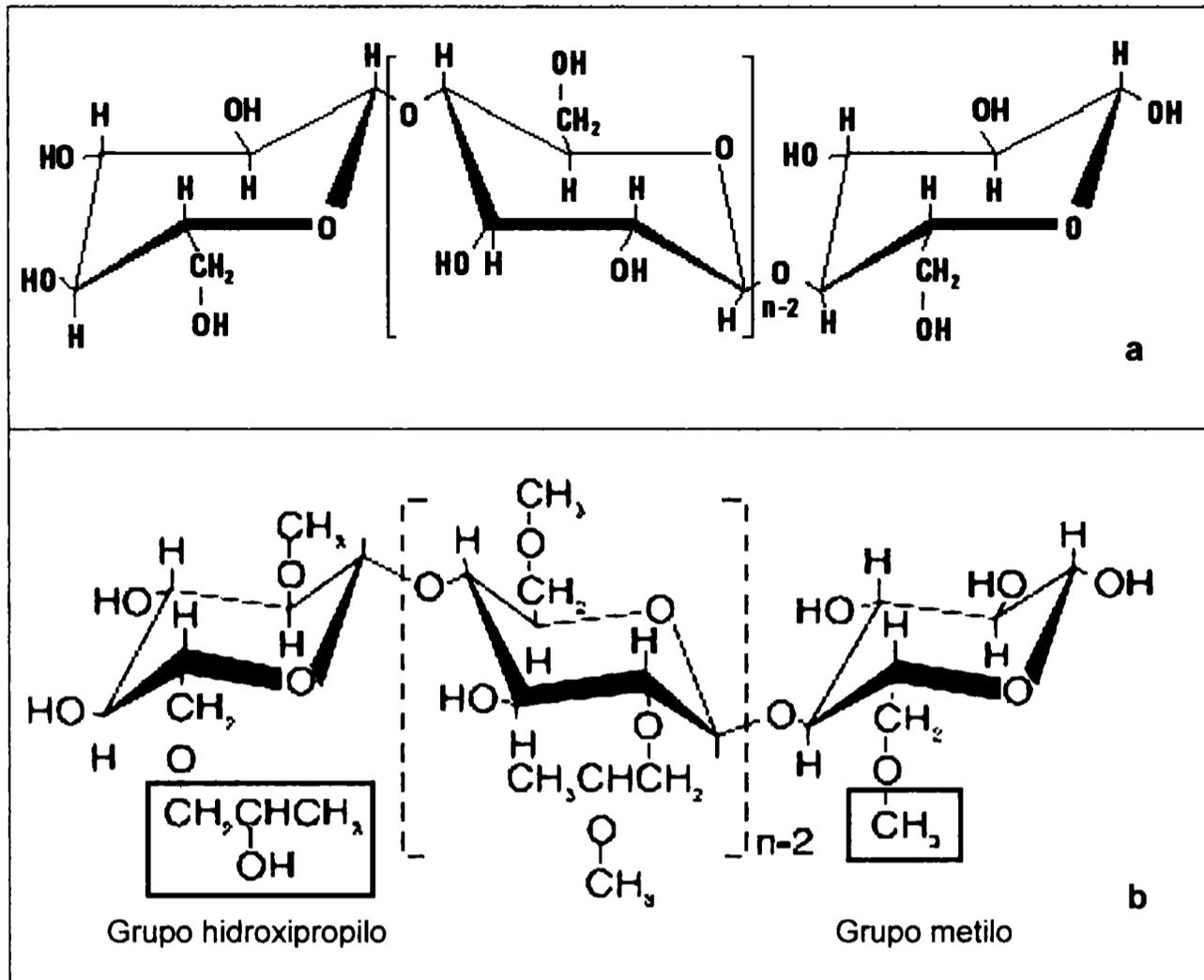


Figura 1.1-3. Estructura química de la celulosa (a) y de la hidroxipropilmetilcelulosa (b).

Además de los sustituyentes presentes en el esqueleto carbonado de celulosa y la viscosidad de sus soluciones, normalmente medidas a concentraciones de 1 o 2% p/v, estos productos se caracterizan por el grado de sustitución (DS) y la sustitución molar (MS).

Cada unidad de anhidroglucosa en la molécula de celulosa tiene tres grupos hidroxilos disponibles para la derivatización. De esta manera, si los tres grupos fueran sustituidos el producto tendría un DS igual a 3. El término DS se relaciona con aquellos sustituyentes que bloquean los grupos hidroxilos reactivos. Los sustituyentes que permiten el crecimiento posterior de la cadena son caracterizados por la sustitución molar (MS). Es decir, el DS define el número de grupos hidroxilos por unidad de glucosa anhidra en donde el átomo de hidrógeno es reemplazado. MS representa el número promedio de grupos de oxido de propileno por unidad de glucosa anhidra (Nahringbauer, 1995). La proporción de MS/DS da la longitud promedio de las cadenas de los sustituyentes laterales.

La utilidad de los éteres no iónicos de celulosa se basa fundamentalmente en cuatro atributos: son espesantes eficientes, presentan actividad superficial, tienen la habilidad de formar películas interfaciales y la capacidad de formar geles termorreversibles.

1.1.2.5. Hidrocoloides de origen microbiano

Existe una amplia variedad de microorganismos capaces de producir polisacáridos extracelulares creciendo en fuentes de energía de bajo costo como granos o melaza. Esta técnica de desarrollo de gomas industriales provee al mercado de una gran variedad de hidrocoloides con propiedades muy dispares y se encuentra en constante crecimiento para satisfacer las necesidades de la industria.

Goma Xántica

La goma xántica es un exopolisacárido producido por fermentación aeróbica sumergida a partir de la bacteria *Xanthomonas campestris*. En la naturaleza, este polímero es producido para mantener a la bacteria adherida a diferentes vegetales. Desde el punto de vista químico puede considerarse un polielectrolito aniónico, cuya estructura se muestra esquemáticamente en la Figura 1.1-4. Dicha estructura consiste en un esqueleto de glucosas unidas por enlaces β -1,4; como en la celulosa, pero cada dos residuos de glucosa existe una cadena lateral constituida por un trisacárido cargado de unidades de β -D-manopiranosil- β -(1 \rightarrow 4)-D-glucuronopiranosil-(1 \rightarrow 2)-6-o-acetil- β -D-manopiranosil, con aproximadamente la mitad de ellos teniendo un ácido pirúvico unido al acetal cíclico en posición 4,6 (BeMiller y Whistler, 1996).

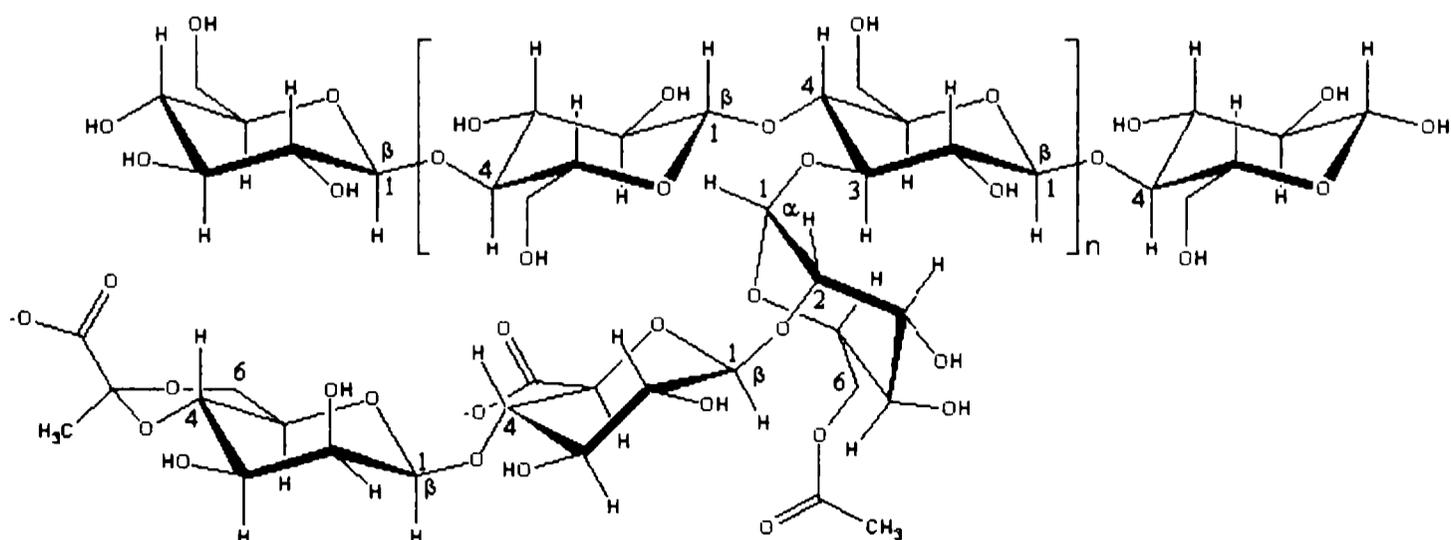


Figura 1.1-4. Estructura molecular de la goma xántica.

El éxito comercial de la goma xántica se debe a su elevada viscosidad, tolerancia al NaCl, estabilidad térmica y compatibilidad para ser utilizada en alimentos (Kwon y col., 1987). Sus soluciones presentan alta viscosidad frente a bajas velocidades de deformación y ante el incremento del esfuerzo comienzan a fluir fácilmente. Estas propiedades lo tornan útil para su aplicación en aderezos para ensaladas, evitando el cremado de las gotas de aceite cuando se encuentra en reposo y pudiendo fluir cuando se agita el envase.

Cada molécula está constituida por unos 7000 pentámeros, su peso molecular se encuentra en el rango comprendido entre 0.9 a 1.6 millones y es menos polidispersa que la mayoría de los hidrocoloides. Las moléculas de goma xántica que poseen mayor proporción de ácido pirúvico son las que originan soluciones de mayor viscosidad y estabilidad térmica (BeMiller y Daniels, 2002). Los grupos acetilos estabilizan la estructura ordenada de doble hélice mientras que los grupos piruvato la desestabilizan. Las moléculas de goma xántica en solución se encuentran bastante extendidas debido a su rigidez estructural; lo cual conduce a una elevada viscosidad y un marcado comportamiento pseudoplástico (pudiendo incluso comportarse como un gel débil). Sus dispersiones pueden, además, presentar una viscosidad límite para bajas velocidades de cizalla.

La molécula puede adoptar una conformación de doble hélice rígida (tipo cepillo) mediante el "atemperado" de la conformación natural de cadena simple de menor rigidez. La cadena principal se encuentra protegida por las cadenas laterales lo que la hace relativamente estable frente a ácidos, álcalis y enzimas. La conversión entre la conformación de doble hélice helicoidal ordenada y la más flexible de cadena simple conduce a una red débil que es altamente pseudoplástica. Las soluciones de viscosidad elevada (~1% p/p) son aún pseudoplásticas. El comportamiento pseudoplástico se debe principalmente a que las cadenas laterales se aplastan contra la cadena principal durante la aplicación de una cizalladura de modo de reducir las interacciones moleculares. La viscosidad baja a alta cizalla hace que sea fácil de mezclar y fluir, mientras que su elevada viscosidad a baja cizalla aumenta la estabilidad de las emulsiones (BeMiller y Whistler, 1996; Chaplin, 2002; Dea, 1993; Kang y Pettitt, 1993; Rodd y col., 2000).

Goma Gellan

La goma gellan es un polisacárido exocelular deacetilado aniónico, de alto peso molecular, producido por la *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461 (Pollock, 1993), antes *Pseudomonas elodea* (Lobas y col., 1992), mediante la fermentación de un carbohidrato, purificado por recuperación en alcohol isopropílico, secado y molido. Es un heteropolisacárido lineal constituido principalmente por una secuencia de unidades repetitivas de tetrasacárido, compuestas por unidades de β -D-glucosa, α -L-ramnosa y ácido β -D-glucurónico en proporción 2:1:1. Está sustituido con grupos acilos, esto es, glicerilo y acetilo como ésteres de uniones O6 y O2 glicosídicos, como se muestra en la Figura 1.1-5. Estudios de difracción de rayos X han revelado una doble hélice semiescalonada, paralela, en la que cada cadena polimérica se encuentra en una conformación de triple hélice izquierda, y en la que hay dos de dichas dobles hélices empaquetadas en forma antiparalela en la celda unidad (Kang y Pettitt, 1993).

El ácido glucourónico es neutralizado con una mezcla de sales de potasio, sodio, calcio y magnesio. Generalmente contiene una pequeña cantidad de compuestos nitrogenados como resultado de los procedimientos fermentativos.

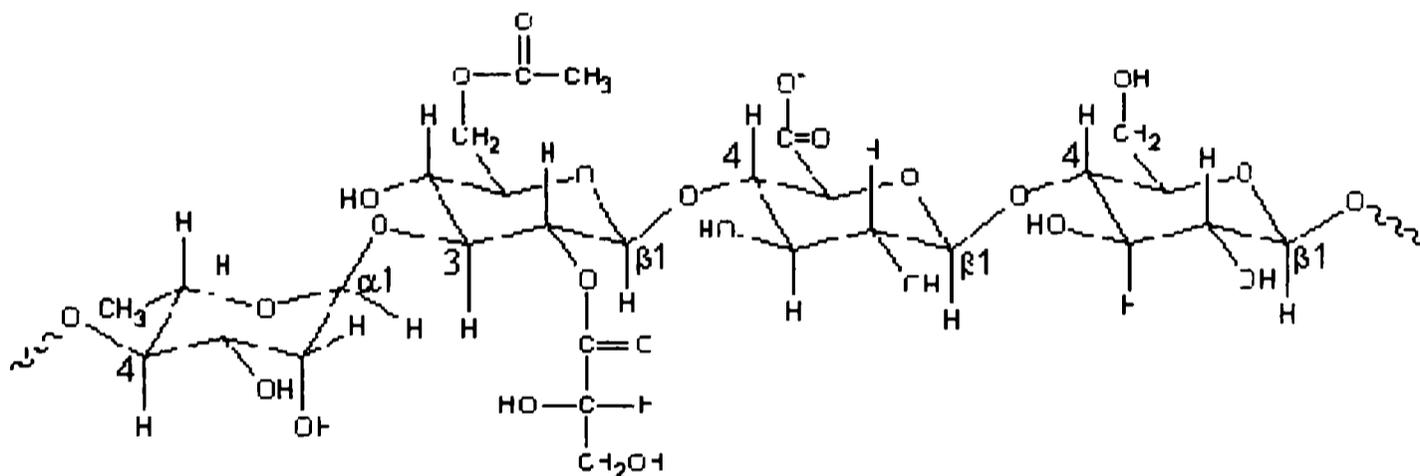


Figura 1.1-5. Estructura molecular de la goma gellan.

La goma gellan tiene la característica de producir un gel termoreversible cuando se calientan y enfrían soluciones acuosas, aunque requiere la presencia de cationes mono o divalentes. Esta gelación incluye la formación de zonas de unión de doble hélice seguida por agregación de segmentos de doble hélice para formar una red tridimensional por complejación con cationes y uniones puentes de hidrógeno con el agua (Kang y Pettitt, 1993).

Hay tres formas básicas del producto que se pueden distinguir por: a) contenido de polisacáridos, b) porcentaje de grupos acetilos sustituyentes, y c)

contenido proteico. Comercialmente está disponible en dos formas (alto y bajo acilo). Los grupos acilo tienen una profunda influencia en las características del gel. La forma con "alto acilo" produce geles muy flexibles y dúctiles, mientras que la forma de "bajo acilo" forma geles firmes y frágiles, similares al gel de agar. Sin embargo, variando el grado de acetilación, se puede obtener un rango de texturas de geles.

A partir del año 1992 la goma gellan a sido aprobada por la US FDA para su uso en productos alimenticios (Pszczola, 1993).

1.1.2.6. Hidrocoloides de origen animal

Corresponden al grupo más abundante y diverso de hidrocoloides en la naturaleza. A partir de mamíferos o peces es posible obtener macropolímeros que, mediante algunos procesos fisicoquímicos, conduzcan a proteínas o carbohidratos de gran utilidad en la industria alimenticia. Los más importantes dentro de esta clasificación son el colágeno, tanto de mamíferos como peces, para obtener gelatina y la quitina, extraída del exoesqueleto de los crustáceos, que mediante una deacetilación puede transformarse en quitosano.

Gelatina

La gelatina se puede extraer de tejido colagénico proveniente de diversas fuentes animales tales como piel de vaca, piel de cerdo, polvo de hueso, piel de pescado, y de otros recursos naturales de menor uso (Harrington y Karr, 1970; Harrington y Rao, 1970; Ledward, 1986; Ward y Courts, 1977). En principio, la composición en aminoácidos de la gelatina obtenida es similar a la del material colagénico del cual se obtiene y, por lo tanto, la diferencia de especies y de tipos de tejido da origen a productos distintos. Su estructura química está ligada a la estructura de su materia prima y al proceso de elaboración. Las fibras colagénicas son flexibles y tienen una notable resistencia a la fuerza tensional. La estructura básica del colágeno, la cual se denomina tropocolágeno, es una proteína fibrosa de un peso molecular algo menor a 300.000 Da, mide unos 300 nm de longitud por 1,5 nm de espesor. Para formar la fibrilla, las moléculas de colágeno se alinean empalmado extremo con extremo, en hileras que se superponen presentando brechas entre las moléculas de cada hilera (Figura 1.1-6). Cada molécula de tropocolágeno está compuesta de tres cadenas polipeptídicas entrelazadas. Cada uno de estos polipéptidos se denomina cadena alfa y posee un peso molecular de 90.000 Da, aproximadamente. Cada

cadena alfa se enrolla como hélice levógira de tres residuos de aminoácidos por giro, y se ubican en las esquinas de un triángulo equilátero de 0,5 nm de lado. Las tres cadenas juntas forman una súper hélice dextrógira con un paso repetido de 8,6 nm y una traslación de 0,286 nm (Ledward, 1986).

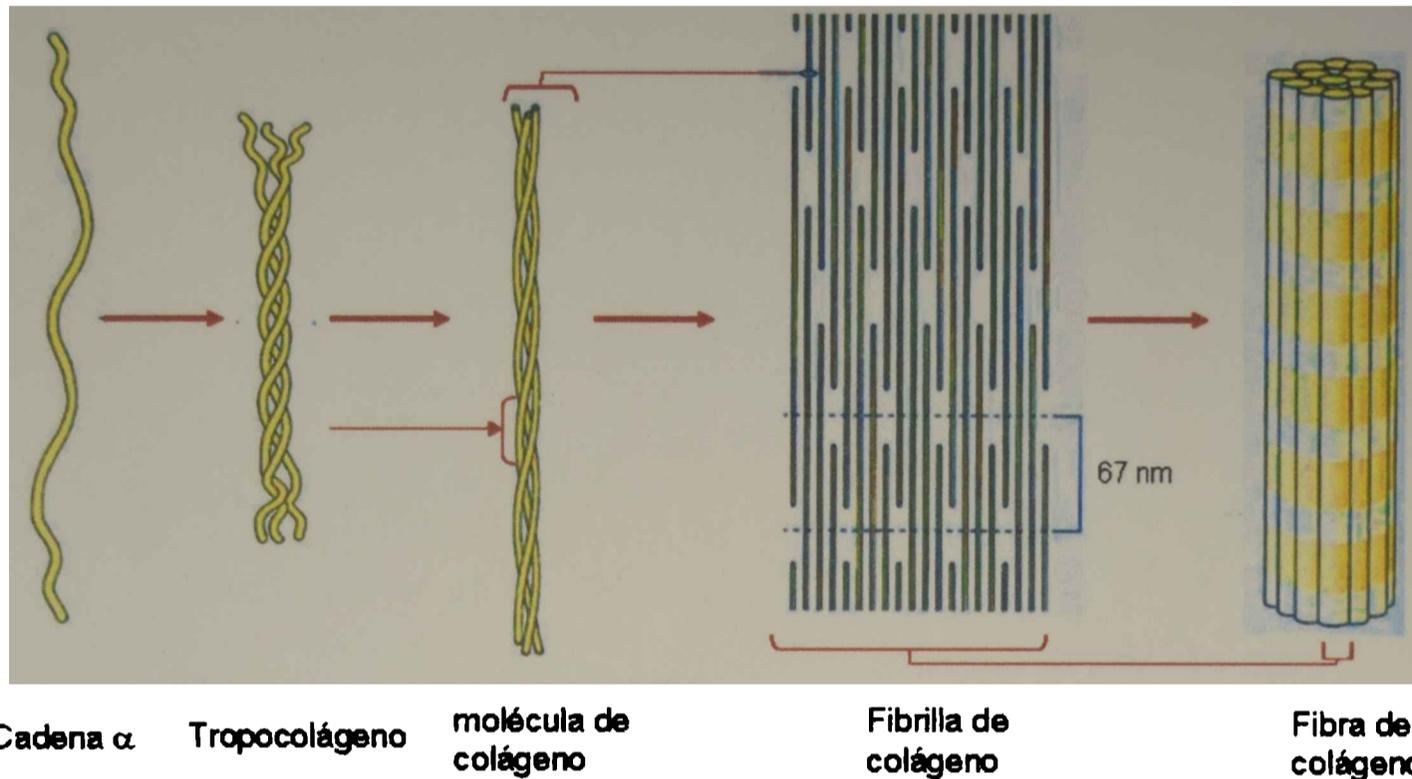


Figura 1.1-6. Representación de las características estructurales de una fibra de colágeno.

Las cadenas del tipo alfa poseen una composición y secuencia aminoacídica característica donde la glicina aparece cada tres residuos de aminoácidos, salvo en las terminales de la cadena. A menudo, a cada glicina le precede una hidroxiprolina y le sigue una prolina. Esta estructura de glicina con hidroxiprolina y prolina es esencial para la conformación de la triple hélice (Figura 1.1-7) debido a que esto permite un acercamiento entre las cadenas del tipo alfa y la existencia de enlaces del tipo puente-hidrógeno intercatenarios entre el grupo carboxilo de la glicina y el grupo hidroxilo de la hidroxiprolina (Cheftel y col., 1989; Ross y col., 1992).

Cuando los tejidos que contienen colágeno se someten a procesos degradativos que, usualmente, involucran hidrólisis alcalina o ácida seguido de una extracción acuosa en caliente, la estructura fibrosa del colágeno se rompe irreversiblemente y se obtiene la gelatina (Figura 1.1-7). Por consiguiente, el proceso de manufactura involucra la destrucción de la estructura terciaria, secundaria, y en alguna medida también la estructura primaria del colágeno nativo (Ward y Courts, 1977; Ledward, 1986). El poder de gelificación que presenta la gelatina está directamente relacionado con la

tendencia de regeneración de la triple hélice perdida durante el procesamiento (Harrington y Rao, 1970).

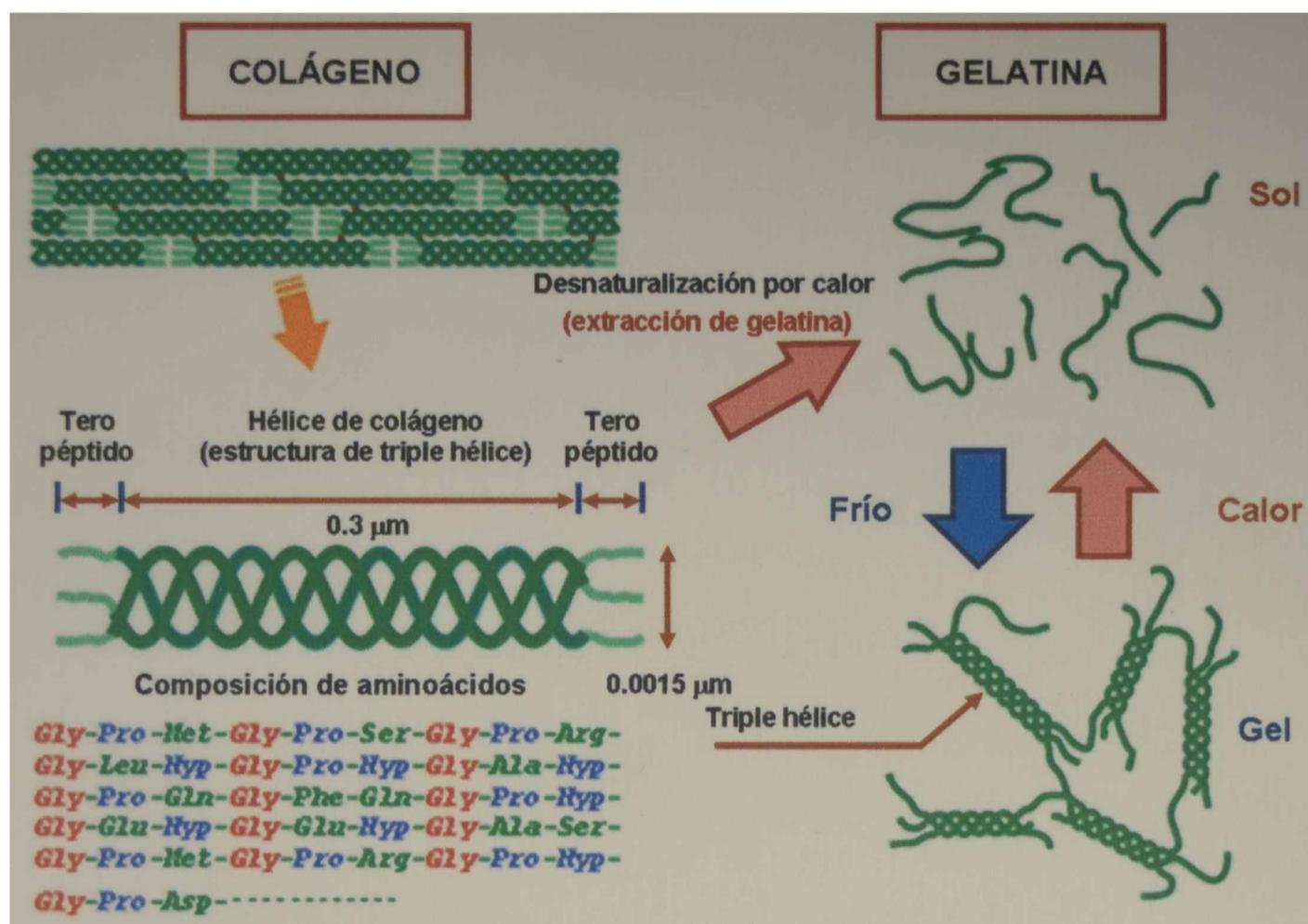


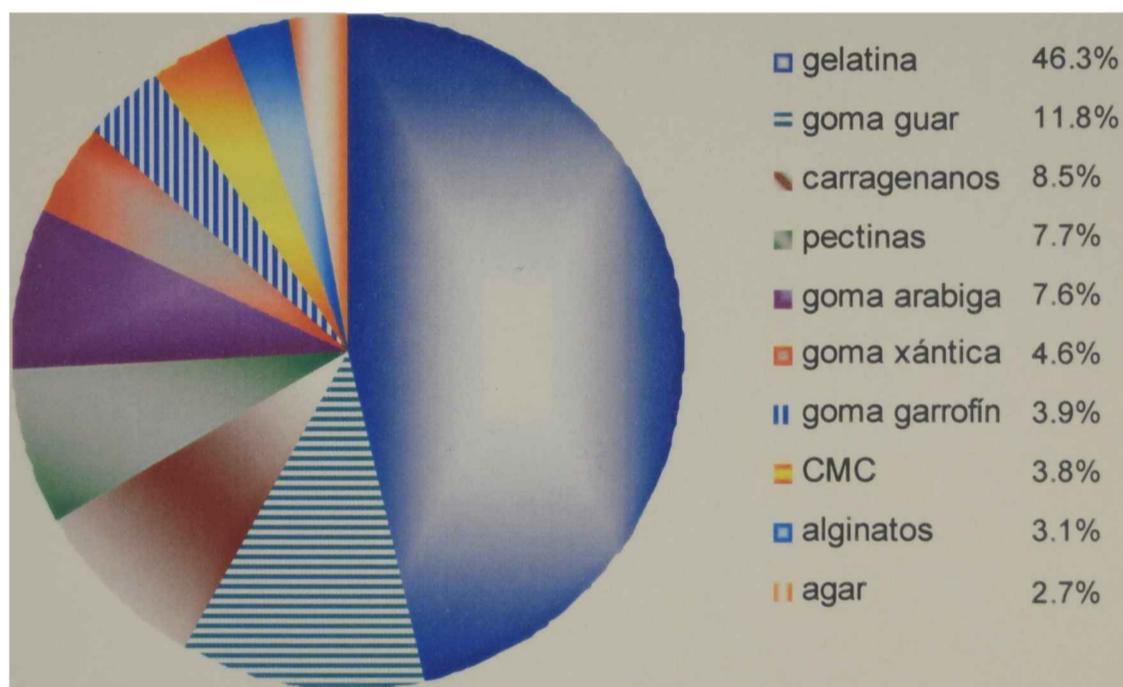
Figura 1.1-7. Esquema sobre el proceso de obtención de gelatina.

1.1.3 Elección adecuada de los hidrocoloides

La selección adecuada de los hidrocoloides a emplear en el desarrollo de un producto está determinada por las características funcionales requeridas, pero se encuentra inevitablemente influenciada por el precio y la seguridad de abastecimiento. Estas son las razones principales por las cuales el almidón es el más común de los agentes espesantes. Es interesante señalar sin embargo que la goma xántica, desde comienzos de los 1970s, se ha convertido en uno de los espesantes más elegidos a pesar de su elevado precio. Esta particularidad está asociada a su comportamiento reológico característico, esto es, la posibilidad de generar soluciones altamente viscosas con muy bajas concentraciones, tolerar cambios en el pH o la fuerza iónica del sistema sin alterar ampliamente su viscosidad y una buena resistencia a cambios moderados de temperatura. Sus soluciones presentan alta viscosidad frente a bajas velocidades de deformación y ante el incremento del esfuerzo comienzan a fluir fácilmente. Estas propiedades lo tornan útil para su aplicación en aderezos para

ensaladas, evitando el cremado de las gotas de aceite cuando se encuentra en reposo y pudiendo fluir cuando se agita el envase.

La gelatina es ampliamente, y desde hace muchos años, el más difundido de los agentes gelificantes y, pese a que en la actualidad existe gran actividad en desarrollar sustitutos de la misma, sigue siendo masivamente utilizada debido a sus características únicas (Figura 1.1-8). El resto de los hidrocoloides han sufrido también alteraciones en sus precios y consumos en los últimos años, debido a la aparición de nuevos productos sustitutos y a la optimización en sus procesos de obtención y purificación (Phillips y Williams, 2003). La aparición de distintos derivados de la celulosa económicamente viables y la aprobación para uso en alimentos de otros hidrocoloides (tal es el caso de la gomas gellan o welan), ha segmentado aun más el mercado de aquellos que buscan conferirle determinadas características a sus productos.



Volumen total: 260000 toneladas

Figura 1.1-8. Volumen de ventas mundial para los distintos hidrocoloides (Phillips y Williams, 2003).

La gran expansión sufrida por el mercado de los ingredientes alimentarios a causa de la creciente demanda de los consumidores por nuevos productos con atributos sensoriales y funcionales diferentes, ha sido en parte, sino completamente, la responsable de la búsqueda de nuevos componentes que confieran características específicas a los alimentos. Es por esto que el estudio de las propiedades reológicas

es una etapa clave en el desarrollo de un producto que contenga este tipo de ingredientes. Un claro ejemplo es el de las salsas a base de crema empleadas en muchas comidas. El uso de crema fresca es problemático desde el punto de vista de su caducidad e inestabilidad durante el procesamiento. Este tipo de alimentos son desarrollados cuidadosamente a partir de ingredientes secos que garanticen que el producto final presente las mismas características reológicas que aquel desarrollado a partir de ingredientes frescos. Probablemente el área más extensivamente investigada desde el punto de vista reológico, donde el agregado de hidrocoloides ha sido ampliamente abordado, sea el desarrollo de productos panificados (Kenny y col., 2000; Kokini, 1992; Rasper, 1993). La reología de las masas es un factor clave, ya que ésta influye en la textura y el volumen del producto final.

El agregado de hidrocoloides a un producto alimenticio permite lograr el diseño de productos con características específicamente seleccionadas. Sin embargo, lograr conocer el efecto de cada uno de ellos en un alimento complejo requiere de un análisis profundo de sus propiedades reológicas, que serán luego la clave para la conveniente elección de aquel polímero que confiera al producto las características óptimas.

1.2 REOLOGÍA DE ALIMENTOS

1.2.1 Introducción a la reología

En términos generales es posible mencionar que en 1929, la *American Society of Rheology* definió a la reología como la ciencia que estudia la deformación y la fluidodinámica de materiales complejos. En la actualidad, esta disciplina presenta un marco teórico bien consolidado y en continuo crecimiento, logrando de esta forma producir significativos avances en temas de alto interés tecnológico como por ejemplo la biorreología, la reología de polímeros y la reología de suspensiones. Asimismo, en las últimas décadas han surgido importantes aplicaciones de la reología en la industria biotecnológica y en la producción de materiales biomédicos (Barnes y col., 1991).

Dentro de la industria alimentaria, existen diversas áreas donde el conocimiento de información provista por la reología se hace indispensable, entre ellas:

- Diseño de plantas: Selección y diseño de cañerías y bombas, determinación de la transferencia de masa y energía, diseño de equipos de llenado, extrusores, homogenizadores, etc.
- Controles de calidad: Tanto en materias primas como en productos en diferentes etapas del proceso (incluyendo la funcionalidad de los diversos ingredientes en el producto y la vida útil de los mismos).
- Evaluación sensorial de atributos: Mediciones cuantitativas que permitan correlacionar los atributos cualitativos señalados por los consumidores en los ensayos sensoriales.
- Estudio de la estructura de los alimentos y la conformación molecular de los distintos constituyentes.

La reología de alimentos está a menudo confinada al comportamiento de alimentos líquidos. Sin embargo, existe una tendencia creciente a considerar que la respuesta que brindan tanto alimentos sólidos como líquidos sometidos a esfuerzos y deformaciones son dos extremos de la misma ciencia. De hecho, existen algunos productos que exhiben cualquiera de los dos comportamientos dependiendo de las condiciones de esfuerzos a las que se encuentren sometidos, esto es, chocolate fundido, aderezos, purés, que pueden presentar un comportamiento sólido a bajos esfuerzos y líquido a mayores esfuerzos (McKenna y Lyng, 2003). Este tipo de análisis

va en aumento, a medida que se desarrollan nuevos productos alimenticios que puedan ser clasificados por el consumidor como semisólidos o semilíquidos. Es por esto que se hace necesario el estudio de las propiedades elásticas y plásticas de los alimentos, para obtener una caracterización más precisa de los mismos.

1.2.2 Aspectos generales de reología

En la mecánica clásica se distinguen nítidamente dos respuestas mecánicas extremas; la de los sólidos que responden a la Ley de Hooke y la de los líquidos que responden a la Ley de Newton. También se sabe que existen muchos materiales que no se pueden describir con estos modelos constitutivos extremos. No obstante, la teoría de la elasticidad (Ley de Hooke) se puede modificar para describir deformaciones finitas y la Ley de Newton también se puede generalizar para describir el comportamiento de líquidos que se suponen viscosos e inelásticos, en los cuales uno de los fenómenos típicos es que la viscosidad varía con la velocidad de corte. Estos fluidos se denominan no-Newtonianos generalizados. En este sentido, estas teorías se pueden considerar como extremos del espectro de comportamiento de los materiales reológicamente complejos. Ciertamente, este contexto es inadecuado para describir el comportamiento de un conjunto importante de materiales denominados viscoelásticos (Barnes y col, 1993; Bird y col., 1977; Montes y White, 1993). Forman parte de este grupo de materiales las mezclas de diferentes biopolímeros y casi la totalidad de los alimentos.

Como se ha mencionado en la sección anterior, la reología es la ciencia que estudia el flujo y la deformación de los materiales sometidos a fuerzas externas. En concreto podría decirse que analiza la relación existente entre las variables esfuerzo (σ), deformación producida (γ), gradiente de velocidad o velocidad de deformación ($d\gamma/dt = \dot{\gamma}$) y tiempo (t). Las ecuaciones que vinculan estas variables son denominadas ecuaciones constitutivas. Dependiendo de cómo sean estas ecuaciones constitutivas, los materiales presentarán comportamientos reológicos diferentes.

De modo general, la deformación de cualquier material en un punto dado puede describirse mediante el tensor deformación, que representa los cambios relativos de un elemento cúbico pequeño al ser deformado respecto a esta posición:

$$\gamma = \begin{pmatrix} \gamma_{11} & \gamma_{12} & \gamma_{13} \\ \gamma_{21} & \gamma_{22} & \gamma_{23} \\ \gamma_{31} & \gamma_{32} & \gamma_{33} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 1.2-1}$$

La velocidad de deformación se define como la variación de este tensor γ respecto del tiempo:

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \begin{pmatrix} \dot{\gamma}_{11} & \dot{\gamma}_{12} & \dot{\gamma}_{13} \\ \dot{\gamma}_{21} & \dot{\gamma}_{22} & \dot{\gamma}_{23} \\ \dot{\gamma}_{31} & \dot{\gamma}_{32} & \dot{\gamma}_{33} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 1.2-2}$$

De igual manera, el esfuerzo aplicado sobre un cuerpo puede especificarse mediante el tensor esfuerzo, que representa las componentes de la fuerza que actúa sobre el cubo, respecto a la unidad de área sobre la que se aplica dicha fuerza.

$$\sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{11} & \sigma_{12} & \sigma_{13} \\ \sigma_{21} & \sigma_{22} & \sigma_{23} \\ \sigma_{31} & \sigma_{32} & \sigma_{33} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 1.2-3}$$

Así, dependiendo de la dirección de la fuerza aplicada y el área donde la misma actúa, se podrán tener esfuerzos de tracción o compresión (fuerza en dirección perpendicular a la superficie, pero de sentido opuestos), o esfuerzos de cizalla o corte (fuerza en dirección paralela a una cara), como se muestra en la Figura 1.2-1. Si la deformación es uniforme, los tensores esfuerzo y deformación no varían con la posición.

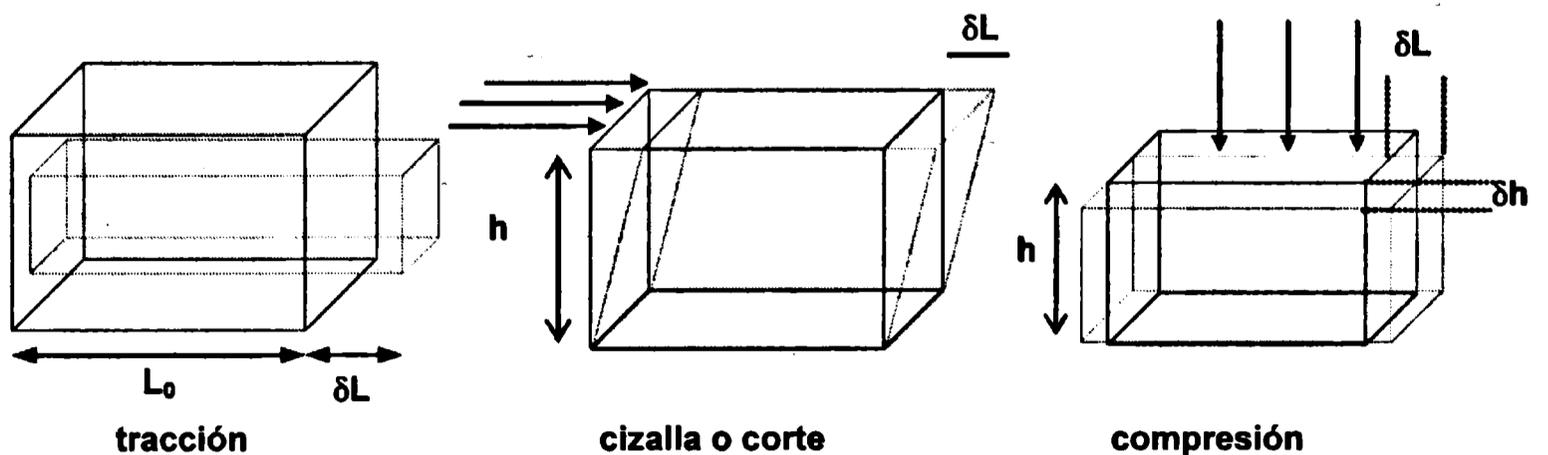


Figura 1.2-1. Tipos de esfuerzo externo al que se puede someter un material.

1.2.2.1. Deformación por esfuerzo de corte

Para definir el flujo de corte, considérese un sistema de coordenadas cartesianas como el que se muestra en la Figura 1.2-2. En la misma se observa de forma esquemática un modelo conformado por un material comprendido entre dos placas paralelas; una inferior fija y una superior móvil, separadas una distancia "d" (se supone que la distancia entre placas es mucho menor que la dimensión de las mismas)

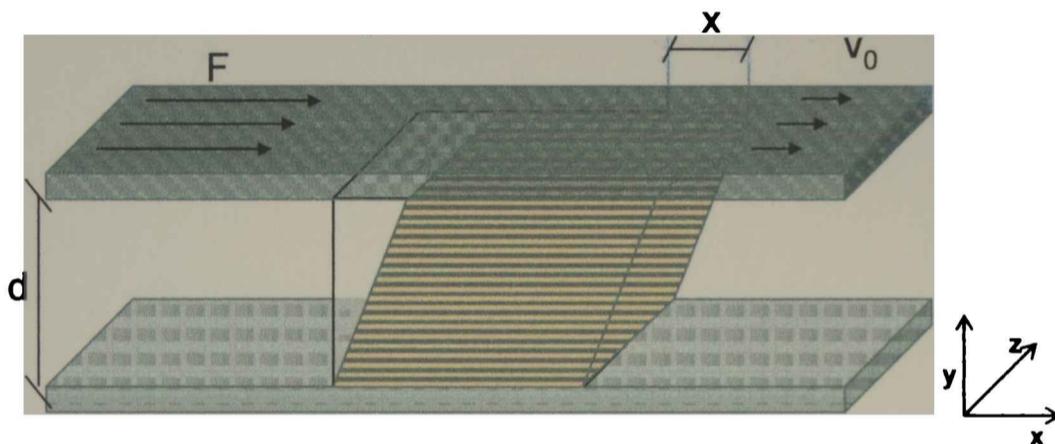


Figura 1.2-2. Flujo de corte entre dos placas paralelas. La placa superior se mueve en la dirección del eje "x" con una velocidad constante (v_0). d: distancia entre placas.

Si se aplica una fuerza continua F sobre la placa superior, que la obliga a desplazarse a una velocidad constante v_0 , se generará un perfil de velocidades unidireccional en el material de acuerdo a:

$$v_x(y) = \frac{\partial v_x}{\partial y} y \quad ; \quad v_y = v_z = 0 \quad \text{Ec. 1.2-4}$$

donde $\{x, y, z\}$ son las componentes del sistema cartesiano que se muestra en la Figura 1.2-2. A partir de estas ecuaciones es sencillo obtener el tensor de velocidad de deformación:

$$\dot{\gamma} = \begin{pmatrix} 0 & \dot{\gamma}_{xy} & 0 \\ \dot{\gamma}_{yx} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 1.2-5}$$

donde las únicas componentes no nulas corresponden a:

$$\dot{\gamma}_{xy} = \dot{\gamma}_{yx} = \frac{\partial v_x}{\partial y} = \dot{\gamma} \quad \text{Ec. 1.2-6}$$

La velocidad de deformación $\dot{\gamma} = v_0 d$ es constante respecto de la coordenada "y", y por la ecuación de continuidad se observa que tampoco varía con la coordenada "x". Por estas características particulares, el perfil de velocidades propuesto genera un flujo de corte simple y homogéneo. A partir de las condiciones de simetría se obtiene la forma general del tensor esfuerzo (Bird y col., 1977):

$$\sigma = \begin{pmatrix} \sigma_{xx} & \sigma_{xy} & 0 \\ \sigma_{yx} & \sigma_{yy} & 0 \\ 0 & 0 & \sigma_{zz} \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 1.2-7}$$

Las componentes fuera de la diagonal son iguales por simetría y se denominan esfuerzos de corte $\sigma = \sigma_{xy} = \sigma_{yx}$. A partir del flujo de corte en estado estacionario, donde la velocidad de corte no varía con el tiempo, se obtiene la viscosidad aparente $\eta(\dot{\gamma})$,

$$\eta(\dot{\gamma}) = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} \quad \text{Ec. 1.2-8}$$

y los coeficientes de la primera y la segunda diferencia de tensiones normales se definen,

$$\Psi_1(\dot{\gamma}) = \frac{N_1}{\dot{\gamma}^2} = \frac{\sigma_{xx} - \sigma_{yy}}{\dot{\gamma}^2} \quad \text{Ec. 1.2-9}$$

$$\Psi_2(\dot{\gamma}) = \frac{N_2}{\dot{\gamma}^2} = \frac{\sigma_{yy} - \sigma_{zz}}{\dot{\gamma}^2} \quad \text{Ec. 1.2-10}$$

Las Ec. 1.2-8, Ec. 1.2-9 y Ec. 1.2-10 representan las tres funciones geométricas básicas del flujo de corte en estado estacionario.

1.2.2.2. Clasificación de un material de acuerdo a su comportamiento reológico

Como se ha mencionado previamente, las teorías lineales de elasticidad e hidrodinámica dividen a los materiales entre sólidos y fluidos, mediante los conceptos de sólido perfectamente elástico y fluido puramente viscoso. En el sólido perfectamente elástico, la aplicación de un esfuerzo, (fuerza por unidad de área) produce una deformación proporcional a la misma (Ley de Hooke):

$$\sigma = G \gamma \quad \text{Ec. 1.2-11}$$

donde G es la constante de proporcionalidad o la constante del resorte. Cuando ese esfuerzo es suprimido, el cuerpo recupera su estado inicial no deformado de forma similar a lo que ocurre con un resorte estirado o comprimido.

Por otro lado, si el cuerpo en consideración es un fluido de viscosidad constante, el esfuerzo es proporcional al cambio instantáneo de deformación con el tiempo o velocidad de deformación (Ley de Newton), independientemente de la deformación producida, es decir:

$$\sigma = \eta \dot{\gamma} \quad \text{Ec. 1.2-12}$$

En realidad, ambos conceptos no constituyen más que idealizaciones del comportamiento dinámico de materiales que se cumplen sólo en casos muy específicos.

El comportamiento reológico de un material se estudia analizando las relaciones esfuerzo-deformación, esfuerzo-tiempo y deformación-tiempo. Estas relaciones se traducen a leyes matemáticas que relacionan un esfuerzo aplicado y una respuesta dinámica resultante en forma de deformación o velocidad de deformación o viceversa. Para encontrar una función del material, en el laboratorio se recurre a flujos reales que

se asemejen al obtenido cuando se aplica un esfuerzo de corte o cizalla, ya que en esta situación idealizada tanto el esfuerzo como la deformación se distribuyen homogéneamente a lo largo de todo el material, estando relacionados de forma sencilla con fuerzas externas y desplazamientos que se pueden medir directamente.

La presencia simultánea de propiedades elásticas y viscosas en diversos materiales ha originado una clasificación de los mismos con respecto a su comportamiento esfuerzo cortante-deformación por cizalla. Cada material se caracteriza por las expresiones matemáticas que relacionan estas variables (Carreau y col., 1997). La clasificación más usual corresponde a la mostrada en la Figura 1.2-3.

| | | | |
|-------------------------------------|---|--------------------------------|---|
| Comportamiento Reológico | { | Sólido rígido (Euclides) | $\gamma = 0$ |
| | | Sólido elástico lineal (Hooke) | $\sigma = G\gamma$ |
| | | Sólido elástico no lineal | $\sigma = G(\gamma)\gamma$ |
| | | Viscoelástico | $\sigma = f(\gamma, \dot{\gamma}, t)$ |
| | | Fluido viscoso no lineal | $\sigma = \eta(\dot{\gamma})\dot{\gamma}$ |
| | | Fluido viscoso lineal (Newton) | $\sigma = \eta\dot{\gamma}$ |
| | | Fluido Invíscido (Pascal) | $\sigma = 0$ |

Figura 1.2-3. Clasificación de un material de acuerdo a su comportamiento reológico.

Además de la relación esfuerzo/deformación, el tipo de respuesta de un material depende de la escala de tiempo involucrada entre la aplicación del esfuerzo y la medida de sus efectos. Para comprender el comportamiento reológico de un material es necesario definir algunos tiempos característicos, esto es, el tiempo de relajación (λ) y el tiempo experimental (t_e):

a) Tiempo de relajación (λ): Cuando el material se somete a deformaciones, pueden aparecer tensiones internas debido a un cambio de posición u orientación de las moléculas en el seno de éste, las cuales pueden necesitar un cierto tiempo para desaparecer. Este tiempo, llamado tiempo de relajación, es también característico del material y mide el tiempo que requiere un material para adaptarse a la deformación.

b) Tiempo experimental (t_e): Es inevitable considerar que el comportamiento observado en un material puede depender del tiempo experimental o de observación y de su relación con el tiempo característico del material. Así, por ejemplo, si el tiempo de observación es menor que el de relajación, el material no tiene tiempo de relajarse y disipar la energía suministrada, con lo cual ésta puede ser recuperada al retirar el esfuerzo y se observa comportamiento elástico. En cambio, si el tiempo de observación es superior al de relajación, el material se relaja disipando la energía en forma de calor y se observa comportamiento viscoso. La relación entre el tiempo de relajación y el experimental se define como el número de Deborah (De):

$$De = \frac{\lambda}{t_e} \quad \text{Ec. 1.2-13}$$

De este modo, se podrían definir tres situaciones principales:

1. El número de Deborah es mucho menor que 1: $De \rightarrow 0$. El tiempo de relajación es muy pequeño comparado con el tiempo experimental, por lo que en el material no se observa la componente elástica, y tiene únicamente comportamiento viscoso. La reología del sistema para esfuerzos pequeños quedará totalmente caracterizada por la ley de *Newton*, mientras que a esfuerzos grandes se observarán cambios relacionados con su comportamiento de flujo.

2. El número de Deborah es mucho mayor que 1: $De \rightarrow \infty$. Como el tiempo de relajación es mucho mayor que el de observación, el material no tiene tiempo de relajarse, por lo que no fluirá y presentará únicamente comportamiento *elástico*.

3. El número de Deborah es cercano a 1: $De \approx 1$. El material presentará un comportamiento intermedio, denominado *viscoelástico*. Para describir la reología del sistema se han de introducir ecuaciones que tengan en cuenta simultáneamente la viscosidad y la elasticidad, que serán descritas en apartados posteriores.

A partir de esta clasificación se han desprendido tres conceptos reológicos fundamentales que serán descritos en los apartados subsiguientes: la viscosidad de flujo estacionario, la tixotropía y la viscoelasticidad.

1.2.2.3. Viscosidad de flujo estacionario

En términos generales, y como se mencionó en la sección anterior, en los fluidos Newtonianos la viscosidad es constante, es decir que son aquellos fluidos no estructurados, compuestos por moléculas simples, con un comportamiento puramente viscoso que puede ser descrito, en todo el rango de gradientes, mediante la ley de Newton (Ec. 1.2-12), y, por tanto, su viscosidad sólo depende de las variables presión y temperatura.

Hay una gran variedad de fluidos cuyo comportamiento no se ajusta al de un líquido newtoniano, al menos en un cierto rango de esfuerzos (Rohn, 1995). Estos fluidos suelen ser sistemas dispersos (emulsiones, suspensiones, soles de partículas, etc.), soluciones de macromoléculas (fluidos biológicos) o materiales fundidos (plásticos), que tienen un cierto grado de estructuración. En este punto hay que distinguir entre comportamiento newtoniano y fluido newtoniano. Un fluido no newtoniano puede tener comportamiento newtoniano en un cierto rango de esfuerzos lo suficientemente bajos para no modificar su estructura. Sin embargo, la aplicación de un esfuerzo superior a un esfuerzo crítico modifica la estructura y, por lo tanto, la viscosidad del fluido. Por ello, el concepto de viscosidad como propiedad intrínseca desaparece y, en todo caso, puede hablarse de una viscosidad aparente. En los fluidos no newtonianos la relación entre el esfuerzo y el gradiente de velocidad deja por tanto de ser lineal y puede ser muy variada, obteniendo diferentes tipos de comportamiento, como se muestra en el gráfico de esfuerzo de corte en función de la velocidad de deformación (reograma) que aparece en la Figura 1.2-4.

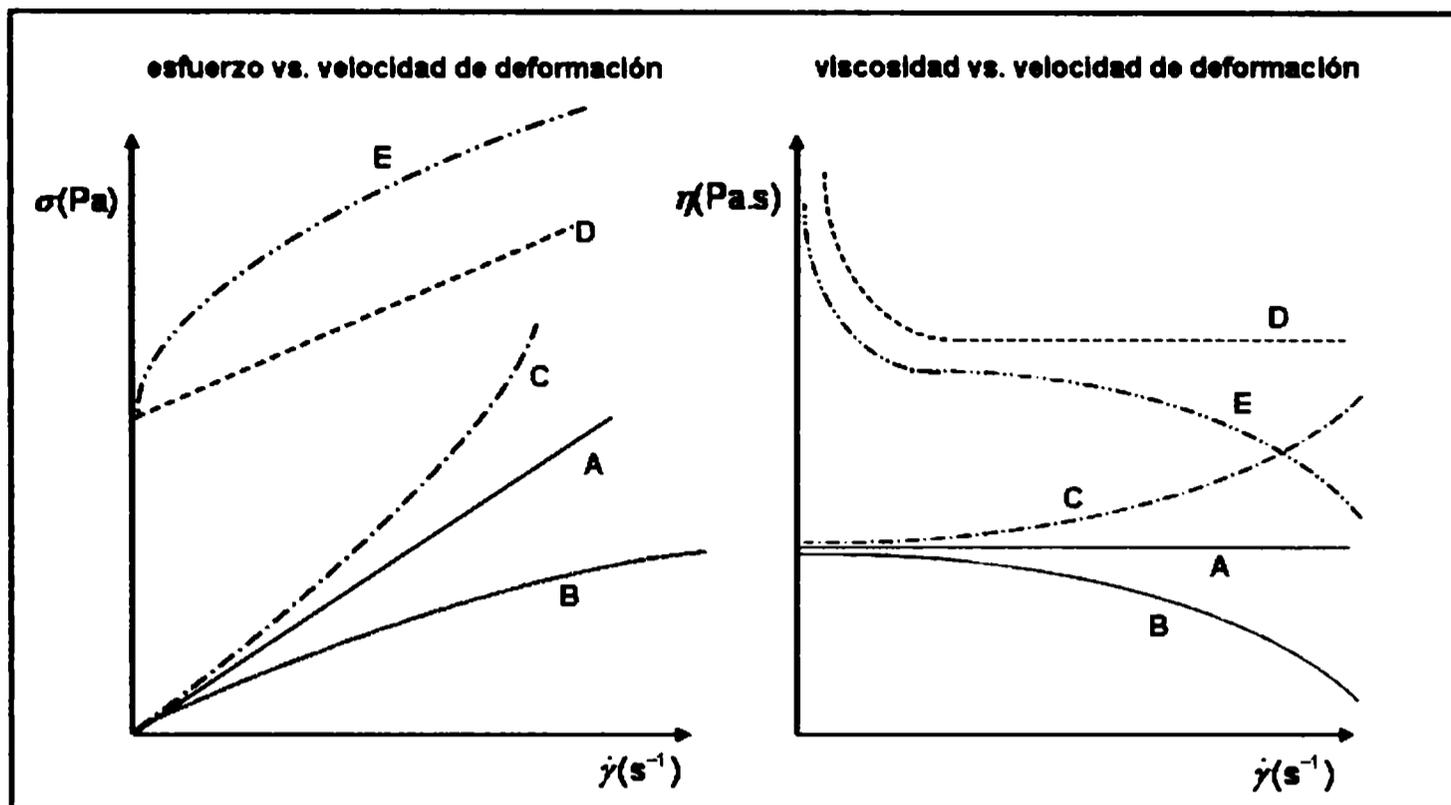


Figura 1.2-4. Reogramas característicos de fluidos Newtonianos y no-Newtonianos en condiciones de flujo. A: fluido newtoniano, B: pseudoplástico, C: dilatante, D: plástico de Bingham, E: plástico de Herschel-Bulkley.

1.2.2.3.1. Fluidos pseudoplásticos o dilatantes

Son aquellos que siguen la ley de la potencia:

$$\sigma = k \dot{\gamma}^n \tag{Ec. 1.2-14}$$

donde k es el índice de consistencia y n el índice de comportamiento de flujo. Si n es menor que la unidad el fluido es pseudoplástico y la viscosidad aparente del mismo disminuye con el aumento del esfuerzo o la velocidad de deformación (comportamiento denominado *shear thinning*). Si n es mayor que la unidad el fluido es dilatante y su viscosidad aparente aumenta con el esfuerzo (comportamiento denominado *shear thickening*).

1.2.2.3.2. Plástico de Bingham

Un fluido es un plástico de Bingham cuando su reograma se ajusta a la ecuación:

$$\sigma = \sigma_0 + \eta \dot{\gamma} \tag{Ec. 1.2-15}$$

donde σ_0 es el esfuerzo límite o esfuerzo umbral mínimo necesario para producir fluencia. Por debajo de este esfuerzo, la viscosidad se considera infinita (Figura 1.2-4). El concepto de esfuerzo cortante límite (o *yield stress*) aparece cuando a velocidades de deformación muy bajas persiste un esfuerzo de corte no despreciable, pero es probablemente un concepto inexacto. Lo que sucede en realidad es que la escala de tiempo experimental es limitada, y no permite medir velocidades de deformación tan bajas que requieran excesivo tiempo de ensayo. Al aplicar un esfuerzo cortante más pequeño que el esfuerzo cortante límite se considera que la velocidad de deformación es nula ya que en el tiempo de duración del ensayo no se detecta ninguna deformación, pero probablemente presenta un valor muy bajo distinto de cero. De todo ello resulta que el esfuerzo cortante límite es más bien un dato extrapolado que una realidad física, y lo que sucede en realidad es que se tiene una viscosidad muy grande para valores muy bajos de la velocidad de deformación (Barnes y Walters, 1985).

1.2.2.3.3. Plásticos generales (Herschel-Bulkley)

Muchos fluidos requieren más de dos parámetros para explicar sus reogramas. De este modo, los fluidos denominados plásticos generales se ajustan a la ecuación o modelo de Herschel-Bulkley, caracterizado por tres parámetros:

$$\sigma = \sigma_0 + \eta \dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. 1.2-16}$$

Los plásticos generales incluyen, naturalmente, a todos los demás fluidos de menos parámetros (si $\sigma_0=0$ se trata de un pseudoplástico o dilatante, si $n = 1$ es un plástico de Bingham, y si se dan ambas cosas a la vez es un fluido newtoniano).

En la Figura 1.2-4 se muestran los reogramas característicos que se describieron previamente.

Sin embargo, en gran cantidad de sistemas fluidos no newtonianos, el reograma más común obtenido al aplicar un amplio rango de velocidades de deformación es más complejo, como el que se muestra en la Figura 1.2-5. A gradientes muy bajos es frecuente observar comportamiento newtoniano, que pasa a ser pseudoplástico a gradientes intermedios, para luego pasar nuevamente a ser newtoniano para gradientes elevados.

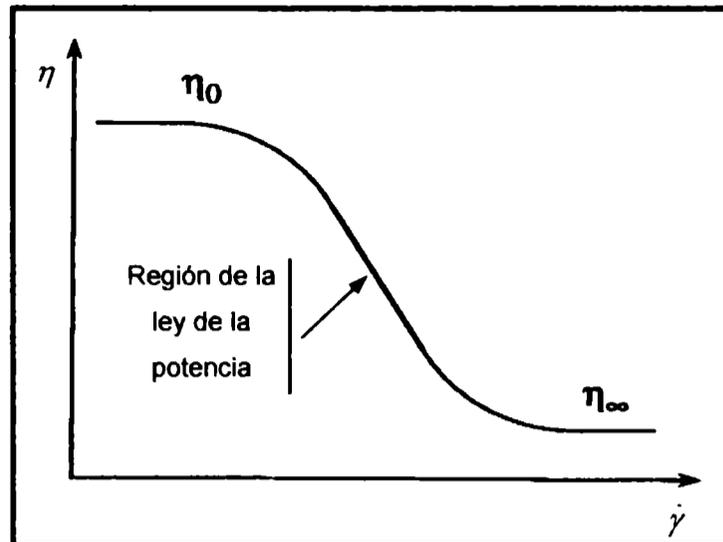


Figura 1.2-5. Reograma característico de fluidos estructurales.

Este comportamiento es particular de los denominados “fluidos estructurales”, donde el sistema está conformado por varios componentes, como partículas con formas irregulares, gotas dispersas de una emulsión, soluciones de polímeros con cadenas ramificadas o entrelazadas, etc. En estado de reposo, las unidades estructurales de estos productos tienden a mantener un estado desordenado. Ello origina una alta resistencia al flujo y por lo tanto una elevada viscosidad. A medida que el gradiente de velocidad se incrementa, las partículas se orientan en la dirección del flujo. Esta alineación facilita el desplazamiento de unas respecto a otras y reduce la viscosidad (comportamiento pseudoplástico). Un posterior aumento de la velocidad de cizalla sigue haciendo disminuir a la viscosidad hasta llegar a un gradiente de velocidad en la cual la viscosidad no varía más, puesto que se ha alcanzado la orientación o destrucción completa (Figura 1.2-6).

| | REPOSO | MOVIMIENTO |
|------------------------|--------|------------|
| ORIENTACIÓN | | |
| EXTENSIÓN | | |
| DEFORMACIÓN | | |
| DESAGLOMERACIÓN | | |

Figura 1.2-6. Fluidos estructurales en reposo y en movimiento.

Este comportamiento de flujo necesita de modelos matemáticos más complejos que la ley de la potencia (Ec. 1.2-14) para poder ser representado adecuadamente. Las ecuaciones de *Sisko*, *Cross* o *Carreau* son algunos de los ejemplos más típicos de modelos que permiten vincular la viscosidad aparente con la velocidad de cizalla (Barnes y col., 1993; Chhabra y Richardson, 1999). Todos estos modelos incluyen, entre las dos regiones newtonianas, una caída abrupta vinculada a una ruptura estructural del fluido que podrá ser debida tanto a cambios reversibles como irreversibles.

1.2.2.4. Tixotropía

La palabra *tixotropía* está formada por las dos palabras griegas *thixis*, que significa "agitación", y *trepo*, que significa "cambiante". A pesar de que el concepto de tixotropía ha sido redefinido varias veces a lo largo de los años (Barnes, 1997), en la actualidad existe un consenso casi generalizado con la definición que aparece en el *Polymer Science Dictionary* (Alger, 1990): Se entiende por tixotropía al comportamiento de los fluidos dependiente del tiempo en el que la viscosidad aparente disminuye con el tiempo de aplicación del esfuerzo y en el que la viscosidad se recupera hasta su valor original cuando el esfuerzo cesa. La recuperación puede durar un considerable intervalo de tiempo.

El fenómeno de la tixotropía se debe a los cambios estructurales que tienen lugar en un material al someterlo a una fuerza exterior. La tixotropía es la consecuencia de que sea necesario un tiempo finito para pasar de un estado microestructural determinado a otro.

Cuando un fluido es no newtoniano, su viscosidad de equilibrio o estacionaria cambia con el gradiente de velocidad porque varía su estructura de equilibrio. Si el cambio de una estructura de equilibrio a otra al modificar el gradiente es muy rápido (el tiempo estructural t_s es muy pequeño, e inferior al tiempo experimental t_e), se dice que el material no presenta una tixotropía significativa. En cambio, si al variar el gradiente el material necesita un tiempo medible para adaptar su estructura a la nueva estructura de equilibrio, superior al tiempo experimental, se dice que presenta una tixotropía significativa. Desde este punto de vista, en sentido estricto todos los materiales no newtonianos serían tixotrópicos, porque el cambio de estructura requiere siempre un tiempo finito. Pero en la práctica se consideran tixotrópicos aquellos materiales en los

que la evolución de la viscosidad con el tiempo al cambiar el esfuerzo o el gradiente se pueda cuantificar, es decir, aquellos con tixotropía significativa.

Los fluidos tixotrópicos son emulsiones, suspensiones o soluciones de macromoléculas, entre las que se establecen fuerzas de unión físicas relativamente débiles, por lo que son fáciles de destruir al aplicar un esfuerzo de corte. Con frecuencia estas moléculas son cadenas largas o con ramificaciones, y es esta morfología la que provoca que los cambios estructurales inducidos por cambios de gradiente muchas veces necesiten un período de tiempo para producirse en una proporción lo suficientemente grande como para ser observable. Estos cambios estructurales consisten en formación o destrucción de estructura tridimensional, formación o destrucción de uniones físicas o de entrecruzamientos entre las moléculas, o simplemente cambio de orientación de las moléculas en el seno del fluido. El máximo de estructura se da cuando la orientación de las moléculas y la distribución espacial son aleatorias en las tres dimensiones del espacio, o cuando las uniones físicas entre moléculas son máximas. El mínimo de estructura tiene lugar cuando las moléculas están formando las agrupaciones más pequeñas posibles, y con un grado de orientación máximo en el sentido del flujo que ofrece una mínima resistencia a fluir. La tixotropía es una medida de la cinética con la que un material cambia de una estructura a la otra al variar el gradiente (Mewis y Wagner, 2009).

1.2.2.5. Viscoelasticidad

La mayoría de los sistemas alimenticios presentan estructuras complejas que exhiben características del tipo viscosas y elásticas simultáneamente, lo que implica que tanto la ley de Hooke como la ley de Newton resultan insuficientes para su completa caracterización. Este tipo de materiales reciben el nombre de *viscoelásticos* y tienen la característica de disipar parte de la energía de deformación al fluir y almacenar otra parte, que utilizan para recuperar parcialmente la forma original al desaparecer la fuerza externa (Barnes y col., 1993). El estudio de la viscoelasticidad implica relacionar el esfuerzo cortante, la deformación y el tiempo mediante una ecuación reológica de estado. En el caso de que tanto el esfuerzo como la deformación sean lo suficientemente pequeños como para que ambas magnitudes se puedan describir a lo largo del tiempo mediante ecuaciones diferenciales lineales de coeficientes constantes, se dice que el material se encuentra dentro de su rango de *viscoelasticidad lineal* (Kokini, 1992). En este rango la relación entre el esfuerzo y la

deformación sólo es función del tiempo o de la frecuencia, pero no depende de la magnitud del esfuerzo aplicado. Las propiedades viscoelásticas lineales son muy útiles para determinar las características estructurales del material pero de poco valor para predecir fenómenos que ocurren cuando se aplican deformaciones grandes como es el caso de las operaciones de procesado de alimentos (Kokini y col., 1995).

El comportamiento viscoelástico lineal de un fluido puede relacionarse con su estructura.

Por otro lado, la respuesta de un material que es sometido a un esfuerzo puede depender de la magnitud del mismo, es decir que la respuesta puede no ser lineal. La enorme complejidad que se deriva de este hecho hace que normalmente la caracterización viscoelástica se lleve a cabo a esfuerzos o deformaciones lo suficientemente pequeños para no alterar la estructura del material y, por lo tanto, permanecer en el rango lineal. Las funciones viscoelásticas que se utilizan dependen del sistema experimental del que se dispone. Los ensayos de caracterización viscoelástica más utilizados son los que se muestran en la Figura 1.2-7, donde se observa el estímulo producido sobre el material y las diferentes respuestas que puede presentar el mismo dependiendo de su comportamiento viscoelástico.

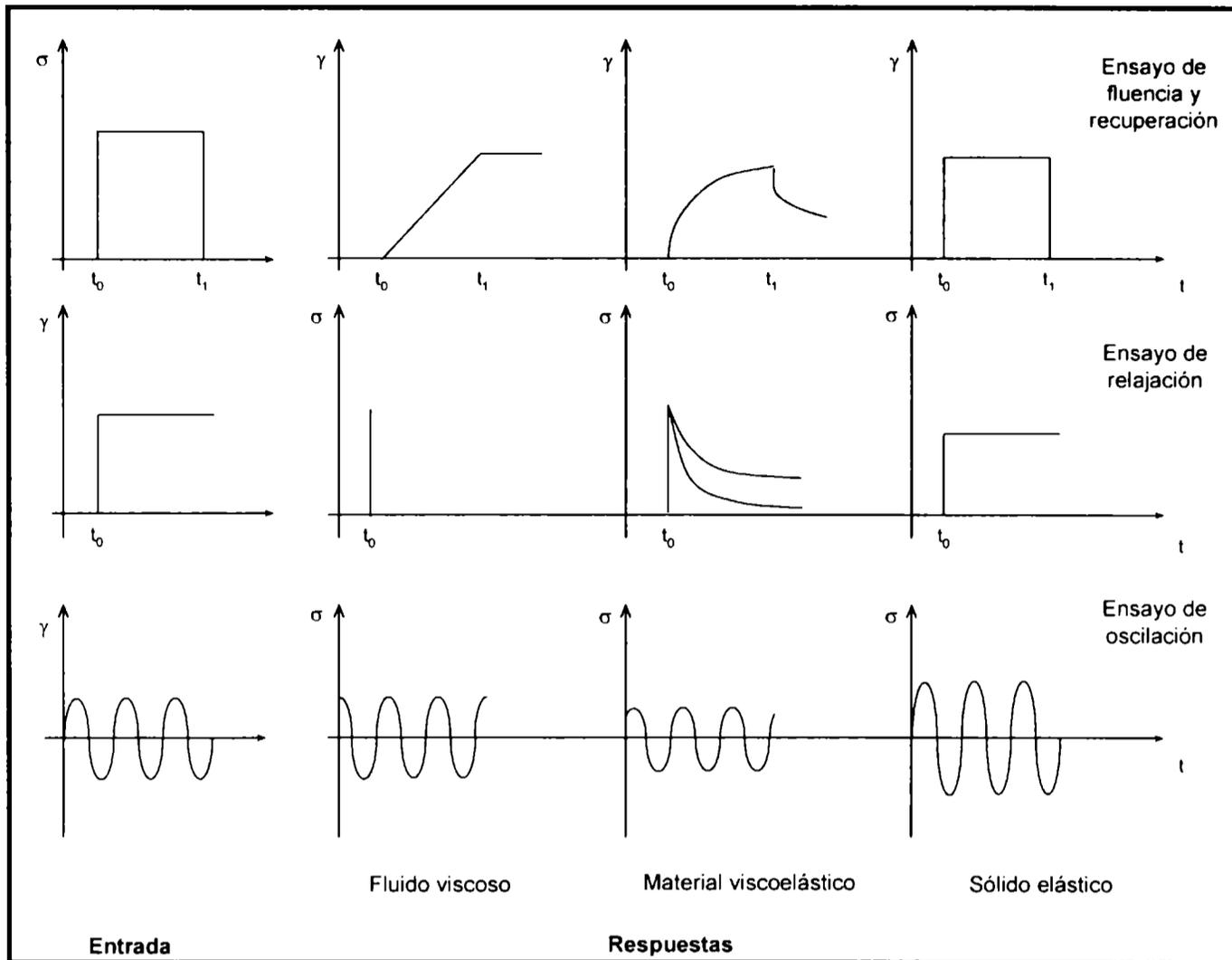


Figura 1.2-7. Estímulo y respuesta de diferentes tipos de materiales ante tres ensayos reológicos típicos.

1.2.2.5.1. Ensayos oscilatorios

Los ensayos oscilatorios consisten en la aplicación sobre un material de una deformación (en un reómetro de velocidad controlada) o de un esfuerzo (en un equipo de esfuerzo controlado) que varía armónicamente con el tiempo (Steffe, 1996). Por ejemplo, suponiendo que se aplica una deformación que siga la función:

$$\gamma = \gamma_0 \text{sen}(\omega t) \tag{Ec. 1.2-17}$$

donde γ_0 es la amplitud y ω la frecuencia de oscilación. A partir de esta expresión y recordando la definición de la velocidad de deformación (Ec. 1.2-2), $\dot{\gamma}$ vendrá dada de acuerdo a:

$$\frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma} = \gamma_0 \omega \text{cos}(\omega t) \tag{Ec. 1.2-18}$$

En un ensayo de estas características el reómetro registrará el esfuerzo de corte necesario para mantener esta deformación y su variación con la frecuencia. En el caso de un sólido elástico (que sigue la ley de Hooke), el esfuerzo será máximo cuando la deformación sea máxima, es decir, cuando $\text{sen}(\omega t)=1$ y, por tanto, ωt sea un número impar de veces $\pi/2$; por tanto, la respuesta del material estará en fase con la perturbación aplicada. Si, por otro lado, el material es viscoso puro, el esfuerzo será máximo cuando sea máxima la velocidad de deformación, presentando un desfase de $\pi/2$ radianes con la deformación impuesta. De manera general, el esfuerzo de corte obtenido puede expresarse como:

$$\sigma = \sigma_0 \text{sen}(\omega t + \delta) \quad \text{Ec. 1.2-19}$$

donde σ_0 es la amplitud del esfuerzo y δ es el ángulo de desfase (también llamado ángulo mecánico de pérdida) relativo a la deformación. Por lo tanto, un fluido viscoelástico presentará un desfase entre 0 y $\pi/2$, que indicará la relación entre elasticidad y viscosidad, y dependerá de la frecuencia de oscilación. Por ejemplo, a frecuencias muy altas, correspondientes a tiempos muy cortos, el material no tiene tiempo de relajarse y su comportamiento se acerca al de un sólido elástico, con ángulo de desfase pequeño. Por el contrario, a frecuencias bajas, el material tiene tiempo de relajarse y fluir y, por tanto, su comportamiento es más viscoso, lo que implica un ángulo de desfase mayor (Figura 1.2-7).

A partir de la Ec. 1.2-19, dividiendo en ambos miembros de la ecuación por la amplitud de deformación (γ_0) y desarrollando el seno de la suma de dos ángulos es posible obtener la siguiente expresión:

$$\frac{\sigma}{\gamma_0} = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \text{sen}(\omega t + \delta) = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) [\text{sen} \omega t \cos \delta + \text{sen} \delta \cos \omega t] \quad \text{Ec. 1.2-20}$$

Esta ecuación permite definir dos funciones características que facilitan la interpretación del comportamiento viscoelástico de los materiales; estas son el módulo de almacenamiento o elástico (G') y el módulo de pérdida o viscoso (G''):

$$G' = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \cos(\delta) \quad \text{Ec. 1.2-21}$$

$$G'' = \left(\begin{matrix} \sigma_0 \\ \gamma_0 \end{matrix} \right) \text{sen}(\delta) \quad \text{Ec. 1.2-22}$$

Estas funciones presentan la ventaja de tener sentido físico. Así, el módulo de almacenamiento, G' , está relacionado con la respuesta σ en fase con γ y, por tanto, con la parte de energía que queda almacenada y puede recuperarse. Es decir, es una medida de la elasticidad. El módulo de pérdida, G'' , indica la parte de σ desfasada $\pi/2$ radianes respecto a γ y está relacionado con la energía que se disipa. Es, por tanto, una medida del carácter viscoso del material. La combinación de estos dos parámetros define un número complejo, muy útil en reología, denominado módulo complejo G^* , que representa la resistencia total del material a la deformación aplicada cuando es considerado un sólido elástico:

$$G^* = G' + iG'' \quad \text{Ec. 1.2-23}$$

cuya norma es el cociente entre σ_0 y γ_0

$$|G^*| = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} = \sqrt{G'^2 + G''^2} \quad \text{Ec. 1.2-24}$$

Otras relaciones útiles que permiten evaluar el comportamiento viscoelástico de un material son la viscosidad compleja (η^*) y la tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta$). La primera representa la resistencia total a fluir que posee un material que es considerado un fluido viscoso, mientras que la $\tan(\delta)$ es un parámetro adimensional que compara la cantidad de energía cedida durante un ciclo de deformación con la energía almacenada en dicho período (Ferry, 1980).

$$|\eta^*| = \frac{|G^*|}{\omega} = \frac{\sqrt{G'^2 + G''^2}}{\omega} \quad \text{Ec. 1.2-25}$$

$$\tan(\delta) = \frac{\text{sen}(\delta)}{\text{cos}(\delta)} = \frac{G''}{G'} \quad \text{Ec. 1.2-26}$$

1.2.2.5.2. Ensayos de fluencia (creep)

El ensayo de fluencia (Ferry, 1980) consiste en aplicar un esfuerzo cortante constante a un material inicialmente en reposo y medir cómo varía la deformación con el tiempo (Figura 1.2-7).

Dado que el esfuerzo debe ser lo suficientemente pequeño como para asegurar que la medida ocurra dentro del rango viscoelástico lineal, pero la respuesta debe estar dentro del rango de deformaciones que se pueda medir, deberá utilizarse un reómetro de esfuerzo controlado. La función viscoelástica obtenida en este ensayo es la capacitancia $J(t)$, que se define como el cociente entre la deformación $\gamma(t)$ y el esfuerzo σ .

$$J(t) = \frac{\gamma(t)}{\sigma} \quad \text{Ec. 1.2-27}$$

Es sencillo ver qué forma tendría esta función para los comportamientos extremos. Un sólido elástico alcanzaría una capacitancia de equilibrio J_e constante con el tiempo. Para un fluido viscoso puro, la deformación aumentaría linealmente con el tiempo ($d\gamma/dt = \text{constante}$) y, por tanto, también la capacitancia, según la expresión:

$$J(t) = \frac{t}{\eta} \quad \text{Ec. 1.2-28}$$

Los materiales viscoelásticos presentarán un comportamiento intermedio entre estos dos extremos.

1.2.2.5.3. Ensayos de relajación

Este ensayo consiste en aplicar una deformación de forma rápida (que pueda considerarse instantánea), como función escalón, y medir la variación del esfuerzo cortante con el tiempo (Figura 1.2-7).

En este ensayo se obtiene el módulo de relajación $G(t)$, que se define como:

$$G(t) = \frac{\sigma(t)}{\gamma} \quad \text{Ec. 1.2-29}$$

Con este tipo de ensayo también es sencillo determinar el resultado que se obtendrá para comportamientos extremos. En el caso de un sólido elástico, para mantener una deformación determinada se requiere un esfuerzo cortante constante y, por tanto, $G(t)$ no varía con el tiempo. Un fluido viscoso puro se relaja instantáneamente y el esfuerzo resultante es, por tanto, una función impulso que es distinta de cero únicamente en el momento inicial, lo mismo que $G(t)$. Igual que en el caso anterior, para un fluido viscoelástico la situación es intermedia, y el módulo de relajación disminuye progresivamente con el tiempo, pudiendo adquirir un valor de equilibrio igual o distinto de cero según el tipo de fluido ensayado. La deformación aplicada debe ser pequeña para asegurar que se está midiendo dentro del rango de viscoelasticidad lineal.

1.2.2.5.4. Modelos analógicos mecánicos de materiales viscoelásticos

Los ensayos viscoelásticos reseñados en los apartados anteriores sirven, en principio, para propósitos comparativos, es decir, para comparar dos materiales y decidir cuál es más elástico o más viscoso. Sin embargo, la relación entre las diferentes funciones no es inmediata, y deberían realizarse todos los ensayos para conocerlas todas. Para evitar esto, es importante la postulación de modelos mecánicos que representen el comportamiento del material y permitan relacionar las diferentes funciones viscoelásticas mediante un tratamiento matemático sencillo. De este modo, es posible reducir los valores de las diferentes funciones y su variación con el tiempo o la frecuencia a unos pocos parámetros capaces de describir el comportamiento del material. En este apartado se verán algunos de estos modelos.

a) Modelo de Maxwell y modelo de Kelvin-Voigt

Un material elástico puro puede ser representado por un resorte que siga la ley de *Hooke*, según la Ec. 1.2-11, de manera que el esfuerzo interno (σ) es directamente proporcional a la deformación instantánea (γ). Un material viscoso puro se puede describir, análogamente, por un amortiguador hidráulico que siga la ley de *Newton* (Ec. 1.2-12). Por tanto, un material viscoelástico debería poder ser representado por una combinación de amortiguadores y resortes situados apropiadamente en serie y/o en paralelo (Ferry, 1980). Las combinaciones más simples comúnmente utilizadas son las de un resorte y un amortiguador en serie

(modelo de *Maxwell*) o en paralelo (modelo de *Kelvin-Voigt*) como los representados en la Figura 1.2-8. En general, el modelo de *Maxwell* se utiliza para describir el comportamiento de los líquidos viscoelásticos, mientras que el modelo de *Kelvin-Voigt* se ajusta mejor a sólidos viscoelásticos.

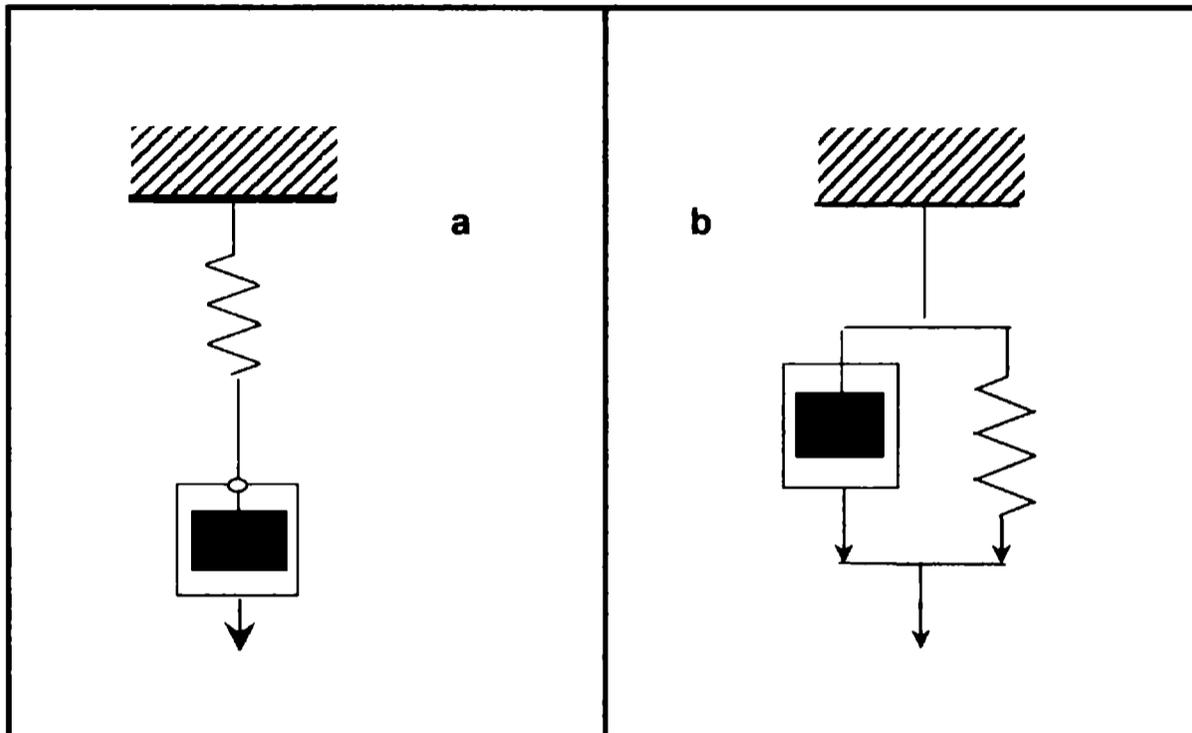


Figura 1.2-8. Modelos mecánicos de (a) Maxwell y (b) Kelvin-Voigt.

Para el modelo de *Maxwell*, la deformación total será la suma de las deformaciones de los elementos resorte y amortiguador colocados en serie. Si esto se expresa de modo diferencial se obtiene para la velocidad de deformación la expresión:

$$\frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma} = \frac{1}{G} \frac{d\sigma}{dt} + \frac{\sigma}{\eta} \quad \text{Ec. 1.2-30}$$

Si se aplica esta ecuación a los diferentes ensayos de viscoelasticidad descritos, y se define como tiempo de relajación la variable $\lambda = \eta/G$, que tiene unidades de tiempo, e indica el tiempo que tarda un material en adaptarse al flujo, se obtiene:

$$J(t) = \frac{1}{G} + \frac{t}{\eta} \quad \text{Ec. 1.2-31}$$

$$G(t) = G e^{-t/\lambda} \quad \text{Ec. 1.2-32}$$

$$G'(\omega) = \frac{G(\omega\lambda)^2}{1+(\omega\lambda)^2} \quad \text{Ec. 1.2-33}$$

$$G''(\omega) = \frac{G(\omega\lambda)}{1+(\omega\lambda)^2} \quad \text{Ec. 1.2-34}$$

Por tanto, para describir el comportamiento viscoelástico de un fluido de *Maxwell*, basta conocer dos parámetros, correspondientes a elementos mecánicos utilizados, esto es, la constante del resorte G y la viscosidad del amortiguador η , o bien G y el tiempo de relajación λ . Es importante destacar que las curvas G' y G'' se hacen iguales cuando la frecuencia de ensayo tiene el mismo valor que la inversa del tiempo de relajación (Ec. 1.2-33 y Ec. 1.2-34). Si se extraen logaritmos de estas ecuaciones, se observa que a frecuencias bajas la pendiente de $\log G'$ vs. $\log \omega$ es igual a 2, y la de $\log G''$ vs. $\log \omega$ es 1. A frecuencias menores de $1/\lambda$, G' es menor que G'' , y se hacen iguales cuando $\omega = 1/\lambda$. Por consiguiente, en un fluido de *Maxwell* la inversa de la frecuencia de cruce de estas dos funciones indica el tiempo de relajación.

En el caso del modelo de *Kelvin-Voigt*, en el que el resorte y el amortiguador están situados en paralelo, la deformación total es igual a la deformación de cada elemento individual, mientras que el esfuerzo total es la suma de cada uno de los dos esfuerzos. La ecuación resultante es:

$$\sigma = G\gamma + \eta\dot{\gamma} \quad \text{Ec. 1.2-35}$$

De este modo, las funciones obtenidas en los diferentes ensayos siguen las ecuaciones:

$$J(t) = \frac{1}{G} \left(1 - e^{-t/\lambda} \right) \quad \text{Ec. 1.2-36}$$

$$G(t) = G \quad \text{Ec. 1.2-37}$$

$$G'(\omega) = G \quad \text{Ec. 1.2-38}$$

$$G''(\omega) = G\omega\lambda = \omega \quad \text{Ec. 1.2-39}$$

Al igual que para *Maxwell*, basta conocer dos parámetros, normalmente G y η o G y λ , para tener caracterizada la viscoelasticidad lineal de un fluido de *Kelvin-Voigt*.

Los modelos sencillos de dos elementos no siempre describen las funciones obtenidas experimentalmente. En general deben utilizarse modelos más complejos, resultantes de la combinación de varios resortes y amortiguadores en serie y/o paralelo. Es bastante usual utilizar varios elementos de *Maxwell* conectados en paralelo o de *Kelvin-Voigt* conectados en serie. De aquí surgen los modelos generalizados que se muestran en la Figura 1.2-9.

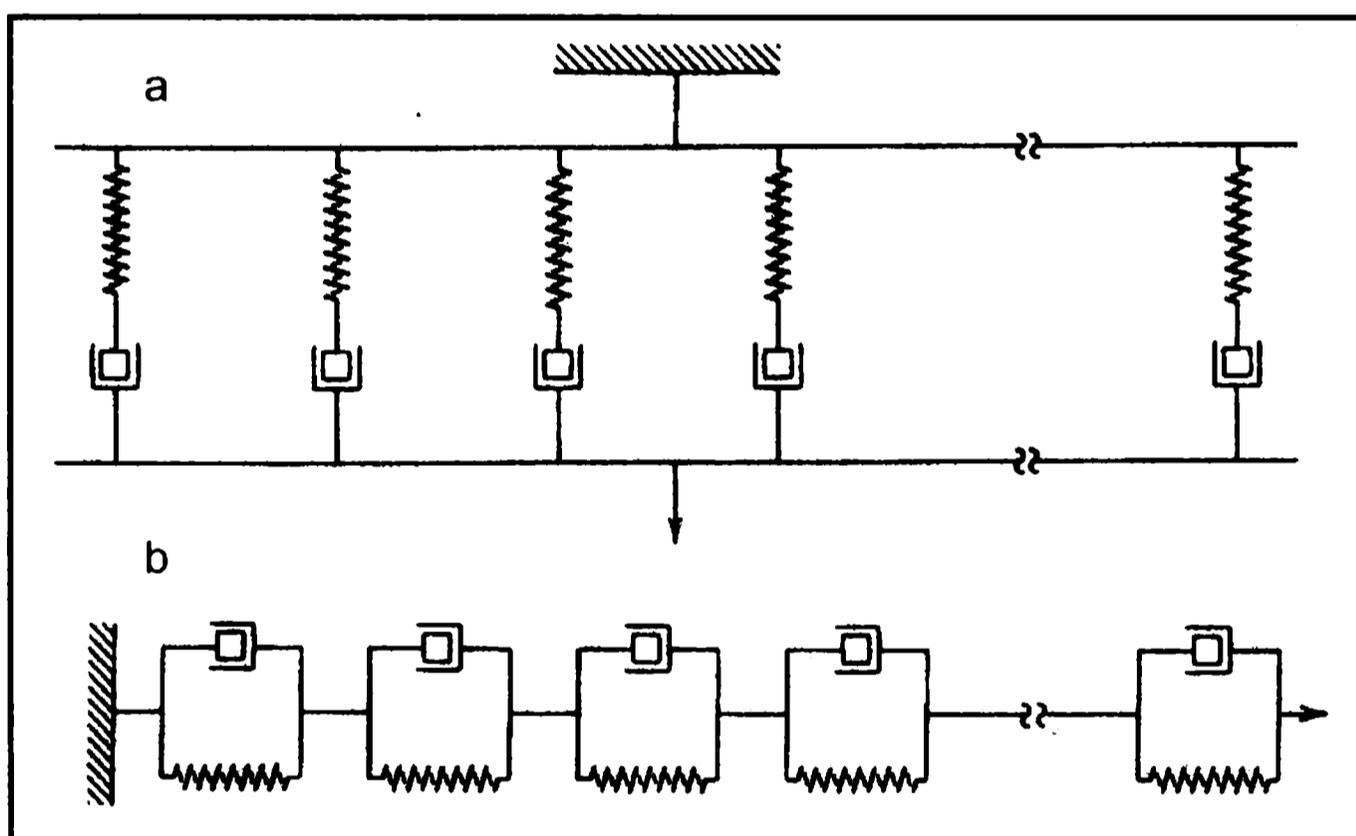


Figura 1.2-9. Modelos de Maxwell generalizado (a) y Kelvin-Voigt generalizado (b).

El modelo de *Maxwell* generalizado es ampliamente utilizado para describir el comportamiento de líquidos viscoelásticos. Consiste en un número n de elementos de *Maxwell* conectados en paralelo. A cada resorte individual se le asigna una constante G_i equivalente a su módulo elástico, y cada amortiguador presenta una resistencia debida a la fricción equiparable a su contribución a la viscosidad, η_i . El cociente η_i / G_i es el tiempo de relajación individual, λ_i . La respuesta global del sistema será la resultante de la contribución de cada uno de los elementos individuales, (Ferry, 1980; Mackley y col., 1994).

Para caracterizar la viscoelasticidad de un material cuyo comportamiento siga el de un modelo de *Maxwell* o de Kelvin generalizado, deben conocerse las constantes

G_i, λ_i de todos los elementos simples. El conjunto de pares de valores (G_i, λ_i) se conoce como distribución de tiempos de relajación. El conjunto de pares (J_i, λ_i) es la distribución de tiempos de retardación (Ferry, 1980).

1.3 ESQUEMA GENERAL DE LA TESIS

El presente trabajo de tesis se encuentra dividido en dos grandes áreas de aplicación de los hidrocoloides: productos panificados libres de gluten y emulsiones aceite-en-agua de bajo contenido lipídico.

En la **Sección A**, se realiza un estudio sobre la utilización de hidrocoloides en la formulación de masas no fermentadas aptas para celíacos, empleadas en la producción de tartas y empanadas. En el **Capítulo A.1** se hace un análisis específico de la problemática de la enfermedad celíaca y la dificultad que acarrea la formulación de productos panificados libres de gluten. El **Capítulo A.2** muestra los objetivos particulares de esta sección. En el **Capítulo A.3** se estudia el efecto de la composición, esto es, humedad, proteínas y polisacáridos, sobre las características texturales y reológicas de masas no leudadas. Se realiza un análisis multivariable mediante la Función Objetivo para determinar la composición óptima del producto basado en atributos de textura. El **Capítulo A.4** muestra el estudio realizado sobre la naturaleza del hidrocoloide o mezcla de hidrocoloides empleados en la formulación de las masas, como así también se realiza un análisis sobre el tipo de fase lipídica empleada y el efecto que produce el contenido de sólidos de la misma, sobre las características reológicas del producto. Como etapa final de esta sección, en el **Capítulo A.5** se aborda un análisis sobre el efecto del tiempo de almacenamiento refrigerado sobre las características viscoelásticas de las masas y el efecto del almacenamiento congelado de empanadas pre-elaboradas, sobre los atributos texturales del producto final horneado. Finalmente se muestra el análisis sensorial realizado sobre los productos desarrollados con masas libres de gluten, evaluando su aceptabilidad global por atributos y comparando complementariamente con productos libres de gluten equivalentes disponibles comercialmente.

En la **Sección B** se desarrolla un estudio sobre la aplicación de biopolímeros en la formulación de productos emulsionados aceite-en-agua, de bajo contenido lipídico. El **Capítulo B.1** muestra un breve análisis sobre las características de los sistemas emulsionados termodinámicamente inestables y una descripción del estado del arte de este tipo de dispersiones. En el **Capítulo B.2** se plantean los objetivos específicos de esta sección. En el **Capítulo B.3** se realiza un estudio sobre el desarrollo de emulsiones de bajo contenido lipídico y con el agregado de mezclas de gomas xántica y guar como agentes estabilizantes. Se estudia el efecto de la concentración de aceite y de hidrocoloide sobre la estabilidad y el tamaño de gotas de

la emulsión, como así también sobre los aspectos reológicos del sistema. Se realiza un modelado del comportamiento de flujo de las emulsiones y sus respectivas fases continuas, vinculándolas con las características microestructurales de los sistemas. El **Capítulo B.4** muestra el estudio desarrollado sobre emulsiones estabilizadas con gelatina de origen bovino, Se aborda el efecto del peso molecular de la proteína sobre la estabilidad y las características viscoelásticas de los sistemas emulsionados, determinando los correspondientes espectros continuos de relajación y evaluando parámetros estructurales. En el **Capítulo B.5** se realiza un estudio sobre la aplicación de goma gellan como alternativa en el desarrollo de emulsiones gelificadas de bajo contenido lipídico. Se realiza un estudio sobre las características reológicas de dispersiones acuosas de goma gellan y su variación con el contenido de grupos acilo del hidrocoloide. Se modela el efecto de la composición de los sistemas emulsionados a fin de determinar el espectro continuo de relajación y lograr predecir diferentes propiedades reológicas. Se muestra además la validación de las predicciones hechas por el modelo con ensayos experimentales de fluencia y recuperación.

Como capítulo final, se recopilan las conclusiones generales de la tesis sobre todos los capítulos previamente desarrollados.

2. OBJETIVO GENERAL

La Propuesta de Investigación está orientada a aportar alternativas tecnológicas para mejorar la calidad de los alimentos y la salud del consumidor, especialmente considerando el caso de dietas especiales.

El **Objetivo General** es profundizar en el estudio del efecto de los hidrocoloides sobre las características reológicas y microestructurales de diferentes alimentos: masas no fermentadas para celíacos y emulsiones alimentarias (o/w) de bajo contenido graso.

Los objetivos específicos, agrupados de acuerdo al tipo de aplicación seleccionada son:

A. Masas no fermentadas para celíacos.

- Examinar el efecto de diferentes hidrocoloides usados (goma xántica, goma guar e hidroxipropilmetilcelulosa) individualmente o combinados en distintas proporciones en las propiedades reológicas de masa no leudada, libre de gluten, así como las características texturales y organolépticas del producto horneado.
- Determinar mediante métodos multivariable la formulación óptima de acuerdo a las características texturales.
- Analizar el efecto del contenido de sólidos en la fase lipídica, sobre las propiedades reológicas de las masas y su incidencia sobre la microestructura.
- Estudiar y modelar el comportamiento viscoelástico de los sistemas analizados, evaluando el efecto del almacenamiento refrigerado de los discos de masas.
- Estudiar el efecto de la congelación y del almacenamiento congelado en las propiedades reológicas de este tipo de masa.

B. Emulsiones alimentarias de bajo contenido graso.

- Vincular las propiedades reológicas de la fase continua formulada con distintos hidrocoloides (mezclas de gomas xántica y guar, gelatina, goma gellan), con la estabilidad de las emulsiones aceite-en-agua de bajo contenido lipídico (en el rango 10%-30%).
- Estudiar el efecto de la concentración de fase dispersa en las emulsiones sobre el comportamiento viscoelástico de las mismas.

- Modelar el efecto combinado de las concentraciones de goma xántica, goma guar y fase dispersa sobre la viscosidad de los sistemas emulsionados, para obtener parámetros estructurales característicos del sistema.
- Analizar el efecto del tiempo de almacenamiento en emulsiones estabilizadas con gelatina de origen bovino, como así también la influencia del peso molecular del hidrocoloide sobre las características viscoelásticas.
- Determinar la influencia del grado de acilación de goma gellan sobre la reología de dispersiones de hidrocoloides y su incidencia sobre las características viscoelásticas de emulsiones gelificadas.
- Estudiar y modelar el comportamiento observado por las emulsiones analizadas, para interpretar la microestructura de los sistemas modelo y la influencia de los hidrocoloides en la misma.
- Determinar el espectro de relajación de diferentes sistemas estudiados y su aplicación en la predicción de propiedades reológicas.

SECCIÓN A

*APLICACIÓN DE HIDROCOLOIDES
EN EL DESARROLLO DE MASAS NO
FERMENTADAS LIBRES DE GLUTEN*



A.1 Introducción sección A

A.1.1 Celiaquía

La enfermedad celíaca o *celiaquía* es un desorden inflamatorio crónico caracterizado por un daño en la mucosa del intestino delgado que conduce a enfermedades gastrointestinales, mala absorción de nutrientes y un amplio rango de manifestaciones clínicas. Existe un consenso generalizado en que la enfermedad celíaca es causada por una respuesta inmunológica (linfocito T) en niños y adultos predispuestos genéticamente, y es desencadenada por la ingesta de la fracción proteica (prolaminas) de determinados cereales (Murray, 1999). Estos cereales son los conocidos como TACC: trigo, avena, cebada y centeno. Las prolaminas reciben distintos nombres de acuerdo al cereal de procedencia:

| | | |
|---------|---|-----------|
| Trigo | = | gliadina. |
| Avena | = | avenina. |
| Cebada | = | hordeína. |
| Centeno | = | secalina. |

El gluten de los cereales mencionados es la forma más conocida de presentación de las prolaminas tóxicas para los celíacos.

Pese a ciertas dudas surgidas recientemente, algunos autores han encontrado evidencias que un alto porcentaje de quienes padecen celiaquía, no resisten el consumo de avena y es por esto que se incluye en la lista de cereales riesgosos (Arentz-Hansen y col., 2004; Lundin y col., 2003).

La reacción que produce la ingesta de gluten por parte de los que padecen dicha enfermedad es la inflamación del intestino delgado produciendo una mala absorción de varios nutrientes importantes como hierro, ácido fólico, calcio y vitaminas liposolubles (Feighery, 1999; Kelly y col., 1999). Murray (1999) concluyó que la enfermedad celíaca es el resultado final de tres procesos: predisposición genética, factores ambientales e inflamación de tipo inmunológica; lo que termina produciendo daños en la mucosa intestinal (Figura A.1-1).

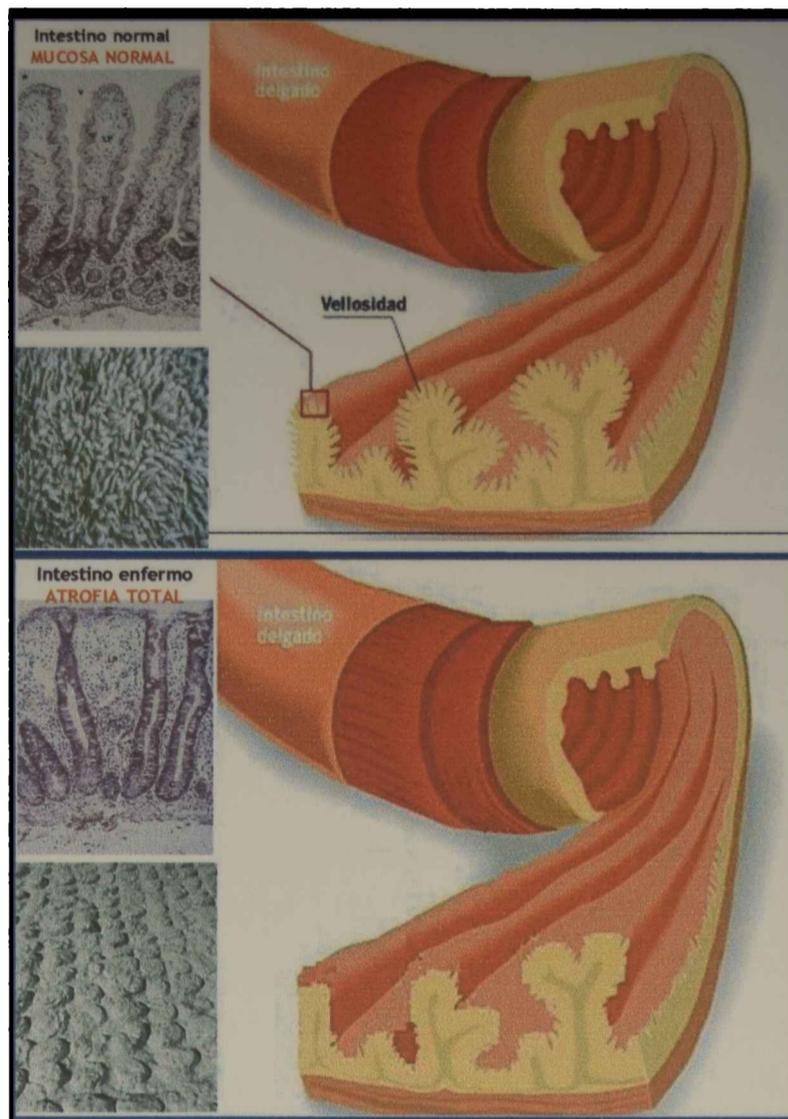


Figura A.1-1. Representación esquemática de los daños producidos por la celiaquía en el intestino delgado. (a) Intestino sano (b) Intestino enfermo.

Cuando una persona que padece celiaquía ingiere alimentos que contienen gluten, su sistema inmune responde dañando las vellosidades del intestino conocidas como “villi”. La función de estas vellosidades es la de incrementar la superficie de absorción del intestino hasta 600 veces proveyendo una extraordinaria capacidad absorptiva para los nutrientes esenciales. Ante la pérdida de estas vellosidades, la persona comienza a presentar síntomas de mala nutrición, sin importar la cantidad o calidad de alimento que ingiera (Arendt y col., 2002; Kagnoff, 2007).

A.1.1.1. Manifestación clínica

La manifestación clínica de la enfermedad celíaca varía marcadamente con la edad del paciente, la duración y extensión de la enfermedad, y la presencia de otras patologías extraintestinales. Dependiendo de las características en el momento de ocurrencia, junto con las anomalías histológicas e inmunológicas que presente el paciente, la celiaquía puede manifestarse de tres formas diferentes: Típica (clásica), atípica o silente (Dewar y col., 2004; Fasano y Catassi, 2001).

La forma clásica de la enfermedad es aquella en la que los primeros síntomas se manifiestan entre los 6 y 18 meses de edad. Esta forma está típicamente caracterizada por diarreas crónicas, trastornos de crecimiento, anorexia, distensión abdominal y falta de masa muscular.

Tabla A.1-1. Síntomas típicos y atípicos manifestados en pacientes con celiaquía.

| Síntomas típicos | Síntomas atípicos | Condiciones asociadas |
|-------------------------|--|----------------------------------|
| Diarrea crónica | <i>Asociados a la mala absorción</i> | <i>Dependientes del gluten</i> |
| Retrasos de crecimiento | Baja estatura | Diabetes |
| Distensión abdominal | Osteopenia | Tiroiditis autoinmune |
| | Anemia sideropénica | Hepatitis autoinmune |
| | Abortos recurrentes | Gastritis atrófica |
| | Dolor abdominal recurrente | Enfermedad de Addison |
| | <i>Independientes de la mala absorción</i> | <i>Independientes del gluten</i> |
| | Dermatitis | Síndrome de Down |
| | Pérdida del esmalte dental | Síndrome de Williams |
| | Ataxia | Defectos congénitos de corazón |
| | Alopecia | |
| | Pericarditis recurrentes | |
| | Psoriasis | |
| | Vasculitis | |
| | Hipo/hipertiroidismo | |
| | Atrofia muscular | |
| | Epilepsia | |

Alrededor de 1988, Mäiki y col. reportaron cambios en la edad en que se manifestaba la celiaquía en Finlandia, pudiendo aparecer en adultos de edades muy dispares. Junto con esto, se vio que esta forma atípica de la enfermedad presentaba una mayor diversidad de síntomas asociados, algunos de los cuales se mencionan en la Tabla A.1-1 (Fasano y Catassi, 2001).

Existe una tercera forma de manifestación de la enfermedad caracterizada por la presencia de cambios histológicos en la primera parte del intestino, que se producen en individuos que no mostraron síntomas aparentes. Es por esto que se suele referir a esta forma de celiaquía como silente o “asintomática” (Ferguson y col., 1993).

A.1.1.2. Modelo del “iceberg” de la enfermedad celíaca

Recientes estudios epidemiológicos han mostrado que la prevalencia de la enfermedad celíaca ha sido significativamente subestimada (Ascher y Kristiansson, 1997; Fasano y Catassi, 2001; Hovdenak y col., 1999; Johnson y col., 1997). Desde el primer informe de enfermedad celíaca en el siglo XX, hasta el descubrimiento del método serológico de evaluación de antigliadina es mucho lo que se ha aprendido. Uno de los estudios epidemiológicos más antiguos sobre celiacía fue realizado en 1950 donde la incidencia de la enfermedad en Inglaterra y Gales se determinó como 1/8000 y 1/4000 para Escocia. Sin embargo el diagnóstico estaba basado enteramente en la detección de los síntomas típicos y se confirmaban a través de estudios complejos y no específicos. Alrededor de 1960 se empezaron a aplicar tratamientos más específicos y, conjuntamente con la biopsia peroral, el número de casos diagnosticados se vio incrementado.

Aunque en la actualidad la biopsia permanece como la única forma de dar un diagnóstico definitivo sobre la presencia de la enfermedad, el hecho de una mayor conciencia y conocimiento de la enfermedad, junto con técnicas de diagnóstico mejoradas (estudios serológicos para detección del anticuerpo antigliadina), han conducido a un incremento sustancial en la tasa de diagnósticos.

El modelo del iceberg se usa generalmente para explicar la prevalencia de la enfermedad celíaca (Picarelli y col., 1996) y la prevalencia puede ser considerada como la totalidad del iceberg (Figura A.1-2). Los casos que han sido adecuadamente diagnosticados aparecen en la sección visible del iceberg. Por debajo del nivel de agua aparece el grupo de casos silentes, los cuales no han sido aun identificados y presentan daño en la mucosa intestinal. Ellos todavía permanecen sin diagnóstico, ya que no presentan síntomas, o los mismos no han sido relacionados con la enfermedad celíaca. Al fondo del iceberg aparece un tercer grupo con celiacía latente. Estos presentan una mucosa normal cuando ingieren gluten, pero tienen la potencialidad de manifestar la enfermedad.

A.1.1.3. Tratamiento clínico de la enfermedad celíaca (EC)

En la actualidad, el único tratamiento efectivo para la EC es la exclusión total de la ingesta de gluten. El cumplimiento estricto de la dieta conduce, en la mayoría de los casos, a una rápida y completa recuperación de la histología normal de la mucosa intestinal, remisión de los síntomas y negativización de los marcadores serológicos en pocos meses. El control del seguimiento de la dieta se realiza comúnmente mediante

la determinación de anticuerpos anti-gliadinas en sangre periférica, ya que constituyen un buen indicador de las transgresiones (Chirido y col., 2005).

El cumplimiento de la dieta es muchas veces no satisfactorio debido a la ingesta inadvertida de gluten por falta de información precisa de los pacientes sobre los productos aptos y errores en la identificación de los productos comerciales. Sin embargo, el mayor problema lo constituyen las transgresiones voluntarias, principalmente debido al desconocimiento de los pacientes sobre sus consecuencias, a un espectro limitado de productos libres de gluten apetecibles que hacen poco atractiva la dieta a largo plazo y al costo elevado de los productos. También se ha observado que el cumplimiento es más bajo en los pacientes adultos con escasa o nula sintomatología al momento de su diagnóstico (Case, 2005). Los alimentos que no están permitidos en una dieta libre de gluten son: (i) cualquier tipo de pan, cereal u otro tipo de comida hecha a base de harinas de trigo, cebada, centeno, triticale, dinkel, kamut y avena o derivados hechos con esos granos; (ii) alimentos procesados que contengan trigo y derivados del gluten como espesantes o carga, por ejemplo, salchichas, aderezos para ensaladas, sopas enlatadas o deshidratadas, quesos procesados, salsas de crema y (iii) medicamentos que usen gluten como excipiente en comprimidos.

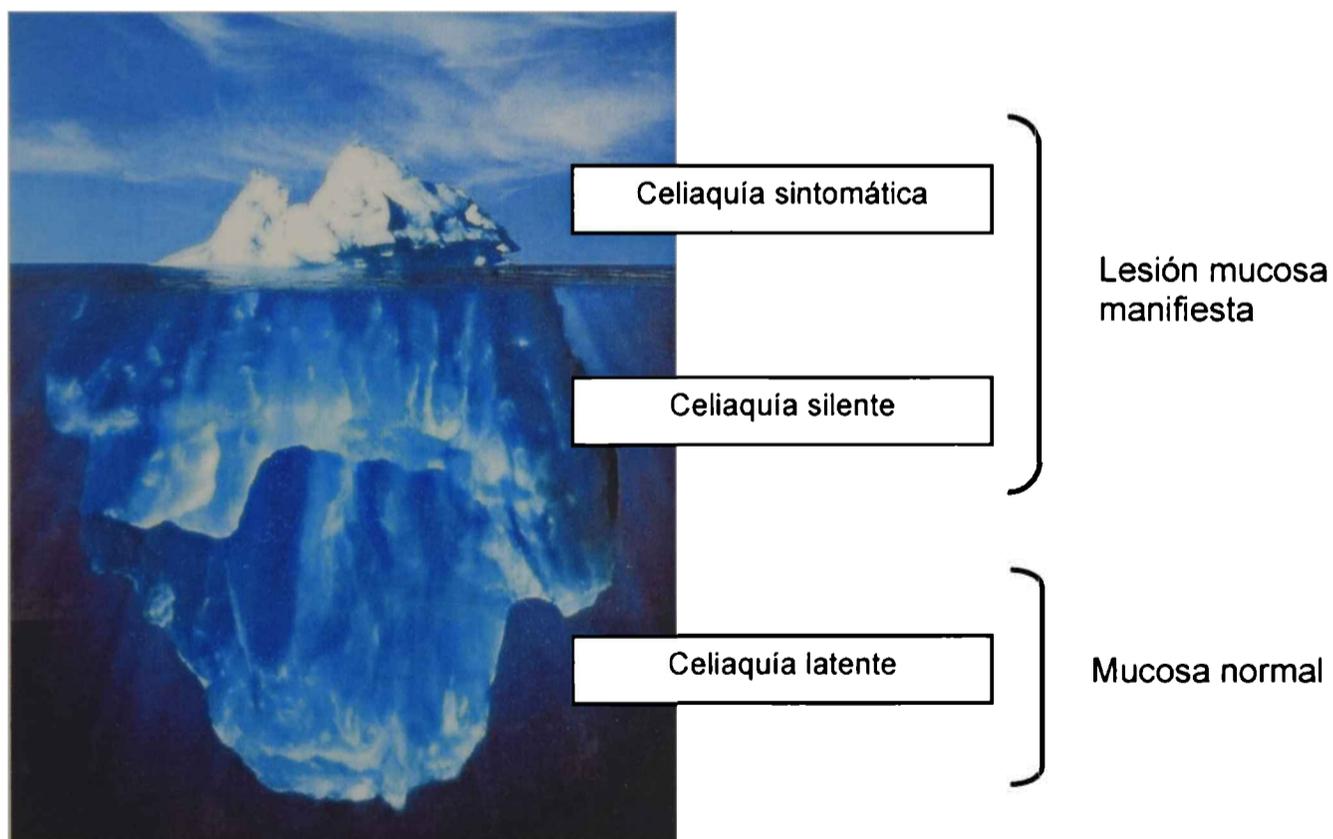


Figura A.1-2. Representación esquemática del modelo del "iceberg" de la enfermedad celíaca.

A.1.2 El rol del gluten en los productos de panadería

El gluten es el material proteico que puede ser separado de la harina cuando el almidón y otros componentes menores son removidos mediante el lavado con agua. Es una red elástica y extensible que se forma por acción mecánica a partir de las gliadinas y gluteninas, en presencia de agua, por acción mecánica. Ese gluten resultante tiene alrededor de 65% de agua. En base seca, el gluten contiene entre un 75-86% proteína, el resto corresponde a carbohidratos y lípidos que son retenidos fuertemente dentro de la matriz de gluten (Bloksma y Bushuk, 1998).

Desde el punto de vista de su composición el gluten está constituido principalmente por:

- *Glutenina*, proteína que le proporciona la fuerza o tenacidad de la masa. Dentro de éstas se encuentran las gluteninas de alto peso molecular (HMW) y las de bajo peso molecular (LMW).

- *Gliadina*, proteína responsable de la extensibilidad de la masa.

Estudios realizados en el año de 1960, a partir de lograr un 95% de solubilización de la totalidad de las proteínas de gluten, demostraron que las gliadinas son proteínas principalmente monoméricas, con masas desde 30.000 Da hasta 50.000 Da mientras que las gluteninas, forman polímeros con masas estimadas mayores a 10^6 Da. (Shewry y col, 2001).

Uno de los modelos estructurales propuestos para el gluten (Shewry y col, 2001) asigna a las gluteninas HMW el rol de "columna vertebral" de la red proteica, con ramificaciones de HMW o LMW. Esta estructura está estabilizada en gran medida por los puentes disulfuro (intra e intercatenarios) en los extremos de cada subunidad. Estos puentes son los que le otorgan a la masa la tenacidad o elasticidad.

Las gliadinas, interactúan con esta estructura de gluteninas mediante uniones no covalentes, como puede observarse en la Figura A.1-3. En consecuencia, el gluten exhibe cohesividad, propiedades elásticas y viscosas que combinan los extremos de los dos componentes (Anon., 1982). La matriz de gluten resulta determinante en las propiedades más importantes de las masas (extensibilidad, resistencia al estiramiento, tolerancia al mezclado, capacidad para retener gas), la cual encierra al almidón y los fragmentos de fibras.

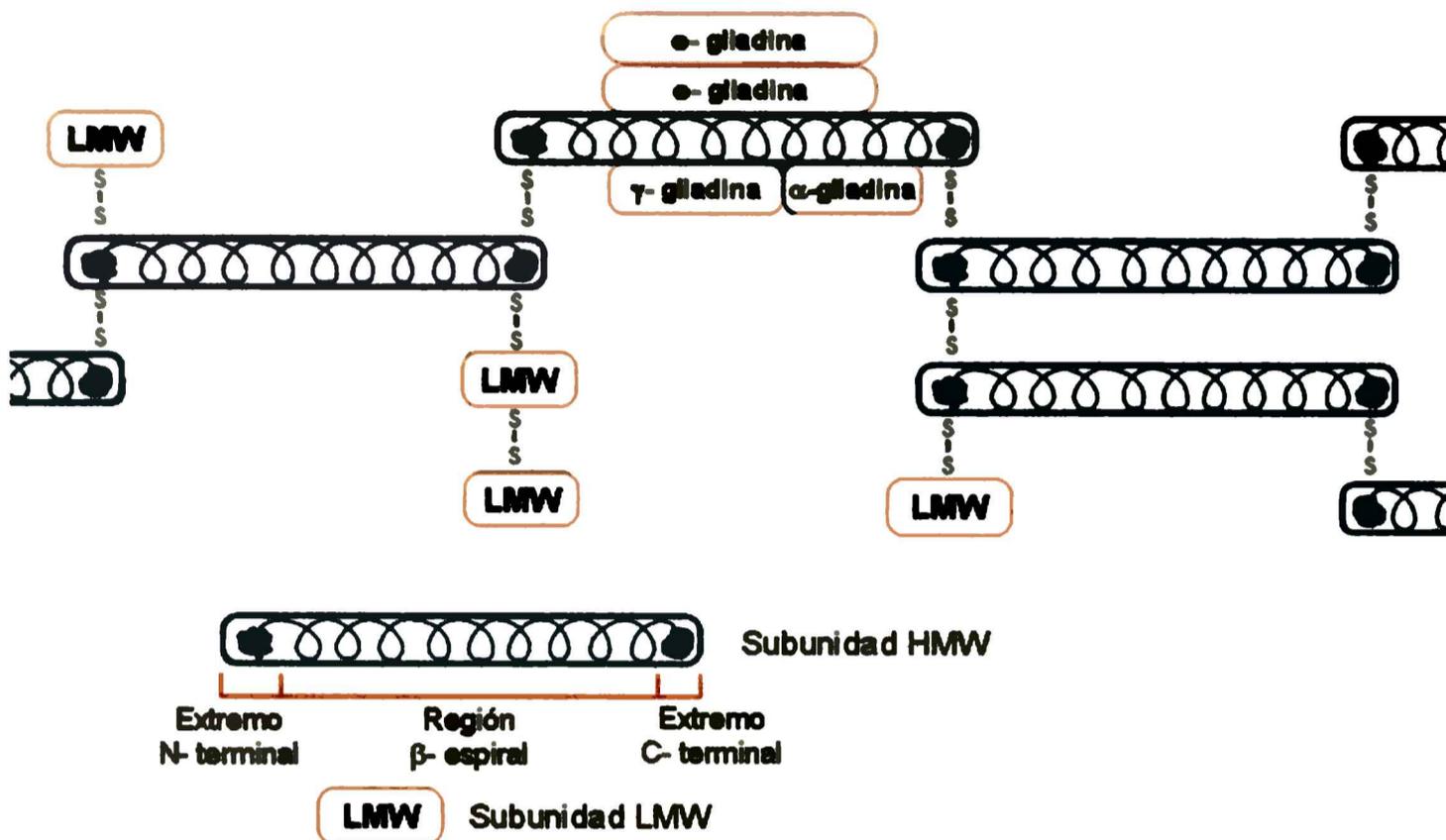


Figura A.1-3. Modelo estructural para el gluten de trigo.

Basándose en los resultados de electroforesis de pH ácido, las gliadinas, se clasifican a su vez en 4 sub-grupos: α-gliadinas (las más "rápidas" en correr en el gel), β-gliadinas, γ-gliadinas y ω-gliadinas (las más "lentas"). Se sabe que las α- y β-gliadinas están muy íntimamente relacionadas, en lo que respecta a secuencia de aminoácidos y frecuentemente se engloba a ambos grupos dentro de las α-gliadinas.

El gluten es a menudo denominado como una proteína "estructural" para la elaboración de panificados. Las propiedades del gluten se manifiestan cuando la harina se encuentra hidratada, produciendo masas extensibles, con una buena capacidad de retención de gas y una buena estructura de la miga en los panes horneados. La ausencia de gluten a menudo genera una mezcla líquida en lugar de una masa (pre-baking), lo que se traduce en un alimento con una estructura granulosa, sin color y otros defectos de calidad luego del horneado.

Rotsch (1954) concluyó a partir de sus estudios, que una masa de pan libre de gluten sólo puede retener gas si otro gel remplazaba a la matriz ausente. La elaboración de pastas libres de gluten resulta difícil, ya que el gluten contribuye a la fuerte red de proteínas que evita la disolución de la pasta durante la cocción (Gallagher y col., 2004).

La diversidad de materias primas libres de gluten que pueden ser usadas, implican una modificación en los procesos tradicionales de producción. Este problema no se encuentra en general en el desarrollo de galletitas aptas para celíacos, ya que el desarrollo del gluten es mínimo y en ocasiones indeseable; la textura de las galletitas

horneadas se atribuye principalmente a la gelatinización del almidón y al subenfriamiento del azúcar, en lugar de a una estructura almidón/proteína (Gallagher y col., 2002).

Los productos aptos para celíacos se encuentran, por lo general, formulados a partir de la combinación de diferentes almidones y proteínas que puedan “imitar” las propiedades de una red cuando el producto se encuentra cocido. Sin embargo, la formulación requiere además el agregado de sustancias que permitan lograr la cohesión de los distintos componentes durante su procesamiento y manipulación. Es por esto que la combinación de almidones, proteínas e hidrocoloides suele ser la base inevitablemente necesaria para el desarrollo de un producto panificado libre de gluten con adecuadas propiedades organolépticas.

A.1.3 El almidón

El almidón es el polisacárido de reserva de las plantas, se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y es de variada y extensa utilización en la industria alimentaria (Sanderson, 1981). El almidón en los tejidos vegetales se encuentra bajo la forma de granos intracelulares compactos; con aspecto y estructura característicos según la especie vegetal de la que provienen (Whistler y BeMiller, 1984). Todos los gránulos presentan una hendidura denominada hilum, que constituye el centro de nucleación alrededor del cual se desarrolla el gránulo. Frente a la luz polarizada los gránulos son birrefringentes, pudiendo observarse una cruz oscura con centro en el hilum. Ello es indicativo de su estructura esferocristalina, en la que la mayor parte de las moléculas de almidón se arreglan en dirección radial desde el hilum hacia la periferia (BeMiller y Whistler, 1996).

El almidón está formado por dos polímeros: amilosa y amilopectina que son prácticamente incompatibles entre sí (Tolstoguzov, 2003). La amilosa es un polímero esencialmente lineal constituido por unidades de glucosa unidas por enlaces α -D-1,4 glucosídicos (Figura A.1-4a); su peso molecular está comprendido entre 2.2×10^5 (en maíz) y 4.9×10^5 (en papa), (Young, 1984). La amilosa puede adoptar una forma extendida (con un radio hidrodinámico entre 7 y 22 nm), pero generalmente tiende a presentarse como una hélice simple levógira bastante rígida o formar zonas de unión tipo doble hélices levógiras paralelas que son aún más rígidas (Figura A.1-4b).

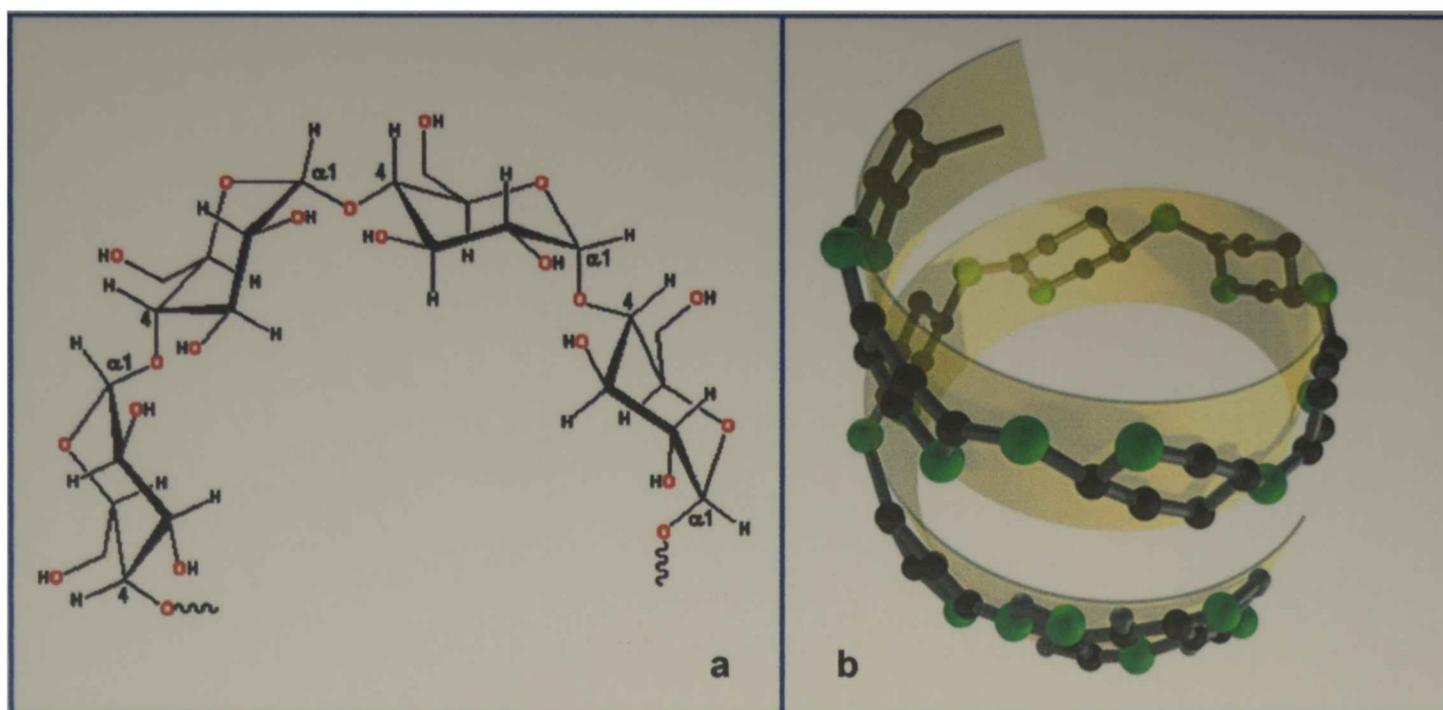


Figura A.1-4. (a) Estructura de la amilasa; (b) disposición espacial de las cadenas de amilasa.

La amilopectina es un polisacárido ramificado constituido por el mismo esqueleto que la amilosa pero que posee ramificaciones de glucosas que se unen mediante uniones α -D1,6 glucosídicos resultando una molécula más compacta. El peso molecular varía desde 1×10^7 a 4×10^9 (Young, 1984) y contiene entre 20 y 30 residuos de glucosa entre puntos de ramificación. (Figura A.1-5).

Cada molécula de amilopectina posee más de 2 millones de residuos de glucosa que forman una estructura compacta con un radio hidrodinámico de entre 21 y 75 nm. En el gránulo de almidón, las moléculas de amilopectina se encuentran orientadas radialmente y a medida que el radio aumenta también aumenta el número de ramificaciones requeridas para rellenar el espacio, con la consecuente formación de regiones concéntricas de zonas amorfas y zonas cristalinas que se alternan.

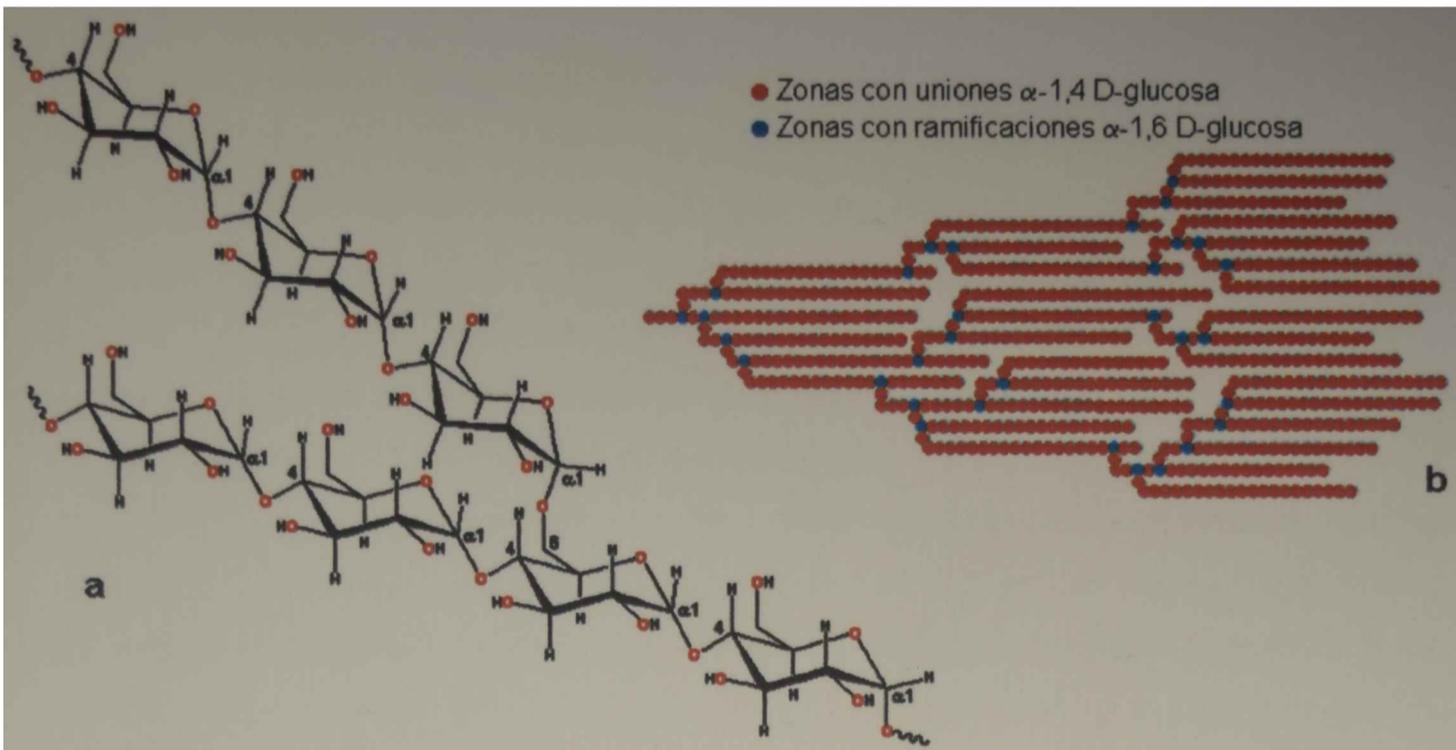


Figura A.1-5. (a) Estructura de la amilopectina; (b) Esquema de ramificaciones de la amilopectina.

En la Figura A.1-6 puede verse como se organizan las regiones (o dominios) amorfas y cristalinas dentro del gránulo de almidón. Dichas regiones conducen a la formación de capas concéntricas que contribuyen a la observación de anillos de crecimiento que se advierten en el microscopio óptico. Las moléculas de amilopectina se ordenan de manera transversal, disponiendo las ramificaciones (cadena A) en las regiones cristalinas (Figura A.1-6). El carácter cristalino del gránulo de almidón está dado por las moléculas de amilopectina. Existe cierta discusión sobre la forma de la estructura cristalina pero parece más probable que consista de hélices levóginas paralelas que poseen seis residuos por vuelta.

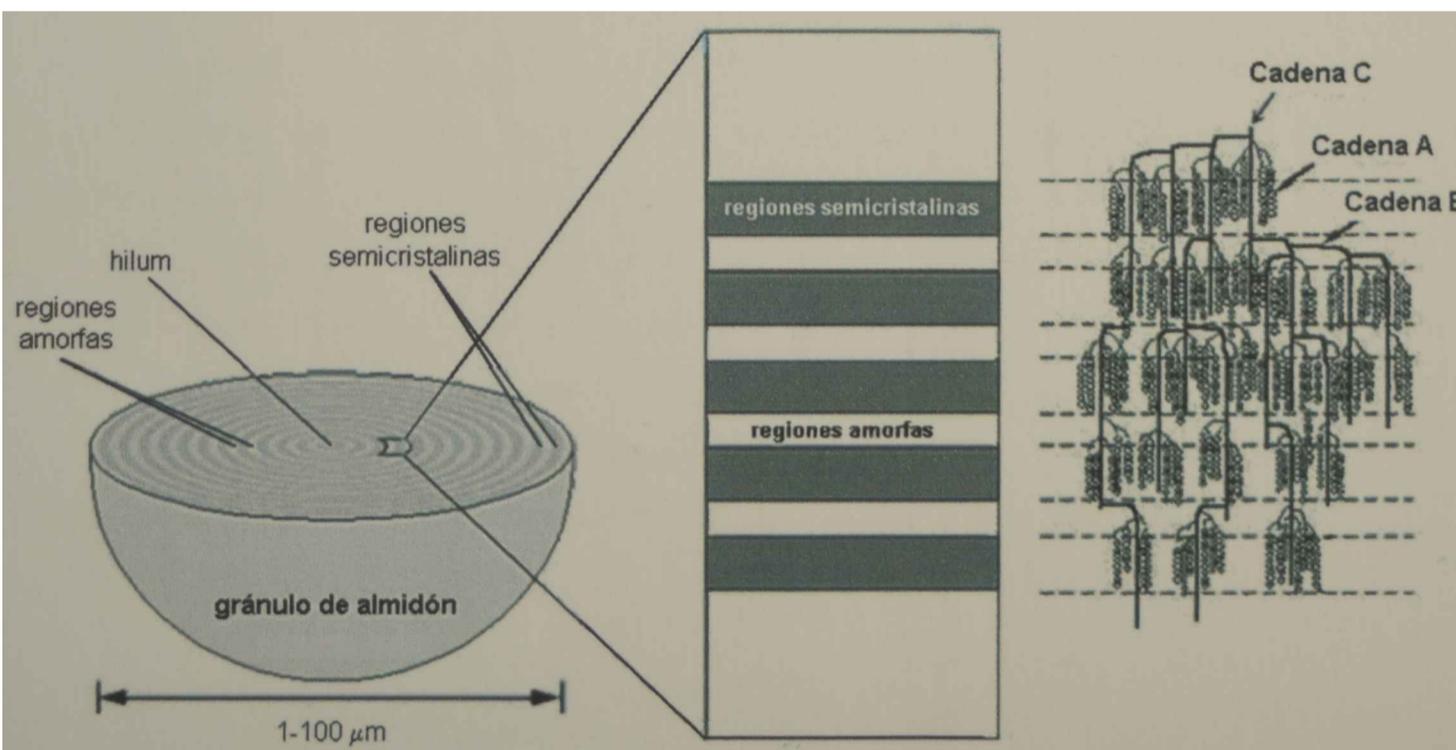


Figura A.1-6. Vista esquemática de la estructura interna de un gránulo de almidón.

Cuando una suspensión acuosa de almidón se calienta por encima de una determinada temperatura, llamada temperatura de gelatinización, se produce el hinchamiento irreversible de los gránulos de almidón. Este hinchamiento va acompañado por una pérdida del orden, de cristalinidad y por la solubilización de amilosa. Al enfriar el fluido se convierte en una pasta viscoelástica turbia y a concentraciones de almidón suficientemente altas (mayores que 6% p/p) en un gel viscoelástico opaco. Cuando se enfría dicha pasta, se reduce la energía cinética y algunas moléculas de amilosa se asocian, alineándose en dobles hélices izquierdas paralelas, rígidas, que constituyen las zonas de unión ("junction zones") y formando una red tridimensional que retiene agua adicional. Este proceso se conoce como gelificación. La pérdida de agua libre y el flujo restringido del agua debido a que los gránulos hinchados ocupan más espacio contribuye al aumento de la viscosidad de las dispersiones. Este proceso es irreversible.

Debido a que el almidón gelatinizado produce materiales solubles en la matriz de la fase continua y gránulos hinchados que actúan como un relleno disperso, las propiedades reológicas de los sistemas que contienen almidón ("composites") dependen básicamente de las propiedades viscoelásticas y de las fracciones volumétricas de las fases continua y dispersa, y de las interacciones moleculares entre estas dos fases (Eliasson, 1986; Lai y col., 1999).

A.1.4 Las proteínas de suero

Se denominan proteínas de suero a aquellos compuestos nitrogenados que permanecen solubles en el suero de leche luego de haberse producido la precipitación isoeléctrica de las caseínas a pH 4.6 (de Wit, 1981). Estas proteínas tienen estructura y propiedades diferentes a las caseínas, ya que no están asociadas a las micelas y además son susceptibles a la desnaturalización-agregación por calor.

Las principales proteínas de suero son la β -lactoglobulina, la α -lactoalbúmina, las inmunoglobulinas y la albúmina sérica bovina. También se encuentran presentes algunas fracciones proteicas menores tales como la proteasa peptona, la lactoferrina, el caseinomacropéptido y varias enzimas. En la Tabla A.1-2 se detallan algunas de las propiedades fisicoquímicas de las principales proteínas de suero.

Tabla A.1-2. Propiedades fisicoquímicas de las principales proteínas presentes en el suero de leche (Bryant y McClements, 1998).

| Proteína | Porcentaje (%) | Punto isoeléctrico | Peso molecular (kDa) | Temperatura de desnaturalización (°C) |
|-------------------------|----------------|--------------------|----------------------|---------------------------------------|
| β -lactoglobulina | 60.0 | 5.2 | 18.4 | 78 |
| α -lactoalbúmina | 22.0 | 4.8 - 5.1 | 14.2 | 62 |
| Inmunoglobulinas | 9.1 | 5.5 - 6.8 | 15.0 - 96.0 | 72 |
| Albumina sérica bovina | 5.5 | 4.8 - 5.1 | 60.0 | 64 |

La β -lactoglobulina es la proteína que se encuentra en mayor proporción, siendo aproximadamente el 60% del total de las proteínas de suero. A temperatura ambiente y a pH neutro existe como dímero pero, a altas temperaturas o a valores extremos de pH, se disocia en monómeros. Contiene 162 residuos de aminoácidos, siendo 5 de ellos residuos de cisteína que consisten en dos uniones disulfuro intramoleculares uniendo los residuos 66-160 y 106-119 o 121 y un grupo SH no reactivo en el residuo 121 o 119, respectivamente. Los residuos no reactivos pueden facilitar la polimerización de las proteínas para formar enlaces disulfuro covalentes intermoleculares durante los tratamientos térmicos a altas temperaturas (de la Fuente y col., 2002)

La α -lactoalbúmina es la segunda proteína que se encuentra en mayor proporción y representa cerca del 20% del total de las proteínas de suero. Contiene 123 residuos de aminoácidos con 4 uniones disulfuro intramoleculares uniendo los residuos 6-120, 28-111, 1-77 y 73-91. Aunque es susceptible a la desnaturalización por tratamiento térmico, el alto grado de renaturalización que posee es el responsable de su aparente resistencia al calor (de la Fuente y col., 2002).

Las inmunoglobulinas representan aproximadamente el 9% del total de las proteínas de suero. Son un grupo complejo de proteínas que incluyen la IgG1, IgG2, IgA e IgM y que cumplen una importante función en la transmisión de la inmunidad a través del calostro desde la madre a las crías recién nacidas (Kilara, 2004).

La albúmina sérica bovina constituye aproximadamente el 6% del total de las proteínas de suero. Esta proteína es idéntica a la albúmina sérica aislada de la sangre humana (Kilara, 2004). Contiene 583 residuos de aminoácidos con 17 uniones disulfuro intramoleculares y un solo grupo sulfidilo libre en el residuo 34.

Las proteínas de suero se caracterizan por tener propiedades funcionales específicas, tales como gelificación, retención de agua, solubilidad, emulsificación,

espumado y espesamiento (de Wit y col., 1988, Ennis y Mulvihill, 2000). En el desarrollo de productos panificados las más importantes son la gelificación y la retención de agua.

Gelificación. Las suspensiones de proteínas de suero en estado nativo poseen la capacidad de formar geles cuando son sometidas a tratamientos térmicos por encima de los 70°C. Las condiciones del medio (concentración de proteína, pH, fuerza iónica) y la presencia de componentes no proteicos, como los agentes reductores, influyen en la capacidad de gelificación de estas proteínas.

Retención de agua. Los geles formados a partir de las suspensiones de proteínas de suero poseen una alta capacidad de retención de agua, contribuyendo significativamente a la textura de los alimentos a los cuales son adicionadas como ingrediente.

Además, las proteínas de suero se caracterizan por poseer un elevado valor nutricional, debido a que poseen altos contenidos de lisina, triptófano y aminoácidos azufrados que conforman una importante proporción de aminoácidos esenciales, es decir aquellos que no son producidos por el organismo.

Todas estas características permiten que las proteínas de suero puedan ser utilizadas como suplemento alimentario o como ingrediente en la elaboración de alimentos para reforzar sus atributos nutricionales.

Los productos en polvo a base de proteína de suero que se comercializan comúnmente son los aislados (WPI) y los concentrados (WPC). Estos productos difieren tanto en la materia prima de origen como en el proceso de elaboración y consecuentemente en su composición (de Wit y col., 1988; Huffman, 1996; Morr y Foegeding, 1990). Los WPC tienen porcentajes de proteína que varían entre 30% y 85%

A.1.5 Proteínas de huevo

Los huevos de gallina se utilizan casi exclusivamente para el consumo humano. Tanto la yema como la clara son fuentes excelentes de algunos nutrientes y poseen propiedades funcionales importantes. En promedio, un huevo presenta la composición señalada en la Tabla A.1-3.

Los ovoproductos se comercializan normalmente refrigerados, congelados o deshidratados por atomización. En este último caso el huevo es previamente pasteurizado para garantizar su inocuidad, y luego deshidratado hasta un 5% de humedad final.

Tabla A.1-3. Composición media del huevo de gallina (%).

| | % p/p | Agua | Proteínas | Lípidos | Glúcidos | Minerales |
|--------------------------|-------|------|-----------|---------|----------|-----------|
| Huevo entero | 100 | 65.5 | 12 | 11 | 0.5 | 11 |
| Huevo sin cáscara | 90 | 74 | 13 | 12 | 0.7 | 0.9 |
| Clara | 60 | 88 | 10 | 0.03 | 0.8 | 0.5 |
| Yema | 30 | 47 | 16 | 34 | 0.6 | 1.1 |
| Cáscara | 10 | 0 | 2 | 0 | 0 | 98 |

Las proteínas de huevo son ricas en aminoácidos indispensables, con una composición muy estable y además poseen un excelente valor nutricional. Por esto son consideradas desde hace tiempo, como proteínas de referencia.

A.1.5.1. Proteínas del albumen

La clara se considera un sistema proteico constituido por fibras de ovomucina incluidas en una solución acuosa de numerosas proteínas globulares. La composición proteica de las capas delgada y gruesa de la clara se diferencia únicamente en el contenido de ovomucina, que es cuatro veces superior en la capa gruesa que en la delgada

La ovoalbúmina es la proteína más abundante del albumen. Es una fosfoglicoproteína, cuyo número de moles de fosfato ligados a los residuos de serina varía de 2 a 0; la ovoalbúmina A₁ (2 moles de fosfato por mol) representa cerca del 85% de la ovoalbúmina total. La molécula contiene 3,5% de glúcidos bajo la forma de una unidad glucídica de masa molar 1570, comprendiendo 5 residuos de D-mannosa y 3 residuos de D-glucosamina. La molécula encierra 4 grupos SH y dos uniones disulfuro, pero el número de estas últimas aumenta durante el almacenamiento; se forma así una "S-ovalbúmina" más termoestable que la proteína original. La proporción de S-ovalbúmina es del 5% en el momento de la puesta y alcanza el 80% después de 6 meses de almacenamiento en frigorífico. La desnaturalización térmica de la ovalbúmina natural, ocurre a 72-84°C. La ovoalbúmina posee buenas propiedades gelificantes que también puede ayudar a la estabilización térmica de espumas. No obstante, las propiedades gelificantes se reducen cuando aumenta la proporción de S-ovalbúmina.

La *conalbúmina* (u ovotransferina) es una glicoproteína conteniendo sobre un 0.9% de D-mannosa y 1.7% de D-glucosamina y está formada de dos subunidades. Esta proteína es muy sensible a la desnaturalización térmica (entre 57-65°C). La

conalbúmina presenta la particularidad de complejar cationes bi y trivalentes, tales como Cu^{+2} , Zn^{+2} , Al^{+3} , Fe^{+3} .

El *ovomucoide* es una glicoproteína que contiene entre 0.5 y 4% de D-galactosa, 7-8% de D-mannosa, 10-18% de D-glucosamina y 0.03-2.2% de ácido siálico. Frecuentemente las unidades glucosídicas están ligadas a la molécula proteica a nivel de residuos de asparragina. La molécula está constituida de 3 subunidades. Las zonas estructuradas en α -hélice representan el 22% de las cadenas polipeptídicas.

La *lisozima* contiene 129 residuos de aminoácidos y su estructura tridimensional se conoce con precisión. El pH isoeléctrico de esta molécula es muy elevado (cerca de 10). Esta proteína puede separarse por precipitación del resto del albumen y es empleada para "maternización" de leche de vaca.

La *ovomucina* es una glicoproteína constituida por 2 subunidades de un contenido en glúcidos próximo al 30%, con 6 a 23% de hexosas, 6 a 16% de hexosaminas y 1 a 14% de ácido siálico. Las repulsiones electrostáticas debido a las cargas negativas de ácido siálico, explican la estructura alargada y fibrosa de la molécula, que es a su vez responsable de la viscosidad de la capa espesa gelificada del albumen. Esta proteína es insoluble en el agua, pero es soluble en soluciones salinas de pH superior o igual a 7. La ovomucina es capaz de formar con la lisozima un complejo insoluble en agua; este complejo sería el motivo de la estructura gelificada específica de la capa espesa del albumen.

Otras proteínas presentes en la clara pero en menor porcentaje son las *ovoalbúminas* G2 y G3, la *avidina*, el *ovoinhibidor* y la *flavoproteína*.

A.1.5.2. Proteínas de la yema

. Las partículas presentes en suspensión en la yema, contienen tres tipos de proteínas asociadas bajo la forma de un complejo; las lipovitelinas y la fosfovítina constituyen la base de ese complejo, al cual se unen, por intermedio de la fosvitina, las lipoproteínas de baja densidad.

Las *lipovitelinas* constituyen la fracción lipoproteica de alta densidad. Estas proteínas pueden separarse en a y b-lipovitelinas. A un pH inferior a 7 existen bajo la forma de dímeros. La fracción lipídica de la molécula (20% en peso) está constituida por 60% de fosfolípidos y 40% de lípidos neutros.

La *fosfovítina* es una fosfoproteína que contiene mucha serina (representa el 31% del número total de residuos de aminoácidos). Algunos de estos residuos están esterificados por el ácido fosfórico. La fosfovítina es capaz de fijar los iones férricos; los complejos así formados son solubles y constituyen una reserva de hierro.

El plasma contiene dos tipos de proteínas, las livetinas y una fracción lipoproteica de baja densidad. Existen tres livetinas de masas molares diferentes (α , β y γ). Estas livetinas son proteínas globulares solubles, derivadas de las proteínas plasmáticas del pollo: sero albúmina (α), α_s -glicoproteína (β) y γ -globulinas (γ).

· Las lipoproteínas de baja densidad se pueden separar en dos fracciones L1 y L2 de masas molares respectivamente iguales a 10 y $3 \cdot 10^6$ Da. Su contenido en lípidos es muy elevado (cerca del 86% en peso); se trata esencialmente de lípidos neutros (75%) y fosfolípidos (25%). En esas lipoproteínas, las proteínas y los fosfolípidos estarían situados en la superficie de una estructura esférica conteniendo fundamentalmente los triglicéridos.

Las proteínas del huevo poseen diversas propiedades funcionales. Son agentes tensioactivos que disminuyen la tensión interfacial entre el agua y la fase hidrofóbica, como puede ser el aceite o el aire, y se agregan en la interfase formando partículas grandes. La actividad de superficie de las proteínas y lipoproteínas es importante para la elaboración de emulsiones y espumas. El tratamiento por calor de los ovoproductos da origen a la formación de geles con propiedades elásticas. Las propiedades de este tipo de geles son importantes en productos de repostería y panadería.

A.1.6 Formulación de productos libres de gluten

La formulación de productos panificados libres de gluten presenta un gran desafío para los tecnólogos de alimentos. Existe un número limitado de trabajos relacionados con este tipo de productos aptos para celíacos. Esto refleja, por un lado, la dificultad tecnológica de su elaboración, y por otro, la falta de conocimiento de que existe un gran número de personas que requiere productos libres de gluten, tanto celíacos como no-celíacos que son alérgicos al gluten. En los últimos años ha habido un incremento significativo en investigaciones y desarrollos orientados a este tipo de productos, que involucraron la adición de distintos almidones, derivados lácteos, hidrocoloides y otras proteínas alternativas al gluten para mejorar la estructura, palatabilidad, aceptabilidad y la vida útil de los productos panificados libres de gluten. Este tipo de investigaciones condujeron a incrementar la gama de productos disponibles en el mercado.

Los almidones e hidrocoloides son ampliamente usados en la industria de los panificados para impartirle buenas propiedades texturales y de apariencia a los alimentos derivados de cereales (Anon., 2002; Cunin, 1999; Laureys, 1996; Ward y

Andon, 2002). Se han llevado a cabo diversos estudios para desarrollar productos libres de gluten usando combinaciones de almidones e hidrocoloides. Rotsch (1954) mostró que es posible la elaboración de panes a partir de almidones y sustancias capaces de formar gel. En su elaboración se han empleado tanto almidón de trigo como otros almidones (almidón de maíz, arroz, mandioca, amaranto, papa, etc), siendo estos últimos los más deseables ya que algunos celíacos no pueden tolerar el almidón de trigo (algunos informes han señalado que existen, a largo plazo, efectos dañinos en pacientes celíacos por la ingesta de las pequeñas cantidades de gliadina presentes en el almidón de trigo) (Chartrand y col., 1997; Hovarth y Mehta, 2000; Skerritt y Hill, 1992).

Para asegurar productos libres de gluten que resulten aceptables, es necesaria la producción de alimentos con atributos sensoriales similares a aquellos desarrollados con harina de trigo.

A.1.7 Mercado de masas no leudadas

El consumo de empanadas y tartas (formuladas a partir de masas no leudadas) es una de las tradiciones alimentarias más arraigadas en gran parte de Latinoamérica y especialmente en Argentina. La producción de este tipo de alimentos se extiende por los distintos países exhibiendo pequeñas diferencias pero manteniendo una composición esencial fija. En todos los casos, una empanada o tarta es un producto alimenticio compuesto por una fina masa (en la mayoría de los casos no leudada) rellena de diversos ingredientes tanto salados como dulces. En la amplia mayoría de los casos la masa está desarrollada a base de harina de trigo conteniendo alguna fase lipídica (usualmente grasa de origen animal o margarina). Si bien los países de la región son grandes consumidores de empanadas y tartas, variedades similares de éstas tienen gran mercado en países de Europa. España es uno de los mayores referentes con la tradicional *empanada gallega* y otras variedades similares como los *pastissets* en Cataluña o las *formatjades* en las islas Baleares. Sin embargo su consumo se extiende hasta países como Rusia (conocidos como *pirozhki*) o los tradicionales *cornish pasties* consumidos en el Reino Unido, lo que muestra el alcance de este tipo de alimentos en diversas partes del mundo.

En particular, en Argentina, los cambios en los hábitos de consumo han incrementado su presencia en la dieta actual. Se estima que sólo en el Gran Buenos Aires el consumo supera los 540 millones de unidades (45 millones de docenas) al año, por \$ 50 millones. Junto a los productos vinculados (tapas para copetín, pastelitos

y tartas) el tamaño de mercado asciende a \$85 millones y con una marcada tendencia de crecimiento de alrededor de un 3% (Pantanelli, 2001).

Esta elevada incidencia en la dieta, lo posiciona como un producto relevante, no sólo a nivel nacional, sino también de alto impacto en diferentes partes del mundo. El desarrollo de una alternativa de masas no fermentadas libres de gluten que presente atributos de calidad similares a los desarrollados con harina de trigo y sensorialmente adecuada, resulta una necesidad en el mercado actual.

A.2 Objetivos sección A

En esta Sección se estudiarán aspectos referidos a las propiedades de los hidrocoloides y su aplicación en el desarrollo de masa no fermentada para enfermos celíacos, apta para ser empleada en la elaboración de empanadas y tartas.

A.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Examinar el efecto de la adición de diferentes hidrocoloides usados individualmente o combinados en las propiedades reológicas de masa no levada, libre de gluten, así como las características texturales, y organolépticas del producto horneado.
- Estudiar los efectos aditivos, sinérgicos o antagónicos del agregado de hidrocoloides en el comportamiento viscoelástico del producto a través de ensayos reológicos oscilatorios.
- Evaluar el efecto del tipo de fase lipídica utilizada y del contenido de sólidos de la misma sobre las características reológicas de las masas y sobre parámetros estructurales.
- Relacionar las características viscoelásticas con los parámetros de textura (ensayos de punción y elongación).
- Analizar el efecto de la congelación y del almacenamiento congelado en las propiedades reológicas de este tipo de masa.
- Realizar un análisis sensorial del producto horneado y analizar la respuesta al producto cocido de panelistas no entrenados.

A.3 Optimización de la composición de masas libres de gluten respecto a los parámetros de textura

A.3.1 INTRODUCCIÓN

Cuando los enfermos celíacos ingieren alimentos que contienen gluten, su sistema inmune responde produciendo daño sobre el intestino delgado, más específicamente, las protuberancias presentes en el mismo son eliminadas. De este modo, los nutrientes presentes en los alimentos no pueden ser absorbidos, produciendo una mala nutrición del paciente independientemente de la calidad nutricional del alimento ingerido (Arendt y col., 2002; Lazaridou y col., 2007). Esta enfermedad genera que los celíacos se vean impedidos de ingerir cualquier alimento que contenga gluten durante el resto de su vida. Productos tradicionales como tartas o empanadas entran dentro del grupo de alimentos que resultan prohibitivos para este tipo de pacientes, ya que su masa es usualmente elaborada a base de harina de trigo.

Se han utilizado en la literatura diferentes almidones libres de gluten para la elaboración de panes (Cunin, 1999; Gallagher y col., 2002, 2003; Kobylański y col., 2004; Ranhotra y col., 1975; Toufeili y col., 1994; Ward y Andon, 2002), que sin embargo fallan en la elaboración de una matriz continua y por tanto carecen de la estructura necesaria para la elaboración de una masa de buena calidad. Este tipo de falencias hacen que resulte necesario el agregado de sustancias poliméricas que logren imitar las propiedades viscoelástica del gluten en las masas.

Los hidrocoloides son ampliamente utilizados en la industria de panificados para impartir las características deseadas de textura y apariencia a producto elaborados a base de cereales. Existen diversos trabajos publicados sobre el uso combinado de almidones e hidrocoloides para la producción de panes aptos para celíacos (Gallagher y col., 2004; Lazaridou y col., 2007). Las gomas xántica y guar son algunos de los hidrocoloides que pueden ser agregados a masas libres de gluten. La estructura molecular de estos dos polisacáridos está bien documentada en la literatura (BeMiller y Whistler, 1996). El comportamiento pseudoplástico de la goma xántica es

importante durante algunos procedimientos de la elaboración de productos panificados (amasado, laminado, extrudado de la masa). Las interacciones entre las gomas xántica y guar pueden también ejercer un efecto sinérgico, que depende de distintos factores tales como la relación másica, temperatura de mezclado y fuerza iónica (BeMiller y Daniels, 2002; Khouryieh y col., 2006; Quintana y col., 2002a). Esta propiedad puede aumentar la viscosidad mejorando la manipulación de la masa.

El almidón de arroz está ampliamente difundido y ofrece un gran potencial para el desarrollo de productos libres de gluten. La ausencia de gluten, bajos niveles de sodio y altas cantidades de carbohidratos fácilmente digeribles son todas propiedades del arroz que es incluido para dietas especiales (Eliasson y Larsson, 1993). Sin embargo, la ausencia de gluten puede causar serios problemas en la elaboración de panificados. Kang y col. (1997) mostraron que varios tipos de gomas, incluyendo hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), goma garrofin, goma guar, carragenanos, goma xántica y agar resultan satisfactorias para el desarrollo de pan de arroz, donde HPMC exhibe una mayor expansión volumétrica de la pieza de pan. Cato y col., (2004), encontraron que la combinación de HPMC (1.7%) y carboximetilcelulosa (CMC) (0.4%) proporciona mejores características a los panes como sustituto del gluten que la goma guar (0.7%) cuando se usa una mezcla 50:50 de harina de trigo: harina de arroz.

La incorporación de derivados lácteos es muy utilizada en la industria de panificados (Stahel, 1983; Zadow y Hardham, 1981). Las proteínas lácteas son ingredientes sumamente funcionales y debido a su versatilidad pueden ser incorporados fácilmente a numerosos productos. Su incorporación en panificados tiene tanto ventajas nutricionales como beneficios funcionales que incluyen un mejor flavor y textura y una mayor estabilidad durante su almacenamiento (Cocup y Sanderson, 1987; Kenny y col., 2001; Mannie y Asp, 1999). Los derivados lácteos pueden ser usados en las formulaciones libres de gluten para mejorar la manipulación de la masa. Sin embargo, no es aconsejable la ingesta de panes suplementados con ingredientes de alto contenido de lactosa por aquellos individuos celíacos con daño significativo en su pared intestinal, ya que podrían presentar intolerancia a la lactosa debido a la ausencia de la enzima lactasa que es generada por las vellosidades y microvellosidades del intestino delgado (Ortolani y Pastorello, 1997). Se han estudiado diversos aditivos lácteos en la formulación de panes libres de gluten (Gallagher y col., 2003). En general las mezclas con un contenido alto en proteína y bajo en lactosa (caseinato de sodio o aislados de proteínas lácteas) dieron panes con mejor forma y

volumen, y una textura de corteza más firme. Además, suplementar estos panes con proteína láctea permitió duplicar el contenido de proteína total de los mismos. Las proteínas de suero lácteo también son ingredientes muy empleados para mejorar productos panificados en general debido a su alta calidad nutricional y propiedades funcionales (de Wit, 1998). Así, se agregan a cereales para desayuno para aumentar el contenido de aminoácidos esenciales (Kenny y col., 2001).

Otra posibilidad es incorporar proteínas de huevo, ya que su versatilidad, características sensoriales y excelente funcionalidad las hace adecuadas para una diversidad aplicaciones industriales (Gallagher y col., 2003). Durante la preparación de numerosos productos alimenticios los componentes del huevo pueden funcionar como emulsificantes y espumantes, así como formar estructuras de sostén tridimensionales. (Ibanoglu y Erçelebi, 2007).

Sin embargo, no existe bibliografía referente a la formulación y comportamiento reológico de masas no levadas, libres de gluten, aptas para utilizarse en empanadas y tartas, pese a que estos alimentos son comúnmente preparados en numerosas culturas. Por lo tanto en este capítulo se estudiará el efecto del contenido de gomas xántica y guar, concentrado de proteínas de suero lácteo, huevo en polvo y agua sobre las características texturales y reológicas de masas no fermentadas libres de gluten desarrolladas a base de almidones de maíz y mandioca, aptas para emplearse en empanadas y tartas. Se utilizará un diseño estadístico adecuado para encontrar relaciones matemáticas entre las variables observadas, lo que permitirá encontrar la "formulación óptima" dentro del rango de combinaciones analizado.

A.3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

A.3.2.1. Materiales utilizados

Se utilizó almidón de maíz obtenido de Unilever de Argentina S.A. (Argentina), con un porcentaje de humedad de 12.5% y un 0.3% de proteínas. El almidón de mandioca empleado (14% humedad y 0.2% proteínas) fue adquirido de Indecar S.A. (Argentina). La formulaciones analizadas en este diseño fueron todas elaboradas usando aceite comercial 100% girasol (Molinos Río de La Plata SACIFI, Buenos Aires) adquirido en un supermercado local y sin ningún tratamiento posterior. Arla Food Ingredients S.A. (Argentina) proporcionó la proteína de suero lácteo concentrada (80% proteína) con que se desarrollaron las masas formuladas. Se utilizó huevo en polvo

(6% humedad y 38% lípidos) suministrado por Tecnovo S.A. (Argentina). Los hidrocoloides empleados para estos ensayos fueron goma xántica y goma guar, ambos de grado comestible, adquiridos de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). En todas las formulaciones se empleó NaCl de grado analítico y agua destilada.

A.3.2.2. Preparación de las muestras

La formulación inicial de la masa fue seleccionada mediante pruebas preliminares, evaluando su facilidad de manipulación, pero sin hacer uso de ensayos objetivos de caracterización. La composición básica consistió en una mezcla de almidones de maíz y mandioca en relación 2:1 p/p (Lang, 2006). La combinación de hidrocoloides a utilizar fue seleccionada a partir de datos bibliográficos donde la mezcla de gomas xántica y guar aparece mostrando características de sinergismo cuando se encuentran en relación 7:3 (BeMiller y Daniels, 2002). Todas las formulaciones contuvieron 2% de NaCl, 20% de aceite de girasol y 1% de alcohol etílico que actuara como preservante, expresando los porcentajes como g/100g de almidón empleado. El resto de los componentes de las masas fueron: concentrado proteico de suero lácteo (WPC), huevo en polvo y agua destilada, cuyas concentraciones fueron variadas para estudiar su influencia en la formulación.

El proceso de elaboración de los discos de masa utilizados en los ensayos puede verse esquematizado en la Figura A.3-1. La etapa inicial es una mezcla de los constituyentes sólidos, esto es, almidones, hidrocoloides, WPC, huevo en polvo y NaCl por un período de 1.5 minutos en un procesador comercial (Universo Rowenta, Alemania) a 400 rpm usando el accesorio correspondiente para amasado. Luego de obtener una mezcla homogénea, se agregó la fase grasa correspondiente, es decir, aceite de girasol y se mezcló durante 1.5 minutos más. Con el procesador aún en funcionamiento, se adicionó el agua requerida y el alcohol y se continuó el mezclado por 5 minutos más.

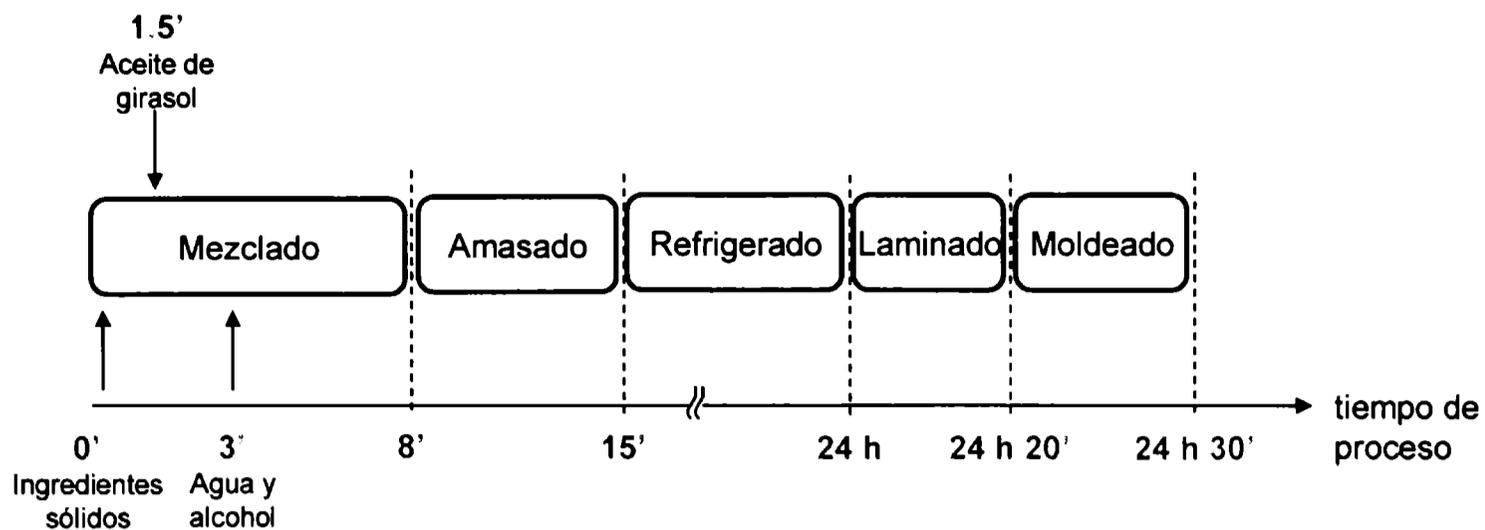


Figura A.3-1. Esquema del proceso de producción de las masas libres de gluten para los ensayos considerados.

Una vez retirada la mezcla del procesador, se amasó brevemente a mano y se envolvió en un film de polietileno. La muestra se colocó en un envase hermético y se mantuvo refrigerada a 4°C por 24hs para permitir la completa hidratación de los componentes sólidos y lograr la estabilización de la consistencia de la masa (Manley, 2001). La misma fue luego estirada de modo de obtener una lámina de 2 mm de espesor mediante el uso de rodillos y guías que garantizaran una altura uniforme de toda la masa. A partir de ésta se obtuvieron los discos de masa para los ensayos correspondientes.

A.3.2.3. Diseño de las experiencias

Para optimizar las características reológicas y texturales de las masas estudiadas, se propuso un diseño factorial completo de dos niveles con cuatro factores (2^4) para evaluar distintas combinaciones de los constituyentes más importantes, es decir, gomas (G), WPC, huevo en polvo (H) y agua (A). En la Tabla A.3-1 se presentan la matriz del diseño con los niveles estudiados para cada una de las variables junto con la codificación correspondiente para el diseño utilizado (Box y Draper, 1987).

Tabla A.3-1. Factores considerados en el diseño del experimento y la correspondiente codificación para los niveles ensayados. Los porcentajes están dados en g/100g de almidón.

| Factores | Niveles | | |
|--|---------|-------|-------|
| | -1 | 0 | +1 |
| Gomas (relación entre xántica y guar: 7:3 p/p) | 1.50% | 2.25% | 3.00% |
| Concentrado proteico de suero lácteo (WPC) | 3.50% | 5.00% | 6.50% |
| Huevo en polvo | 3.50% | 5.00% | 6.50% |
| Agua | 51.0% | 53.0% | 55.0% |

Se consideraron 17 formulaciones de masa diferentes, incluyéndose un punto central que permita evaluar la curvatura de la función respuesta. Dicho nivel fue replicado dos veces, para tener una estima independiente del error experimental (Tabla A.3-2).

Los factores considerados fueron codificados tal como se observa en la Tabla A.3-2, de manera de garantizar la ortogonalidad entre las variables, eliminando así la correlación entre las estimas de los efectos principales e interacciones (Myers y col., 2009).

Sobre cada una de las formulaciones desarrolladas, se realizaron dos tipos de mediciones experimentales: ensayos texturales y análisis reológicos. Estos resultados fueron modelados matemáticamente siguiendo una metodología de superficie de respuesta como se explica en el inciso A.3.2.6.

Tabla A.3-2. Formulaciones ensayadas de acuerdo con el diseño factorial seleccionado y sus respectivas variables codificadas según la Tabla A.3-1

| Formulación | Gomas (G) | WPC | Huevo en polvo (H) | Agua (A) |
|-------------|--------------|-----|-----------------------|----------|
| 1 | -1 | -1 | -1 | -1 |
| 2 | -1 | -1 | -1 | +1 |
| 3 | -1 | -1 | +1 | -1 |
| 4 | -1 | -1 | +1 | +1 |
| 5 | -1 | +1 | -1 | -1 |
| 6 | -1 | +1 | -1 | +1 |
| 7 | -1 | +1 | +1 | -1 |
| 8 | -1 | +1 | +1 | +1 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | +1 | -1 | -1 | -1 |
| 11 | +1 | -1 | -1 | +1 |
| 12 | +1 | -1 | +1 | -1 |
| 13 | +1 | -1 | +1 | +1 |
| 14 | +1 | +1 | -1 | -1 |
| 15 | +1 | +1 | -1 | +1 |
| 16 | +1 | +1 | +1 | -1 |
| 17 | +1 | +1 | +1 | +1 |

A.3.2.4. Análisis texturales

Todos los ensayos de textura se llevaron a cabo en un TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Reino Unido). Para cada ensayo se tomaron seis replicados en especímenes diferentes con el fin de reducir la dispersión de los resultados. En todos los casos se reportaron los valores medios de cada medida.

A.3.2.4.1. Ensayos de punción

Para este tipo de ensayos se utilizó una sonda de 2 mm de diámetro adoptándose una velocidad de descenso de 1 mm/s. Las medidas fueron realizadas

sobre discos de masa de 40 mm de diámetro y 2 mm de espesor. Se registró la fuerza máxima necesaria para producir la ruptura de las muestras (FP).

A.3.2.4.2. Ensayos de elongación

Para estos ensayos se utilizó un sistema de mordazas A/TG. Las muestras fueron estiradas a una velocidad de 0.5 mm/s obteniéndose de este modo las curvas de fuerza necesaria para producir el estiramiento (N) vs. deformación producida sobre la muestra (mm.). La fuerza máxima de ruptura por elongación (N) y la deformación en la ruptura se obtuvieron a partir de dichas curvas. Las muestras fueron cortadas como fragmentos rectangulares de 90 mm de largo, 35 mm de ancho y 2 mm de espesor.

A.3.2.5. Análisis reológicos

Todos los ensayos reológicos fueron realizados en un reómetro Haake RS600 de esfuerzo controlado (ThermoElectron, Alemania) y para cada medida se realizaron al menos tres replicados, reportándose en cada caso los valores medios.

Los ensayos sobre las masas se realizaron a una temperatura constante de 20°C, estabilizada mediante un baño termostático. Se utilizó una geometría de platos paralelos como la que se muestra esquemáticamente en la Figura A.3-2. Se utilizaron platos de 35 milímetros de diámetro para realizar todas las corridas (sensor PP35-S). Los sensores empleados presentaron superficies rugosas con el objetivo de evitar posibles errores de deslizamiento de la muestra (Sanchez y col., 2001).

Una vez colocada la muestra en el equipo, se llevó el sensor hasta la posición de medida (1.6 mm. de espaciado entre platos, H), se eliminaron los restos de masa que pudieran ocasionar alteraciones en las medidas y se cubrió todo el contorno con una fina película de silicona para evitar la deshidratación de la muestra durante el ensayo. Posteriormente, se dejó reposar la masa durante 600 segundos sin aplicar ningún esfuerzo para lograr la relajación de los esfuerzos normales a los que pudiera haber estado sometida durante la manipulación previa (Ribotta y col., 2004).

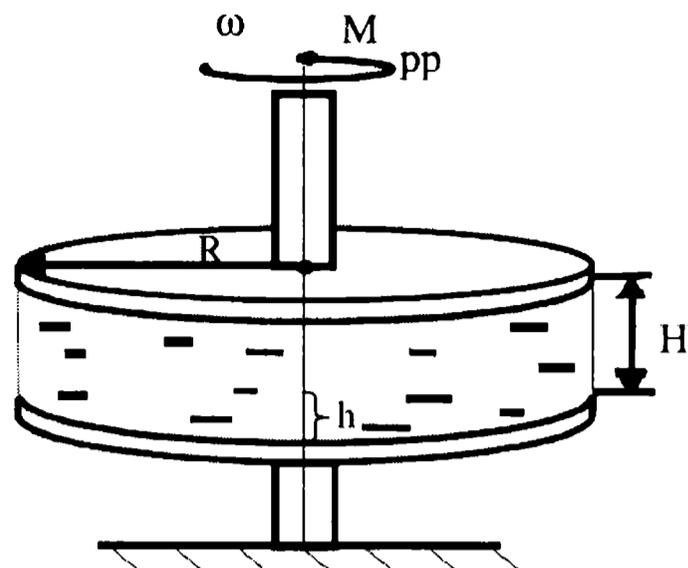


Figura A.3-2. Esquema del sensor de platos paralelos usado en los ensayos reológicos oscilatorios.

Se realizaron ensayos reológicos oscilatorios de barrido de esfuerzo y frecuencias. En principio, con el objeto de determinar el rango de viscoelasticidad lineal (LVR) de cada muestra a 20°C, se varió el esfuerzo aplicado entre 0.5 y 100 Pa, manteniendo fija la frecuencia de oscilación en 6.28 rad/s. Una vez determinado el LVR, se realizaron ensayos de barrido de frecuencias, dentro de dicho rango, para determinar la evolución de los módulos elástico (G') y viscoso (G''). La frecuencia fue variada desde 0.09 hasta 130 rad/s.

Dada la duración de los ensayos, se utilizó una cámara húmeda, para reducir al mínimo las posibles pérdidas por evaporación (Garrido y Califano, 2007).

A.3.2.6. Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianzas (ANOVA) por separado para los resultados de punción, elongación y ensayos oscilatorios de los diseños 2^k para evaluar los efectos principales y sus interacciones. Los factores estudiados fueron las concentraciones de gomas, concentrado de proteína de suero lácteo, huevo y agua, y las interacciones correspondientes. Se eligió el test de Bonferroni para realizar las comparaciones pareadas simultáneas. Tanto para las comparaciones de medias como para los ensayos "F", las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0.05$.

Posteriormente, las funciones respuesta para los ensayos de punción y elongación, fueron modeladas según:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=i+1}^4 \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \sum_{k=j+1}^4 \beta_{ijk} X_i X_j X_k + \beta_{1234} \prod_{i=1}^4 X_i \quad \text{Ec. A.3-1}$$

donde Y es la variable respuesta correspondiente, esto es, FP (máxima fuerza de ruptura en el ensayo de punción), FE (máxima fuerza de ruptura en el ensayo de elongación) o D (deformación al momento de la ruptura en el ensayo de elongación); X_i son las variables de proceso codificadas (G, WPC, H, A) y " β " son los parámetros de la regresión.

Para el ajuste del modelo polinómico, se siguió una metodología "stepwise" para establecer los términos significativos de la Ec. A.3-1 en cada caso, incluyendo el punto central. Todos los procedimientos estadísticos (análisis de varianzas, regresión lineal múltiple, stepwise) se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL).

Se realizó una optimización multivariable mediante el método de la Función Objetivo empleando el módulo "Solver" de Microsoft Excel.

A.3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A.3.3.1. Análisis de textura

A.3.3.1.1. Ensayos de punción

Se empleó un modelo factorial completo del tipo 2^4 para analizar la máxima fuerza de ruptura en el ensayo de punción.

En la Figura A.3-3 se observan las curvas de fuerza de punción vs. distancia de penetración del punzón que produce la deformación en la muestra hasta la ruptura, para tres de las formulaciones ensayadas (Tabla A.3-2).

El ensayo de ANAVA realizado mostró un efecto significativo ($P < 0.05$) de todos los factores, excepto el efecto puro de WPC, la interacción doble entre las concentraciones de gomas y WPC (GxWPC) y la interacción triple WPCxHxA. Sin

embargo, el peso relativo de cada factor sobre la fuerza de ruptura y el impacto causado por cada uno fue diferente.

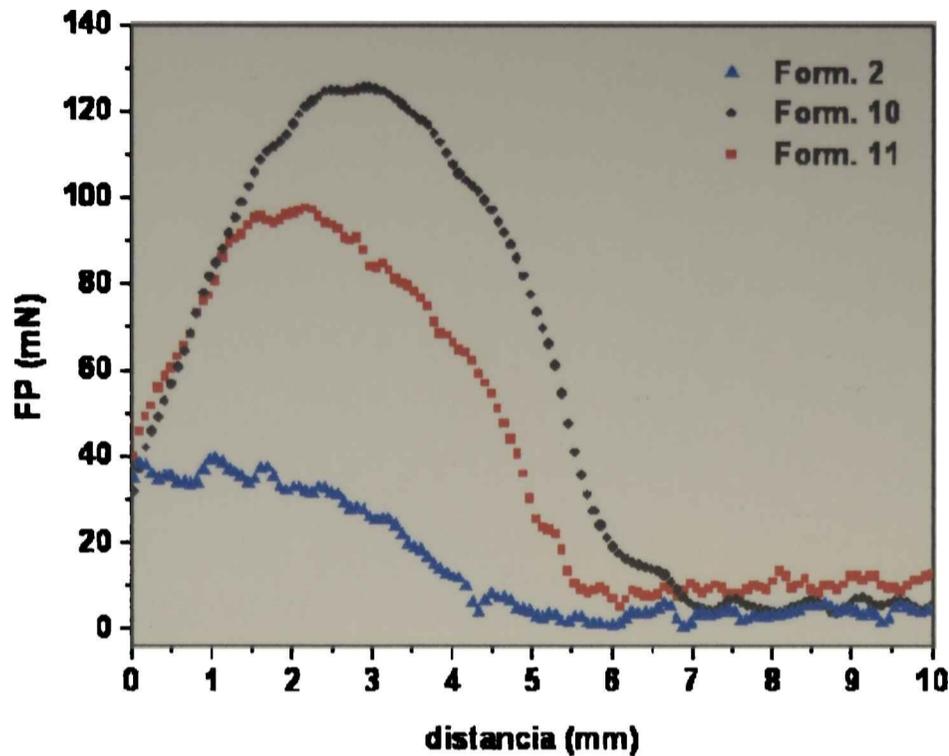


Figura A.3-3. Ensayo de punción para tres de las formulaciones estudiadas. La numeración de las formulaciones está codificada de acuerdo a la Tabla A.3-2.

En la Tabla A.3-3 se muestran las fuerzas promedios de punción obtenidas a partir de seis replicados para cada formulación estudiada, ordenados de manera creciente en relación a la fuerza máxima.

Tabla A.3-3. Fuerza promedio máxima obtenida para las distintas formulaciones en el ensayo de punción.

| Formulación | Fuerza de punción (mN) | Formulación | Fuerza de punción (mN) |
|-------------|------------------------|-------------|------------------------|
| Form. 8 | 44 ^a | Form. 17 | 88 ^e |
| Form. 2 | 45 ^a | Form. 15 | 92 ^{fg} |
| Form. 6 | 52 ^{ab} | Form. 13 | 101 ^{gh} |
| Form. 4 | 54 ^{ab} | Form. 11 | 103 ^{gh} |
| Form. 3 | 54 ^{ab} | Form. 16 | 109 ^{hi} |
| Form. 5 | 55 ^{ab} | Form. 12 | 129 ^{ij} |
| Form. 7 | 61 ^{bc} | Form. 10 | 130 ^j |
| Form. 1 | 72 ^{cd} | Form. 14 | 167 ^k |
| Form. 9 | 78 ^{de} | | |

* Diferentes supraíndices indican diferencias significativas entre las medias ($P < 0.05$)

El ensayo permitió observar que el contenido de hidrocoloides explicaba el 70.94% de la varianza total. El incremento de G desde el nivel (-1) al nivel (+1), es decir, entre 1.5% y 3%, produjo un aumento de FP en 60 mN. Contrariamente, el aumento en el contenido de huevo en polvo trajo aparejado una disminución en el valor máximo de FP (desde 97 mN a 72 mN), mostrando además una interacción con el contenido de gomas (Figura A.3-4a). El efecto principal del término A (contenido de agua) mostró que es necesaria menor fuerza para fracturar la masa en un ensayo de punción a medida que se incrementa el contenido de agua (de 120 mN a 83 mN), como se muestra en la Figura A.3-4b. El porcentaje de varianza explicada por este factor corresponde al 12.1%.

Dado que algunas de las interacciones entre los parámetros estudiados mostraron efecto significativo, es necesario hacer foco sobre cada combinación específica. En particular, la interacción entre el contenido de gomas y huevo (GxH) resultó significativa, mostrando que el incremento en el contenido de hidrocoloides tiene un efecto más marcado cuando el contenido de huevo en polvo está en su nivel más bajo (H(-1)) que cuando éste se eleva al nivel H(+1). La misma tendencia aparece para la interacción entre hidrocoloides y agua (GxA): el efecto en el aumento de la concentración de gomas resulta más marcado para bajos niveles de agua (Figura A.3-4b).

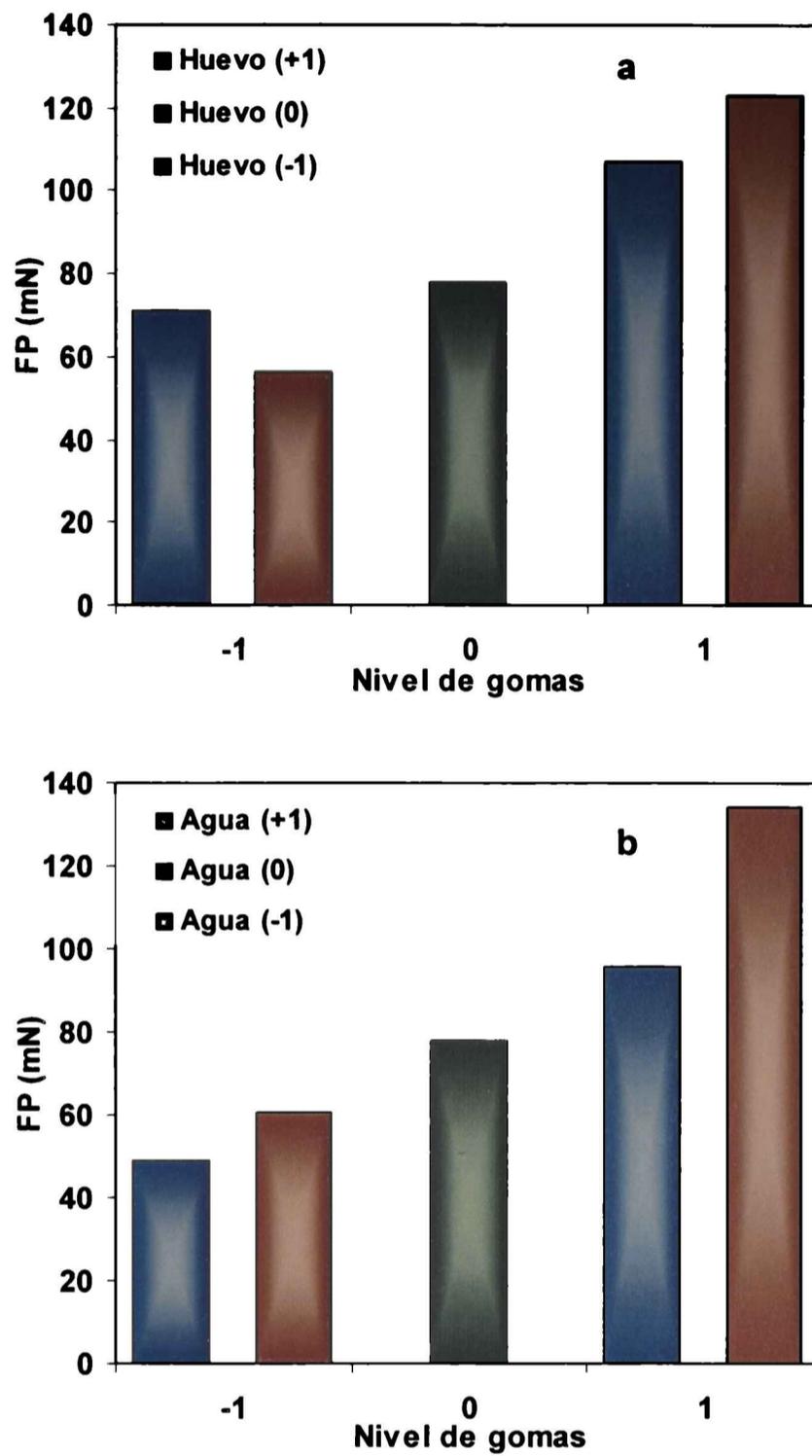


Figura A.3-4. Efecto del contenido de gomas sobre la fuerza promedio de punción en las masas para distintos niveles de huevo (a) y agua (b).

Los resultados obtenidos en el ensayo de punción, también fueron analizados siguiendo una metodología stepwise para encontrar el mejor modelo lineal que ajuste los datos obtenidos siguiendo la Ec. A.3-1. En el diseño se incluyó el punto central (Formulación 9), lo que permitió obtener una ecuación predictiva con los coeficientes que se muestran en la Tabla A.3-4.

Tabla A.3-4. Coeficientes de regresión obtenidos mediante el método "stepwise" para las respuestas estudiadas: fuerzas máximas de punción y elongación y deformación en la ruptura.

| | Efecto | FP | FE | D | | Efecto | FP | FE | D |
|--------------|-----------|------|-------|------|----------------|-----------------|------|----|----|
| β_0 | Constante | 84 | 120.8 | 8.6 | β_{23} | WPC x H | -3.2 | NS | NS |
| β_1 | G | 30 | 54.9 | 4.9 | β_{24} | WPC x A | -2 | NS | NS |
| β_2 | WPC | -1.2 | -9.9 | NS | β_{34} | H x A | 4.3 | NS | NS |
| β_3 | H | -4.7 | -14.7 | 0.5 | β_{123} | G x WPC x H | -4 | NS | NS |
| β_4 | A | -12 | -11.9 | -1.2 | β_{124} | G x WPC x A | -2.9 | NS | NS |
| β_{12} | G x WPC | NS | NS | -0.6 | β_{134} | G x H x A | 2.5 | NS | NS |
| β_{13} | G x H | -3.4 | NS | NS | β_{234} | WPC x H x A | NS | NS | NS |
| β_{14} | G x A | -6.4 | NS | -0.3 | β_{1234} | G x WPC x H x A | 6 | NS | NS |

G: gomas; WPC: concentrado de suero lácteo; H: huevo en polvo; A: agua; FP: fuerza máxima de punción (mN); FE: fuerza máxima de elongación (mN); D: deformación en la ruptura (mm). NS: Términos que no fueron significativos en el análisis de superficies de respuesta.

Para visualizar los efectos combinados de los diferentes factores sobre la fuerza máxima en el ensayo de punción, se generaron superficies de respuesta como función de dos variables (contenido agua y gomas en este caso, ya que son las dos que presentan mayor incidencia) y a dos niveles de una tercera variable, manteniendo la cuarta en el nivel central. Las correspondientes superficies se muestran en las Figura A.3-5a y b.

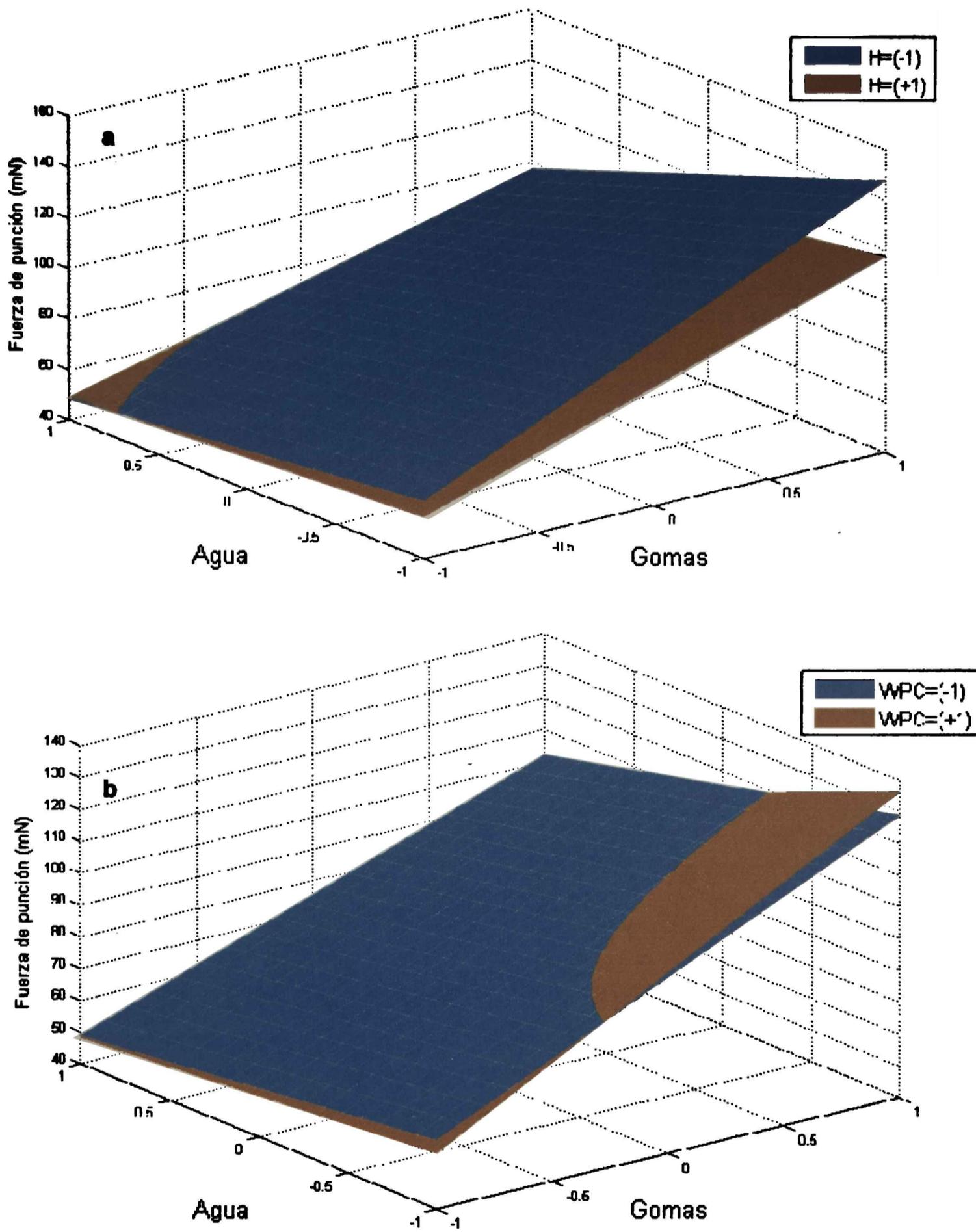


Figura A.3-5. Gráfico de superficies de respuesta para la fuerza máxima de punción en función del contenido de agua y gomas. (a) Dos niveles diferentes de huevo en polvo a un contenido fijo de WPC (5%). (b) Dos niveles diferentes de WPC a un contenido fijo de huevo en polvo (5%).

Considerando el efecto del contenido de agua, puede verse que resulta necesaria menor fuerza en la punción a medida que ésta se incrementa en la formulación. La superficie obtenida muestra también que a altos contenidos de agua e hidrocoloides, la disminución en el porcentaje de huevo en polvo aumenta la fuerza máxima de punción, lo cual se encuentra en concordancia con la interacción señalada por el análisis de varianzas (Figura A.3-5a). Este efecto probablemente podría explicarse de acuerdo a la disponibilidad de agua en la masa; cuando el contenido de proteína de huevo disminuye, aumenta el agua disponible en la masa para interactuar con las gomas xántica y guar, permitiendo formar así una red que conduzca a masas más resistentes. En el otro extremo, donde el contenido de agua es elevado (A(+1)) y el nivel de gomas bajo (G(-1)), la fuerza máxima es menor a menor contenido de huevo en polvo. En ese punto, el contenido de polisacárido es muy bajo para formar enlaces fuertes y entonces la contribución de la proteína a la estructura resulta importante.

La interacción triple de agua, gomas y WPC se ve en la Figura A.3-5b. A bajos niveles de agua y alto contenido de hidrocoloides, la disminución de WPC debilita la estructura de la masa, mientras que en el extremo G(-1) y A(+1) se observa el comportamiento opuesto.

A.3.3.1.2. Ensayos de elongación

Es necesario mencionar que dos de las formulaciones con alto contenido de agua y bajo porcentaje de gomas (formulaciones 2 y 8) fueron demasiado blandas para manipularse y no fue posible llevar a cabo el ensayo de elongación sobre ellas. De las formulaciones restantes, en la Figura A.3-6 se grafican tres de las que mostraron mayores diferencias significativas.

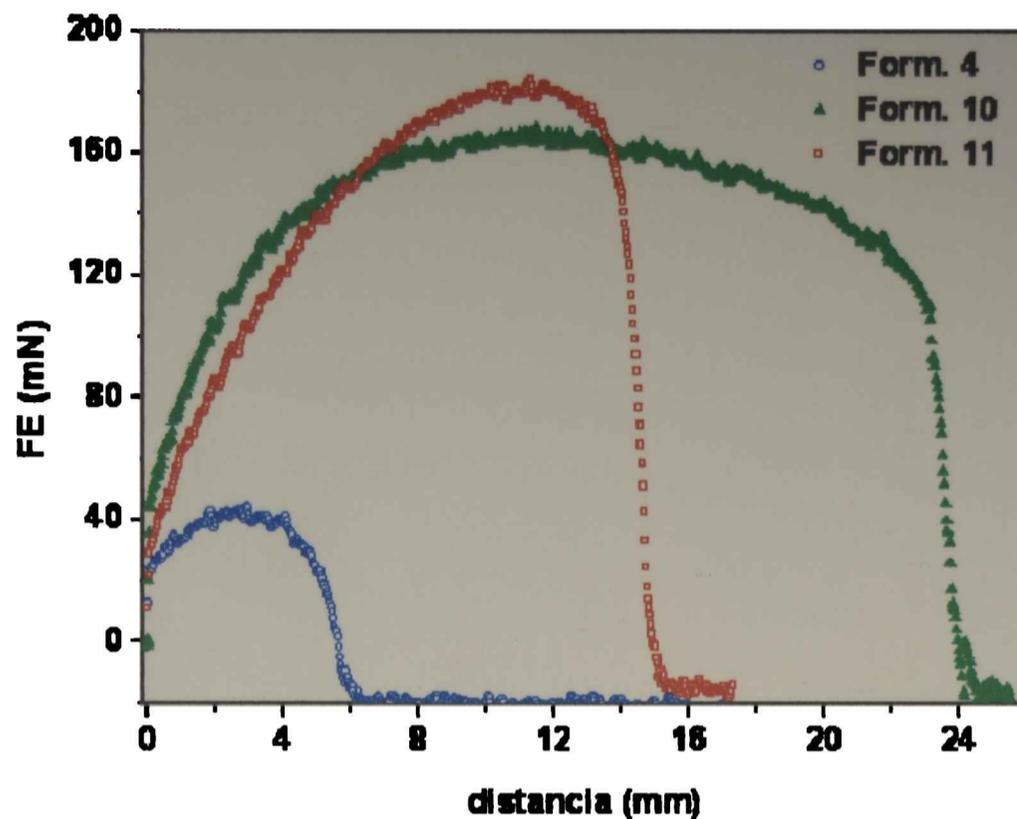


Figura A.3-6. Ensayo de elongación para tres de las formulaciones estudiadas. La numeración de las formulaciones está codificada de acuerdo a la Tabla A.3-2.

En la Tabla A.3-5 se muestran las fuerzas de elongación máxima y la deformación en la ruptura para las formulaciones medidas. A partir de ellas, el ensayo de ANAVA mostró que sólo tres de los efectos principales afectaban la deformación al momento de la ruptura. El principal de ellos fue el cambio en el contenido de hidrocoloides (G) el cual explica el 78.3% de la varianza total. Los otros fueron los niveles de agua (A) y huevo en polvo (H), explicando, respectivamente, el 3% y el 0.8% de la variación total. La interacción GxA también resultó significativa.

Tabla A.3-5. Fuerza promedio máxima y deformación en la ruptura para las distintas formulaciones en ensayos de elongación.

| Formulación | Fuerza de elongación (mN) | Deformación en la ruptura (mm) |
|-------------|---------------------------|--------------------------------|
| Form. 4 | 53 ^a | 2.3 ^a |
| Form. 5 | 75 ^{ab} | 3.7 ^a |
| Form. 6 | 63 ^{ab} | 4.0 ^{ab} |
| Form. 1 | 100 ^b | 4.6 ^{ab} |
| Form. 3 | 65 ^{ab} | 4.7 ^{ab} |
| Form. 7 | 71 ^{ab} | 5.6 ^{ab} |
| Form. 9 | 115 ^c | 7.4 ^{bc} |
| Form. 11 | 206 ^e | 10.5 ^c |
| Form. 15 | 162 ^d | 11.15 ^{ce} |
| Form. 17 | 141 ^{cd} | 11.4 ^{ce} |
| Form. 14 | 200 ^e | 14.3 ^e |
| Form. 16 | 154 ^d | 15.0 ^e |
| Form. 13 | 146 ^{cd} | 15.0 ^e |
| Form. 10 | 208 ^e | 15.4 ^e |
| Form. 12 | 197 ^e | 15.6 ^e |

* Diferentes supraíndices indican diferencias significativas entre las medias ($P < 0.05$)

Se encontró también una correlación positiva entre la fuerza máxima en un ensayo de elongación (FE) y su correspondiente deformación al momento de ruptura (D). También se observó una dependencia lineal entre D y la fuerza máxima de punción (FP) (Figura A.3-7).

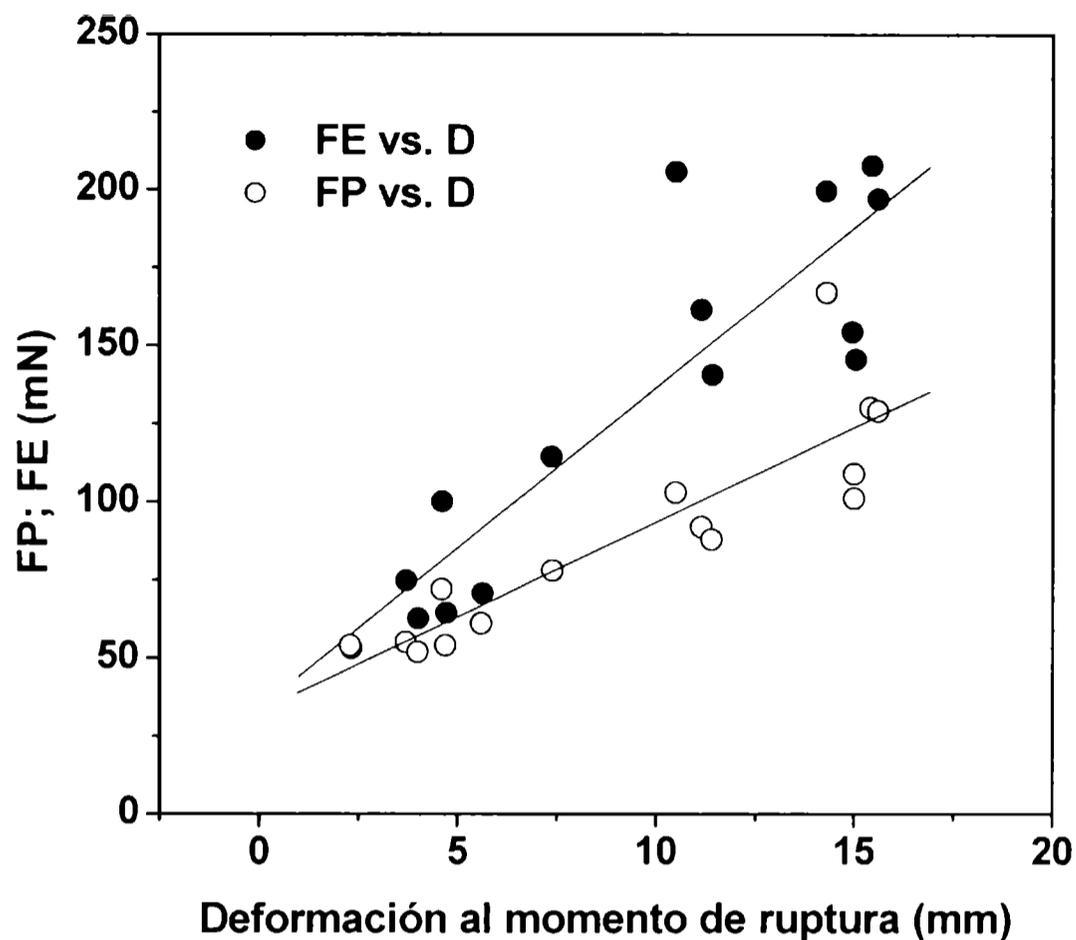


Figura A.3-7. Dependencia lineal de la máxima fuerza de punción y elongación con la deformación al momento de la ruptura

Como se mencionó previamente (Figura A.3-7), existe una correlación positiva entre la longitud que puede estirarse una muestra de masa (D) y la fuerza máxima de elongación requerida (FE). Es por esto que el incremento en el contenido de hidrocoloides o una disminución en la concentración de huevo en polvo genera también un aumento significativo de la fuerza al momento de ruptura, aunque el efecto del porcentaje de gomas tiene mucho mayor impacto. Por otra parte, con el aumento en el contenido de WPC o agua, tanto D como FE disminuyen.

Una conclusión similar se obtuvo mediante la metodología *stepwise* para hallar una superficie de respuesta. Sólo dos de las interacciones fueron significativas sobre la variable D , esto es, $G \times WPC$ y $G \times A$ (Tabla A.3-4)

En la Figura A.3-8 se muestran las superficies de respuesta correspondientes a la deformación máxima en un ensayo de elongación. Un elevado contenido de gomas se traduce en un incremento tanto de la fuerza de elongación como de su deformación asociada. Sin embargo, ambas variables decrecen cuando se aumenta el contenido de WPC, H o A, convirtiendo a la masa en un producto de baja elasticidad y más frágil.

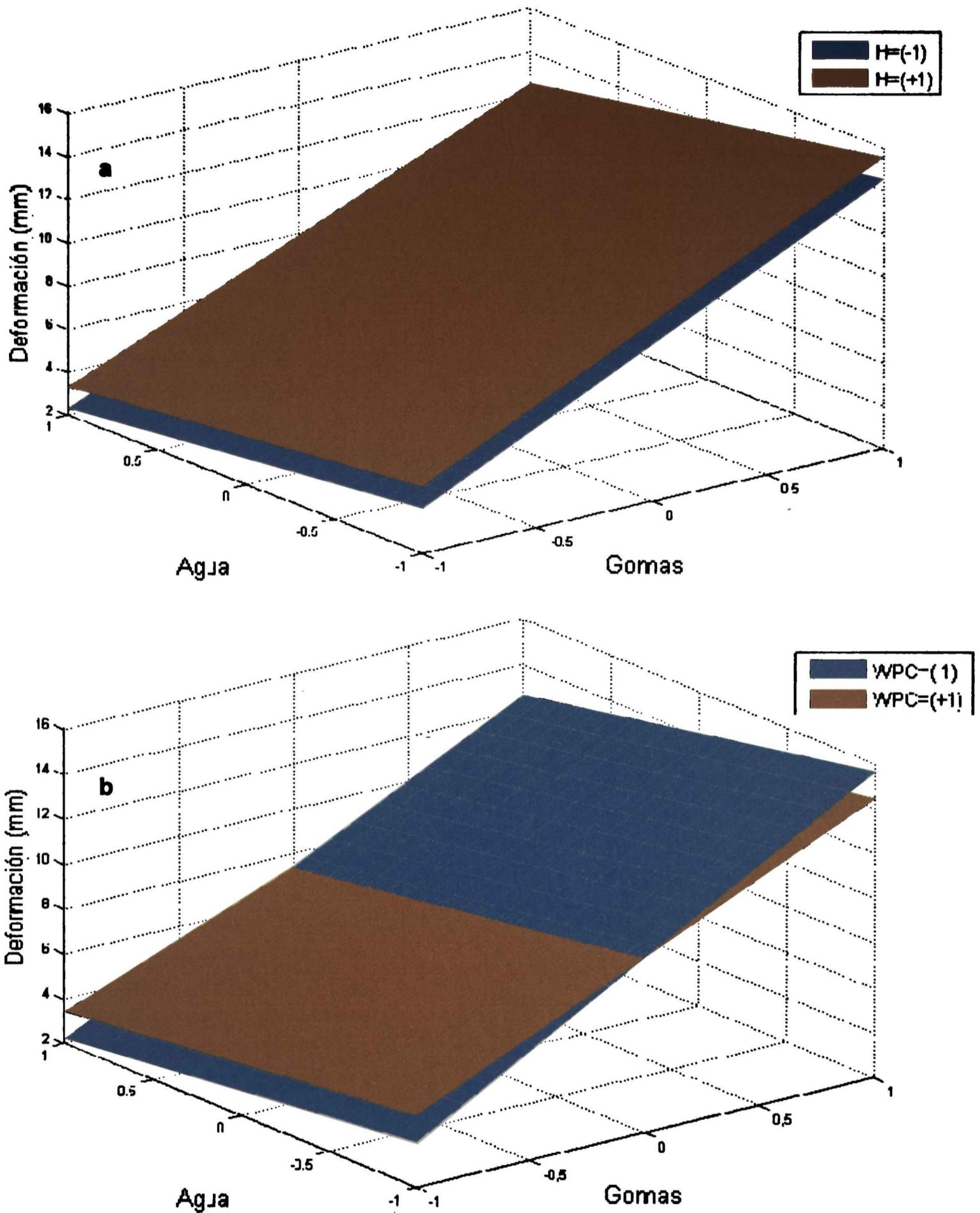


Figura A.3-8. Gráfico de superficies de respuesta para la deformación en un ensayo de elongación en función del contenido de agua y gomas. (a) Dos niveles diferentes de huevo en polvo a un contenido fijo de WPC (5%). (b) Dos niveles diferentes de WPC a un contenido fijo de huevo en polvo (5%).

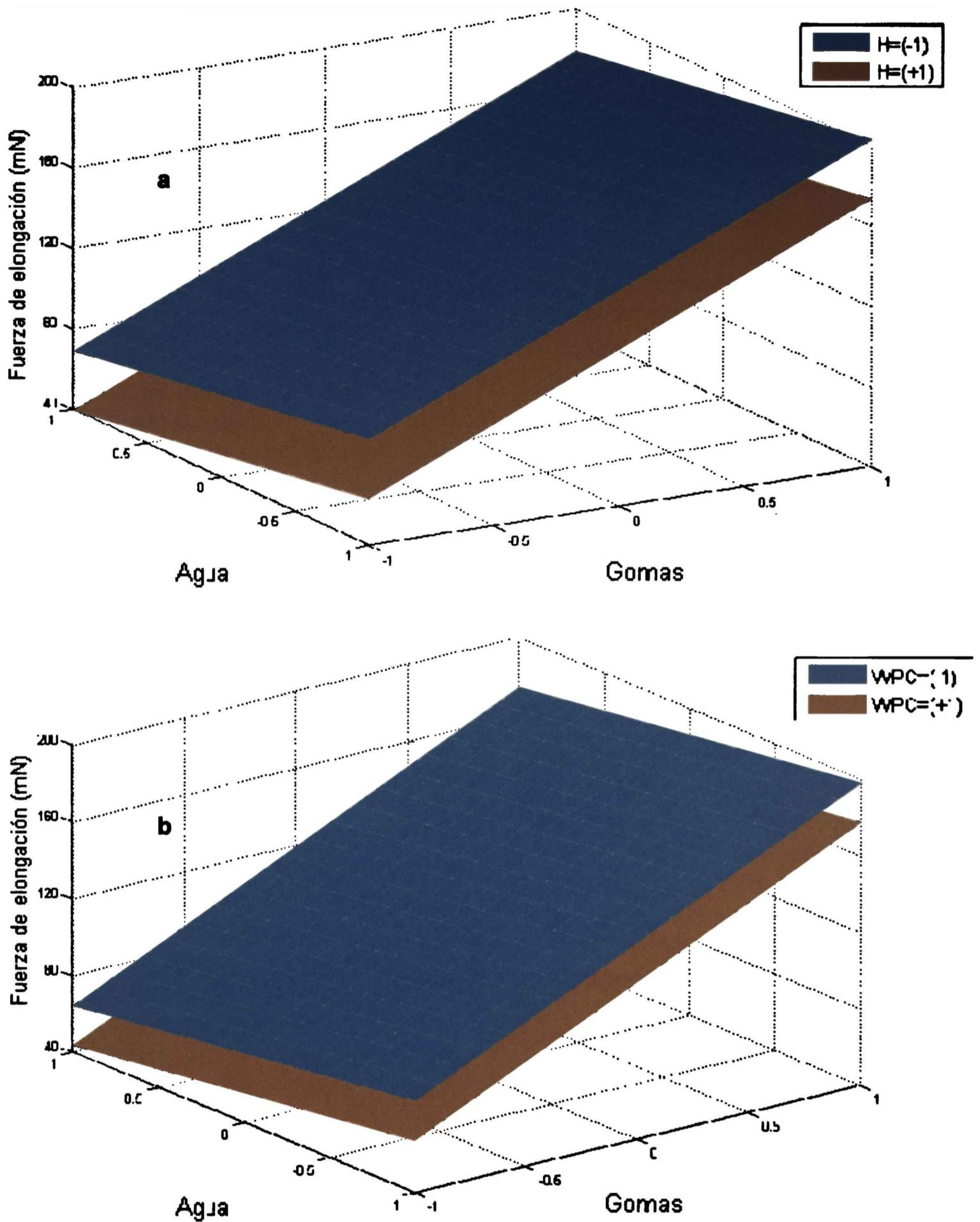


Figura A.3-9. Gráfico de superficies de respuesta para la fuerza máxima en un ensayo de elongación en función del contenido de agua y gomas. (a) Dos niveles diferentes de huevo en polvo a un contenido fijo de WPC (5%). (b) Dos niveles diferentes de WPC a un contenido fijo de huevo en polvo (5%).

A partir de los ensayos de punción y elongación es posible concluir que una combinación de gomas en el nivel +1 y agua en la menor concentración ensayada (nivel "-1") permite obtener masas fácilmente manipulables, capaces de resistir posibles desgarros que puedan ocurrir durante la elaboración industrial de este tipo de masas (formulaciones con elevadas fuerzas de punción). Dado que además presentan elevados valores de FE y D, las masas desarrolladas con esa combinación de niveles de agua e hidrocoloides resultarían adecuadas para resistir sin romperse el estiramiento que sufren durante la primera etapa de cocción debido a la expansión del aire y el vapor contenidos dentro de la empanada.

A.3.3.2. Análisis reológico

Los resultados de los ensayos oscilatorios de cizalla de pequeña amplitud fueron expresados en términos de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G''). Como se muestra en la Figura A.3-9, las curvas de los ensayos dinámicos resultaron cualitativamente similares para todas las formulaciones ensayadas. En todos los casos se observó a G' siempre mayor que G'' dentro del rango de frecuencias ensayados y con un leve incremento de los módulos con la frecuencia, mostrándose ambas curvas casi paralelas. Este resultado puede explicarse en términos de la interacción sinérgica de la goma xántica con los galactomananos reportada previamente por varios autores (Dea y col., 1977; Khouryieh y col., 2006). Shatwell y col. (1990) mostraron que las mezclas entre xántica y guar presentaban propiedades reológicas de una red entrelazada, aunque en presencia de muestras de xántica con bajo contenido de grupos acetilos las mezclas exhibían un mayor comportamiento del tipo gel.

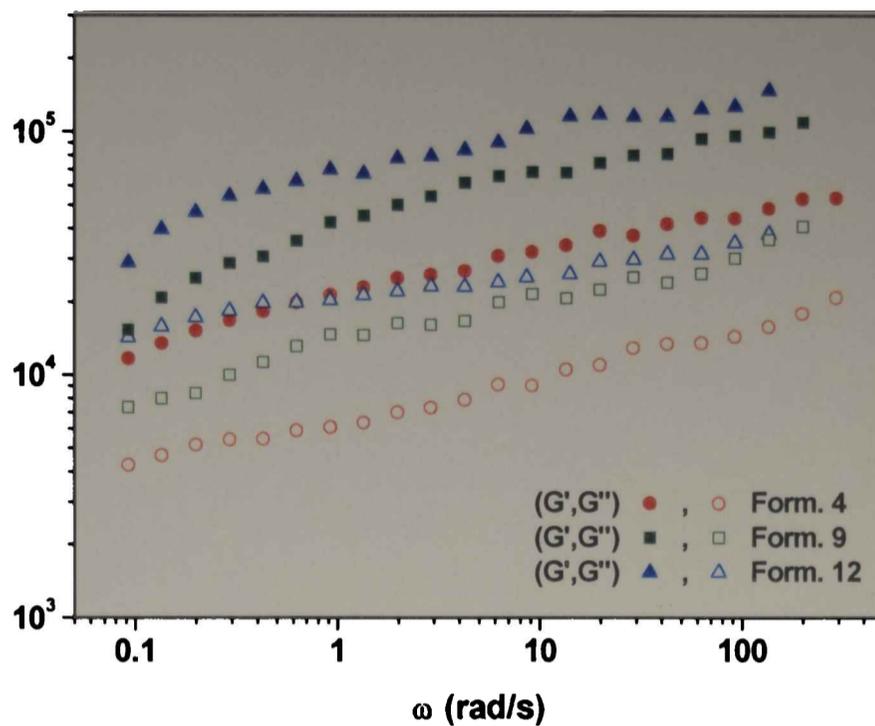


Figura A.3-10. Barridos de frecuencias para tres de las masas libres de gluten analizadas. La numeración de las formulaciones está codificada de acuerdo a la Tabla A.3-2.

Varios autores han reportado tendencias similares en masas desarrolladas con harina de trigo mostrando un crecimiento de los valores de G' y G'' con la frecuencia de oscilación (Agyare y col., 2004; Dreese y col., 1988; Kenny y col., 2001; Lefebvre y col., 2003; Ribotta y col., 2004). A partir de esto, puede verse que las masas estudiadas presentaron una respuesta predominantemente elástica, aunque en el rango de bajas frecuencias, las curvas de G' y G'' se aproximan entre sí (Figura A.3-10). Este comportamiento podría estar indicando una frecuencia de cruce de ambos módulos por debajo de 10^{-2} rad/s, lo cual implicaría que la recuperación de los esfuerzos a los que se sometió a la masa, resulta un proceso lento y la red formada no es completamente elástica. Se podría pensar a la estructura de la masa como un material compuesto formado por dos fases: una matriz y un material de relleno (o carga). En este caso, los gránulos de almidón probablemente actuaron como material de relleno inerte debido a que no podrían formar una red cohesiva (Aguilera y Rojas, 1996; Ravindra y col., 2004), mientras que las gomas xántica y guar conformarían la fase matriz que contenía a los gránulos.

El análisis de los barridos de frecuencias mostró que las características elásticas se incrementan (valores del módulo de almacenamiento más grandes) cuando la concentración de hidrocoloides aumenta o el porcentaje de agua disminuye, confirmando los resultados obtenidos mediante los ensayos de textura y en

concordancia con el comportamiento general observado en masas a base de harina de trigo (Berland y Launay, 1995)

Para cuantificar este comportamiento cualitativo observado, se decidió seguir la metodología propuesta por Bruno y Moresi (2005), basada en la extensión del modelo para entrecruzamientos poliméricos propuesta por Friedrich y Heymann (1988). Este modelo considera que la dependencia del módulo de relajación, $G(t)$, con el tiempo y el orden de relajación (α) presenta la forma:

$$G(t) = G_{\infty,\alpha} + \frac{S_{\alpha}^*}{\Gamma(1-\alpha)} t^{-\alpha} \exp(-t/\lambda_{\alpha}) \quad \text{Ec. A.3-2}$$

donde $\Gamma(1-\alpha)$ es la función gama, λ_{α} es el tiempo de relajación medio y $G_{\infty,\alpha}$ y S_{α}^* son, respectivamente, el módulo de equilibrio y un parámetro estructural del material asociado a la fuerza de los entrecruzamientos.

Dentro del rango de viscoelasticidad lineal, los módulos de almacenamiento y pérdida pueden vincularse con el módulo de relajación mediante (Ferry, 1980):

$$G'(\omega) = G_{\infty,\alpha} + \omega \int_0^{\infty} [G(t) - G_{\infty,\alpha}] \text{sen}(\omega t) dt \quad \text{Ec. A.3-3}$$

$$G''(\omega) = \omega \int_0^{\infty} [G(t) - G_{\infty,\alpha}] \text{cos}(\omega t) dt \quad \text{Ec. A.3-4}$$

Dichas ecuaciones pueden resolverse considerando el modelo propuesto en la Ec. A.3-2. Mediante integración, la dependencia analítica de G' y G'' con la frecuencia puede expresarse como (Friedrich y Heymann, 1988):

$$G'(\omega) = G_{\infty,\alpha} + \frac{2}{\pi} S_{\alpha}^* \lambda_{\alpha}^{-\alpha} (\omega \lambda_{\alpha}) \frac{\text{sen}[(1-\alpha)\arctan(\omega \lambda_{\alpha})]}{[1 + (\omega \lambda_{\alpha})^2]^{1-\alpha/2}} \quad \text{Ec. A.3-5}$$

$$G''(\omega) = \frac{2}{\pi} S_{\alpha}^* \lambda_{\alpha}^{-\alpha} (\omega \lambda_{\alpha}) \frac{\text{cos}[(1-\alpha)\arctan(\omega \lambda_{\alpha})]}{[1 + (\omega \lambda_{\alpha})^2]^{1-\alpha/2}} \quad \text{Ec. A.3-6}$$

Basándose en estas ecuaciones, Friedrich y Heymann (1988) demostraron que dentro del rango de altas frecuencias de oscilación o próximo al punto de gel (es decir, cuando $\omega\lambda_\alpha \rightarrow \infty$), las Ec. A.3-5 y A.3-6 se reducen a:

$$G'(\omega) = G_{\infty,\alpha} + \frac{2}{\pi} S_\alpha^* \cos\left(\frac{\pi}{2} \alpha\right) \omega^\alpha \quad \text{Ec. A.3-7}$$

$$G''(\omega) = \frac{2}{\pi} S_\alpha^* \sin\left(\frac{\pi}{2} \alpha\right) \omega^\alpha \quad \text{Ec. A.3-8}$$

Se observa que dentro de esa región, tanto el módulo viscoso como el elástico resultan independientes del tiempo de relajación λ_α . La tangente del ángulo de fase puede expresarse como:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} = \tan\left(\frac{\pi}{2} \alpha\right) \quad \text{Ec. A.3-9}$$

la cual es válida de manera exacta en el estado sol y en el punto de gelación. En el estado gel, esta expresión puede tomarse como válida dentro de rangos de frecuencia donde el módulo de equilibrio pueda considerarse despreciable. En principio, para las formulaciones estudiadas en esta tesis, se asumió que $G_{\infty,\alpha}$ resulta mucho más chico que G' , y de este modo la viscosidad dinámica compleja puede expresarse como:

$$\eta^* = \frac{G^*}{\omega} = \frac{\sqrt{G'^2 + G''^2}}{\omega} \approx A_\alpha \omega^{(\alpha-1)} \quad \text{Ec. A.3-10}$$

De este modo, las características viscoelásticas de las masas pueden ser descritas en términos del orden de relajación (α) y A_α ($A_\alpha = 2/\pi \cdot S_\alpha^*$), representando este último una medida de la fuerza de la red de entrecruzamientos.

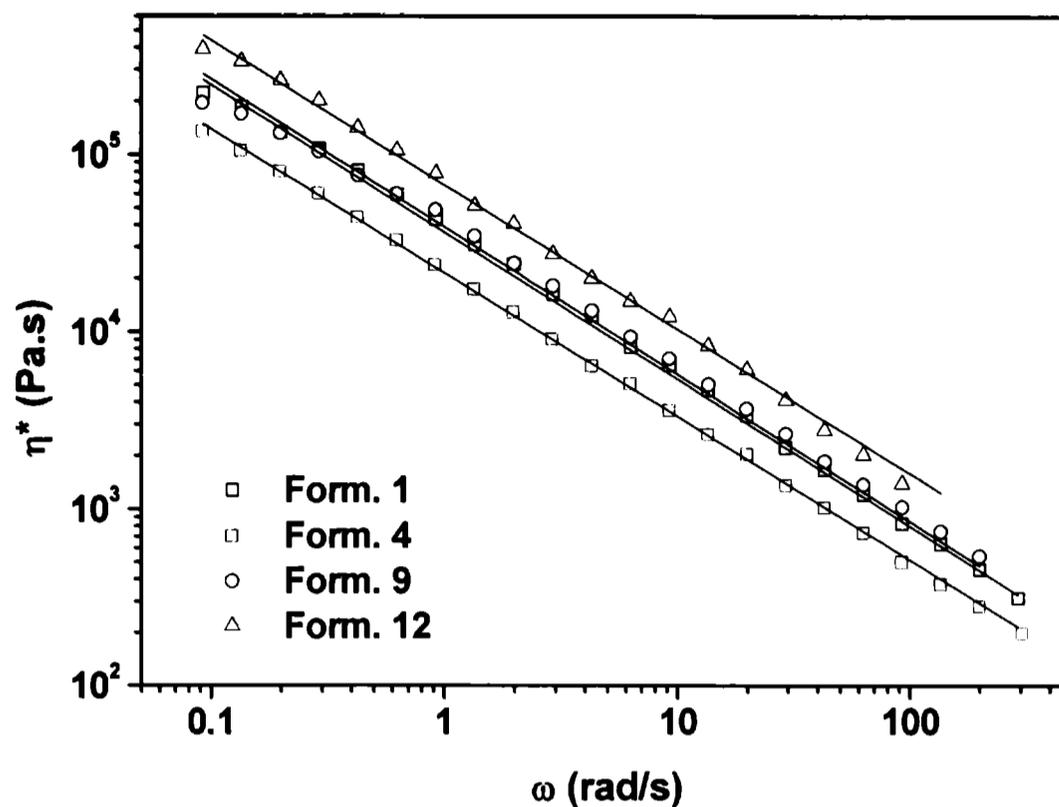


Figura A.3-11. Viscosidad compleja de cuatro masas no fermentadas libres de gluten. La numeración de las formulaciones está codificada de acuerdo a la Tabla A.3-2. En líneas rectas aparece el ajuste de las curvas con la Ec. A.3-10.

A modo de ejemplo, en la Figura A.3-11 se muestra la viscosidad compleja como función de la frecuencia de algunas de las formulaciones estudiadas. La viscosidad compleja se calculó a partir de los datos experimentales del espectro, y su dependencia con la frecuencia fue satisfactoriamente modelada mediante la Ec. A.3-10, como se muestra en la Figura A.3-11. A partir de los parámetros obtenidos se corroboró la aproximación realizada en el modelo propuesto ($G_{\infty, \alpha} \ll G'$). El cálculo de $\tan(\alpha\pi/2)$ y los valores experimentales de $\tan(\delta)$ condujeron a valores prácticamente coincidentes (~ 0.31), lo que confirma que la aproximación hecha resultó válida dentro del rango de frecuencias analizadas. Todas las masas mostraron un comportamiento pseudoplástico similar dentro del rango de frecuencias estudiado, lo que se vio reflejado en que no existan diferencias significativas entre los valores de α para todas las formulaciones ($P > 0.05$). Se obtuvo un valor promedio de $\alpha = 0.19$, lo que muestra una baja dependencia de ambos módulos con la frecuencia; esto se encuentra comúnmente asociado con muestras con comportamiento tipo gel (Steffe, 1996).

Tabla A.3-6. Valores promedio del parámetro de fuerza de los entrecruzamientos del material (A_α) como función de la composición de las masas.

| Nivel de gomas | Nivel de agua | A_α (Pa.s ^{α}) .10 ⁻³ |
|----------------|---------------|---|
| -1 | -1 | 32 ^a |
| -1 | +1 | 17 ^b |
| 0 | 0 | 39 ^{abc} |
| +1 | -1 | 54 ^c |
| +1 | +1 | 48 ^c |

El parámetro A_α de las masas presentó cambios significativos ($P < 0.05$) sólo con la concentración de agua e hidrocoloides. En la Tabla A.3-6 se muestran los valores promedio del parámetro de fuerza del material, determinado mediante la Ec. A.3-10, como función de la composición de las masas. El incremento en el contenido de hidrocoloides confiere mayor fuerza a los enlaces de la red, resultando de este modo un mayor valor de A_α . Este mismo efecto fue observado cuando el contenido de agua disminuyó, pero sólo en presencia de un bajo porcentaje de gomas (nivel -1). Cuando disminuye el contenido de agua disponible en el sistema, aumenta la concentración de hidrocoloides disperso en la matriz, conduciendo a incrementar también el valor de A_α . Bajo estas condiciones una mayor rigidez de la masa (esto es, una red polimérica más elástica) implicaría entrecruzamientos mas fuertes entre las moléculas de hidrocoloides que componen la matriz.

Se contrastaron los resultados experimentales obtenidos de los ensayos de punción y elongación (grandes deformaciones) con valores obtenidos a partir de los ensayos oscilatorios. Los parámetros texturales FP, FE y D se vincularon con los módulos de pérdida y almacenamiento obtenidos a una frecuencia específica de oscilación (1 Hz). A partir de esto, se observó una correlación positiva de ambos módulos tanto con FP como con FE ($P < 0.001$). A modo de ejemplo, en la Figura A.3-12 se muestran las relaciones lineales obtenidas para G' vs. FP y G' vs. FE.

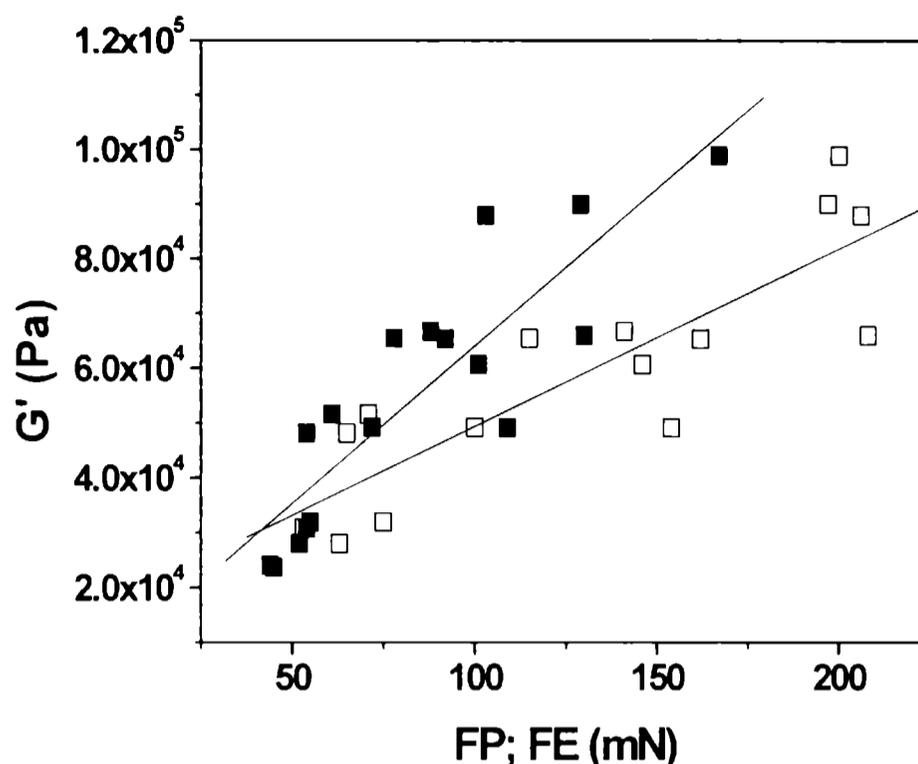


Figura A.3-12. Relación entre las características texturales de las masas sometidas a grandes deformaciones y las propiedades viscoelásticas. Fuerzas de punción (■) y elongación (□) vs. módulo almacenamiento (G') a 1 Hz (6.28 rad/s).

Los ensayos reológicos dinámicos y los ensayos mecánicos donde la muestra se somete a grandes deformaciones, son fundamentales para estudiar los cambios en las características del producto debido a las formulaciones. Los componentes principales (almidón, proteínas, hidrocoloides y agua) y sus interacciones juegan una función importante en la estructura conformacional así como en las propiedades reológicas de las masas (Shiau y Yeh, 2001).

La relación observada en la Figura A.3-12 demuestra como pueden combinarse las respuestas de ensayos reológicos de grandes y pequeñas deformaciones, relacionadas con la manipulación u otras propiedades de textura, y permitir establecer condiciones óptimas de procesamiento de las masas libres de gluten.

A.3.3.3. Determinación de la formulación óptima a partir de la función objetivo

El propósito del proceso de optimización es la selección, independientemente de la multiplicidad de soluciones potenciales, de la mejor solución con respecto a algún criterio bien definido. La elección de este criterio (función objetivo) es un paso

esencial en un estudio (Beveridge y Schechter, 1970). Una *función objetivo* es aquella que expresa el objetivo en términos de los factores del sistema y/o respuestas. La idea básica del enfoque de la función de conveniencia es transformar un problema de respuesta múltiple en un problema de respuesta única por medio de transformaciones matemáticas. Lowe (1967) propuso un procedimiento simple para formar funciones de conveniencia de respuestas múltiples.

La función de conveniencia (del inglés “desirability”), escrita $d_j(y_j)$, establece una relación funcional de la respuesta y_j con los factores o condiciones de operación, de tal manera que su rango es el intervalo $[0,1]$, proporcionando la mayor conveniencia cuando $d_j(y_j) = 1$ y la mínima conveniencia deseada (completamente indeseable) cuando $d_j(y_j) = 0$. En general, la conveniencia de cada respuesta debe ser mayor que cero como condición necesaria para establecer la conveniencia total de un sistema. En el intervalo $[0,1]$, la conveniencia puede tener, según el caso, una variación lineal o no lineal, dependiendo de las condiciones propias del producto y del proceso, que deberá ser previamente definida. Si (y_{jmin}, y_{jmax}) son mediciones de los valores más indeseables y más deseables de una respuesta “y”, respectivamente, y si se asume que la conveniencia se incrementa linealmente de y_{jmin} a y_{jmax} , entonces la conveniencia de la respuesta se calcula como (Derringer y Suich, 1980):

$$d_j = \begin{cases} 0 & ; & y_{jmin} > y_j \\ \frac{(y_j - y_{jmin})}{(y_{jmax} - y_{jmin})} & ; & y_{jmin} \leq y_j \leq y_{jmax} \\ 1 & ; & y_j > y_{jmax} \end{cases} \quad \text{Ec. A.3-11}$$

Hay varias formas en las cuales se pueden combinar las conveniencias individuales, una de ellas podría ser la media aritmética. Sin embargo, en la realidad existe una premisa básica: si una característica es tan pobre que no es conveniente el uso del producto, tal producto no debe ser aceptado, a pesar del resto de las características, es decir, una masa que presente extremadamente baja extensibilidad no puede ser considerada adecuada por más que su resistencia a la punción sea la correcta. La reacción del consumidor a un producto está basada en gran medida en las características menos deseables de dicho producto debido a que son un foco de problemas potenciales (Harrington, 1965). Es por esto que el modelo matemático

empleado es la media geométrica de los valores de conveniencia individuales (Harrington, 1965; Derriger y Suich, 1980):

$$D = \sqrt[k]{d_1 * d_2 * \dots * d_k} \quad \text{Ec. A.3-12}$$

El valor de D es el más alto en condiciones donde la combinación de los diferentes criterios a nivel global es óptima y será nulo si al menos uno de los atributos resulta completamente indeseable.

Una formulación de masas libres de gluten que permita la manipulación industrial sin romperse debe soportar elevadas tensiones y presentar buena extensibilidad (Bourne, 1982). Estas propiedades están asociadas con las fuerzas máximas en la punción y elongación y con la máxima deformación de los ensayos de extensibilidad. Estas variables fueron empleadas para encontrar la formulación óptima dentro de las composiciones analizadas.

En la Tabla A.3-7 se muestran los criterios de optimización para cada respuesta, el valor predicho para cada una y el valor de la función D (Ec. A.3-12). Se encontró que la composición óptima correspondió a la Formulación 12: agua 51.0 %, gomas 3.00 %, concentrado proteico de suero lácteo 6.50 % y huevo en polvo 3.50 % (Tabla A.3-1).

Tabla A.3-7. Parámetros de la optimización de masas no fermentadas libres de gluten.

| Variable | $Y_{j\min}$ | $Y_{j\max}$ | Respuesta predicha | D |
|------------------------|-------------|-------------|--------------------|-------------|
| Fuerza punción (mN) | 40.0 | 200 | 164.2 | |
| Fuerza elongación (mN) | 35.0 | 250 | 192.4 | 0.81 |
| Deformación (mm) | 1 | 15.0 | 13.90 | |

Dentro del rango de composiciones estudiadas, el contenido óptimo de agua fue el mínimo posible, mientras el porcentaje total de gomas (xántica y guar) fue el máximo. En las masa crudas, la mezcla de gomas xántica y guar, formaría la red tridimensional que da cohesividad al producto, mientras que el agua jugaría un doble papel: por un lado se comportaría como relleno inerte disminuyendo las características elásticas del sistema, pero también como lubricante y plastificante del sistema.

Contenidos muy bajos de agua (fuera del rango de medición) producen una masa quebradiza, imposible de laminar; a concentraciones muy altas, la masa es cohesiva, pero poco resistente. El contenido de WPC fue el más elevado, de modo de contribuir a la formación de la red tridimensional que contiene a los gránulos de almidón, mientras que el porcentaje de huevo en polvo fue el mínimo de modo de aumentar el agua disponible interactuar con las gomas xántica y guar, permitiendo formar así una red que conduzca a masas más resistentes.

A.3.4 CONCLUSIONES

Se lograron desarrollar masas en base a almidones e hidrocoloides que resultaron apropiadas para una producción industrial de este tipo de panificados aptos para enfermos celíacos.

Las formulaciones conteniendo porcentajes más altos de gomas y menor contenido acuoso fueron las más adecuadas en lo referente a su comportamiento reológico, mostrando cambios significativos en los parámetros estructurales. Ambos tipos de ensayos de textura (punción y elongación) condujeron a conclusiones similares que las obtenidas mediante el análisis de los resultados de los ensayos reológicos dinámicos.

Los parámetros de viscoelasticidad lineal (G' y G'') fueron satisfactoriamente correlacionados con las variables características de ensayos de grandes deformaciones (extensibilidad y punción).

A partir del método de optimización multivariable de la Función Objetivo se logró encontrar la formulación adecuada dentro del rango de composiciones analizadas.

A.4 Efecto de distintos hidrocoloides y de la fase lipídica en las características reológicas y texturales de masas no levadas aptas para celíacos

A.4.1 INTRODUCCIÓN

Las hidroxipropilmetilcelulosas (HPMC) son derivados de la celulosa, la sustancia orgánica más abundante en la naturaleza. Poseen sustituyentes hidrofóbicos que le permiten comportarse como surfactante en la interfase aire-agua y aceite-agua, característica que presentan muy pocos polisacáridos. Se ha encontrado que la HPMC es más activa superficialmente que las proteínas lácteas (Arbolea y Wilde, 2005; Mezdour y col, 2007; Pérez, y col., 2007), pero existen en la bibliografía muy pocos estudios acerca de su comportamiento en la interfase aceite-agua. Ha sido ampliamente utilizada en la industria farmacéutica como adsorbente de drogas y en su liberación controlada. En la industria de alimentos las hidroxipropilmetilcelulosas son empleadas en una gran gama de productos alimenticios. Los productos basados en proteínas frecuentemente necesitan estabilizantes para prolongar su vida útil durante el almacenamiento a temperatura ambiente o bajo refrigeración; estos polisacáridos pueden ser agregados para lograr dicho objetivo (Coffey y col, 1995). Actualmente existe una fuerte tendencia en la industria hacia la producción de alimentos reducidos en calorías, esto resulta en una nueva aplicación de HPMC ya que este polisacárido imparte buenas características de textura (Maikki y col, 1993). En particular las HPMC, son interfacialmente activas y ofrecen la posibilidad de imitar la textura de los lípidos en estos productos. La inclusión de HPMC en la industria de los panificados también ha resultado satisfactoria, mostrando mejoras en el volumen específico y la textura de los panes (Armero y Collar, 1999; Guarda y col., 2004; Rosell y col., 2001), debido a la ya mencionada capacidad para actuar como emulsificante, de fortalecer las paredes de las celdas que atrapan el CO₂ y de incrementar la retención de humedad (Bárcenas y Rosell, 2006; Sarkar y Walker, 1995). También se ha encontrado que el uso de HPMC afecta la gelatinización del almidón y sus propiedades viscoelásticas, aunque el

efecto logrado depende de la concentración empleada (Bárcenas y col., 2009). Se ha registrado también la utilización de HPMC en la formulación de productos panificados sin harina de trigo, apta para celíacos (Kobyłański y col., 2004), lo que la identifica como una interesante alternativa en el desarrollo de masas no levadas libres de gluten.

La fase lipídica en los productos panificados o de pastelería juega un papel importante como lubricante de las masas contribuyendo a su plasticidad e impartiendo los atributos sensoriales y de calidad esperados por el consumidor. La inclusión de margarinas en el desarrollo de panificados contribuye a estabilizar las celdas de aire formadas durante el mezclado y a facilitar su manipulación durante la producción (Given, 1994). Baltsavias y col. (1997) mostraron que el tipo y concentración de fase grasa empleado en la producción de panes tiene un gran efecto sobre sus propiedades viscoelásticas, observando una marcada reducción en la rigidez de las masas con el reemplazo de margarina por una fase lipídica líquida. El tipo de fases grasas empleadas en los panificados abarca un rango que va desde aceites líquidos hasta grasas con elevados puntos de fusión, contribuyendo a una gran diversidad de propiedades reológicas en el producto final.

Es este capítulo se examinarán los cambios producidos en las atributos reológicos y estructurales cuando se emplean distintos hidrocoloides (hidroxipropilmetilcelulosa, mezcla de gomas xántica y guar, y mezcla de goma xántica con HPMC) y tres tipos diferentes de fases lipídicas (aceite de girasol, margarinas de alto y bajo contenido de sólidos).

A.4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

A.4.2.1. Materiales utilizados

Se utilizó almidón de maíz obtenido de Unilever de Argentina S.A. (Argentina), con un porcentaje de humedad de 12.5% y un 0.3% de proteínas. El almidón de mandioca empleado (14% humedad y 0.2% proteínas) fue adquirido de Indecar S.A. (Argentina). El aceite comercial 100% girasol (Molinos Río de La Plata SACIFI, Buenos Aires) empleado o la margarina comercial (Flora-Danica S.A., Argentina), fueron adquiridos en un supermercado local y sin ningún tratamiento posterior. CALSA, Argentina proveyó la margarina con alto contenido de grasas (para usos industriales) que se utilizó en algunas formulaciones. Los hidrocoloides empleados para estos

ensayos fueron goma xántica y goma guar, adquiridos de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), de Methocell E4M (The Dow Chemical Company, Michigan), todos de grado comestible. Arla Food Ingredients S.A. (Argentina) proporcionó la proteína de suero lácteo concentrada (80% proteína) con la cual se desarrollaron las masas formuladas. Se utilizó huevo en polvo (6% humedad y 38% lípidos) suministrado por Tecnovo S.A. (Argentina) y NaCl de grado analítico. En todas las formulaciones se empleó agua destilada y 1% etanol como agente de preservación.

A.4.2.2. Preparación de la muestras

La formulación básica considerada en el desarrollo de las masas fue una mezcla de almidones de maíz y mandioca en proporción 2:1, un contenido total de hidrocoloides de 3% y de proteínas de 10%, que incluyen 3.5% de huevo en polvo y 6.5% de concentrado de suero lácteo (WPC). Un 2% de NaCl, agua y una fase lipídica determinada completan la formulación base, donde los porcentajes están dados en g/100 g de almidón total. El proceso de elaboración es equivalente al descrito en el capítulo A.3, hasta obtener una masa de 2 mm de espesor.

A.4.2.2.1. Efecto de los hidrocoloides

Se estudió la influencia del tipo de hidrocoloides en las características reológicas de las masas formuladas. Para esto se eligieron tres combinaciones de hidrocoloides: Hidroxipropilmetilcelulosa (H) y mezclas de gomas xántica/guar (7:3) y xántica/HPMC (3:2). En todos los casos, el porcentaje total de hidrocoloides se mantuvo constante en 3% y las formulaciones fueron elaboradas con 20% de aceite de girasol y 51% de agua destilada (Tabla A.4-1)

Tabla A.4-1. Formulaciones ensayadas para estudiar el efecto del tipo de hidrocoloides empleados en la formulación de masas libres de gluten

| Formulación | Almidones | Hidrocoloides (3 g/100g almidón) | Fase grasa | |
|-------------|---------------|-------------------------------------|------------|-------------------|
| | | | Tipo | (g/ 100g almidón) |
| XGSO20 | Maíz/Mandioca | Xántica/guar | aceite | 20 |
| HSO20 | | HMPC | | |
| XHSO20 | | Xántica/HPMC | | |

A.4.2.2.2. Efecto de la fase lipídica

Para estudiar el efecto de la fase lipídica sobre las características texturales de las masas, se consideraron tres tipos de materia grasa: aceite de girasol, margarina de alto contenido de sólidos (empleada a nivel industrial) y margarina comercial (con bajo contenido de sólidos). En la Tabla A.4-2 se muestra la composición de las tres fases lipídicas ensayadas.

Tabla A.4-2. Perfil de ácidos grasos en las tres fases lipídicas ensayadas.

| | Margarina Industrial | Margarina Comercial | Aceite de Girasol |
|------------------------------|----------------------|---------------------|-------------------|
| <i>Láurico (12:0)</i> | ND | ND | 0.50 |
| <i>Mirístico (14:0)</i> | 3.20 | 0.12 | 0.20 |
| <i>Miristoleico (14:1)</i> | 0.90 | ND | ND |
| <i>Pentadecanoico (15:0)</i> | 0.80 | ND | ND |
| <i>Pentadecenoico (15:1)</i> | 0.30 | ND | ND |
| <i>Palmitico (16:0)</i> | 26.50 | 11.05 | 6.80 |
| <i>Palmitoleico (16:1)</i> | 3.30 | 0.70 | 0.10 |
| <i>Margarico (17:0)</i> | 1.60 | 0.13 | ND |
| <i>Margaroleico (17:1)</i> | 0.50 | 0.03 | ND |
| <i>Stearico (18:0)</i> | 26.20 | 8.87 | 4.70 |
| <i>Elaidico (18:1t)</i> | 4.10 | 36.27 | ND |
| <i>Oleico (18:1c)</i> | 29.30 | 24.59 | 18.60 |
| <i>Linoleico (18:2)</i> | 2.20 | 15.85 | 68.20 |
| <i>Linolénico (18:3)</i> | 0.50 | 2.05 | 0.50 |
| <i>Araquídico (20:0)</i> | 0.20 | 0.40 | 0.40 |
| <i>Gadoleico (20:1)</i> | ND | 0.09 | 1.00 |
| <i>Behenico (22:0)</i> | 0.40 | 0.38 | ND |
| <i>Lignocerico (24:0)</i> | ND | 0.11 | ND |

ND: No - Detectado

El contenido de fase grasa fue estudiado a dos niveles: 20% y 30%. Con el objeto de analizar posibles interacciones, el estudio se llevó a cabo considerando dos mezclas de hidrocoloides diferentes como se muestra en la Tabla A.4-3. El contenido de agua en la masa fue modificado en función del contenido de aceite, de modo de mantener constante la suma de los porcentajes de agua y fase lipídica.

Tabla A.4-3. Composición de las formulaciones estudiadas con distintos tipos y concentraciones de fases grasas.

| Formulación | Almidones | Hidrocoloides | Fase grasa | |
|-------------|---------------|---------------|----------------------|----|
| | | | Tipo | % |
| XGSO20 | Maíz/Mandioca | Xántica/guar | Aceite | 20 |
| XGSO30 | | | | 30 |
| XGRM20 | | | Margarina Comercial | 20 |
| XGRM30 | | | | 30 |
| XGIM20 | | | Margarina Industrial | 20 |
| XGIM30 | | | | 30 |
| XHSO20 | | Xántica/HPMC | Aceite | 20 |
| XHSO30 | | | | 30 |
| XHRM20 | | | Margarina Comercial | 20 |
| XHRM30 | | | | 30 |
| XHIM20 | | | Margarina Industrial | 20 |
| XHIM30 | | | | 30 |

A.4.2.3. Determinación del contenido de grasas totales

Los equipos basados en la resonancia magnética nuclear (RMN) utilizan las interacciones entre ondas de radio y el núcleo de los átomos de hidrógeno para obtener información sobre las propiedades del material en estudio, como una partícula en suspensión o las gotas de una emulsión (McClements, 1999).

Básicamente, la muestra se coloca en un gradiente de campo magnético estático y una serie de pulsos de radiofrecuencias son aplicados. Estos pulsos pueden causar que algunos de los núcleos de hidrogeno de la muestra se exciten a niveles de energía más altos, lo que lleva a la generación de señales de NMR detectables. La amplitud de la señal depende del movimiento del núcleo. La frecuencia, amplitud y tiempo de decaimiento de la señal dependen de la relación sólido/ líquido en la muestra.

Se utilizó un equipo Bruker PC 120 Minispec de resonancia magnética nuclear por pulsos (RMN), con un campo magnético 0.47 T operando a una resonancia y frecuencia de 20 MHz (Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Germany) y a 20°C. Las muestras fueron previamente fundidas a 80°C durante 30 min, colocándose las luego en tubos de vidrio de 10 mm de diámetro a esa temperatura y finalmente termostatizada a 20°C durante 30 min (temperatura del ensayo). Las

señales de decaimiento fueron ajustadas con una exponencial simple (AOCS 16b-93, Martini y Herrera, 2000; Puppo y col., 2002)

A.4.2.4. Análisis texturales

Los ensayos de textura se realizaron en un TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Reino Unido). En todos los ensayos se consideraron al menos seis replicados, utilizando especímenes diferentes, con el fin de reducir la dispersión de los resultados. En todos los casos se informaron los valores medios de cada medida.

A.4.2.4.1. Ensayos de punción sobre muestras crudas

Sobre discos de masa cruda de 40 mm de diámetro y 2 mm de espesor se realizaron los ensayos de punción. Se empleó una sonda de 2 mm de diámetro y una velocidad de descenso de 1 mm/s. Se registró la fuerza máxima necesaria para producir la ruptura de las muestras (FP).

A.4.2.4.2. Ensayos de elongación

Para estos ensayos se utilizó un sistema de mordazas A/TG. Las muestras fueron estiradas a una velocidad de 0.5 mm/s obteniéndose de este modo las curvas de fuerza necesaria para producir el estiramiento (N) vs. deformación producida sobre la muestra (mm.). La fuerza máxima de ruptura por elongación (N) y la deformación en la ruptura se obtuvieron a partir de dichas curvas. Tomando como base la norma ASTM D638, las muestras fueron cortadas en forma de "hueso" para llevar a cabo los ensayos de elongación. Las dimensiones consideradas son las que se muestran en la Figura A.4-1.

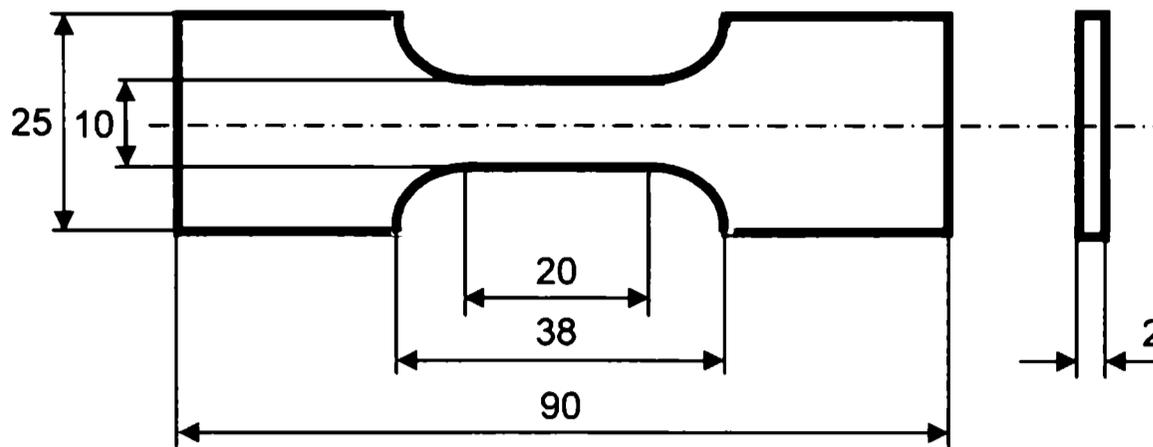


Figura A.4-1. Forma empleada en los especímenes de masa empleada en los ensayos de elongación. Las dimensiones están dadas en milímetros.

A.4.2.5. Análisis reológicos

Sobre discos de masa crudos se realizaron ensayos oscilatorios de pequeña amplitud para evaluar la dependencia de los módulos elástico (G') y viscoso (G'') con la frecuencia de oscilación. Se utilizó para todos los ensayos una geometría de platos paralelos de 35 milímetros de diámetro con un espaciado entre platos de 1.6 mm. La frecuencia de oscilación varió desde 0.09 hasta 130 rad/s, manteniendo una temperatura constante de la muestra de 20°C. Previamente se realizaron barridos de esfuerzo entre 0.5 y 100 Pa, manteniendo fija la frecuencia de oscilación en 6.28 rad/s, para determinar el rango de viscoelasticidad lineal. Las condiciones de ensayo fueron explicadas con mayor detalle en el capítulo A.3.

A.4.2.6. Microscopía electrónica ambiental de barrido (ESEM)

Se utilizó un microscopio ambiental electrónico de barrido Phillips-Electroscan 2010 (Phillip-Electroscan, Holanda) para examinar la superficie de las masas. En todas las formulaciones analizadas se observaron muestras de masa cruda y cocida.

A.4.2.7. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL). Se realizaron análisis de varianzas (ANAVA) por separado para los resultados de punción, elongación y ensayos oscilatorios. El tipo de hidrocoloides o el tipo y contenido de fase lipídica fueron los factores analizados. Se eligió el test de Bonferroni para realizar las comparaciones pareadas simultáneas. Tanto para las comparaciones de medias como para los ensayos "F", las diferencias

se consideraron significativas cuando $P < 0.05$. En el capítulo se reporta cada media como su valor medio \pm el error estándar de la media.

A.4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como formulación básica se adoptó la que surgió de la optimización desarrollada en el capítulo A.3. La composición inicial utilizada fue: 3% de gomas, 3.5% de huevo en polvo, 6.5% de concentrado proteico de suero lácteo (WPC) 20% de aceite y 51% de agua.

A.4.3.1. Efecto de los hidrocoloides en la reología de las masas

En la micrografía de la Figura A.4-2, se observa la microestructura de una masa formulada con una mezcla de xántica/HPMC (formulación XHSO20, de acuerdo a la Tabla A.4-1) a modo de ejemplo. La micrografías no mostraron diferencias entre las formulaciones elaboradas con distintos hidrocoloides, en todos los casos se observó cualitativamente la misma configuración. La estructura general de las masas se vio contenida por una red continua formada por los hidrocoloides donde los gránulos de almidón de maíz y mandioca se ordenaron de manera aleatoria sin mostrar en ningún caso agrupamientos de uno u otro almidón, lo que muestra la homogeneidad de la matriz observada.

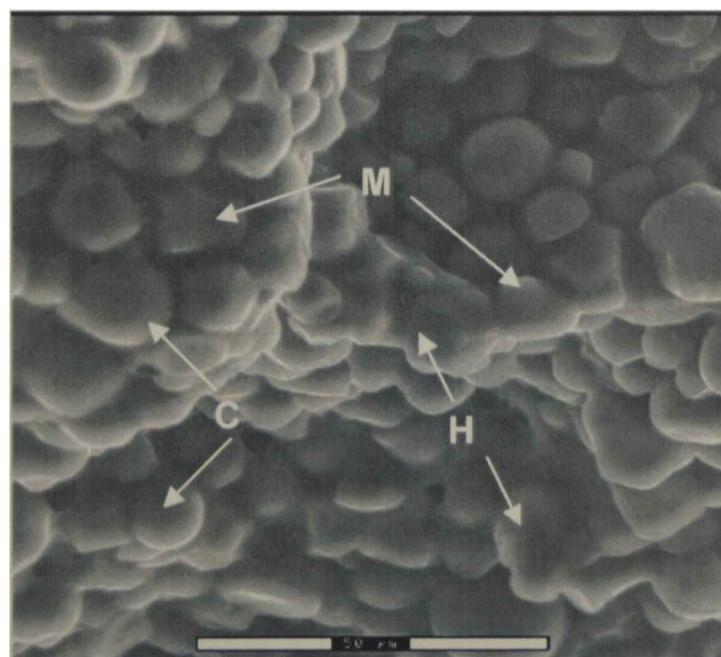


Figura A.4-2. Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de barrido ambiental de una masa formulada con 20% de aceite de girasol y una mezcla de xántica/HPMC (barra = 50 μm) C = almidón de mandioca; M = almidón de maíz; H = red de hidrocoloides.

La Figura A.4-3 muestra los resultados de los análisis texturales (punción y elongación) a los que se sometieron masas elaboradas con distintos tipos de hidrocoloides, esto es, HPMC y combinaciones de xántica/guar y xántica/HPMC. Cada curva mostrada corresponde a la media de seis replicados.

Lo que puede observarse es que aquellas formulaciones elaboradas con mezclas de xántica/guar exhibieron los mismos valores medios de FP (366 mN) y FE (297 mN) que las masas producidas con xántica/HPMC. Sin embargo, en aquellos casos donde la matriz de hidrocoloides sólo estaba formada por HPMC las masas reportaron valores fuerzas de ruptura y deformación máxima que fueron extremadamente bajos (104 mN, 77 mN, y 7 mm, para FP, FE y D, respectivamente). La elevada fragilidad que mostró este tipo de masas la convierte en un producto inadecuado para su elaboración industrial, debido a las grandes tensiones de estiramiento a las que debería ser sometida durante la manipulación y elaboración de los discos de masa. La falta de resistencia mostrada por la estructura de la muestra HSO20 podría además conducir a deficiencias durante el horneado de las empanadas, como derrames o grietas, lo que implicaría una pérdida en la calidad del producto final.

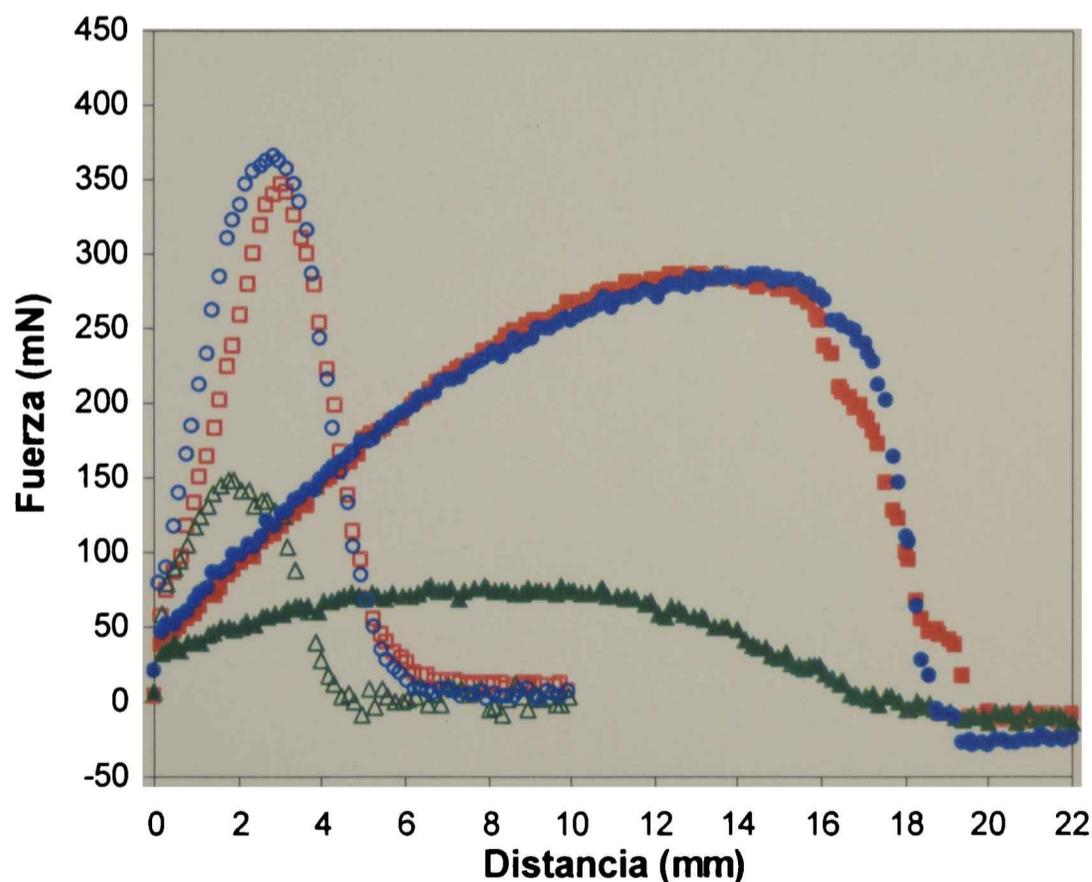


Figura A.4-3. Efecto del tipo de hidrocoloides empleado en la textura de las masas: Ensayos de punción (símbolos abiertos) y elongación (símbolos llenos). Mezcla de xántica/guar (■ ■); HPMC (▲ ▲), y mezcla de xántica/HPMC (● ●).

Como material de referencia se tomaron discos de masas elaboradas a base de harina de trigo, adquiridos comercialmente y se los sometió al mismo tipo de ensayos que las muestras libres de gluten desarrolladas en el laboratorio. Los valores obtenidos para cada ensayo fueron FE=344mN (SEM: 9.9) and FP=325 mN (SEM: 16.6), lo que permite observar una concordancia con los valores obtenidos en las muestras XGSO20 y XHSO20, siendo sin embargo mucho mayores que los observados en las masas desarrolladas únicamente con hidroxipropilmetilcelulosa.

Las características viscoelásticas de las masas libres de gluten, se estudiaron mediante ensayos oscilatorios, previa determinación del rango de viscoelasticidad lineal (LVR) mediante ensayos de barrido de esfuerzos. En ninguno de los casos el esfuerzo de corte dentro del LVR superó los 40 Pa, lo que equivale a deformaciones por debajo del 0.1%. A partir de dicho esfuerzo de corte, la estructura de las masas se ve alterada apartándose de la proporcionalidad entre el esfuerzo y la deformación. De manera similar, se ha observado que masas desarrolladas a base de harina de trigo exhibieron un comportamiento viscoelástico lineal en el rango de deformaciones inferiores a 0.1% (Phan-Thien y Safari-Ardi, 1998; Safari-Ardi y Phan-Thien, 1998; Weipert, 1990).

En la Figura A.4-4 se muestran los resultados de los barridos de frecuencias realizados sobre las masas formuladas con distintos hidrocoloides. Las curvas presentaron un comportamiento cualitativamente similar, mostrando un módulo de almacenamiento por encima del módulo de pérdida en todo el rango de frecuencias medidas y una baja dependencia de ambos módulos con la frecuencia, lo que sugieren que las muestras libre de gluten presentan un comportamiento del tipo sólido elástico. La baja dependencia observada del módulo elástico (G') con la frecuencia puede determinarse mediante el exponente de la ley de la potencia aplicada a dicho módulo ($G' = a \cdot \omega^b$). En todas las formulaciones analizadas este coeficiente (b) estuvo por debajo de 0.2, corroborando la dependencia poco pronunciada que se observó previamente. Este comportamiento en sistemas poliméricos es característico de una estructura tridimensional tipo gel, ocasionada por los entrecruzamientos de los hidrocoloides presentes en la formulación de la masa. Comportamientos similares en ensayos dinámicos oscilatorios se han observado en masas a base de harina de trigo (Baltsavias y col., 1997; Dobraszczczyk y Morgenstern, 2003; Edwards y col., 2003;

Weipert, 1990), como así también en masas a base de harina de arroz con y sin el agregado de HPMC como aditivo (Gujral y col., 2003; Sivaramakrishnan y col., 2004).

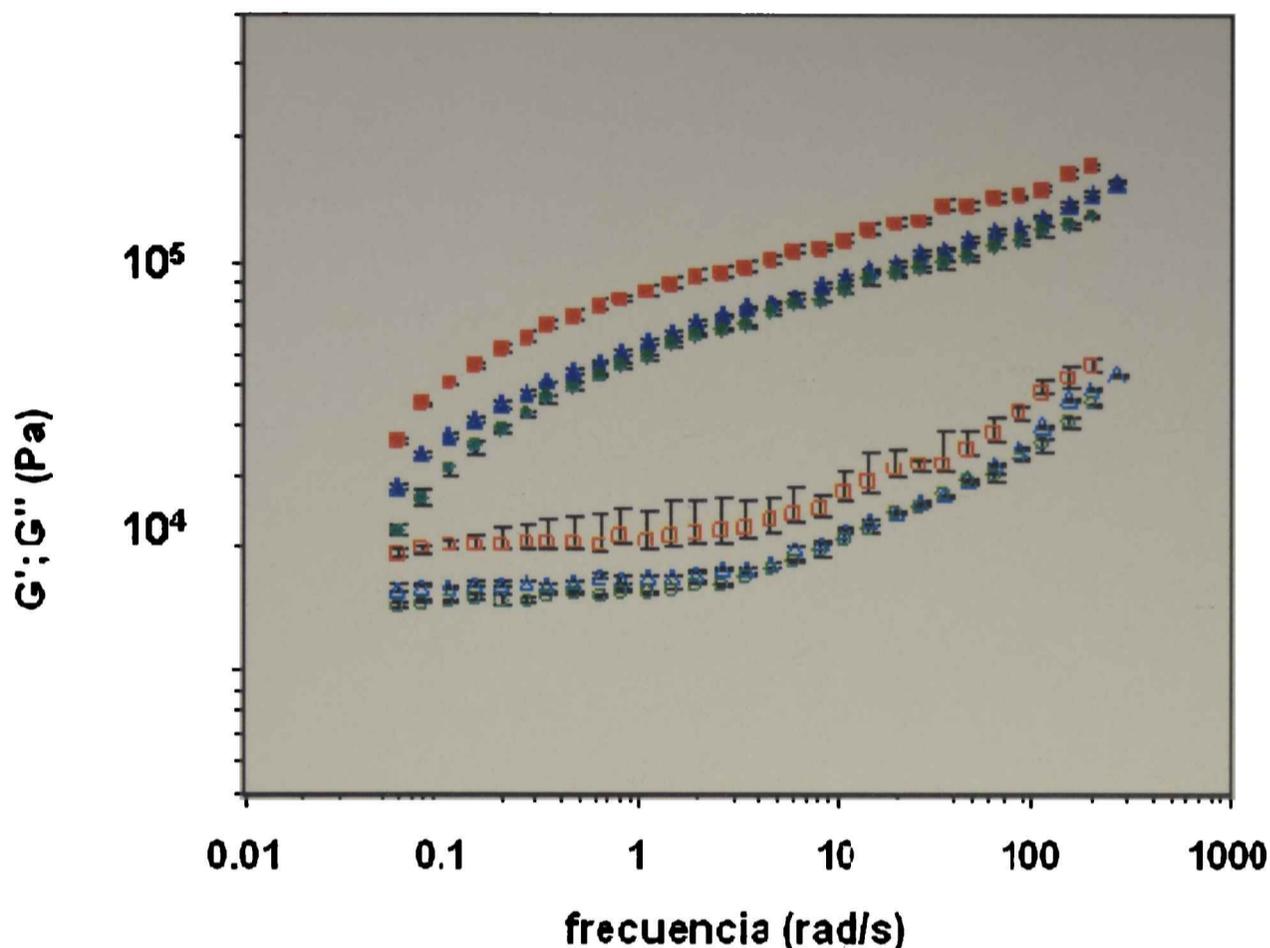


Figura A.4-4. Efecto del tipo de hidrocoloide en la reología de las masas: módulos de almacenamiento (G' , símbolos llenos) y pérdida (G'' , símbolos vacíos) vs. frecuencia (ω). Mezcla xántica/guar (■ □); HPMC (● ○), y xántica/HPMC (▲ △). Los valores están expresados como media \pm error estándar de la media.

Cuando se comparan los diferentes hidrocoloides empleados, las formulaciones conteniendo xántica/guar presentaron valores de ambos módulos significativamente superiores ($P < 0.05$) a aquellos obtenidos con las formulaciones que incluyeron HPMC, ya sea como único componente de la matriz de hidrocoloides o en combinación con goma xántica. Guarda y col. (2004) detectaron una mayor absorción de agua en los panes a base de harina de trigo cuando se les agregaba HPMC en lugar de goma xántica. Este efecto ha sido atribuido a los grupos hidroxilos presentes en la estructura del hidrocoloide, lo que le permite una mayor retención de agua a través de las interacciones por puentes de hidrógeno (Rosell y col., 2001). La disminución de los módulos G' y G'' en las formulaciones desarrolladas con HPMC,

como así también los valores observados de FP y FE, pueden atribuirse a este fenómeno de ablandamiento de las masas.

A.4.3.2. Efecto de la fase lipídica en la reología de las masas

Para evaluar el efecto del tipo y contenido de fase lipídica se consideraron sólo aquellas formulaciones que presentaron atributos reológicos adecuados para su producción industrial en la sección A.4.3.1, es decir, aquellas formulaciones desarrolladas con mezclas de xántica/guar y xántica/HPMC.

La observación microscópica de las diferentes formulaciones ensayadas no mostró diferencias en la estructura de las masas cuando las mismas contenían diferentes tipos de fases grasas. En la Figura A.4-5 se observa la comparación de dos muestras formuladas con la misma combinación de hidrocoloides (xántica/HPMC) donde se emplearon dos fases grasas diferentes (aceite de girasol y margarina de alto contenido de sólidos). En ambas micrografías la estructura aparece homogénea sin mostrar indicios de una contribución significativa de la fase grasa en la matriz que contiene los gránulos de almidón.

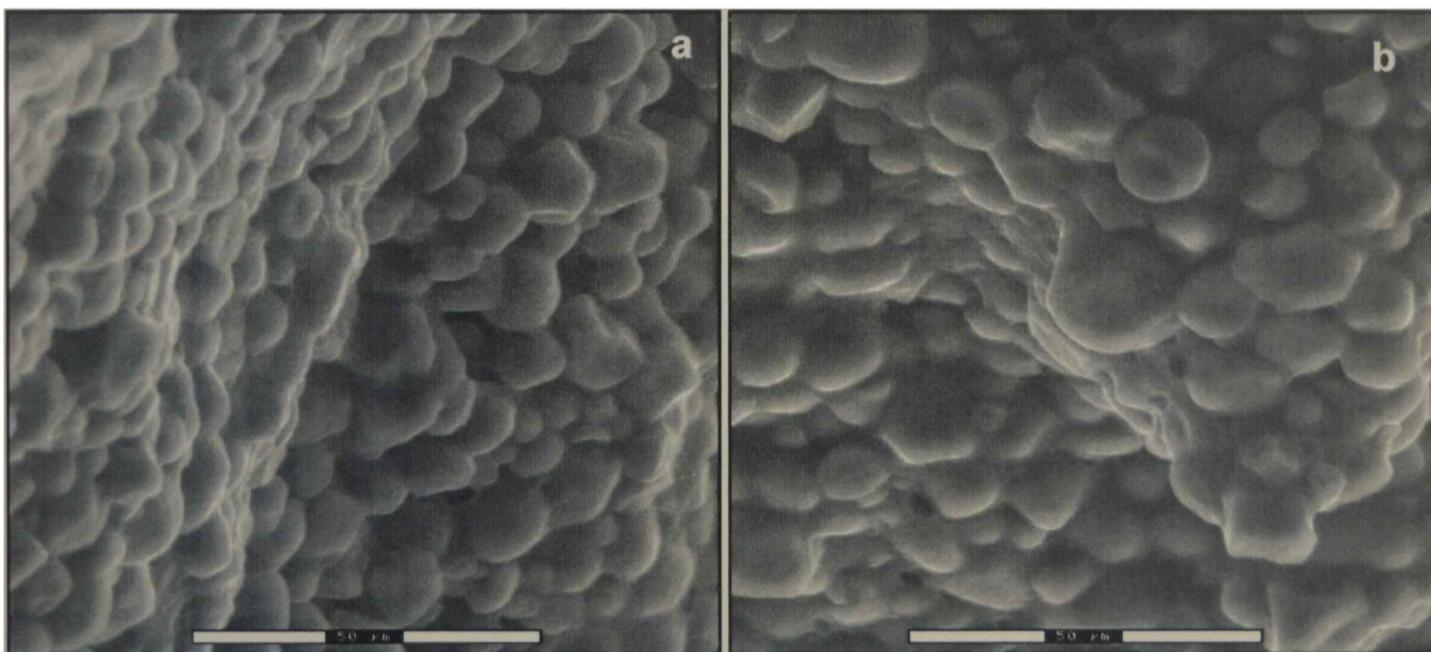


Figura A.4-5. Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de barrido ambiental de dos masas formuladas con una mezcla xántica/guar y un 20% de (a) aceite de girasol (b) margarina de alto contenido de sólidos (barras = 50 μm).

En la Tabla A.4-4 se muestran las fuerzas máximas de punción y elongación, junto con la máxima deformación alcanzada, para todas las formulaciones ensayadas.

Los ensayos texturales no señalaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las dos mezclas de gomas empleadas para ninguna de las fases lipídicas utilizadas..

Tabla A.4-4. Resultados de los ensayos de textura para las formulaciones ensayadas. FP, FE: fuerzas máximas de punción y elongación, respectivamente, D: deformación máxima en ensayo de elongación (Formulaciones codificadas de acuerdo a la Tabla A.4-3)

| Formulación | FP(mN) | FE(mN) | D(mm) |
|-------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| XGSO20 | 357 ^{agh} | 294 ^{aef} | 14.13 ^{aef} |
| XGSO30 | 104 ^b | 77 ^b | 7.30 ^{bc} |
| XGRM20 | 285 ^{cde} | 211 ^{cd} | 9.49 ^{bcd} |
| XGRM30 | 315 ^{cdh} | 227 ^{cde} | 7.72 ^{bc} |
| XGIM20 | 262 ^{ce} | 284 ^{aef} | 10.82 ^{cdf} |
| XGIM30 | 413 ^{fg} | 255 ^{ade} | 16.33 ^{ae} |
| XHSO20 | 376 ^{afgh} | 301 ^{af} | 14.62 ^{aef} |
| XHSO30 | 117 ^b | 80 ^b | 7.82 ^{bc} |
| XHRM20 | 275 ^{cde} | 212 ^{cde} | 7.87 ^{bc} |
| XHRM30 | 343 ^{adgh} | 202 ^{cd} | 9.21 ^{bcd} |
| XHIM20 | 279 ^{cde} | 278 ^{adef} | 12.9 ^{adf} |
| XHIM30 | 399 ^{fg} | 280 ^{aef} | 16.69 ^{ae} |

* Diferentes supraíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

En las formulaciones que contenían margarina, el incremento en el porcentaje de fase grasa produjo un significativo incremento de la resistencia a la punción. Sin embargo, el incremento en el contenido de aceite de girasol produjo el efecto inverso.

La fuerza de elongación y la deformación máxima fueron afectadas tanto por el tipo como por el contenido de fase lipídica ($P < 0.05$). La inclusión de margarina en la formulación proporcionó ductilidad a las masas, siendo este efecto más marcado en el caso de la margarina con alto contenido de sólidos (46.8%) respecto a la disponible comercialmente (24.7%). Tanto en la Tabla A.4-4 como en la Figura A.4-6 puede observarse que la formulación desarrollada con alto contenido de aceite resultó la menos adecuada para una posterior elaboración industrial del producto, presentando valores de FP, FE y D extremadamente bajos que dificultan su manipulación.

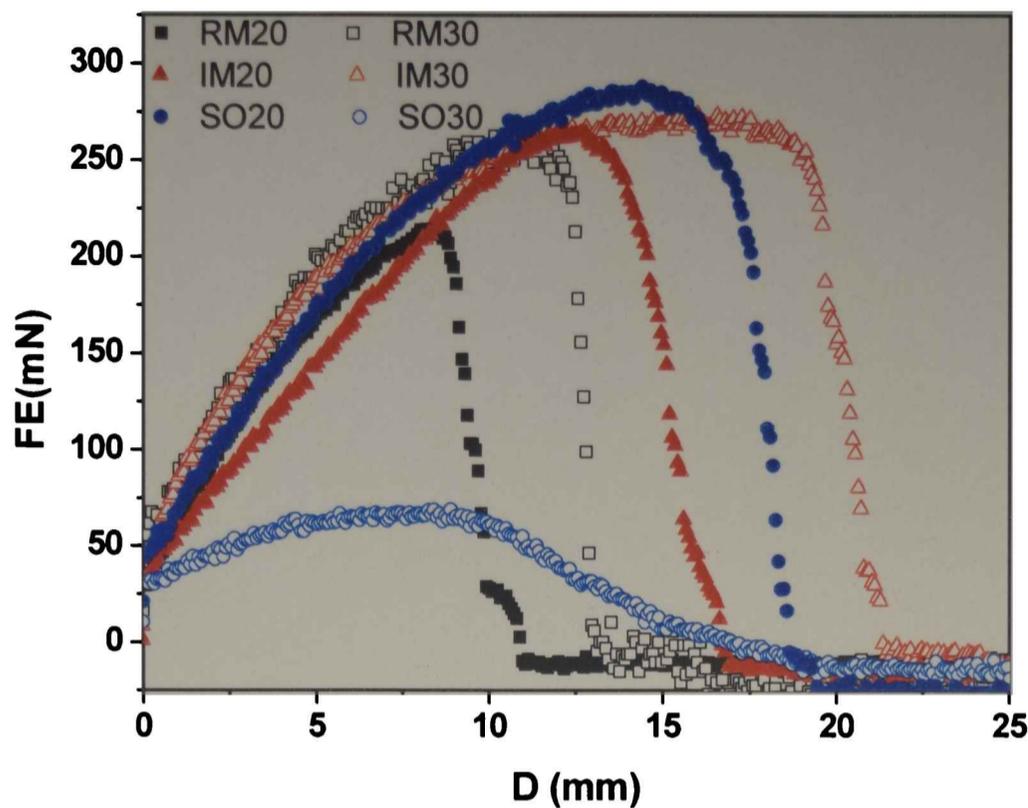


Figura A.4-6. Efecto de la fase lipídica en la elongación de las masas. Los resultados que se muestran corresponden a formulaciones elaboradas con la mezcla xántica/HPMC. Aceite de girasol (● ○), margarina industrial (con alto contenido de sólidos) (▲ △) y margarina comercial (con bajo contenido de sólidos) (■ □). Símbolos llenos corresponden a 20% de contenido lipídico en la formulación y símbolos vacíos a 30%.

El efecto de la fase lipídica en la viscoelasticidad de las masas se analizó a través del modelo propuesto por Friedrich y Heymann (1988) descrito en el capítulo A.3. De acuerdo con ésta, la viscosidad compleja (η^*) se podía expresar como:

$$\eta^* = \frac{\sqrt{G'^2 + G''^2}}{\omega} \approx A_\alpha \omega^{(\alpha-1)} \quad \text{Ec. A.4-1}$$

donde α es el orden de la función de relajación y A_α un parámetro asociado a la fuerza del material.

La Ec. A.4-1 se ajustó satisfactoriamente a los barridos de frecuencia realizados sobre las diferentes formulaciones, obteniendo los parámetros correspondientes. La Figura A.4-7 muestra algunas de las curvas de viscosidad compleja en función de la frecuencia con su correspondiente ajuste y los valores de A_α para todas las muestras.

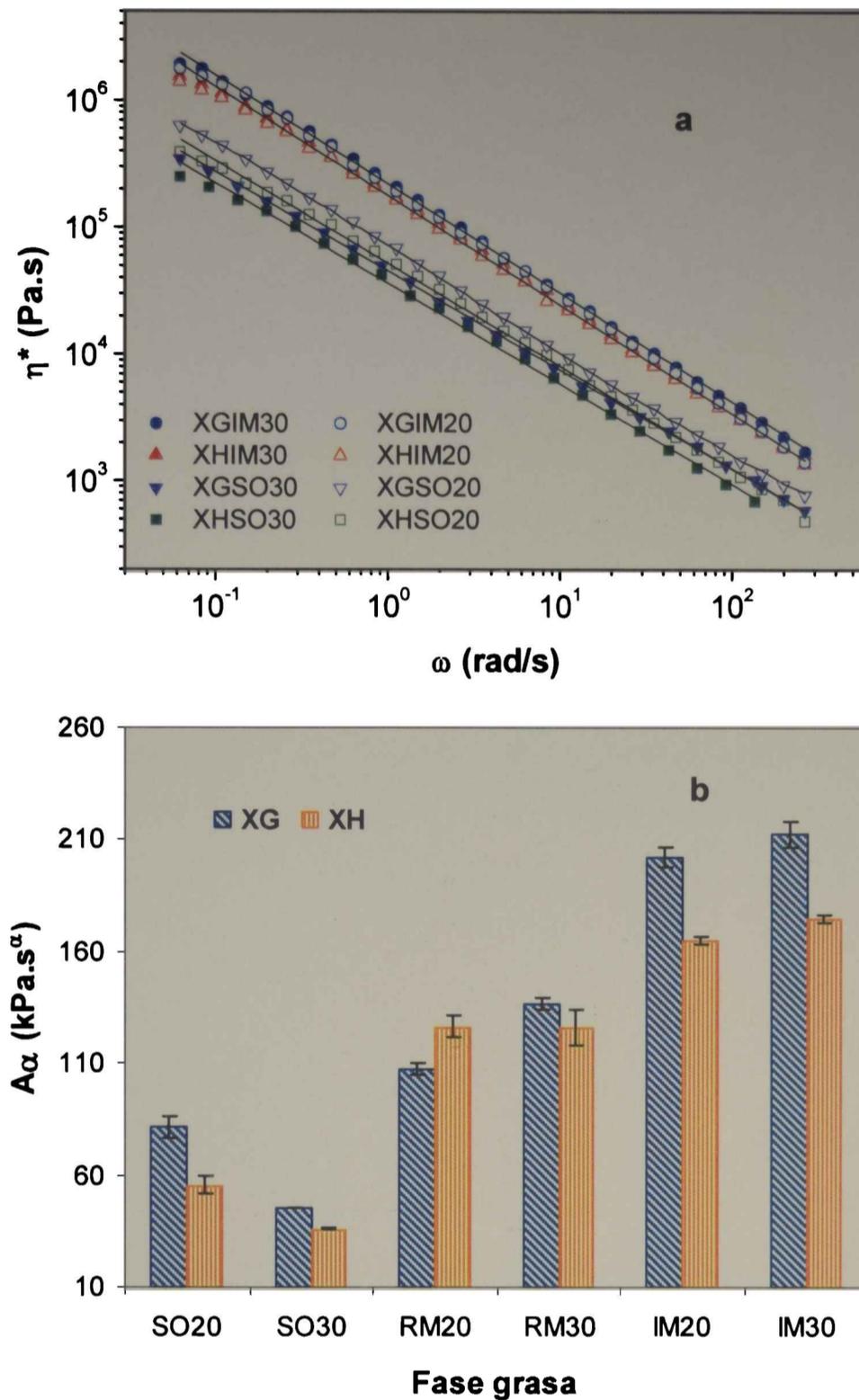


Figura A.4-7. Efecto de la fase grasa en el comportamiento viscoelástico de las masas libres de gluten. (a) Viscosidad compleja en función de la frecuencia de oscilación para algunas de las muestras ensayadas; en líneas rectas se observa el ajuste mediante la Ec. A.4-1. (b) Parámetro A_α de la Ec. A.4-1 para todas las muestras estudiadas en función de la fase grasa; los valores están expresados como media \pm error estándar de la media.

Se observó un marcado incremento de A_α con el contenido de sólidos de las fases grasas. Cuando la matriz contenía alto contenido de sólidos (formulaciones elaboradas con margarina industrial), las masas exhibieron un comportamiento más elástico y una estructura más firme, reflejado en un significativo incremento de A_α ($A_{\alpha(IM)} > A_{\alpha(RM)}$). Adicionalmente se vio un efecto significativo del tipo de hidrocoloides

sobre la firmeza de la red formada ($P < 0.05$). Cuando se utilizó HPMC en lugar de goma guar en la mezcla de hidrocoloides, se observó una disminución en el valor de A_α que fue más notorio en las masas que contenían margarina industrial (Figura A.4-7b).

El orden de la función de relajación estuvo en todos los casos por debajo de 0.2, indicando un pronunciado carácter elástico de las masas, asociado a una estructura con elevado número de entrecruzamientos observado en muestras con estructura tipo gel (Doublier y col., 1992; Steffe, 1996). Sin embargo, todas las formulaciones que contenían aceite presentaron un valor de α significativamente mayor ($\alpha = 0.19$) que aquel correspondiente a las masas desarrolladas con margarina, ya sea comercial o industrial ($\alpha = 0.15$). Esto muestra que, a pesar de no observarse diferencias entre las micrografías mostradas en la Figura A.4-5, existe una contribución de la fase grasa a la matriz que contiene a los gránulos de almidón, disminuyendo el comportamiento sólido de la misma cuando se emplea una fase lipídica líquida a temperatura ambiente.

A.4.4 CONCLUSIONES

En el presente capítulo se estudió el efecto del tipo de hidrocoloide y fase lipídica agregada, sobre el comportamiento reológico de masas no fermentadas libres de gluten orientadas a enfermos celíacos. El análisis mostró que aquellas formulaciones desarrolladas con mezclas de biopolímeros que incluyeran xántica presentaron las mejores propiedades texturales (resistencia a la punción y elasticidad), sin importar el otro polisacárido presente. Aquellas masas desarrolladas únicamente conteniendo HPMC resultaron las menos adecuadas para la elaboración industrial de masas para empanadas o tartas.

El estudio por medio de ensayos reológicos dinámicos del tipo de fase lipídica empleada en la elaboración de las masas, permitió el ajuste mediante la ecuación propuesta por Friedrich y Heymann (1988), para obtener parámetros estructurales. Se observó un marcado incremento de la fuerza de la red con el contenido de sólidos de las fases grasas, mostrando un comportamiento más elástico y una estructura más firme, en aquellas formulaciones que contenían margarina industrial. Complementariamente se vio un efecto significativo del tipo de hidrocoloides sobre la fuerza de la red formada. Cuando se utilizó HPMC en lugar de goma guar en la mezcla

de hidrocoloides, se observó una disminución en la fuerza de la red que fue más notoria en las masas que contenían margarina industrial.

Con el uso de margarinas, se observó que el incremento en la concentración de fase lipídica produjo masas con mayor resistencia a la punción, mientras que se encontró un efecto opuesto con el incremento del contenido de aceite de girasol. La margarina de alto contenido de sólidos (para usos industriales) permitió lograr masas con mayor elasticidad que la margarina del tipo comercial, conduciendo a formulaciones más dúctiles y adecuadas para su producción en gran escala.

A.5 Efecto del almacenamiento refrigerado y congelado sobre masas no fermentadas libres de gluten

A.5.1 INTRODUCCIÓN

El mercado actual de alimentos como empanadas o tartas presenta diversas alternativas de comercialización que se adecuan a las necesidades del consumidor. Tal es así que pueden encontrarse a la venta los discos de masas refrigerados, el producto elaborado y cocido (ya sea en alimentos horneados o fritos), y la alternativa de empanadas o tartas “listas para hornear” que se comercializan congeladas. Las principales ventajas de la congelación de masas son la disminución en las pérdidas de producto por envejecimiento y la adaptación a las necesidades del mercado (Dodic y col., 2007). Sin embargo, el uso de masas congeladas puede presentar problemas como cambios en las características texturales de las masas y pérdidas de calidad del producto final. Durante la congelación, el agua del alimento se convierte en hielo, lo que a menudo resulta en tensiones dentro de la matriz. La cristalización del agua libre es un fenómeno natural durante la congelación de alimentos, que produce cambios en la distribución del agua, la estructura y la función de los componentes bioquímicos (Sharadanant y Khan, 2003a). La posterior descongelación conduce a que el agua resulte fácilmente separada de la red del alimento, causando el debilitamiento de la textura. Los ciclos de cristalización y recristalización del agua pueden resultar en cambios reológicos y daños físicos en la red proteica.

Los efectos negativos durante el almacenamiento refrigerado o de los ciclos congelación-descongelación pueden reducirse mediante la incorporación de hidrocoloides (Bárcenas y col., 2004; Ferrero y col., 1993; Sanderson, 1996; Selomulyo y Zhou, 2007). En productos a base de harina de trigo, se considera que la inclusión de polisacáridos permite la formación de complejos hidrofílicos con las proteínas del gluten, ligando el agua y reduciendo la migración de la misma dentro de la masa (Ribota y col., 2004). Se ha observado en panificados que la adición de carboximetilcelulosa, goma arábica y goma garrofin, produjo una mejora en masas descongeladas, disminuyendo la cantidad de agua libre y la migración de la misma,

aumentando el volumen del producto final y la calidad del pan (Sharadanant y Khan 2003a, 2003b).

Con el fin de determinar la calidad del producto final, complementariamente a los atributos texturales, resulta necesario un análisis sensorial del producto final horneado para estudiar su aceptabilidad entre los consumidores de estos alimentos.

En base a esto, en el presente capítulo se estudia el efecto del almacenamiento refrigerado sobre las características reológicas de las masas y el efecto de la congelación de empanadas "listas para hornear" sobre el comportamiento textural del producto final cocido.

A.5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

A.5.2.1. Materiales utilizados

Se utilizó almidón de maíz (Unilever de Argentina S.A., Argentina) y almidón de mandioca (Indecar S.A., Argentina) con las características descriptas en A.4. Como fase grasa se emplearon aceite de girasol (Molinos Río de La Plata SACIFI, Buenos Aires) y margarina de alto contenido de sólidos (CALSA, Argentina). Los hidrocoloides empleados para estos ensayos fueron goma xántica y goma guar, adquiridos de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) e hidroxipropilmetil celulosa (HPMC), de Methocell E4M (The Dow Chemical Company, Michigan), todos de grado comestible. Los demás materiales empleados fueron descriptos en el Capítulo A.4.

A.5.2.2. Preparación de la muestras

El proceso de elaboración de los discos de masa utilizados en los ensayos fue realizado siguiendo la misma metodología descripta en el Capítulo A.3. Para el estudio del efecto del almacenamiento se seleccionaron las formulaciones que presentaron mejores parámetros texturales en el Capítulo A.4. En particular se eligieron las formulaciones con 20% de aceite de girasol y mezclas de xántica/guar y xántica/HPMC para estudiar el almacenamiento refrigerado y se incluyó también la formulación XHIM30 (con 30% de margarina industrial) para estudiar el almacenamiento congelado de empanadas pre-elaboradas.

A.5.2.3. Almacenamiento

A.5.2.3.1. Almacenamiento refrigerado de discos de masa

Se elaboraron discos de masa para empanadas de 12 cm. de diámetro, los que fueron conservados al vacío en bolsas CN510 (PO_2 : $35\text{cm}^3/(\text{m}^2\text{día bar})$) a 23°C , Sealed Air, Argentina). Las bolsas se almacenaron refrigeradas a 4°C por un período de 20 días, llevándose a cabo análisis reológicos y texturales cada cuatro días aproximadamente.

A.5.2.3.2. Almacenamiento de empanadas congeladas

En la actualidad es común observar en el mercado productos del tipo "listos para hornear" y en particular las empanadas se comercializan también de esta forma. Considerando esta posibilidad, se elaboraron empanadas con la masa libre de gluten desarrollada, utilizando un relleno a base de carne picada (Lupano, 2003), las que fueron congeladas y almacenadas a -20°C por un período de 15 días. Para su análisis, las empanadas fueron luego horneadas sin previa descongelación a una temperatura de 200°C por un período de 20 minutos en un horno eléctrico (Ariston FM87-FC, Italia). Como controles se utilizaron empanadas elaboradas con la misma masa y horneadas sin previo almacenamiento.

A.5.2.4. Análisis texturales

Los ensayos de textura se realizaron en un TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Reino Unido). En todos los ensayos se consideraron al menos seis replicados en especímenes diferentes, reportándose los valores medios para cada medida.

A.5.2.4.1. Ensayos de punción sobre muestras crudas

Sobre discos de masa cruda de 40 mm de diámetro y 2 mm de espesor se realizaron los ensayos de punción. Se siguió la metodología adoptada en el Capítulo A.4.

A.5.2.4.2. Ensayos de punción sobre muestras cocidas

Sobre las muestras horneadas de empanadas se llevó a cabo un ensayo de punción empleando la sonda Volodkevich (HDP/VB) que se muestra en la Figura A.5-1. Esta sonda permite simular la mordedura de un alimento con los incisivos (Wen-Ching et al., 2007), lo que corresponde al primer contacto de una empanada con la boca. Se determinó en cada caso la fuerza máxima al momento de la ruptura (FP, mN).



Figura A.5-1. Sonda Volodkevich empleada en los ensayos de punción sobre empanadas cocidas.

A.5.2.4.3. Ensayos de elongación

Para estos ensayos se utilizó un sistema de mordazas A/TG. Los especímenes fueron cortados con forma de "hueso", siguiendo las dimensiones que se muestran en el Capítulo A.4. Las condiciones de ensayo corresponden a las descritas en el capítulo anterior. Se obtuvieron las curvas de fuerza necesaria para producir el estiramiento (N) vs. deformación producida sobre la muestra (mm.).

A.5.2.5. Análisis reológicos

Se llevaron a cabo barridos de esfuerzos y de frecuencias en un reómetro Haake RS600 (ThermoElectron, Alemania), sobre discos de masa crudos que se conservaron refrigerados durante distintos tiempos de almacenamientos. Los primeros ensayos permitieron obtener el rango de viscoelasticidad lineal, mientras que los segundos se utilizaron para evaluar la dependencia de los módulos elástico (G') y viscoso (G'') con la frecuencia de oscilación. Las condiciones operativas y los sensores empleados son análogos a los detallados en el Capítulo A.4.

A.5.2.6. Microscopía electrónica ambiental de barrido (ESEM)

Se utilizó un microscopio ambiental electrónico de barrido Phillips-Electroscan 2010 (Phillips-Electroscan, Holanda) para examinar la superficie de las masas. En todas las formulaciones analizadas se observaron muestras de masa cruda y cocida.

A.5.2.7. Análisis sensorial

Para la realización del análisis sensorial, se contó con la colaboración de un panel semientrenado de 40 panelistas que, si bien contaban con los conocimientos básicos de la evaluación sensorial, no recibieron ningún entrenamiento específico en este tipo de alimentos. Los panelistas evaluaron empanadas rellenas a base de carne picada, elaboradas con dos tipos de masas diferentes; una de las masas elegida entre las formulaciones libres de gluten desarrolladas en el laboratorio y la otra, una masa libre de gluten adquirida comercialmente en un supermercado local.

Las muestras se elaboraron y cocieron de manera simultánea en horno a 200°C durante 20 minutos. Los panelistas realizaron su evaluación mediante una escala hedónica de nueve puntos como la que se muestra en la Figura A.5-2, para determinar cuánto les gusta o les disgusta cada producto de acuerdo a características como apariencia, textura, sabor y aceptabilidad global.

| ACEPTABILIDAD DE EMPANADAS LIBRES DE GLUTEN (SIN HARINA) | | | | | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Nombre: Evaluador N°: | | | | | Fecha: | | | | |
| Usted ha recibido 2 muestras de empanadas libres de gluten. Utilizando la escala indicada, por favor evalúe cada atributo marcando con una cruz (x) en el casillero adecuado. | | | | | | | | | |
| Muestra Nro: 322 | | | | | | | | | |
| | <i>Me disgusta</i> | | | | | | | | <i>Me gusta</i> |
| Apariencia | <input type="checkbox"/> |
| Textura | <input type="checkbox"/> |
| Sabor | <input type="checkbox"/> |
| Aceptabilidad global | <input type="checkbox"/> |
| Muestra Nro: 847 | | | | | | | | | |
| | <i>Me disgusta</i> | | | | | | | | <i>Me gusta</i> |
| Apariencia | <input type="checkbox"/> |
| Textura | <input type="checkbox"/> |
| Sabor | <input type="checkbox"/> |
| Aceptabilidad global | <input type="checkbox"/> |

Figura A.5-2. Planilla entregada a los evaluadores en el análisis sensorial de aceptabilidad por atributos.

Una vez finalizado el análisis de aceptabilidad por atributos, se le entregó a cada panelista la consigna que aparece en la Figura A.5-3, para que evalúen, sobre las muestras analizadas, su preferencia de acuerdo a una evaluación global.

El ensayo se realizó en una habitación adecuadamente iluminada y acondicionada. Las muestras se sirvieron tibias, a la temperatura típica de consumo, en platos de poliestireno blanco, codificadas con una numeración de tres dígitos y en orden aleatorio. También se suministró agua mineral a cada panelista para enjuague entre pruebas.

| | |
|--|---|
| Luego de la evaluación por atributos, señale con una cruz (x) en el casillero correspondiente cuál es la muestra que prefiere | |
| Muestra 322 <input type="checkbox"/> | Muestra 847 <input type="checkbox"/> |

Figura A.5-3. Planilla entregada a los panelistas para el análisis sensorial de preferencias.

A.5.2.8. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL). Se realizaron análisis de varianzas (ANAVA) por

separado para los resultados de punción, elongación y ensayos oscilatorios. Se eligió el test de Bonferroni para realizar las comparaciones pareadas simultáneas. Tanto para las comparaciones de medias como para los ensayos "F", las diferencias se consideraron significativas cuando $P < 0.05$. En el capítulo se reporta cada resultado como su valor medio \pm el error estándar de la media (SEM).

A.5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A.5.3.1. Almacenamiento

A.5.3.1.1. Almacenamiento refrigerado de discos de masa

Las formulaciones con 20% de aceite de girasol y 30% de margarina industrial mostraron los mayores valores de fuerzas al momento de la ruptura (tanto en elongación como punción), sin embargo no difirieron significativamente entre ellas. En base a estos resultados, se seleccionaron las formulaciones que con menor contenido de lípidos presentaron resultados texturales adecuados (es decir, XGSO20 y XHSO20) para seguir su evolución durante el almacenamiento refrigerado. Discos de masa de 12 cm. de diámetro se almacenaron refrigerados a 4°C y se estudiaron sus propiedades reológicas y texturales a 1, 5, 8, 12, 16 y 20 días de almacenamiento (Figura A.5-4 a y b).

Tanto la fuerza de punción como la fuerza en el ensayo de elongación permanecieron constantes durante todo el almacenamiento refrigerado (FP= 364 mN y FE=290 mN) y no se observaron diferencias significativas tampoco entre las formulaciones ensayadas ($P < 0.05$). Por otro lado, se relevaron los valores de G' y G'' a 1 Hz para las dos formulaciones, viéndose que, si bien existían diferencias significativas entre las mezclas de xántica/guar ($G' = 1.41 \cdot 10^5$ Pa, SEM = $7.0 \cdot 10^3$ Pa; $G'' = 2.30 \cdot 10^4$ Pa, SEM= $7.7 \cdot 10^2$ Pa at 1 Hz) y xántica/HPMC ($G' = 9.88 \cdot 10^4$ Pa, SEM= $3.1 \cdot 10^3$ Pa; $G'' = 1.92 \cdot 10^4$ Pa, SEM= $7.7 \cdot 10^2$ Pa at 1 Hz), las mismas no variaron durante el almacenamiento.

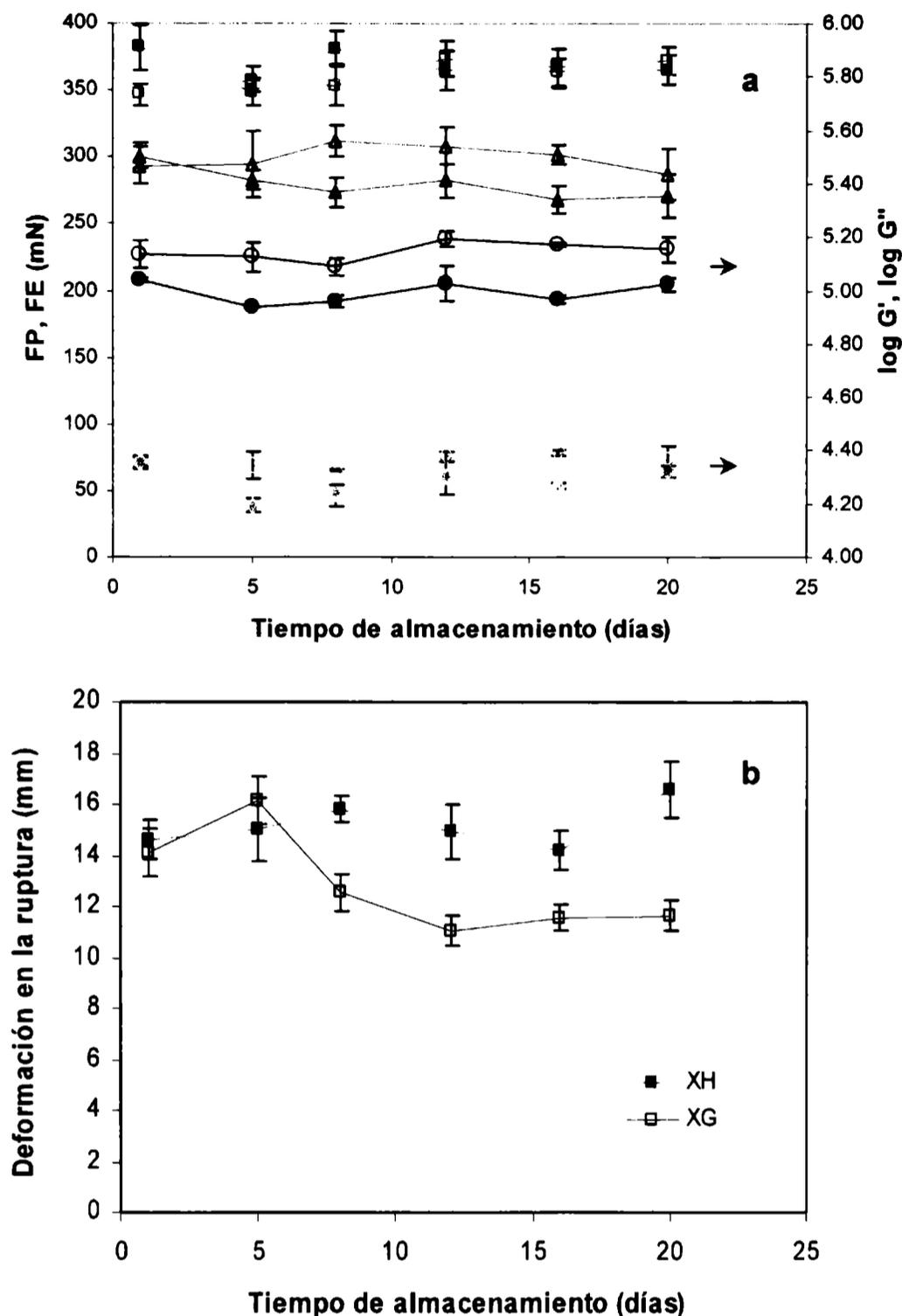


Figura A.5-4. Efecto del almacenamiento refrigerado sobre las propiedades reológicas de discos de masas libres de gluten. (a) FP (■ □), FE (▲ △), G' a 1hz (● ○) y G'' a 1hz (), (b) Deformación en la ruptura (■ □). Símbolos abiertos: mezcla xántica/guar, símbolos llenos: mezcla xántica/HPMC.

La deformación al momento de la ruptura en el ensayo de elongación permaneció constante durante todo el almacenamiento, para aquellas muestras desarrolladas con la mezcla xántica/HPMC. Por otra parte, en las formulaciones con xántica/guar se observó una significativa disminución de su extensibilidad a partir del octavo día de almacenamiento (Figura A.5-4b). Esta diferencia observada podría relacionarse con los grupos hidroxilos presentes en la molécula de HPMC. Su mayor capacidad para retener agua es posiblemente la responsable de que las masas

conserven por mayor tiempo su extensibilidad. En formulaciones de pan elaborado a base de harina de trigo, el agregado de HPMC ha mostrado una tendencia similar a lo encontrado en las masas desarrolladas en este trabajo (Collar y col., 1998).

A.5.3.1.2. Almacenamiento congelado de empanadas

Se estudió el efecto del almacenamiento congelado de empanadas elaboradas "listas para hornear" sobre las propiedades reológicas del producto final, es decir, el alimento ya horneado. Se seleccionaron tres formulaciones para este ensayo: XGSO20, XHSO20, y XHIM30 (de acuerdo a la codificación de la Tabla A.4-3 del Capítulo A.4). Se incluyó la formulación elaborada con margarina industrial, para determinar si el efecto de la fase lipídica mostraba diferencias en el producto cocido.

El proceso de horneado altera la naturaleza estructural de los componentes de una masa mediante una serie de reacciones físicas, químicas y bioquímicas (Pylar, 1988). Tanto la temperatura, como la humedad o la duración del horneado influyen en las características del producto final. La temperatura del horno es responsable de la formación de una corteza superficial del producto, de la coagulación de las proteínas, la gelatinización del almidón y la estabilización del sistema coloidal de las masas Freeman y Shelton, 1991). La observación microscópica del producto horneado permitió dividir en tres zonas diferentes la estructura final de la masa (Figura A.5-5). En la región externa, la corteza se mostró como una lámina continua de proteínas e hidrocoloides reteniendo a los gránulos de almidón, los cuales prácticamente no gelatinizaron debido a la rápida deshidratación de la superficie a la temperatura del horno seleccionada (Figura A.5-5a). La estructura interna presentó tanto gránulos gelatinizados como no gelatinizados. Partiendo desde la corteza, a medida que se observaron capas más internas de masa, la cantidad de gránulos intactos fue disminuyendo. En la Figura A.5-5b aun es posible identificar algunos gránulos de almidón que mantienen su conformación, mientras que en la Figura A.5-5c, donde se muestra la sección de masa más interna, la gelatinización es casi completa y resulta imposible distinguir entre la matriz generada por los hidrocoloides y el almidón. El contenido limitado de agua en la formulación es lo que permitió llegar a observar estas diferentes conformaciones en la masa. En la Figura A.5-5d se muestra una fotografía del producto final horneado.

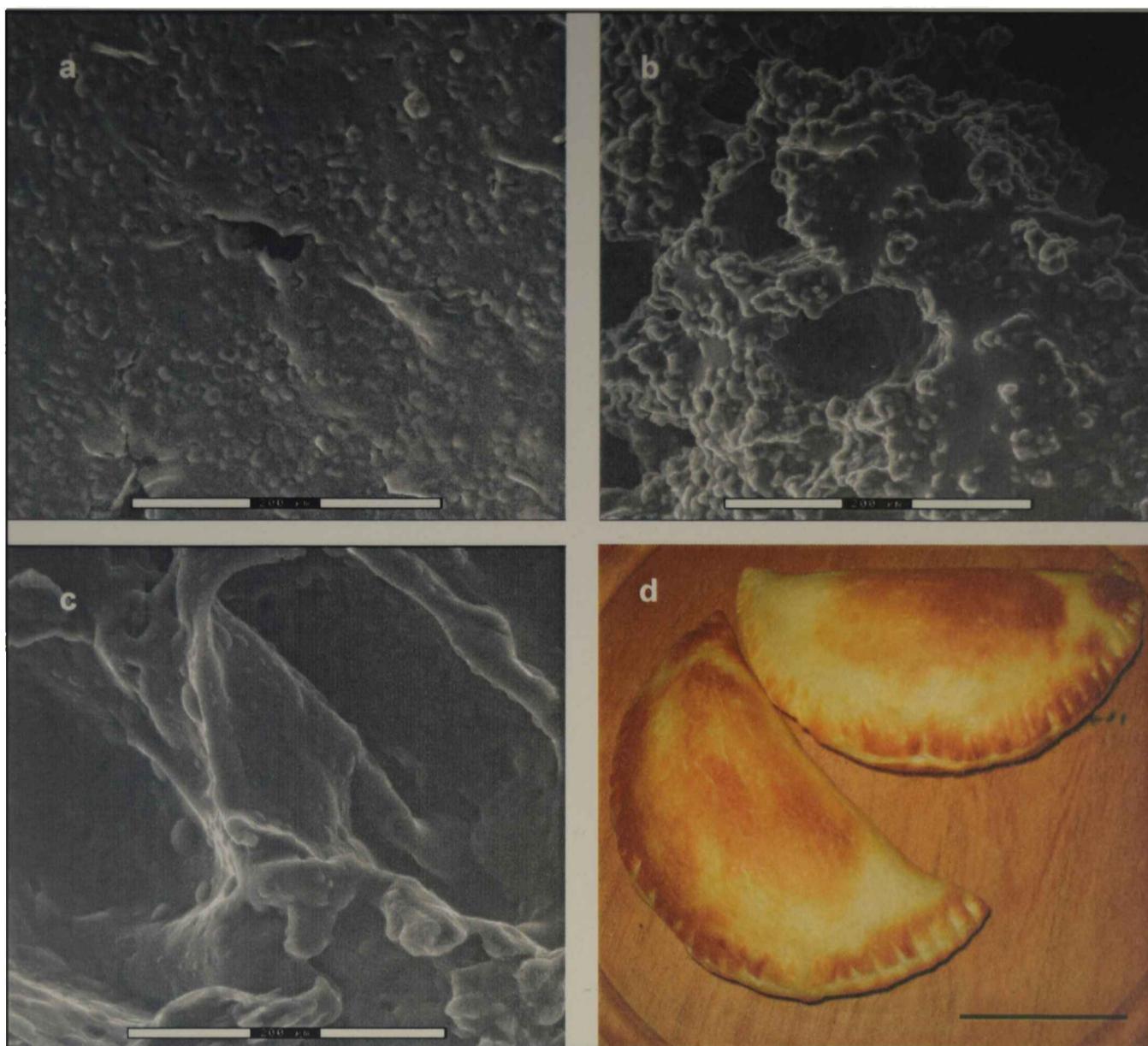


Figura A.5-5. (a-c) Imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica ambiental de barrido de masas formuladas con una mezcla xántica/HPMC y un 20% de aceite de girasol (a) masa horneada, corteza externa (barra = 200 μm); (b) masa horneada, región entre la corteza y la superficie interna (barra = 200 μm); (c) masa horneada, superficie interna (barra = 200 μm); (d) fotografía del producto final horneado (barra = 5 cm).

Los ensayos texturales de punción con diente sobre las muestras cocidas no presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre el control (producto no congelado) y las muestras congeladas. Además, se vio que la fuerza máxima en la punción (FP) no resultó alterada por el tiempo de almacenamiento congelado en ninguna de las formulaciones estudiadas. Este efecto concuerda con lo observado por Sanderson (1981), quien señaló que la inclusión de goma xántica en productos panificados a base de harina de trigo induce a una mayor estabilidad tanto en la cocción como en la congelación de los mismos y mejora la estabilidad frente a ciclos de congelación-descongelación de alimentos congelados que contienen almidón como espesante.

La estabilidad mostrada frente a la congelación de empanadas elaborada con masas libre de gluten, representa una importante ventaja tecnológica teniendo en cuenta que brinda la posibilidad de desarrollar un producto que sea comercializado de manera congelada, "listo para hornear", sin que esto implique alterar sus propiedades reológicas.

A.5.3.2. Evaluación sensorial

A cada uno de los cuarenta panelistas se le solicitó hacer una evaluación de apariencia, textura, sabor y aceptabilidad global de formulaciones almacenadas por un periodo de diez días a 4°C. Para el análisis se consideraron dos muestras: una de ellas fue una de las formulaciones desarrolladas en el laboratorio con mezclas de goma xántica y HPMC y un 20% de aceite de girasol (XHSO20); la otra fue una de las formulaciones de masas libres de gluten adquiridas comercialmente en un supermercado local.

Si se observa la

Tabla A.5-1 puede verse que no se detectaron diferencias significativas en cuanto al sabor, la textura y la aceptabilidad global de las dos formulaciones ($P > 0.05$). Por otro lado, la apariencia de la masa comercial, recibió una calificación significativamente menor que la formulación XHSO20 por parte de los panelistas. Este aspecto estuvo relacionado con fracturas que se produjeron sobre la superficie de esa masa particular durante el horneado de las mismas.

Las observaciones fueron clasificadas en tres grupos de percepción sensorial; el primero correspondió a aquellos que les disgustó el producto (puntajes entre 1 y 4), el segundo corresponde a aquellos que les resultó indiferente (puntaje 5) y el tercer grupo fueron aquellos que expresaron que les gustaron las muestras evaluadas (puntajes entre 6 y 9). A más del 70% de los evaluadores les agradaron todos los atributos evaluados del producto. Específicamente, a más del 94% de los panelistas les gustó globalmente la formulación desarrollada con mezcla de goma xántica/HPMC y aceite de girasol.

Tabla A.5-1. Puntajes de la evaluación sensorial de masas para empanadas libres de gluten. Entre paréntesis se señala el porcentaje de panelistas que calificaron cada atributo entre 6 y 9.

| | Aceptabilidad por atributos | | | | Preferencias |
|----------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|
| | Apariencia | Textura | Sabor | Aceptabilidad global | |
| XHSO20 | 7.4 ^a (88.9%) | 6.8 ^a (70.1%) | 7.1 ^a (80.6%) | 7.5 ^a (94.4%) | 67.5% ^a |
| Masa comercial | 6.5 ^b (75%) | 6.9 ^a (83.1%) | 7.0 ^a (83.3%) | 7.0 ^a (80.6%) | 32.5% ^b |

* Diferentes supraíndices dentro de la misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Otro de los aspectos a señalar, que se observa en la Tabla A.5-1, es que dos tercios de los evaluadores prefirieron la formulación desarrollada en el laboratorio (XHSO20) por sobre la que se encuentra disponible comercialmente ($P < 0.05$). Es además importante remarcar que ninguna de las formulaciones desarrolladas en este trabajo mostraron signos de ruptura durante el horneado, mientras que más del 90% de los discos de masa libres de gluten adquiridos comercialmente aparecieron con grietas sobre la superficie luego del horneado, lo que conduce a una pérdida de la calidad global del producto final.

A.5.4 CONCLUSIONES

De las formulaciones analizadas en los dos capítulos anteriores, se seleccionaron aquéllas que mostraron las mejores características reológicas y de textura, para llevar a cabo en este capítulo un estudio del efecto del tiempo de almacenamiento.

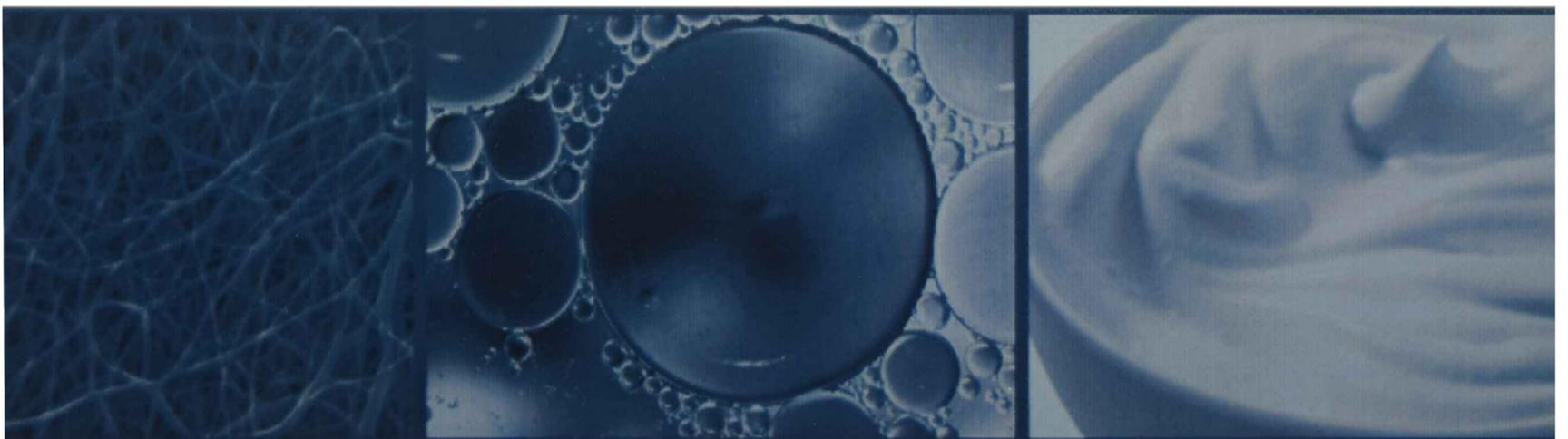
Las masas fueron almacenadas a 4°C por un período de 20 días sin mostrar cambios significativos en la resistencia a la punción y elongación o en las características reológicas. La deformación al momento de la ruptura en el ensayo de elongación mostró una disminución en las formulaciones con xántica/guar a partir del octavo día de almacenamiento, mientras que para aquellas muestras desarrolladas con la mezcla xántica/HPMC mantuvieron la misma extensibilidad durante todo el tiempo de almacenamiento ensayado.

El análisis textural de los productos horneados no mostró diferencias significativas entre aquellos empanadas cocidas sin congelar y aquellas almacenadas a -20°C durante 15 días.

La evaluación sensorial de un panel semientrenado calificó como aceptable la formulación evaluada con una puntuación promedio de 75/90. Al someter dicha formulación a un análisis de preferencias contra un producto análogo, libre de gluten disponible actualmente en el mercado, dos tercios de los evaluadores mostraron una preferencia significativa por el producto optimizado en este trabajo de tesis.

SECCIÓN B

*APLICACIÓN DE HIDROCOLOIDES EN EL
DESARROLLO DE EMULSIONES ACEITE EN
AGUA DE BAJO CONTENIDO LIPÍDICO*



B.1 Introducción sección B

B.1.1 Consideraciones generales

Una gran variedad de productos alimentarios, sean naturales o manufacturados, están constituidos total o parcialmente por emulsiones o bien han sido emulsificados en alguna etapa de su producción. El primero de los alimentos emulsionados consumido fue la leche, como vehículo de nutrientes en la primera etapa de la vida de los mamíferos. A lo largo del tiempo, se han desarrollado y elaborado alimentos que en la actualidad son de consumo cotidiano como la crema de leche, manteca, yogures, quesos, cremas heladas (emulsiones derivadas de la leche), mayonesa, margarina y emulsiones cárnicas (McClements, 1999). Durante muchos años, la industria alimentaria se basó en la tradición para la formulación, el procesamiento y las condiciones de almacenamiento de productos emulsionados. Sin embargo, en los últimos años la industria alimentaria moderna debe responder rápidamente a los cambios en las preferencias del consumidor mediante la elaboración de nuevos productos y el mejoramiento de los ya existentes, con propiedades organolépticas y textura adecuadas, saludables y de costo relativamente bajo. Esto implica cambios no sólo en el desarrollo del producto en sí mismo, sino también en la tecnología de los procesos de elaboración. En los últimos años la cantidad de alimentos emulsionados se ha diversificado notablemente. En el mercado existen emulsiones alimentarias tradicionales de contenido lipídico reducido (crema de leche, mayonesa, manteca, cremas heladas), con adición de componentes beneficiosos para la salud, bebidas ("soft drinks"), sustituto de leche o crema de leche ("coffee whiteners"), leche de soja y derivados, aderezos, salsas y alimentos especiales para un determinado segmento de la población (niños o ancianos). En este contexto, es fundamental tener conocimiento de los factores que determinan y afectan las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de los productos alimenticios y en el caso de los alimentos emulsionados en particular, esto no constituye una excepción.

B.1.2 Definiciones

Las emulsiones son sistemas heterogéneos compuestos por una mezcla de dos fases inmiscibles, una continua y otra dispersa en forma de pequeñas gotas y por ende, desde el punto de vista fisicoquímico son dispersiones coloidales liofóbicas (Mc Clements, 1999; Damodaran, 2005).

En la mayoría de las emulsiones alimentarias, los diámetros de gota varían entre 0,1 y 100 μm y pueden clasificarse convenientemente de acuerdo a la distribución de las fases acuosa y oleosa:

- Un sistema que consiste en una fase oleosa dispersa en una acuosa se denomina *emulsión aceite en agua* (oil in water, o/w). Ejemplos de éstas serían las mayonesas, aderezos, leche, etc.

- Si la fase continua es oleosa, con gotas de una solución acuosa dispersa, las emulsiones correspondientes son *emulsiones agua en aceite* (water in oil, w/o). La manteca y la margarina son los ejemplos más importantes de emulsiones agua en aceite.

- Existen también las denominadas “emulsiones múltiples”, que podrán ser aceite en agua en aceite (o/w/o) o agua en aceite en agua (w/o/w). Por ejemplo, una emulsión w/o/w estaría constituida por gotas de agua dentro de las gotas de fase lipídica (emulsión o/w) y éstas a su vez dispersas en un medio acuoso (Garti, 1997).

- El concepto de emulsión alimentaria se amplía a sistemas que pueden contener una fase sólida o gaseosa en las fases líquidas. Por ejemplo, las cremas heladas se consideran emulsiones o/w aireadas o espumadas, debido a la inclusión de aire en la fase continua.

La concentración de gotas en una emulsión se describe en términos de una *fracción volumétrica de fase dispersa* (ϕ_v) o de una *fracción másica de fase dispersa* (ϕ_m). Si V_d y m_d son el volumen y la masa de las gotas y V_e y m_e , el volumen y la masa de la emulsión, entonces ϕ_v y ϕ_m vienen dados por:

$$\phi_v = \frac{V_d}{V_e} \quad \text{Ec. B.1-1}$$

$$\phi_m = \frac{m_d}{m_e} \quad \text{Ec. B.1-2}$$

Ambos parámetros pueden relacionarse conociendo las densidades de las fases dispersa (δ_d) y continua (δ_c):

$$\phi_m = \frac{\phi_v \delta_d}{(\phi_v \delta_d + (1 - \phi_v) \delta_c)}$$

Ec. B.1-3

Estrictamente, ϕ_v y ϕ_m coinciden sólo cuando las densidades de las dos fases que constituyen el sistema son iguales (McClements, 1999).

El proceso por el cual se convierten dos fases inmiscibles en una emulsión, o se reduce el tamaño de gotas en una emulsión preexistente se conoce como *homogeneización* y, consecuentemente, el dispositivo diseñado para llevar a cabo este proceso recibe el nombre de *homogeneizador*. Para realizar una distinción según la naturaleza de los materiales de partida es conveniente clasificar la homogeneización en dos categorías. La creación de una emulsión a partir de dos fases líquidas separadas se denomina *homogeneización primaria*, mientras que el proceso de reducir el tamaño de las gotas en una emulsión ya existente o pre-emulsión se denomina *homogeneización secundaria* (Figura B.1-1). La creación de un tipo particular de emulsión puede involucrar una homogeneización primaria, secundaria o una combinación de ambas (McClements, 1999).

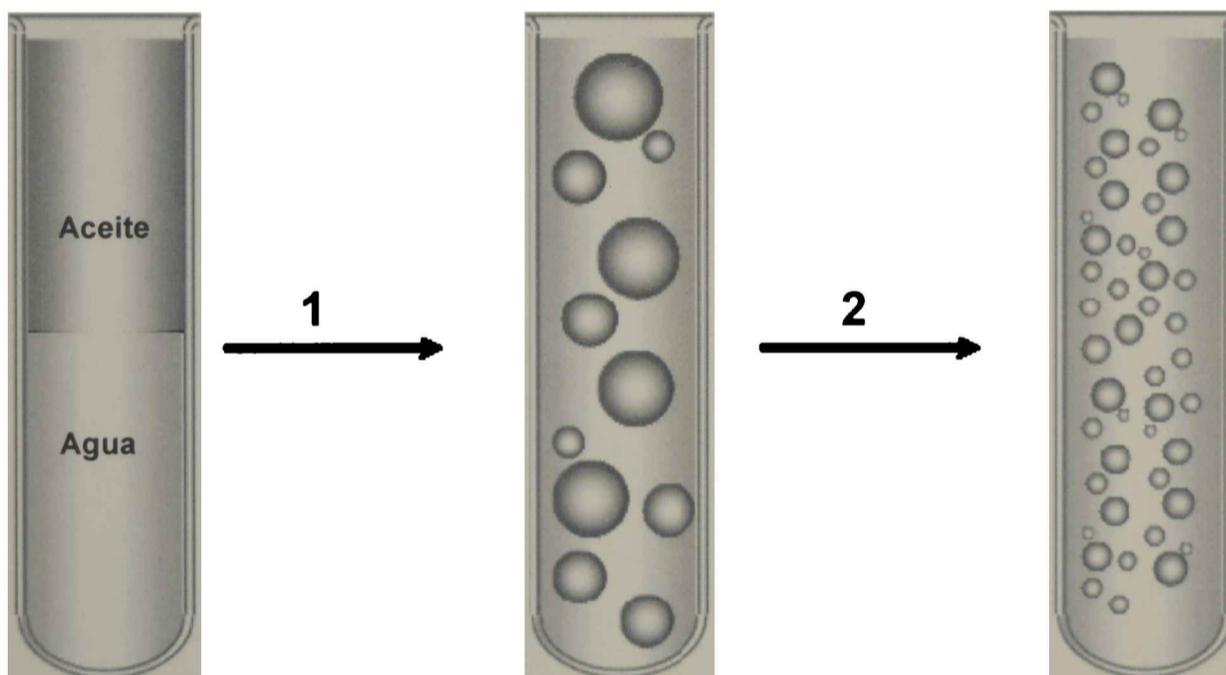


Figura B.1-1. Representación esquemática del proceso de homogeneización para una emulsión aceite en agua (o/w). (1) Homogeneización primaria; (2) homogeneización secundaria.

B.1.3 Estabilidad de emulsiones

Cuando se busca lograr una mayor estabilidad en un producto emulsionado, lo que se persigue es que la misma tenga la capacidad de resistir modificaciones en

sus propiedades a lo largo del tiempo. Dichas propiedades pueden cambiar debido a la ocurrencia de procesos físicos y químicos. Los procesos físicos originan variación en la distribución espacial o el tamaño de las gotas, mientras que los procesos químicos producen una alteración de los componentes de las fases dispersa y/o continua de la emulsión. En la práctica, estos procesos pueden actuar de manera simultánea (Schramm, 2005).

El periodo de tiempo en que una emulsión debe permanecer estable depende de la naturaleza del producto. Mientras que algunos productos deben permanecer estables durante largos periodos de tiempo (mayonesas, aderezos, bebidas "cloudy"), otros requieren un proceso de desestabilización controlada durante su manufactura o elaboración, como en el caso de margarinas, mantecas o cremas heladas.

Dentro de la estabilidad de una emulsión, aparecen dos conceptos que son importantes de distinguir, esto es, la *estabilidad termodinámica* y la *estabilidad cinética*. La primera está asociada con la espontaneidad de ocurrencia de un determinado fenómeno, mientras que la segunda contempla la velocidad a la que dicho proceso se lleva a cabo.

Los productos emulsionados son, en su mayoría, termodinámicamente inestables. El origen de esta inestabilidad puede observarse a partir del cambio de energía libre que sufre un sistema disperso antes y después de su emulsificación (McClements, 1999). Si se asume como simplificación del sistema que las densidades de las fases continua y dispersa son iguales, el análisis se reduce a un estado inicial con una única gota suspendida en la fase continua en lugar de una capa de aceite sobre la capa acuosa (Figura B.1-2).

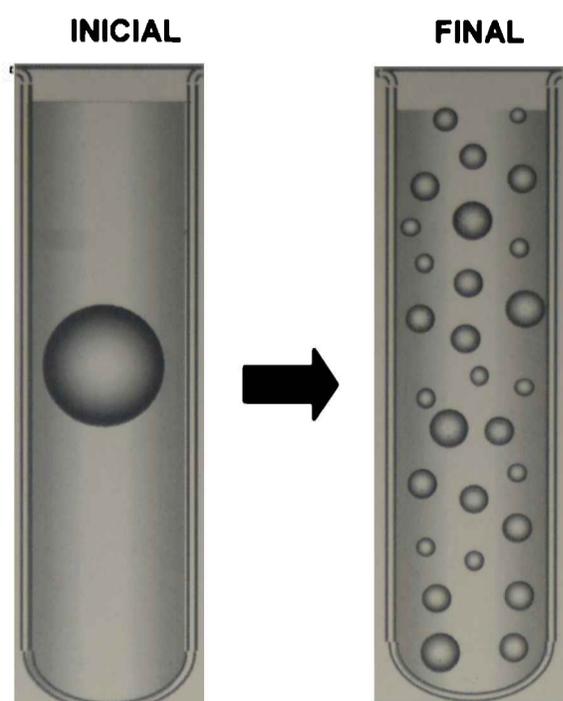


Figura B.1-2. Representación esquemática sobre el proceso de emulsificación y su inestabilidad termodinámica.

En el estado inicial, antes de la homogeneización la energía libre del sistema está dada por:

$$G^I = G_o^I + G_w^I + G_i^I - TS_{\text{conf}}^I \quad \text{Ec. B.1-4}$$

y en su estado final, después de la emulsificación:

$$G^F = G_o^F + G_w^F + G_i^F - TS_{\text{conf}}^F \quad \text{Ec. B.1-5}$$

donde G_o , G_w y G_i son las energías libres de las fases dispersa, continua e interfacial respectivamente, T es la temperatura absoluta y S_{conf} es la entropía configuracional de las gotas de la emulsión; los supraíndices "I" y "F" se refieren los estados inicial y final del sistema. Las energía libre de la fase continua y dispersa antes y después de la formación de la emulsión permanecen constantes de manera que la diferencia de energía libre de los estados inicial y final del sistema ($\Delta G_{\text{formación}}$) viene dada por:

$$\Delta G_{\text{formación}} = G_i^F - G_i^I - (TS_{\text{conf}}^F - TS_{\text{conf}}^I) \quad \text{Ec. B.1-6}$$

$$\Delta G_{\text{formación}} = \Delta G_i - T\Delta S_{\text{conf}} \quad \text{Ec. B.1-7}$$

Las fases acuosa y dispersa son prácticamente inmiscibles entre sí, de manera que las mismas presentan una tensión interfacial (γ). Por consiguiente el término ΔG_i es igual al producto entre γ y el incremento de área entre las fases acuosa y dispersa (ΔA) de manera que:

$$\Delta G_{\text{formación}} = \gamma \Delta A - T\Delta S_{\text{conf}} \quad \text{Ec. B.1-8}$$

El primer término de la Ec. B.1-8 ($\gamma \Delta A$) es siempre positivo porque el área interfacial se incrementa después de la formación de la emulsión, mientras que la entropía configuracional ($-T\Delta S_{\text{conf}}$) es siempre negativo, debido a que el número de ordenamientos posibles que las gotas pueden adoptar en el estado emulsificado es mucho mayor que en el estado inicial ($\Delta S_{\text{conf}} > 0$). En la mayoría de las emulsiones alimentarias, con gotas que varían de 0,1 a 100 μm , el término configuracional es mucho menor que la energía libre interfacial (McClements, 1999) y la Ec. B.1-8 se puede escribir como:

$$\Delta G_{\text{formación}} = \gamma \Delta A \quad \text{Ec. B.1-9}$$

Por consiguiente la formación de una emulsión alimentaria es un proceso termodinámicamente desfavorable, debido al incremento de área interfacial después del proceso de homogeneización. El término configuracional sólo puede dominar el comportamiento del sistema en emulsiones donde la tensión interfacial entre las fases continua y dispersa es extremadamente baja de manera que se forman sistemas termodinámicamente estables. Este tipo de sistemas reciben el nombre de *microemulsiones* para distinguirlos de las *emulsiones* que trataremos a lo largo de este trabajo de tesis.

El cambio de energía libre asociado con la formación de una emulsión determina si el proceso es o no termodinámicamente desfavorable, pero no da ninguna indicación sobre la velocidad a la cual las propiedades de la emulsión cambian con el tiempo, ni de los mecanismos posiblemente involucrados en estos cambios. El hecho de que las emulsiones permanezcan en muchos casos en un estado cinéticamente estable (o metaestable) puede atribuirse a la existencia de una energía de activación (ΔG^*), la cual debe superarse para alcanzar la separación total de las fases, el estado termodinámico más estable. Para que una emulsión sea cinéticamente estable el valor de ΔG^* debe ser significativamente mayor a la energía térmica E_T ($E_T = kT$). En realidad, debido a que hay diferentes mecanismos por los

cuales una emulsión puede desestabilizarse es muy común que las emulsiones tengan más de un estado metaestable, cada uno de ellos con su propia energía de activación. El pasaje de un estado metaestable a otro puede ser suficiente para tener un efecto indeseable sobre la estabilidad.

B.1.4 Mecanismos físicos de desestabilización de emulsiones

Desde el momento que se forma una emulsión, inmediatamente después de la homogeneización (y a veces durante), comienza el proceso de desestabilización, el cual tiende a disminuir el área interfacial y llegar al estado termodinámico más estable, esto es, las fases separadas. Existen distintos mecanismos que contribuyen de manera simultánea y sinérgica a la desestabilización, ocasionados por distintos fenómenos físicos, los cuales se relacionan con la diferencia de densidad de las fases continua y dispersa, las interacciones coloidales entre las gotas y la microestructura y viscoelasticidad de las fases involucradas (McClements, 1999).

En el caso particular de las emulsiones alimenticias, los cambios producidos por la desestabilización deben controlarse para que las características de la emulsión se mantengan dentro de un rango de valores estrechos, fuera del cual ya no sería posible su utilización o comercialización. La Figura B.1-3 muestra los principales mecanismos de desestabilización que pueden presentarse en una emulsión aceite en agua (o/w).

B.1.4.1. Separación gravitacional (cremado)

El *cremado* y la *sedimentación* se conocen conjuntamente como fenómenos de *separación gravitacional*. El *cremado* describe el movimiento ascendente de las gotas debido a la menor densidad de la fase dispersa respecto a la de la fase continua, mientras que la *sedimentación* describe el movimiento de las gotas en sentido contrario, precisamente también por un efecto de diferencia de densidad. En general (aunque no de manera exclusiva) el *cremado* es más común en emulsiones o/w y la *sedimentación*, en emulsiones w/o. Durante el proceso de *cremado* se forma una fase inferior o *suero*, la cual está empobrecida en gotas y una fase superior enriquecida en gotas, la *fase crema*. (Figura B.1-3).

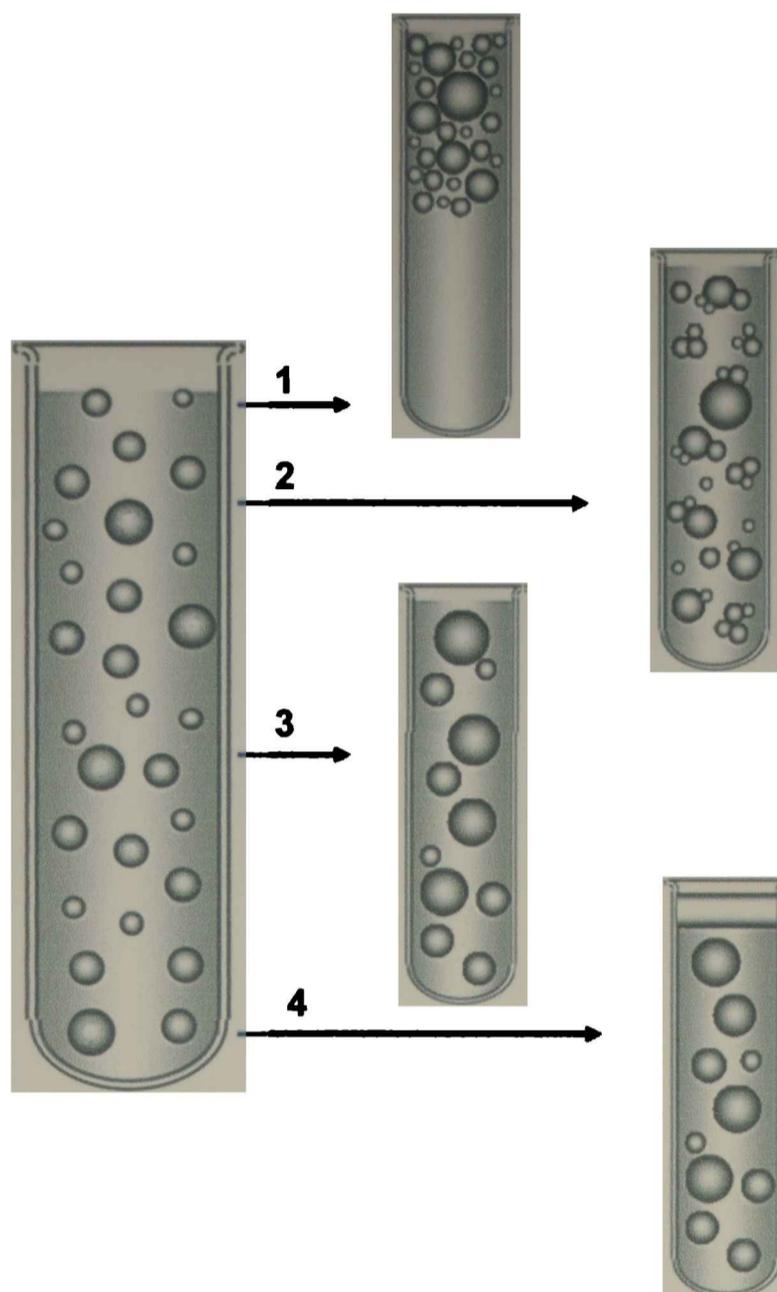


Figura B.1-3. Mecanismos de desestabilización más importantes de una emulsión aceite en agua (o/w). (1) Cremado (separación gravitacional); (2) Floculación; (3) Coalescencia; (4) "Oiling off".

El movimiento de las partículas en un campo gravitatorio se describe mediante la ley de Stokes:

$$v_{\text{stokes}} = \frac{d^2 g \Delta \delta}{18 \eta} \quad \text{Ec. B.1-10}$$

donde v_{stokes} es la velocidad de movimiento de las partículas, η es la viscosidad, g , la constante gravitatoria, $\Delta \delta$ la diferencia de densidad entre las fases y d el diámetro de las gotas. Según la ley de Stokes, la velocidad es directamente proporcional al cuadrado del diámetro de las gotas, a la diferencia de densidad e inversamente proporcional a la viscosidad del sistema. Sin embargo, en sistemas complejos como

las emulsiones alimentarias, esta ley presenta limitaciones para describir el comportamiento real.

En primer lugar la ley de Stokes supone que las partículas se encuentran aisladas y que el movimiento de una partícula no está afectado por la presencia de las otras. Tan pronto como la concentración de partículas se incrementa, el movimiento de las partículas se encuentra impedido y la velocidad de cremado disminuye. Vinculado a esto, también hay que señalar que las emulsiones son siempre polidispersas (en el mejor de los casos, tienen una distribución de tamaño de gota monomodal, lo cual no implica un único tamaño de gotas), por lo tanto, hay diferentes "poblaciones" de gotas de distinto tamaño y por ende, con una velocidad de cremado diferente. La velocidad de cremado de las gotas más pequeñas podría frenar el movimiento de las gotas de mayor tamaño, especialmente en emulsiones altamente concentradas.

La Ec. B.1-10 tampoco contempla el movimiento browniano, debido a la agitación térmica ($E = kT$). Por un efecto entrópico, este movimiento tiende a distribuir las gotas de manera uniforme en el seno de la emulsión, lo que se opone al movimiento ascendente de las gotas. El efecto es importante si el diámetro de las mismas es menor a $1 \mu\text{m}$ (McClements, 1999).

Si las gotas presentan un tamaño pequeño, el film interfacial formado alrededor de las mismas comienza a ser relevante. Dado que este film se encuentra altamente hidratado, por la interacción de las moléculas de agua con los restos aminoacídicos polares de las proteínas o emulsificantes no proteicos adsorbidas/os en la interfase, la densidad de las gotas es más cercana a la de la fase continua circundante. Este efecto que retarda la velocidad de cremado y no está contemplado en la Ley de Stokes.

La importancia del cremado en la industria alimentaria es muy alta y se estima que el 40 % del costo de desarrollo de nuevas emulsiones alimentarias se atribuye a la realización de ensayos de estabilidad frente a este mecanismo, porque proporciona el primer indicio visual de la desestabilización (Robins, 2000).

B.1.4.2. Floculación

La floculación es un proceso de agregación de gotas, que puede ser o no reversible, el cual depende fundamentalmente de las interacciones coloidales que existen entre las gotas. La floculación ocurre cuando existe una fuerza atractiva neta entre las gotas que es suficientemente grande como para vencer el movimiento térmico y provocar que los agregados persistan. En los últimos años se propusieron distintos mecanismos, los cuales dependen de la concentración y tipo de emulsificante

utilizado, del método de homogeneización y la presencia de componentes sin actividad interfacial en la fase continua (McClements, 1999).

Floculación por *formación de puentes* (Bridging flocculation)

En emulsiones preparadas con la adición de polímeros de alto peso molecular puede producirse la floculación por un *mecanismo de formación de puentes* ("bridging flocculation"). Estas moléculas actúan como agentes de enlace cuando parte de las mismas se adsorben sobre la superficie de las gotas y el resto del polímero permanece en la solución acuosa (Figura B.1-4a). La floculación se da cuando las "colas" de una molécula adsorbida en la interfase de una gota interaccionan con otras gotas (Tornberg y col., 1997). Este tipo de floculación se ha observado con el agregado de caseinato de sodio y goma xántica en emulsiones alimentarias. La concentración interfacial de hidrocoloide es el factor dominante que gobierna este mecanismo. Sin embargo, también depende de las propiedades del polímero: peso molecular, grado de disociación, flexibilidad molecular e hidrofobicidad superficial (Dalglish, 1996; Walstra, 1993).

Floculación por *depleción o exclusión* (Depletion flocculation)

La adición de un polímero a las emulsiones suele inducir también otro fenómeno conocido como floculación por exclusión o *depleción*. Cuando el espacio entre gotas adyacentes es más pequeño que el volumen hidrodinámico termodinámicamente más estable de las moléculas no adsorbidas del hidrocoloide, el polímero es excluido del espacio entre las gotas. Esto genera una capa alrededor de cada gota donde la concentración de polímero es bastante menor que en el seno de la solución (Figura B.1-4b). De este modo, se establece un gradiente de concentración local de agua y consecuentemente, un gradiente de presión osmótica que induce la floculación (McClements, 2000). Este efecto de depleción se ha visto en sistemas emulsionados que contienen tanto proteínas como polisacáridos (Dickinson y Golding, 1997; Schramm, 2005; Walstra, 1993).

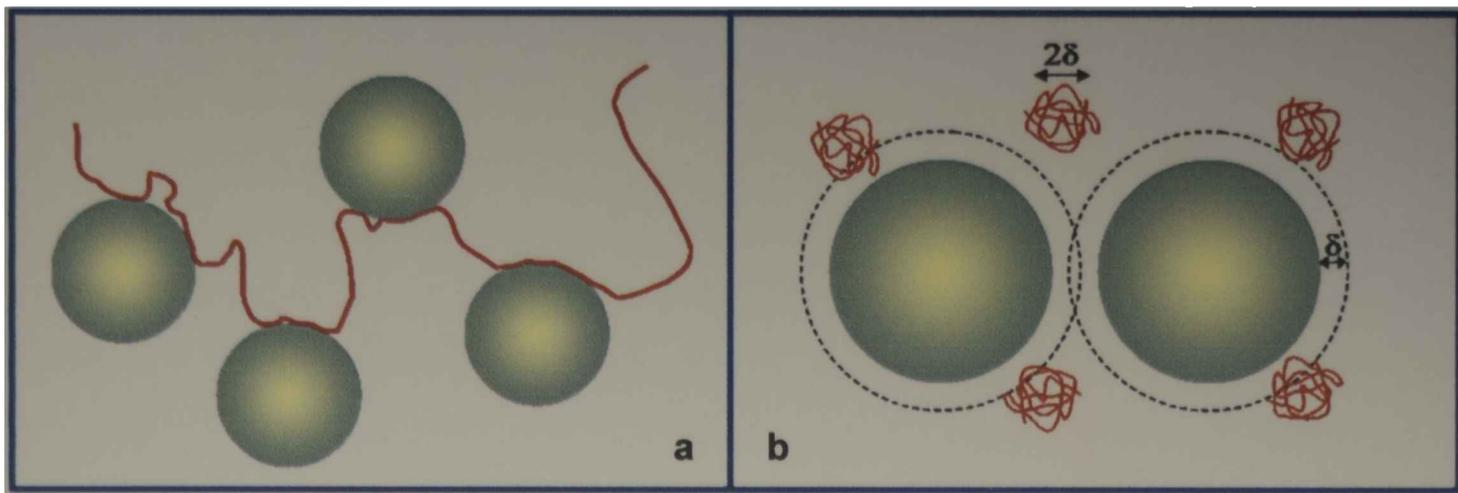


Figura B.1-4. Esquema de los distintos mecanismos de floculación. (a) Floculación por formación de puentes; (b) Floculación por exclusión.

B.1.4.3. Coalescencia

La coalescencia suele ser un mecanismo de desestabilización más lento que el cremado y la floculación. Para que este proceso ocurra, las gotas deben estar lo suficientemente cercanas entre sí, lo cual es más probable en emulsiones que presentan un alto grado de floculación o cuando se logra una concentración de gotas suficientemente grande debido a la separación gravitacional (Damodaran, 2005).

A diferencia de la floculación, la coalescencia se considera un proceso irreversible. Cuando la capa de emulsificante que separa las gotas se rompe, se alcanza un contacto íntimo entre las mismas y sus contenidos fluyen juntos de modo de formar una nueva gota más grande como se muestra en la Figura B.1-3 (McClements, 1999). El espesor del film que separa las gotas es la variable crítica en este proceso. Cuando dicho espesor disminuye por debajo de un valor crítico se produce la coalescencia. La magnitud de este espesor está gobernada por dos fuerzas de carácter opuesto. En primer lugar, la presión dentro de una gota de la fase dispersa es superior a la de la fase continua en una magnitud que está dada por la ecuación de Laplace como:

$$\Delta P_L = \frac{4\gamma}{d} \quad \text{Ec. B.1-11}$$

donde ΔP_L es la diferencia de presión entre el interior y el exterior de la gota, γ es la tensión interfacial y d es el diámetro de la gota. Las fuerzas interfaciales ejercen una presión hacia el interior, que es mayor cuanto menor es el diámetro de las gotas y mayor la tensión interfacial.

La otra fuerza es la presión de desprendimiento o de separación ("disjoining pressure"). Cuando dos gotas están desprovistas de agente emulsificante, la presión de separación es despreciable y las gotas coalescen fácilmente por colapso del film interfacial cuando se acercan debido a la presión de Laplace. Sin embargo, cuando las mismas están cubiertas con un agente emulsificante, las interacciones coloidales entre las moléculas adsorbidas crean una presión de separación que tiende a incrementar el espesor del film interfacial. Por lo tanto, la magnitud y naturaleza de las interacciones coloidales son de importancia fundamental para determinar si una emulsión es estable o no frente a la coalescencia (Bibette y col., 2002; Kavalnov y Wenneström, 1996).

B.1.4.4. "Oiling off"

Cuando el grado de desestabilización por coalescencia es muy alto, el tamaño de algunas gotas es tal que puede conducir eventualmente a la formación de una capa de aceite libre en la parte superior de la emulsión (Friberg, 1997). Este fenómeno se conoce, en inglés, como "*oiling off*" y culmina con la separación de las fases constituyentes del sistema (Figura B.1-3).

B.1.4.5. Maduración de Ostwald

En este mecanismo, el material de la fase dispersa se transporta por difusión a través de la fase continua desde las gotas pequeñas a las más grandes. Este proceso conduce a una reducción en la energía interfacial, dado que las gotas grandes poseen una menor relación superficie/volumen que las pequeñas. Al igual que el mecanismo de cremado, la maduración de Ostwald no requiere que las gotas se encuentren.

La velocidad a la cual ocurre este proceso depende, fundamentalmente, de la solubilidad de la fase dispersa. En la práctica, es muy difícil distinguir este proceso del de coalescencia. Sin embargo, dada la muy baja solubilidad de los triglicéridos en el agua, la maduración de Ostwald se torna prácticamente despreciable en emulsiones de tipo aceite vegetal en agua. En cambio, la solubilidad del agua en triglicéridos es más significativa, por lo que este proceso es más importante en emulsiones con aceite como fase continua (Bergenståhl, 1995).

B.1.4.6. Inversión de fases

La *inversión de fase* es un proceso en el cual se produce un cambio desde una emulsión aceite en agua (o/w) a una emulsión agua en aceite (w/o) y viceversa. Este mecanismo de desestabilización es muy importante en la manufactura de algunos productos alimenticios, como la margarina y la manteca (Dickinson y Stainsby, 1988). La inversión de fases es usualmente provocada por alguna alteración en la composición o en las condiciones que rodean a una emulsión (fracción volumétrica de fase dispersa, tipo de emulsificante, temperatura, agitación mecánica) con lo cual no es un mecanismo de inestabilidad que pueda sufrir por sí sólo una emulsión.

B.1.5 Interacciones coloidales entre las gotas

La estabilidad de un sistema emulsionado hacia la floculación y la coalescencia se puede comprender mejor si se analizan las fuerzas que actúan entre las gotas de la emulsión. Estas fuerzas se originan a partir de diferentes fenómenos y varían de sistema en sistema.

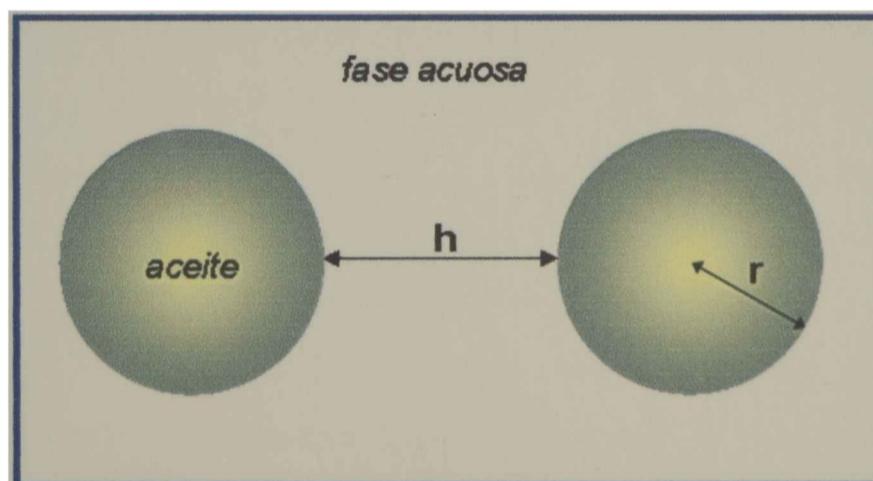


Figura B.1-5. Gotas de una emulsión de radio r y separadas por una distancia h .

El potencial global de interacción entre gotas de radio r y separadas por una distancia h (Figura B.1-5) puede dividirse en dos contribuciones, una atractiva y una repulsiva.

$$w(h) = w_{\text{Atractivo}}(h) + w_{\text{Repulsivo}}(h) \quad \text{Ec. B.1-12}$$

Dependiendo de las magnitudes relativas de estas contribuciones, surgen diferentes situaciones posibles (Figura B.1-6):

Si $w_{\text{Atractivo}}(h) > w_{\text{Repulsivo}}(h)$ para todo valor de h , las interacciones atractivas dominan para todos los valores de separación y el potencial global, $w(h)$, es siempre negativo (Figura B.1-6 (A)), lo cual implica que las gotas tenderán a agregarse (siempre que la interacción sea más grande que la energía térmica, kT ; donde k es la constante de Boltzman y T la temperatura absoluta).

Si $w_{\text{Repulsivo}}(h) > w_{\text{Atractivo}}(h)$ para todo valor de h , las interacciones repulsivas dominan para todos los valores de separación y el potencial global, $w(h)$, es siempre positivo (Figura B.1-6 (B)), con lo cual las gotas permanecerán como entidades separadas.

Si las interacciones atractivas dominan a separaciones grandes y las interacciones repulsivas dominan a separaciones pequeñas, para muy grandes valores de h , no existe una interacción efectiva entre las gotas. A medida que las gotas se acercan, experimentan una interacción atractiva, pero cuando se encuentran muy cerca dominan las interacciones repulsivas (Figura B.1-6 (C)). Para un valor intermedio de separación entre las gotas, hay un mínimo en el potencial de interacción. La profundidad de este mínimo, $w(h_{\text{min}})$, es una medida de la intensidad de la interacción entre las gotas, mientras que la posición del mínimo (h_{min}) corresponde a la posición de equilibrio de las gotas. Las gotas se agregarán si la intensidad de la interacción es grande comparada con la energía térmica, $|w(h_{\text{min}})| \gg kT$; mientras que las gotas permanecerán como entidades separadas cuando la intensidad de la interacción es mucho menor que la energía térmica, $|w(h_{\text{min}})| \ll kT$. Por otra parte, permanecerán un tiempo juntas y algún tiempo separadas para valores intermedios de la intensidad de la interacción, $|w(h_{\text{min}})| \approx kT$. Cuando las gotas caen en un pozo de potencial profundo, se dice que las gotas están floculadas fuertemente (coagulación), debido a que se requiere gran cantidad de energía para separarlas. Cuando caen en un pozo de potencial poco profundo, se dicen que se encuentran floculadas débilmente ya que se requiere poca energía para separarlas. El hecho de que exista un potencial repulsivo entre las gotas a distancias cortas evita que las mismas se acerquen lo suficiente como para que puedan coalescer.

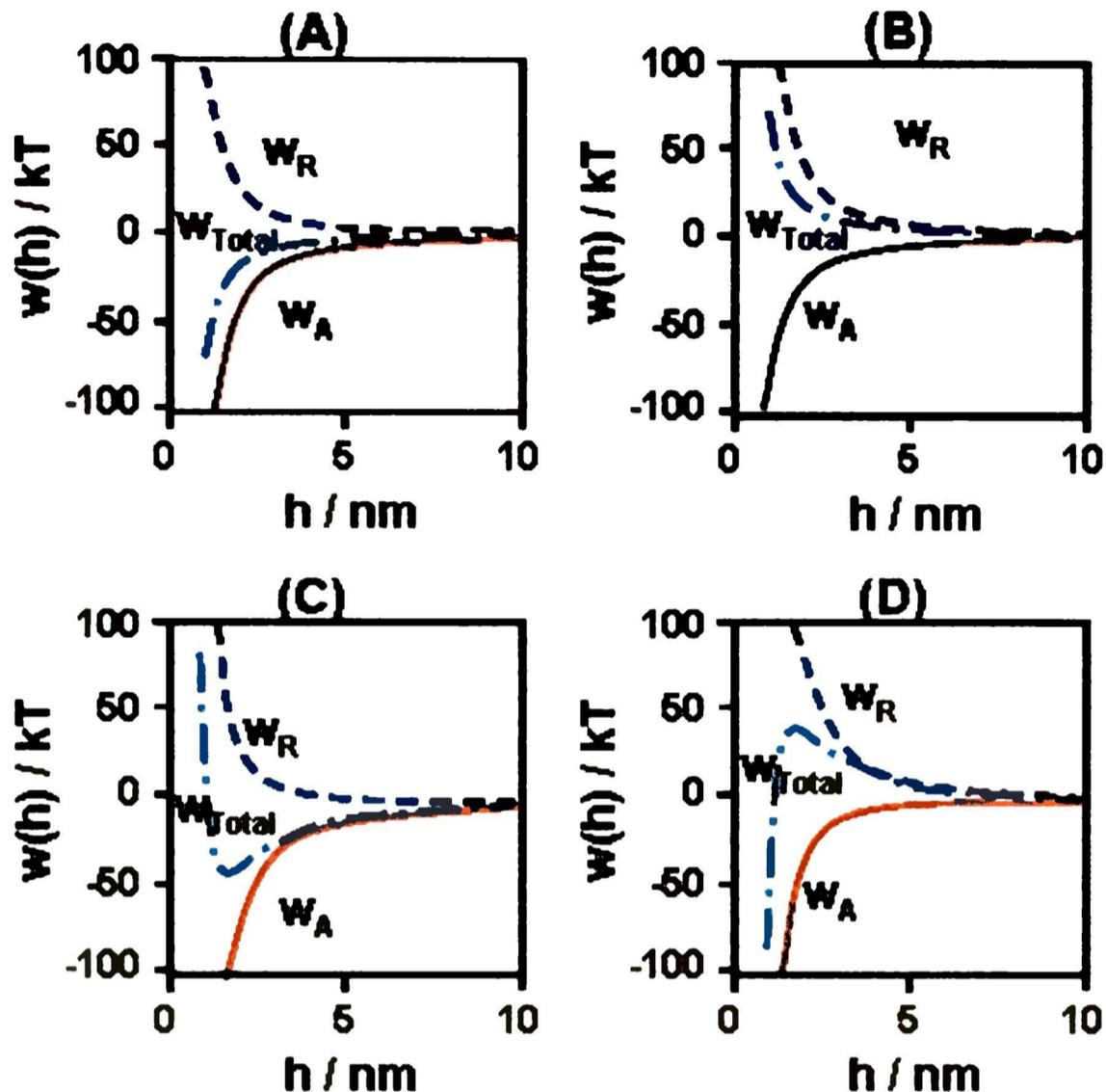


Figura B.1-6: La interacción de un par de gotas de una emulsión depende de la magnitud relativa y el rango de alcance de las interacciones atractivas y repulsivas.

Cuando las interacciones repulsivas dominan a separaciones grandes, mientras que las interacciones atractivas dominan a separaciones pequeñas, entonces a separaciones muy grandes entre las gotas, no hay una interacción efectiva entre las gotas. A medida que h disminuye, las interacciones repulsivas dominan, pero luego lo hacen las interacciones atractivas (Figura B.1-6 (D)). A una determinada separación entre las gotas (h_{\max}), hay una barrera energética que las gotas deben superar para que las gotas se puedan acercar más. Si la altura de la barrera energética es grande comparada con la energía térmica del sistema, $w(h_{\max}) \gg kT$, las gotas no poseen la energía suficiente para superar la barrera y por lo tanto permanecen como entidades separadas. Si la altura de la barrera es pequeña comparada con la energía térmica, $w(h_{\max}) \ll kT$, las gotas pueden superar dicha barrera y caen en un mínimo profundo que existe a separaciones muy pequeñas. Para valores intermedios, $w(h_{\max}) \approx kT$, las gotas tienden a agregarse, pero este proceso es lento debido a que sólo una fracción de las colisiones entre gotas tienen la energía suficiente para superar la barrera de energía. El hecho de que exista una interacción atractiva extremadamente fuerte entre las gotas a separaciones pequeñas es

probablemente la causa de que las gotas se fundan y ocurra la coalescencia de las mismas.

Las interacciones coloidales que pueden surgir entre las gotas en una emulsión alimentaria real son mucho más complicadas que lo considerado anteriormente (Dickinson, 1992). Primero, existen diferentes tipos de potenciales atractivos y repulsivos que contribuyen al potencial de interacción global, cada uno pudiendo variar en signo, magnitud y alcance. Segundo, las emulsiones alimentarias contienen un gran número de gotas con diferentes tamaños, formas y propiedades. Tercero, el líquido que rodea las gotas puede contener varios tipos de iones y moléculas, que pueden afectar las interacciones entre las gotas. Sin embargo, para entender las propiedades de una emulsión alimentaria real, es importante conocer las distintas interacciones coloidales individuales para identificar el modo más efectivo de controlar la estabilidad de un sistema frente a la agregación.

B.1.5.1. Interacciones de Van der Waals

Este tipo de interacción surge a partir fluctuaciones momentáneas en la distribución de cargas de las moléculas, que originan dipolos inducidos. La inducción de dipolos complementarios en las moléculas adyacentes conduce a una débil fuerza atractiva entre ellas. Algo similar ocurre entre las partículas coloidales, y el potencial resultante decae con la inversa de la distancia de separación entre gotas (cuando h es pequeño comparado con el radio de las partículas):

$$w_{VDW}(h) \approx \frac{-A_H r}{12 h} \quad (h \ll r) \quad \text{Ec. B.1-13}$$

donde: A_H es la constante de Hamaker, que depende de la polarizabilidad de las fases continua y discontinua, r es la radio de las gotas (suponiendo que son de igual tamaño) y h la distancia de separación entre las gotas (McClements, 1999).

Las interacciones de van der Waals entre partículas coloidales son de mayor alcance que las que se producen entre moléculas (donde el potencial depende con la inversa de h elevada a la sexta potencia), lo cual tiene importantes consecuencias en la estabilidad de las emulsiones alimentarias. El valor de A_H para dos gotas similares es siempre positivo, con lo cual el potencial de interacción de van der Waals es negativo, de modo que el potencial es atractivo (Quemada y Berli, 2002). El hecho de que las interacciones de van der Waals sean relativamente intensas y de largo alcance, y que sean siempre atractivas, sugiere que las gotas de una emulsión

tenderían a agregarse unas con otras; sin embargo existen interacciones repulsivas que son lo suficientemente fuertes como para superar a la atracción de van der Waals. Algunas de las interacciones repulsivas más importantes son: electrostáticas, estéricas de polímeros, hidratación y fluctuaciones térmicas.

B.1.5.2. Interacción electrostática

El potencial repulsivo más importante en sistemas acuosos es de origen electrostático. Las gotas se encuentran usualmente cargadas (en mayor o menor grado) y sus superficies cargadas atraen contraiones del solvente, formando una doble capa eléctrica difusa alrededor de cada gota (Figura B.1-7). Cuando dos gotas se aproximan, experimentarán repulsión electrostática debido al solapamiento de las dobles capas, de modo que esto previene que las gotas se acerquen lo suficiente como para se agreguen. A causa de la distribución de las cargas eléctricas alrededor de la gota, el potencial eléctrico varía al alejarse de la superficie (Figura B.1-7). En particular, el potencial en el plano de deslizamiento se lo ha llamado potencial electrocinético o potencial zeta. El valor del potencial zeta tiene importantes consecuencias sobre la estabilidad de una emulsión, ya que cuanto mayor es su valor mayor es la barrera energética que evita que las gotas floculen (Jayme y col., 1999).

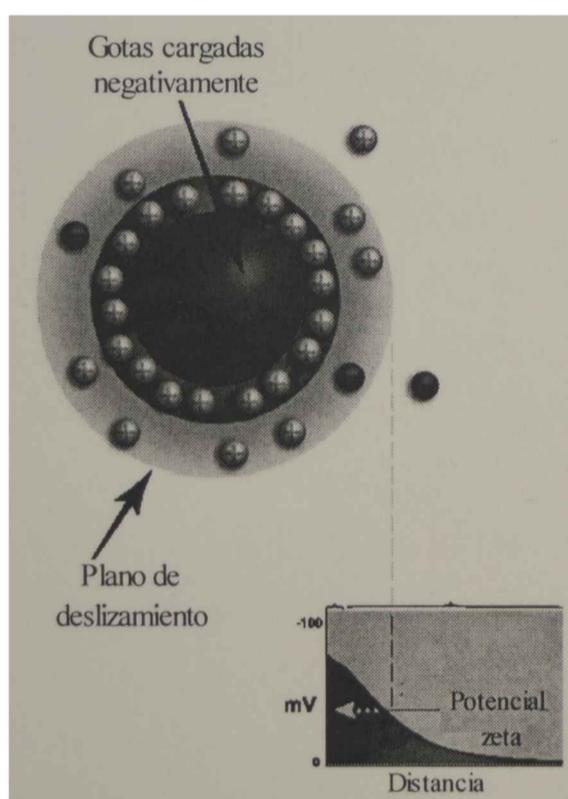


Figura B.1-7. Doble capa eléctrica alrededor de una gota cargada y variación del potencial con la distancia desde la superficie.

El potencial de repulsión electrostático entre dos gotas cargadas se puede describir mediante la siguiente ecuación (Walstra, 1996):

$$W_{\text{electrostático}}(h) = 4.3 * 10^{-9} r \psi^2 \ln(1 + e^{-\kappa h}) \quad \text{Ec. B.1-14}$$

donde ψ es el potencial de superficie de las gotas, r es el radio de la gota y κ es la inversa de la longitud de apantallamiento de Debye, la cual está dada por la siguiente ecuación válida para agua a temperatura ambiente (Walstra, 1996):

$$\kappa^{-1} = 0.31 * 10^{-9} I^{-1/2} \quad \text{Ec. B.1-15}$$

donde I es la fuerza iónica de la fase acuosa. La longitud de apantallamiento de Debye es una medida del espesor de la doble capa eléctrica. La adición de un electrolito a una emulsión incrementa la fuerza iónica, lo cual disminuye el espesor de la doble capa eléctrica y por lo tanto conduce a una reducción en la repulsión electrostática entre las gotas (Demetriades y McClements, 1998). Esto tiene importantes consecuencias para la textura y la estabilidad de muchas emulsiones alimentarias y explica la susceptibilidad de las emulsiones estabilizadas por interacciones electrostáticas de flocular cuando se incrementa la concentración de electrolito por encima de un nivel crítico (Demetriades, 1997a).

B.1.5.3. Interacción estérica de polímeros

Muchos emulsificantes usados en la industria alimentaria son parcial o totalmente poliméricos. En particular, muchos emulsificantes no iónicos tienen cabezas polares que son polímeros del óxido de etileno. La conformación que adoptan en la interfase depende del número, tipo y secuencia de monómeros a lo largo de la cadena. En general, un emulsificante tiende a adoptar una conformación interfacial que minimice la energía libre del sistema. En la práctica, el principal factor que determina dicha conformación es el efecto hidrofóbico. De este modo, los emulsificantes adoptan una conformación en la cual la cadena hidrocarbonada se proyecta hacia la fase lipídica mientras que los grupos polares hidrofílicos se proyectan hacia la fase acuosa.

Cuando las capas interfaciales de polímeros se encuentran lo suficientemente cerca como para que se solapen surge la interacción estérica, que es una interacción de corto alcance (Bergenståhl, 1995). Este tipo de potencial entre pares de partículas puede desdoblarse en dos contribuciones (Dickinson y Stainsby, 1982) (Figura B.1-8):

$$w_{\text{estérico}}(h) = w_{\text{elástico}}(h) + w_{\text{mezclado}}(h) \quad \text{Ec. B.1-16}$$

La contribución elástica se origina por la compresión de las membranas interfaciales mientras que la contribución de mezclado se debe al mezclado de las cadenas de polímeros entre sí.



Figura B.1-8: Contribuciones de mezclado y elásticas a la interacción estérica.

Las teorías que describen la contribución de mezclado de las interacciones estéricas están mucho menos desarrolladas que las interacciones de van der Waals o las electrostáticas, dado que las interacciones estéricas de polímeros son altamente dependientes de la estructura particular del polímero, de cómo se orienta y empaqueta en la interfase y de las interacciones de las moléculas en la interfase. Los modelos matemáticos para estas interacciones se han resuelto para casos sencillos, sin embargo es útil examinar alguna de estas teorías de modo de analizar los parámetros que la pueden afectar y poder comprender lo que ocurre en casos más complejos. La siguiente ecuación para la contribución de mezclado considera que las moléculas de polímero se encuentran retenidas en la interfase y que hay un número constante de cadenas de polímero por unidad de área (Narsimhan, 1992):

$$W_{\text{mezclado}}(h) = 4\pi r k T m^2 N_A \frac{v_p^2}{V_s} \left(\frac{1}{2} - \chi \right) \left(1 - \frac{1}{2} \frac{h}{\delta} \right)^2 \quad \text{Ec. B.1-17}$$

donde m es la masa de las cadenas de polímero por unidad de área, δ es el espesor de la capa adsorbida, N_A es el número de Avogadro, χ es el parámetro de Flory-Huggins, v_p es el volumen específico parcial de las cadenas de polímeros y V_s es el volumen molar del solvente. El parámetro de Flory-Huggins depende de las magnitudes relativas de las interacciones solvente-solvente, solvente-polímero y polímero-polímero y es una medida de la calidad del solvente. En un buen solvente (χ

< 0.5), las moléculas de polímero prefieren rodearse de moléculas de solvente. En cambio, en un solvente pobre ($\chi > 0.5$) las moléculas de polímero prefieren rodearse entre ellas. Como consecuencia de lo mencionado anteriormente, la contribución de mezclado será atractiva o repulsiva dependiendo de la calidad del solvente. En un buen solvente, un incremento de la concentración de polímero en la zona de interpenetración es termodinámicamente desfavorable ($w_{mez} > 0$) debido a que reduce el número de contactos polímero solvente y por lo tanto conduce a una interacción repulsiva entre las gotas. Por el contrario, en un solvente pobre, es termodinámicamente favorable ($w_{mez} < 0$) debido a que incrementa el número de contactos polímero-polímero y entonces, conduce a una interacción atractiva neta entre las gotas.

La contribución elástica surge cuando las capas son comprimidas, ya que el volumen disponible para las moléculas de polímeros se reduce y por lo tanto se reduce su entropía conformacional, lo cual es energéticamente desfavorable. Debido a esto, este tipo de contribución es siempre repulsiva ($w_{elas} > 0$). De acuerdo a Dickinson (1992), la magnitud de la contribución elástica se puede calcular a partir de un análisis estadístico del número de configuraciones que las cadenas de polímero pueden adoptar antes y después de que las capas se compriman:

$$w_{elastica}(h) = 2kT\nu \ln \frac{\Omega(\infty)}{\Omega(h)} \quad \text{Ec. B.1-18}$$

donde $\Omega_{(\infty)}$ y $\Omega_{(h)}$ son el número de conformaciones disponibles para las cadenas a una separación infinita (no comprimida) y a una distancia h (comprimidas), respectivamente y ν es el número total de cadenas por unidad de área.

La dependencia de $w_{mezclado}$ con el parámetro de Flory-Huggins significa que la teoría es capaz de predecir si puede ocurrir floculación en una emulsión estabilizada por interacciones estéricas; ya que si el término de mezclado se vuelve lo suficientemente grande y negativo como para superar el elástico, la atracción que sufren las cadenas de polímero puede conducir a la floculación de las gotas de la emulsión.

B.1.5.4. Interacciones originadas por polímeros no adsorbidos

Como ya se señaló, la presencia de partículas coloidales (tales como, las moléculas de polisacáridos) no adsorbidas en la fase acuosa de una emulsión afecta

su estabilidad, pudiendo provocar la floculación de la emulsión por medio del mecanismo de "floculación por exclusión" (Figura B.1-4b). La diferencia de presión osmótica entre el seno de la fase continua y la capa alrededor de las gotas, se manifiesta como una fuerza atractiva entre las gotas que provoca la agregación de las mismas, ya que de este modo se reduce la zona de exclusión (McClements, 2000). El potencial atractivo debido a la exclusión es directamente proporcional a la presión osmótica de la solución de polímero y su amplitud es comparable al radio de giro del polímero. Una característica importante de esta interacción es que la floculación del sistema ocurre cuando la concentración del polímero supera un determinado valor crítico. Esto se debe a que a bajas concentraciones de un determinado polímero, la presión osmótica ejercida sobre las gotas por la solución es pequeña de modo que no ocurre la floculación. A medida que la concentración del polímero aumenta, el espesor de la zona de exclusión disminuye y la presión osmótica aumentará, hasta un punto en el que se alcanza la floculación; y un posterior aumento de la concentración aumenta la floculación del sistema (Burns y col., 1999). Con respecto al efecto sobre esta interacción cuando se agrega un electrolito, Demetriades y McClements (1998) observaron en emulsiones aceite en agua estabilizadas por un emulsificante no iónico y dextrano sulfatado que la adición de sal incrementaba la concentración crítica a la cual la emulsión flocula. Berli y col. (2002) trabajando con emulsiones aceite en agua estabilizadas con caseinato de sodio encontraron a través de mediciones de viscosidad que este tipo de interacción se debilitaba con el agregado de NaCl. Ambos autores explican el efecto del agregado del electrolito a través de la influencia que tiene éste sobre el radio de giro del polímero y proponen que el radio efectivo de exclusión está dado por una ecuación del tipo:

$$r_{\text{efectivo}} = r_{\text{giro}} + b \kappa^{-1} \quad \text{Ec. B.1-19}$$

donde r_{giro} es el radio de giro del polímero, b es una constante de proporcionalidad y κ^{-1} es la longitud de apantallamiento de Debye. Entonces, la adición de un electrolito causa un descenso en el radio efectivo por dos razones: por un lado el apantallamiento electrostático reduce κ^{-1} y disminuye las repulsiones entre los distintos segmentos dentro del polímero lo cual decrece el r_{giro} . Como consecuencia, el volumen de la región disminuye, lo cual causa una reducción en la fuerza de la atracción por exclusión y aumenta la concentración crítica de polímero capaz de causar floculación.

B.1.5.5. Interacciones hidrofóbicas

La contribución de las interacciones hidrofóbicas a la estabilidad de una emulsión ha sido ignorada durante muchos años, sobre todo debido a la dificultad para desarrollar teorías que predigan su magnitud y alcance (McClements, 1999). Sin embargo, este tipo de interacciones es importante en algunos tipos de alimentos y se ha demostrado recientemente que puede promover la floculación de las gotas en emulsiones estabilizadas por proteínas (Demetriades, 1997b). Las interacciones hidrofóbicas son importantes cuando la superficie de las gotas tiene algún carácter no polar, ya sea porque no están totalmente cubiertas por un emulsificante o porque el emulsificante expone ciertos dominios no polares. El potencial de interacción hidrofóbica surge debido a que las zonas no polares de las superficies tenderán a acercarse para minimizar el contacto con el medio acuoso, de modo que es fuertemente atractivo. En cambio, cuando las superficies de las gotas están cubiertas con emulsificantes de pequeño tamaño, las interacciones hidrofóbicas entre ellas están apantalladas de manera efectiva y el potencial atractivo global está dominado por las interacciones de van der Waals (McClements, 1999).

B.1.5.6. Otras interacciones repulsivas

Las interacciones de hidratación surgen debido a la tendencia que tienen las moléculas de agua a estructurarse alrededor de los grupos polares de las moléculas. Cuando dos gotas se acercan, los enlaces entre el agua y los grupos polares de las moléculas adsorbidas en la superficie se deben romper, lo cual conduce a una interacción repulsiva. La magnitud y el alcance de la repulsión serán mayores cuanto mayor sea el grado de hidratación de los grupos polares, con lo cual la importancia de este tipo de interacción en un determinado sistema depende de la naturaleza de los grupos hidrofílicos presentes en la superficie de las gotas. Berli y col. (1999) observaron que la estabilidad de una suspensión coloidal de proteínas de soja era menor a 80 °C que a 20 °C debido a que la proteína se encontraba menos hidratada a mayor temperatura y por lo tanto el potencial repulsivo de hidratación era menor.

Las interfases que están compuestas de emulsificantes de pequeño tamaño son altamente dinámicas y tienden a exhibir ondulaciones debido a que sus energías de "torsión" son pequeñas comparadas con la energía térmica del sistema. Además, las moléculas de emulsificantes pueden estar rotando y girando continuamente, así como también moviéndose dentro y fuera de la región interfacial. Cuando dos interfaces hidrodinámicas se acercan, experimentan un número de interacciones por fluctuación térmica repulsivas que son de origen entrópico. Las dos interacciones más

importantes de este tipo en emulsiones son la interacción por proyección y las interacciones por ondulación. Las interacciones por proyección son interacciones repulsivas de corto alcance que surgen cuando dos superficies se acercan tanto que el movimiento de las moléculas de emulsificante dentro y fuera de la interfase de una de las gotas se ve restringido por la presencia de la otra, lo cual es entrópicamente desfavorable. La magnitud de esta interacción repulsiva depende de la distancia que es capaz de proyectarse el emulsificante desde la superficie hacia la fase continua. Las interacciones por ondulación son interacciones repulsivas de corto alcance que surgen cuando las ondulaciones tipo ola de la región interfacial que rodea una gota se ven restringidas por la presencia de otra gota, que también es entrópicamente desfavorable. El hecho de que estas interacciones poseen un alcance extremadamente corto, hace que no tengan casi efecto sobre la floculación de la emulsión, pero si son importantes para prevenir la coalescencia de las gotas (McClements, 1999).

B.1.5.7. Potencial de interacción total

La combinación de las diferentes interacciones entre partículas discutidas arriba determinan la estabilidad de una emulsión. Para emulsiones estabilizadas electrostáticamente, la interacción atractiva de van der Waals y la repulsión de la doble capa son las interacciones importantes. Esta es la aproximación clásica para describir este tipo de emulsiones y se conoce como teoría DLVO. A distancias de separación pequeñas y a grandes distancias domina la atracción de van der Waals sobre la repulsión de la doble capa eléctrica, de modo que las gotas experimentan un potencial neto atractivo. Sin embargo, a distancias intermedias, domina la repulsión electrostática. Por lo tanto, el potencial global exhibe un mínimo primario a distancias cortas, una barrera energética a separaciones intermedias y posiblemente un segundo mínimo poco profundo a mayores distancias, como se puede ver en la Figura B.1-9.

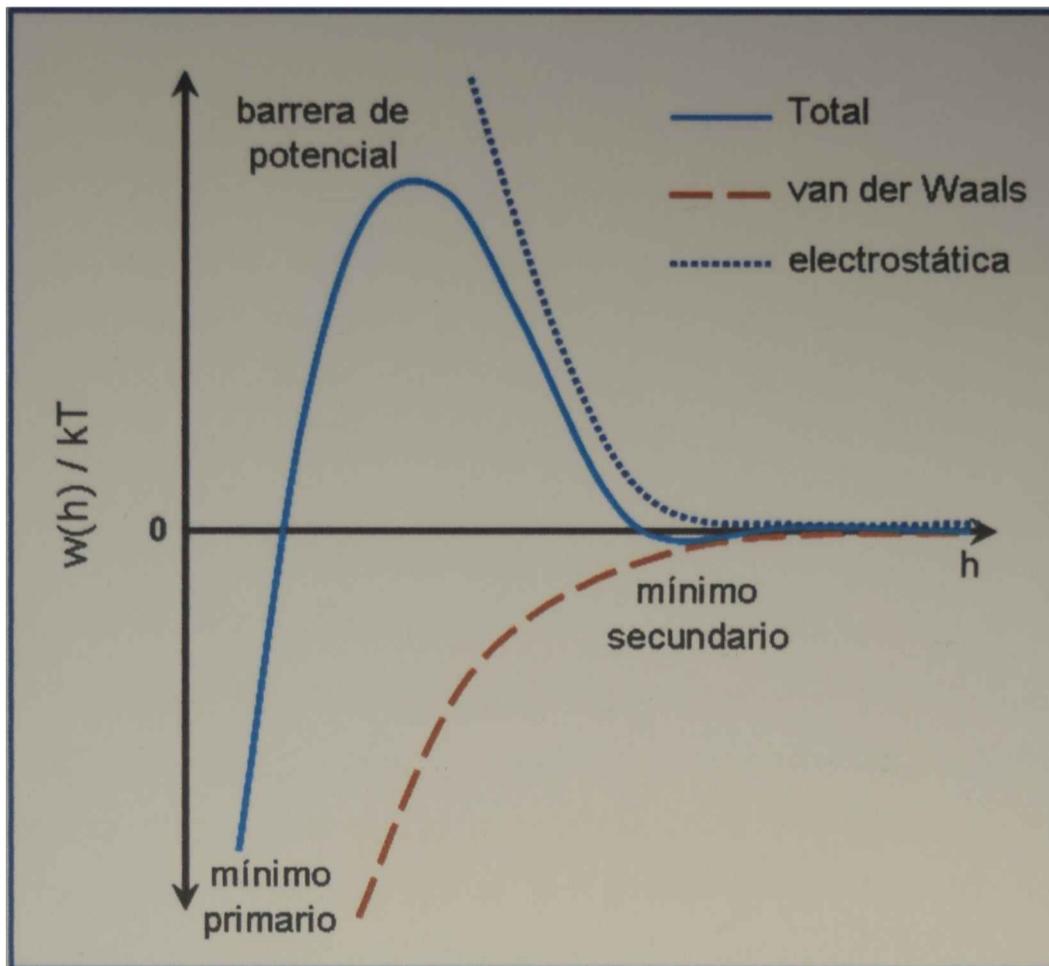


Figura B.1-9: Diagrama de la interacción global DLVO, donde se observan las contribuciones de van der Waals y electrostática.

La estabilidad de la emulsión dependerá de la altura de la barrera, si es suficientemente grande ($>25 kT$), las gotas no podrán adquirir suficiente energía para superar dicha barrera y no podrán acercarse a distancias cortas. Por otra parte si la barrera energética es del orden de kT , las gotas podrán superarla y caerán en el mínimo primario y probablemente puedan coalescer. Como se ha mencionado anteriormente, el agregado de un electrolito reduce la contribución de la repulsión electrostática, con lo cual la barrera energética es menor; a determinada concentración de electrolito, la barrera puede ser superada y las gotas tienden a flocular inmediatamente, lo cual ha sido observado experimentalmente por varios autores. Esta susceptibilidad a flocular de este tipo de emulsiones a sido estudiada en un gran número de sistemas (Hunt y Dalgleish, 1994 y 1995; Demetriades y col., 1997a).

La principal limitación de la teoría DLVO es que predice que dos gotas coalescerán a separaciones pequeñas debido a la elevada atracción entre ellas. Sin embargo, en la práctica, muchos emulsificantes son capaces de estabilizar las emulsiones frente a la coalescencia a través de las interacciones repulsivas de corto alcance, como las interacciones estéricas. De este modo, si las gotas tienen suficiente energía para superar la barrera energética, caen en un mínimo primario pero no pueden acercarse lo suficiente debido a estas repulsiones de corto alcance con lo cual tienden a formar flóculos fuertemente unidos pero no a coalescer. Este tipo de

comportamiento ha sido observado en emulsiones aceite en agua estabilizadas por proteínas de suero de leche (Demetriades, 1997a).

Las interacciones por exclusión deben incluirse cuando la fase continua de una emulsión contiene una concentración significativa de pequeñas partículas coloidales, tales como miscelas o polímeros no adsorbidos (Berli y col., 2002; Demetriades y McClements, 1998).

B.1.6 Agentes emulsificantes y estabilizantes

Un emulsificante es una molécula anfifílica que tiene una “cabeza” polar con gran afinidad por el agua y una cola no polar que tiene afinidad por la fase lipídica. El grupo polar puede ser aniónico, catiónico, zwitteriónico o no iónico. La mayoría de los emulsificantes usados para estabilizar las emulsiones alimenticias y espumas se clasifican según dos categorías (Damodaran, 1997; Kamel, 1991; St. Angelo, 1989):

- Especies de bajo peso molecular, como lípidos, fosfolípidos (lecitinas), mono y diglicéridos, ésteres del sorbitano polioxietilenados (SPANS[®] o TWEENS[®]), etc.
- Especies de alto peso molecular, tales como proteínas y gomas.

Las especies de bajo peso molecular generalmente poseen grupos de ácidos grasos de cadena larga que les otorgan sus características hidrofóbicas. Por otra parte, los grupos polares pueden ser, por ejemplo, glicerol (en mono y diglicéridos) y especies fosfoglicéridas sustituidas (en fosfolípidos) (Dalglish, 1996). A estos surfactantes se los distingue en base de su valor BHL (balance hidrofílico-lipofílico) El BHL se describe mediante un número que tiene en cuenta las proporciones lipofílicas e hidrofílicas del emulsificante, las cuales son las responsables de dar a cada emulsificante su funcionalidad. Cuanto más bajo es el valor BHL, más lipofílico es el surfactante y cuanto más alto, más hidrofílico. Emulsificantes con valores de BHL entre 3 y 6 se considera que son lipofílicos, se disuelven preferentemente en lípidos y tienden a formar emulsiones agua en aceite. En cambio, emulsificantes con valores entre 8 y 18 se consideran hidrofílicos, se disuelven preferentemente en agua y tienden a formar emulsiones aceite en agua. Los emulsificantes que tienen valores BHL entre 6 y 8, son de naturaleza intermedia (Charalambous y Doxastakis, 1989).

Los agentes surfactantes de bajo peso molecular tienen una estructura general R-X donde R es siempre una cadena lateral de ácidos grasos (“cola hidrofóbica”) y X un grupo de carácter hidrofílico (“cabeza hidrofílica”). Las cadenas laterales de ácidos grasos pueden ser saturadas o insaturadas, lineales o ramificadas

y alifáticas o aromáticas e interaccionan con la fase oleosa durante la formación de la emulsión. La naturaleza de los grupos polares también es muy variada: los grupos pueden ser no iónicos, aniónicos, catiónicos o iones mixtos.

Las especies de alto peso molecular residen principalmente en la fase acuosa, con un número de grupos peptídicos ubicados en la interfase aceite/agua (Damodaran, 1997; Schramm, 2005). Pese a que este tipo de surfactantes son menos efectivos en la reducción de la tensión interfacial, pueden formar una membrana viscoelástica, tipo película, alrededor de las gotas de aceite. Se las emplea comúnmente en la preparación de emulsiones o/w. Estas tendencias no son en modo alguno excluyentes, las mezclas son normales y prevalece la adsorción competitiva. El caseinato, uno de los surfactantes más usados en la industria alimentaria, es en sí mismo una mezcla de proteínas de distinta actividad superficial (Schramm, 2005).

Los agentes estabilizantes de sistemas emulsionados suelen ser polisacáridos o mezclas de éstos que contribuyen a impedir tanto el cremado como la coalescencia de la fase dispersa. La adición de estos biopolímeros estabiliza la emulsión mediante el incremento de la viscosidad de la fase continua o, en emulsiones concentradas, a través de la formación de una red de partículas que proporciona propiedades elásticas adicionales al sistema entero, de modo que el cremado está fuertemente impedido (Dickinson y col., 1994; Parker y col., 1995). Sin embargo, otros polisacáridos pueden reducir la tensión interfacial y adsorberse a la superficie formando una película interfacial que mejora la estabilidad de las emulsiones aceite en agua (Gaonkar, 1991; Garti, 1999). Existen varias mezclas de polisacáridos solubles en agua, hidrofílicos, como goma arábica, agar, alginato, carragenanos y quitina, cuyas suspensiones en agua pueden ser bastante viscosas e incluso gelar, y pueden formar películas interfaciales viscosas alrededor de las gotas de aceite dispersas (Dickinson y Euston, 1991). Son utilizados para estabilizar suspensiones, espumas y emulsiones en muchos alimentos y productos medicinales diferentes (Goff, 1997; Miner, 1993).

En cuanto al rol que desempeñan los hidrocoloides presentes en la fase acuosa de una emulsión o/w en las características reológicas de la misma, se debe recordar que la reología de emulsiones está gobernada por:

- volumen y distribución de tamaño de partículas de la fase dispersa
- grado de floculación
- viscosidad de la fase continua

Teóricamente, la viscosidad de una emulsión es directamente proporcional a la viscosidad de la fase continua. En consecuencia, cualquier alteración de la misma

tendrá influencias en la reología de la emulsión (McKenna y Ling 2003). En los capítulos siguientes se profundizará este concepto, a través del estudio de sistemas o/w estables, de características viscoelásticas diversas.

B.2 Objetivos sección B

En esta Sección se abordará el estudio de aspectos referidos a la inclusión de hidrocoloides en el desarrollo de sistemas emulsionados estables del tipo aceite-en-agua y su efecto sobre las características reológicas de cada sistema.

B.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Vincular las propiedades reológicas de la fase continua formulada con distintos hidrocoloides, con la estabilidad de las emulsiones en el rango de concentraciones de aplicación que se usan en la industria de alimentos.
- Estudiar el efecto del tipo y concentración de hidrocoloides empleados sobre la estabilidad de los sistemas emulsificados modelo y la distribución de tamaños de gotas observada.
- Analizar el efecto del tiempo de almacenamiento en emulsiones estabilizadas con gelatina de origen bovino, como así también la influencia del peso molecular del hidrocoloide sobre las características viscoelásticas.
- Determinar la influencia del grado de acilación de goma gellan sobre la reología de dispersiones de hidrocoloides y su incidencia sobre las características viscoelásticas de emulsiones gelificadas.
- Estudiar y modelar el comportamiento observado por las emulsiones analizadas, para interpretar la microestructura de los sistemas modelo y la influencia de los hidrocoloides en la misma.
- Determinar el espectro de relajación de distintos sistemas estudiados y su aplicación en la predicción de propiedades reológicas.

B.3 Emulsiones de bajo contenido lipídico: incidencia de la composición en el comportamiento reológico.

B.3.1 INTRODUCCIÓN

La elaboración de emulsiones alimenticias con bajo contenido lipídico es una de las áreas en desarrollo donde se busca generar sistemas estables, con las características reológicas deseadas, a partir de un porcentaje de aceite reducido. El agregado de hidrocoloides como espesantes o gelificantes de la fase acuosa en este tipo de emulsiones resulta una interesante alternativa para el incremento de su estabilidad basado en la disminución de la velocidad de cremado, a partir de un aumento en la viscosidad de la fase continua (Quintana y col., 2002 a, b). Sin embargo, estos polisacáridos se deben agregar con precaución ya que también pueden afectar las interacciones coloidales presentes en la emulsión y provocar que la misma flocule, lo que podría llevar a su vez a que aumente la velocidad de cremado (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005, Tadros, 1996). Se estima que el 40% de los costos de desarrollo de una emulsión alimentaria nueva se destinan al estudio de la vida útil, donde el principal criterio de estabilidad, es la desaparición visual de la uniformidad del sistema (Robins, 2000; Robins y Hibberd, 1998). Según McClements (1999), en emulsiones concentradas, otra alternativa es provocar que la fase dispersa flocule de modo tal que forme una red tridimensional que ocupe todo el volumen y de este modo evite que las gotas puedan migrar.

La problemática se acrecienta en sistemas tipo aderezos para ensaladas donde la presencia de electrolitos por el agregado de NaCl y un bajo pH, involucran nuevas causas de desestabilización por fenómenos electrostáticos (Quintana y col., 2002b).

Uno de los atributos de calidad más relevantes en un alimento, y en particular en una emulsión, es la percepción por parte del consumidor de una buena textura. La reducción del contenido lipídico genera una pérdida de la cremosidad y una menor aceptabilidad de estos productos (Akhtar y col., 2005). Es entonces necesario encontrar componentes que reflejen las cualidades deseadas por el consumidor, manteniendo un bajo contenido de aceite y un sistema estable en el tiempo. La

reología resulta, entonces, una herramienta imprescindible a la hora de caracterizar las emulsiones alimenticias, y permite la vinculación de atributos de calidad con el comportamiento del sistema a nivel microestructural.

Las propiedades reológicas de una emulsión dependen del comportamiento reológico de la fase continua, de la fracción de aceite y de las posibles interacciones entre partículas. El objetivo de este capítulo fue analizar el efecto de la composición sobre las propiedades viscoelásticas de emulsiones aceite en agua (o/w) de bajo contenido lipídico, con el agregado de NaCl y ácido acético, estabilizadas con una mezcla de hidrocoloides (goma xántica/goma guar), a fin de predecir el comportamiento reológico del sistema.

B.3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

B.3.2.1. Materiales utilizados

Para la formulación de las emulsiones se utilizó aceite comercial 100% de girasol (Molinos Río de La Plata SACIFI, Buenos Aires), adquirido de un comercio local y empleado sin ningún tratamiento posterior. El emulsificante empleado fue monooleato sorbitano polioxietilenado (Tween[®] 80) que fue adquirido de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) al igual que los hidrocoloides goma xántica y goma guar, utilizados para estabilizar las emulsiones. NaCl de grado analítico y ácido acético (Anedra, Argentina) se incluyeron también en las formulaciones, como también un pequeño porcentaje de azida sódica para evitar el desarrollo de microorganismos.

B.3.2.2. Preparación de las muestras

Las emulsiones aceite en agua (o/w) fueron preparadas con un bajo contenido lipídico de entre un 10% y un 30% p/p de aceite comercial de girasol, y estabilizadas con el agregado de 1% de Tween[®] 80. Las fases continuas empleadas se elaboraron utilizando una relación 7:3 entre goma xántica y goma guar, que resulta sinérgica según han reportado varios autores (Dea y col., 1977, BeMiller y Daniels, 2002). Los hidrocoloides se agregaron a una solución acuosa conteniendo 2% de NaCl y acidificada con 2% de ácido acético. La solución se llevó hasta una temperatura de 60°C, agitando lentamente por un período de 3 hs. para asegurar la mayor acción sinérgica entre ambos hidrocoloides. Khouryieh y col. (2006) encontraron que por encima de la temperatura de "orden-desorden" de la molécula de goma xántica (51°C)

se lograba la mayor fuerza de la red formada entre gomas xántica y guar. Después de la dispersión de los hidrocoloides, las fases continuas fueron pesadas y se adicionó la cantidad de solución acuosa (2% NaCl + 2% ácido acético) para compensar las pérdidas que pudieran haber ocurrido por evaporación. En todas las emulsiones se incluyó 0.01% de azida sódica para inhibir el crecimiento microbiano.

Las emulsiones se realizaron usando un homogenizador Ultra Turrax T-25 (Ika, Steufen, Germany), en sistemas a escala laboratorio y con una masa final de emulsión de 300g. El aceite de girasol, a temperatura ambiente, fue adicionado lentamente a las fases acuosas conteniendo el resto de los componentes. Las condiciones operativas de emulsificación fueron constantes para todos los sistemas estudiados, manteniéndose una velocidad de agitación de 11500 rpm durante 4 minutos y sin un control térmico durante la homogenización. Luego de preparadas, las emulsiones se almacenaron durante 24 hs antes de realizar las medidas correspondientes.

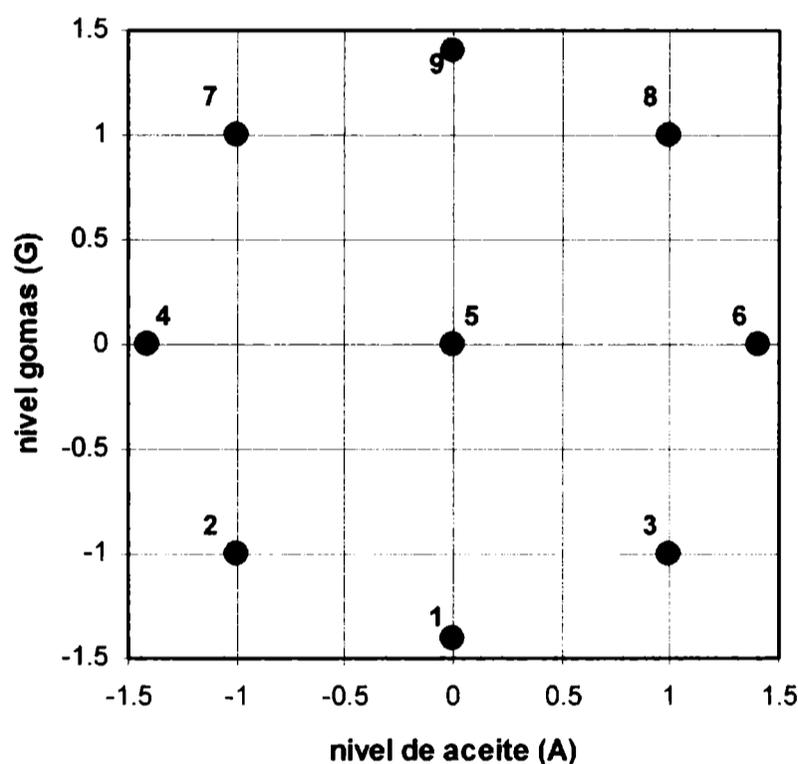


Figura B.3-1. Esquema del diseño central compuesto empleado para las experiencias. Los puntos marcan las formulaciones analizadas y los números de acuerdo a la Tabla B.3-1.

Para el estudio de las propiedades reológicas de las emulsiones se propuso un diseño central compuesto (Box y Draper, 1987) como el que se muestra en la Figura B.3-1. Las variables involucradas fueron la fracción de aceite (10 - 30% p/p) y el contenido de hidrocoloides en la fase continua (0.5 - 2% p/p), generando un sistema de nueve formulaciones donde el punto central es replicado tres veces (Tabla B.3-1).

Tabla B.3-1. Composición de las emulsiones analizadas y sus respectivas codificaciones (A: aceite; G: hidrocoloides).

| Formulación | A | G | aceite %p/p | gomas %p/p |
|-------------|-------|-------|-------------|------------|
| 1 | -1.41 | 0 | 10.00 | 1.25 |
| 2 | -1 | -1 | 12.91 | 0.72 |
| 3 | -1 | 1 | 12.91 | 1.78 |
| 4 | 0 | -1.41 | 20.00 | 0.50 |
| 5 | 0 | 0 | 20.00 | 1.25 |
| 6 | 0 | 1.41 | 20.00 | 2.00 |
| 7 | 1 | -1 | 27.09 | 0.72 |
| 8 | 1 | 1 | 27.09 | 1.78 |
| 9 | 1.41 | 0 | 30.00 | 1.25 |

B.3.2.3. Distribución del tamaño de gotas y estabilidad

La determinación del diámetro medio de las gotas, así como la distribución de tamaños de gotas en las emulsiones se determinó mediante un equipo de dispersión estática de luz Mastersizer 2000, con una unidad de dispersión Hydro 2000MU provisto con un laser He - Ne (633 nm) como el que se observa en la Figura B.3-2 (Malvern Instruments Ltd., Worcester, UK). El rango de medición del equipo se encuentra entre los 0.1 μm a 1000 μm . La velocidad de la hélice se mantuvo en 1800 rpm. La técnica de difracción láser opera bajo la predicción del comportamiento de las partículas sobre la dispersión de luz. Las partículas dispersan luz en todas las direcciones con un patrón de intensidad que es dependiente de su tamaño. La luz dispersada tendrá diferentes intensidades según el ángulo de observación. El equipo empleado utiliza la teoría de Mie para determinar el tamaño de las gotas. Esta teoría describe la radiación en y alrededor de una partícula esférica en un medio homogéneo y no-absorbente en todas las direcciones espaciales. Las partículas pueden ser transparentes o completamente absorbentes. La Teoría de Mie postula que la difracción de luz es un fenómeno de resonancia. Si un rayo de luz con una longitud de onda determinada incide sobre una partícula, esta partícula crea oscilaciones electromagnéticas en la misma frecuencia que la luz incidida – dependientes de la relación entre la longitud de onda de la luz con el diámetro de la partícula y el índice de refracción entre las partículas y el medio. La partícula es susceptible a la recepción de determinadas longitudes de onda y reemite la energía como una estación de emisión, en una distribución espacial angular definida. Según la Teoría de Mie, son posibles múltiples estados de oscilación con diferentes probabilidades y existe una relación

entre la sección ópticamente efectiva y el tamaño de la partícula, la longitud de onda y el índice de refracción entre las partículas y el medio. Para aplicar la Teoría de Mie es necesario conocer el índice de refracción y el coeficiente de absorción de la muestra y del medio. El índice de refracción adoptado para la fase dispersa fue de 1.449 y de 1.33 para el medio acuoso. El coeficiente de absorción considerado para las partículas de la emulsión fue de 0.001.

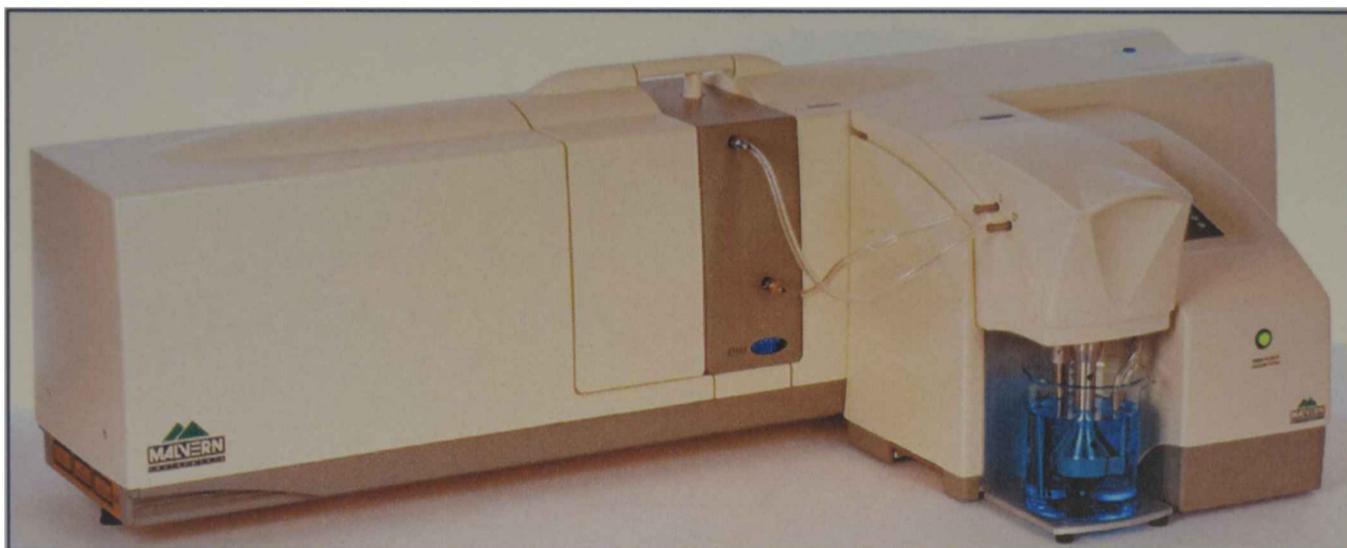


Figura B.3-2. Equipo de dispersión estática de luz para medir tamaño de gotas.

Para todas las muestras ensayadas se determinó el diámetro de Sauter, $d_{3,2}$, mediante la expresión:

$$d_{3,2} = \frac{\sum_{i=1}^N (n_i d_i^3)}{\sum_{i=1}^N (n_i d_i^2)} \quad \text{Ec. B.3-1}$$

donde d_i es el diámetro de la i -ésima gota, N es el número total de gotas y n_i es el número de gotas que tienen diámetro d_i .

Complementariamente se realizaron observaciones microscópicas de todas las emulsiones, realizando una previa dilución 1:20 con agua destilada y empleando un microscopio óptico conectado a una cámara DC 100 (Leica Microscopy Systems Ltd., Heerbrugg, Switzerland).

La estabilidad de las emulsiones se determinó de manera visual. Para esto se tomaron dos alícuotas de cada una de las emulsiones ensayadas y se colocaron en una probeta de 100 ml. Las probetas fueron almacenadas a 20°C en un cuarto de temperatura controlada. Las muestras fueron observadas periódicamente y se

determinó el periodo de estabilidad como el tiempo en el cual se observó la aparición de una interfase.

B.3.2.4. Medición de la densidad

La densidad de las dispersiones acuosas de hidrocoloides ensayadas se determinó mediante el uso de un picnómetro estandarizado de 25 ml. La masa de solución fue calculada como la diferencia entre el picnómetro lleno y vacío. Cada solución de hidrocoloide fue colocada en el picnómetro e incubada a 20°C por al menos una hora para equilibrar la muestra previo a la determinación de la densidad. Cada medida se realizó por duplicado y el promedio de esos valores fue el que se empleó para convertir las fracciones máxicas en volumétricas.

B.3.2.5. Ensayos reológicos

Los ensayos reológicos se llevaron a cabo en un reómetro Haake RS600 de esfuerzo controlado (ThermoElectron, Alemania) y para cada medida se realizaron al menos tres replicados, reportándose en cada caso los valores medios.

Tanto las emulsiones como las fases continuas fueron evaluadas a una temperatura constante de 25°C estabilizada mediante un baño termostático. Una vez colocada la muestra en el equipo, se llevó el sensor hasta la posición de medida, esto es, 1.0 mm. de espaciado entre platos (*luz o gap*) y se cubrió todo el contorno con una fina película de silicona para evitar la deshidratación de la muestra durante el ensayo. Las muestras se dejaron reposar durante 600 segundos antes de iniciar cada ensayo, para garantizar la completa relajación de los esfuerzos normales a los que pudiera haber estado sometida durante la manipulación previa.

Los ensayos reológicos se dividieron en dos partes: ensayos oscilatorios, para evaluar su comportamiento viscoelástico lineal, y ensayos rotacionales para determinar el comportamiento de flujo.

B.3.2.5.1. Ensayos oscilatorios

Inicialmente se determinó el rango de viscoelasticidad lineal (LVR) de cada muestra a 25°C, variando el esfuerzo aplicado entre 0.05 y 50 Pa, manteniendo fija la frecuencia de oscilación en 6.28 rad/s. Posteriormente, una vez determinado el LVR para cada muestra y dentro del mismo, se realizaron ensayos de barrido de frecuencias desde 0.01 hasta 130 rad/s, para determinar la evolución de los módulos

elástico (G') y viscoso (G''). Se utilizó una geometría de platos paralelos lisos de 60 milímetros de diámetro para realizar las corridas oscilatorias de las emulsiones y sus respectivas fases continuas (sensor PP60).

B.3.2.5.2. Comportamiento de flujo en estado estacionario

El comportamiento de flujo en estado estacionario (viscosidad (η) versus esfuerzo de corte (σ)) se estudió utilizando un sistema sensor de geometría plato-plato rugoso PP35-S (platos paralelos rugosos de 35 mm. de diámetro).

El empleo del plato rugoso permite evitar el fenómeno de deslizamiento que puede ocurrir durante la medida de la viscosidad en estado estacionario (Sánchez y col., 2001). Las medidas de flujo se obtuvieron imponiendo una rampa de esfuerzos de corte en el rango entre 0.1 y 70 Pa y esperando que la pendiente de la velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$) resultante versus el tiempo sea menor que 0.001 % en cada punto, de modo de asegurar el estado estacionario. Se estableció un tiempo máximo de corte de 300 segundos para cada punto, pero en ninguna de las corridas fue alcanzado.

B.3.2.6. Análisis estadístico

Las regresiones no lineales se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evenston, IL, USA). El ajuste se realizó utilizando un ajuste polinomial de segundo orden del tipo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2 \quad \text{Ec. B.3-2}$$

donde Y es la variable respuesta, X_i son las variables de proceso codificadas y los β_{ij} son los parámetros de la regresión. Para el ajuste del modelo polinómico de la Ec. B.3-2, se siguió una metodología "stepwise" para establecer los términos significativos. Las diferencias entre los parámetros se consideraron significativas cuando las probabilidades calculadas fueron menores a 0.05 ($P < 0.05$). Después del ajuste del modelo, se realizó un análisis de los residuos para validar las suposiciones hechas en el análisis de varianzas. Este tipo de estudio contempla la identificación de posibles "outliers" y el análisis de los gráficos de diagnóstico (normal y de los residuos).

B.3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

B.3.3.1. Distribución de tamaños de gotas de las emulsiones y estabilidad

En la Figura B.3-3 se muestran, a modo de ejemplo, las microfotografías obtenidas para dos de las emulsiones estudiadas (formulaciones 4 y 9 de acuerdo a la Tabla B.3-1).

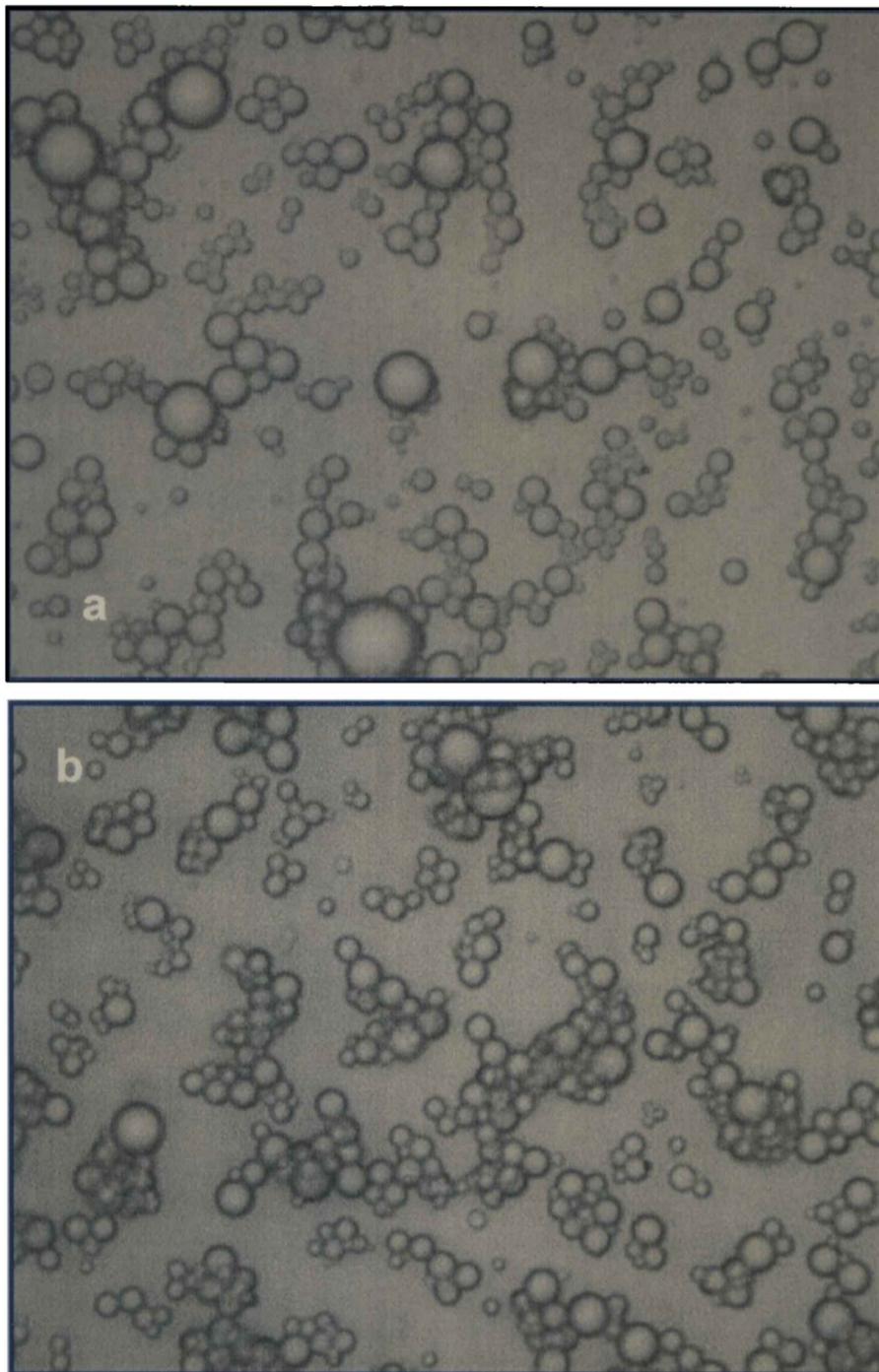


Figura B.3-3. Fotomicrografías de emulsiones aceite en agua formuladas con (a) 20% p/p aceite y una fase continua con 0.5% de mezcla xántica/guar, (b) 30% p/p aceite y una fase continua con 1.25% de mezcla xántica/guar.

Mediante la técnica de difracción de luz se pudo ver que la adición de hidrocoloides no generó modificaciones en las distribuciones de tamaños de gota. La distribución resultó bimodal y el diámetro medio de Sauter (d_{32}) de los sistemas fue de 1.7-1.8 μm (Figura B.3-4).

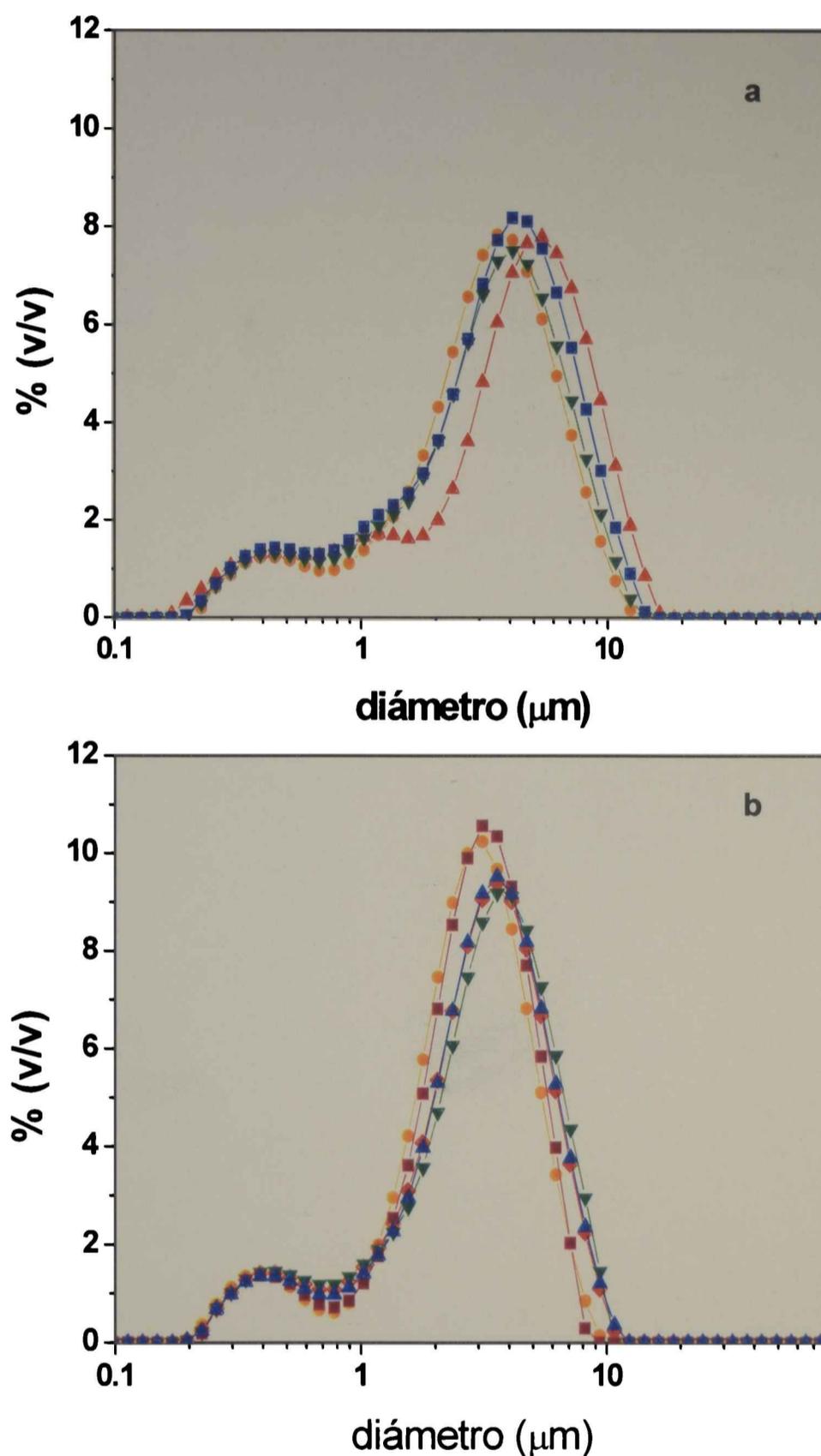


Figura B.3-4. Distribución del tamaño de gotas para las distintas emulsiones estudiadas. (a) Formulaciones 1 (∇), 2 (\blacktriangle), 3 (\bullet), 4 (\blacksquare), (b) Formulaciones 5 (\blacklozenge), 6 (\blacktriangle), 7 (\blacktriangledown), 8 (\bullet), 9 (\blacksquare).

A partir de la distribución de tamaños de gotas se calculó la varianza correspondiente, la cual es un índice de la polidispersión de las emulsiones

(McClements, 1999). La Tabla B.3-2 muestra los d_{32} y las correspondientes varianzas de las diferentes formulaciones estudiadas.

Mediante la observación microscópica de los sistemas se pudo determinar que las emulsiones se encontraban floculadas (Figura B.3-3). Las partículas coloidales no adsorbidas de polisacáridos inducen la floculación en las emulsiones debido a efectos osmóticos. Cuando dos gotas se aproximan a una distancia tal cuya separación es menor que dos veces el radio de giro del polímero libre, éste último es excluido de esta zona entre las gotas provocando una diferencia de concentración con respecto al seno de la emulsión. Como consecuencia las moléculas de solvente de la fase continua se mueven desde la zona de exclusión hacia el seno del líquido debido a la diferencia de potencial osmótico. Este proceso se conoce como floculación por exclusión ("depletion flocculation") en el cual las gotas de aceite se agregan, reduciendo así el volumen de la zona de exclusión (Berli y col, 2002; McClements; 2000; Radford y Dickinson, 2004; Sun y col., 2007).

Tabla B.3-2. Diámetro de Sauter (d_{32}) y su varianza correspondiente ($\text{Var}(d_{32})$), para todas las emulsiones estudiadas.

| Formulación | d_{32} (μm) | $\text{Var}(d_{32})$ (μm) |
|-------------|----------------------------|--|
| 1 | 1.74 | 0.020 |
| 2 | 1.75 | 0.015 |
| 3 | 1.78 | 0.020 |
| 4 | 1.78 | 0.026 |
| 5 | 1.74 | 0.014 |
| 6 | 1.79 | 0.016 |
| 7 | 1.77 | 0.016 |
| 8 | 1.68 | 0.007 |
| 9 | 1.76 | 0.009 |

Las emulsiones formuladas presentaron una estabilidad superior a 8 meses, evidenciada por la ausencia de una interfase nítida de separación de fases. La red de partículas floculadas, tipo gel débil, proporciona propiedades elásticas adicionales al sistema, de modo que el cremado estaría fuertemente impedido (McClements, 2000; Quintana y col., 2002 a,b).

B.3.3.2. Ensayos reológicos dinámicos

Si se toma el espectro mecánico de un material viscoelástico, el mismo puede dividirse en cuatro regiones principales como se muestra en la Figura B.3-5. A muy bajas frecuencias una región denominada "terminal" donde G'' es mayor que G' , con una alta dependencia de ambos módulos con la frecuencia.

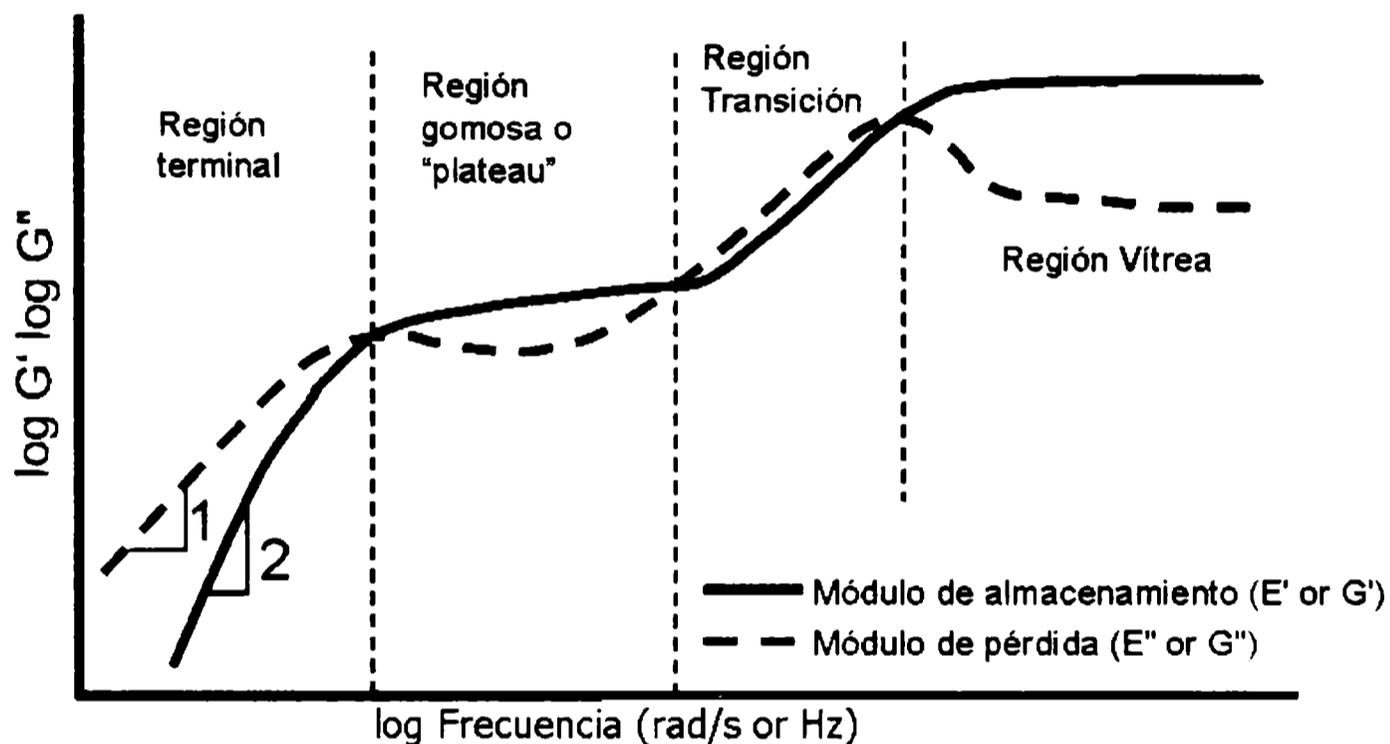


Figura B.3-5. Curva teórica del espectro mecánico de un material viscoelástico.

En una zona de frecuencias intermedias, entre las regiones de transición y terminal, existe lo que se denomina región gomosa o "plateau". Ésta se observa después de la frecuencia crítica de cruce (ω_c) donde el módulo elástico comienza a ser superior al módulo de almacenamiento, mostrando una marcada disminución en la pendiente de ambos módulos (inferior a 1) y la existencia de un posible mínimo en G'' (Ferry, 1980).

La variación de G' y G'' con la frecuencia en las soluciones de mezclas de gomas xántica y guar mostró que el comportamiento viscoelástico sufrió una transición de líquido gomoso a gel débil a medida que se incrementaba la concentración de hidrocoloides. Las fases continua preparadas con 0.5 % y 0.72 % de hidrocoloides presentaron un comportamiento marcadamente viscoso, observándose valores muy bajos de G' y G'' y una marcada dependencia lineal de dichos parámetros con la frecuencia en todo el rango estudiado (Figura B.3-6a). El módulo viscoso fue mayor que el módulo elástico en las formulaciones con 0.5% de hidrocoloides, mientras que

en las dispersiones con 0.72% se observó una frecuencia crítica ω_c donde las curvas de los módulos presentaron un cruce ($G'(\omega_c) = G''(\omega_c)$) (Ferry, 1980; Steffe, 1996). La frecuencia crítica ω_c fue alrededor de los 10 rad/s para un contenido de gomas de 0.72%. A partir de 1.25%, G' fue mayor que G'' en todo el rango de frecuencias ensayadas con $\omega_c \sim 10^{-2}$ rad/s (Figura B.3-6b). En particular, las soluciones de 2% de gomas mostraron un comportamiento tipo gel débil, en el cual G' y G'' fueron poco afectados por el incremento de ω .

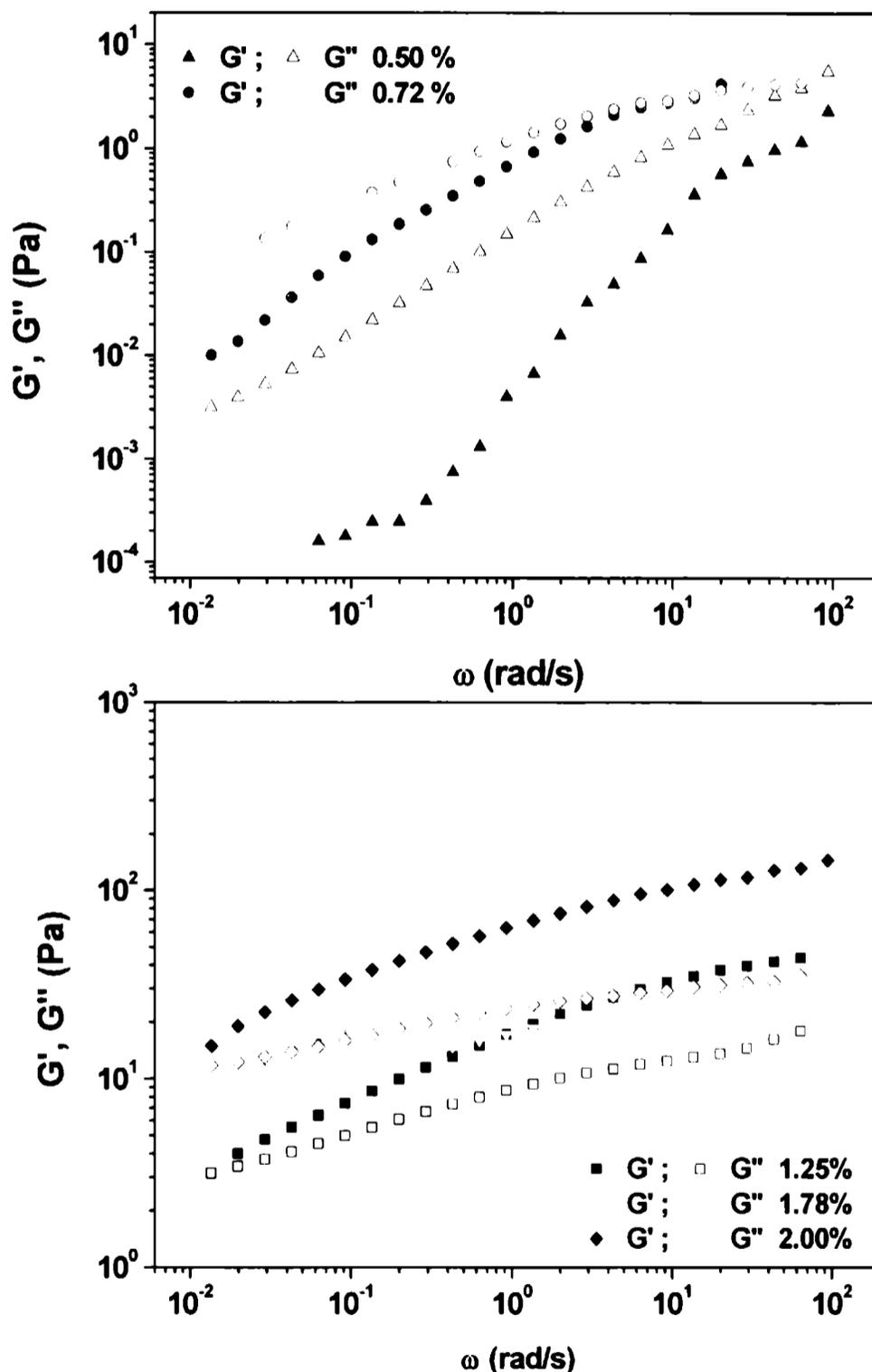


Figura B.3-6. Barrido de frecuencias para las dispersiones de hidrocoloides (xántica/guar) con diferentes concentraciones. (a) 0.5% y 0.72%. (b) 1.25%, 1.78% y 2%.

En sistemas poliméricos, la aparición de una región "plateau" para G' o de un mínimo en G'' en la dependencia de los módulos con la frecuencia se atribuye a la formación de una estructura tridimensional tipo gel originada por entrecruzamientos físicos entre las cadenas de polímeros. La interacción sinérgica de ambos hidrocoloides, favorece el desarrollo de una red entrecruzada (BeMiller y Whistler, 1996; Casas y col., 2000). La naturaleza exacta de las interacciones sinérgicas entre la goma guar y la goma xántica no han sido todavía esclarecidas (Schorsch y col., 1997). Algunos autores proponen la formación de una red a través de zonas de unión específicas. Dea y col. (1977) propusieron que la asociación ocurría entre regiones no sustituidas de las moléculas de goma guar con el esqueleto de la goma xántica; mientras que otros proponen que las cadenas de manosas sustituidas regularmente por galactosas se localizan hacia un lado de la cadena y entonces se unen a la cadena principal de la goma xántica (McCleary y col., 1984).

Las emulsiones alimentarias también se comportaron como fluidos viscoelásticos. La evolución de los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') con la frecuencia fue extremadamente dependiente de la concentración de la emulsión y de la composición de la fase continua (Figura B.3-7a, b y c). Si bien se registró un incremento de ambos módulos con el contenido de aceite, se observó que el carácter de las emulsiones estaba determinado principalmente por el nivel de hidrocoloides. En las emulsiones con 1.25 % de hidrocoloides o más el módulo de almacenamiento presentó valores mayores que el módulo de pérdida (G'') en un amplio intervalo de frecuencias, con una baja dependencia de ambos módulos con la misma en el rango analizado. Los valores más altos de ambos módulos correspondieron a la emulsión con 30 % o/w. Este comportamiento se observó en emulsiones floculadas con características de gel donde las gotas se encuentran formando una red estructural (Guerrero y col., 1998; Partal y col., 1999; Quintana y col., 2002 a,b). Una disminución en el contenido de gomas por debajo de 1.25% generó emulsiones con un comportamiento típico de una solución concentrada de polímeros, con una marcada dependencia de G' y G'' con la frecuencia, con un módulo de pérdida superior o del mismo orden que el módulo de almacenamiento ($G'' \geq G'$), y un cruce entre los módulos a frecuencias intermedias característico de muestras más fluidas.

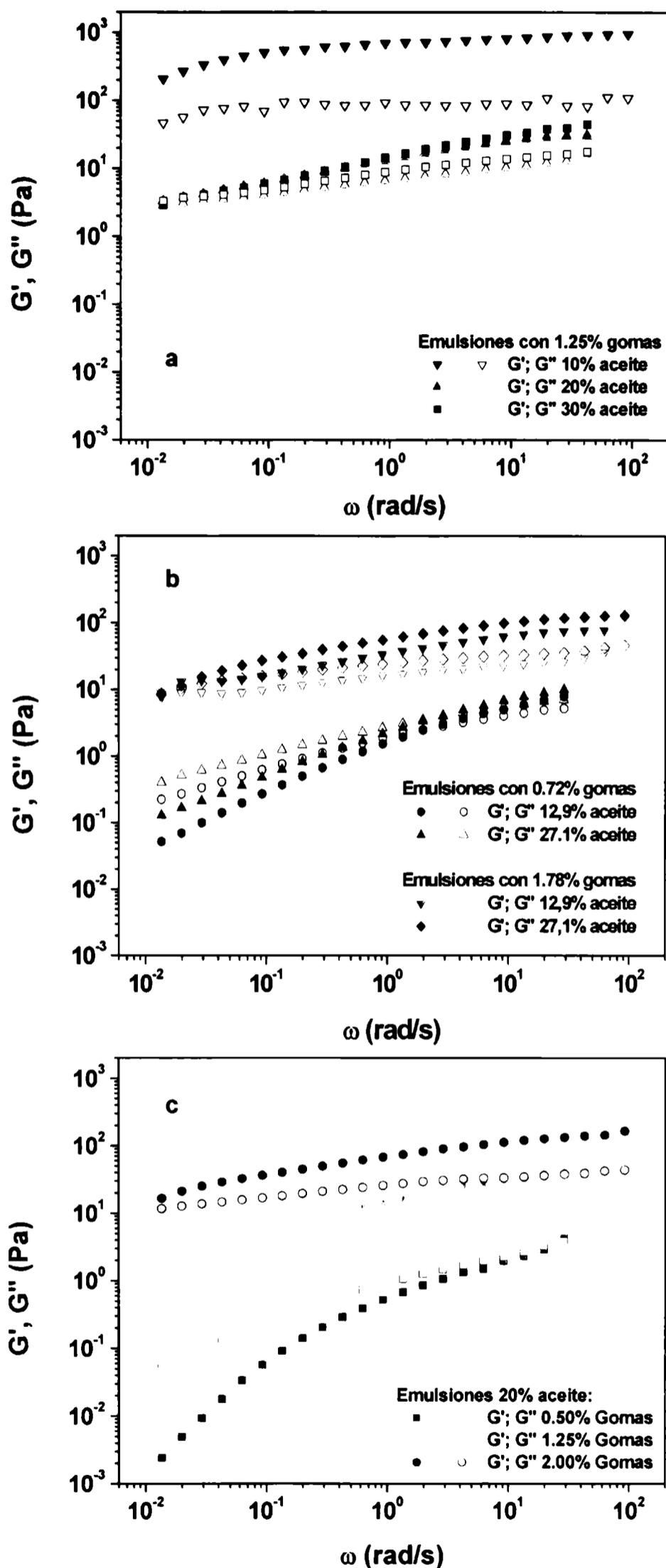


Figura B.3-7. Barrido de frecuencias para las emulsiones aceite en agua. (a) Formulaciones 1,5 y 9; (b) formulaciones 2, 3, 7 y 8; (c) formulaciones 4, 5 y 6. Codificaciones de acuerdo a la Tabla B.3-1.

B.3.3.3. Curvas de flujo en estado estacionario

De acuerdo a Roberts y col. (2001), las curvas de flujo se graficaron en función del esfuerzo de cizalla aplicado teniendo en cuenta que este tipo de representación resulta más exigente y con resultados de mejor calidad.

Las suspensiones de la mezcla de gomas estudiadas presentaron viscosidades elevadas a velocidades de cizalla bajas y un fuerte comportamiento pseudoplástico en un amplio rango de esfuerzos como se muestra en la Figura B.3-8.

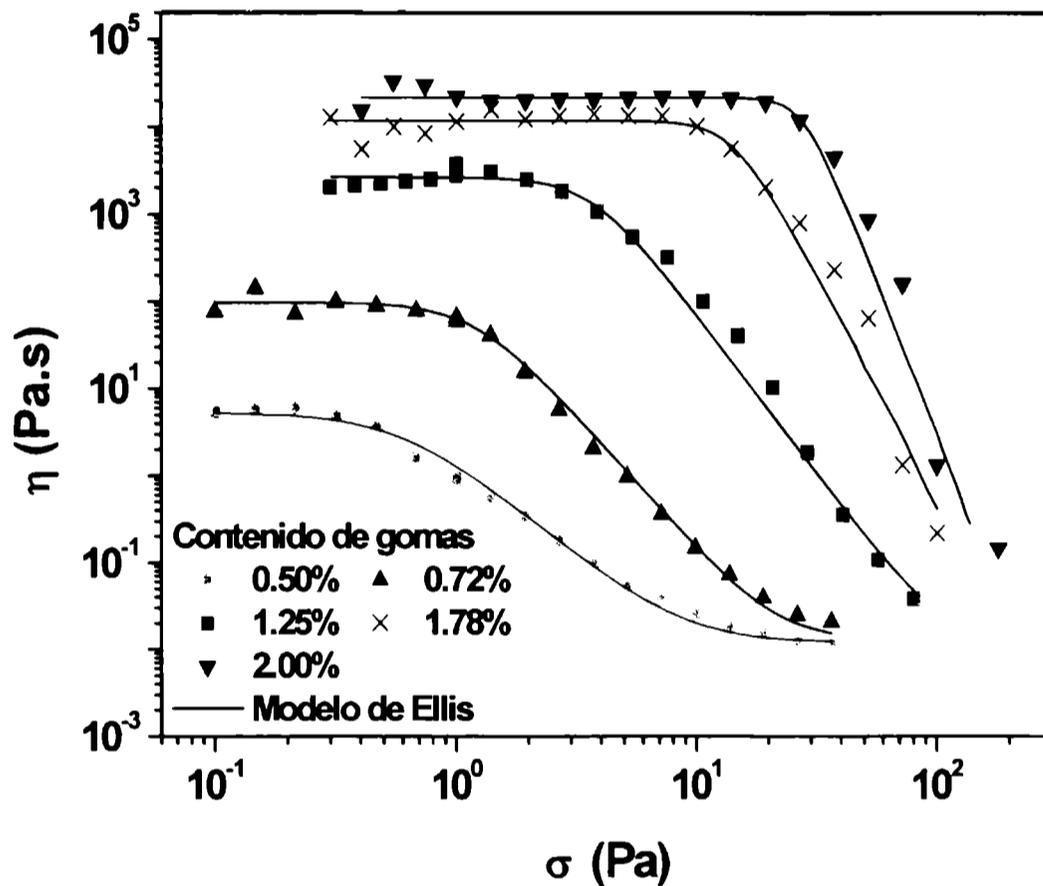


Figura B.3-8. Curvas de flujo en estado estacionario para suspensiones con distintas concentraciones de gomas xántica/guar (fase continua).

Puede verse que no sólo existe un incremento de la viscosidad a bajos esfuerzos de cizalla con el aumento en el contenido de hidrocoloides, sino que también las dispersiones resultaron menos susceptibles de disminuir la viscosidad con el aumento de la cizalla, debido a la mayor cantidad de entrecruzamientos formados.

También las emulsiones mostraron un comportamiento pseudoplástico, el que se ha relacionado tanto con la floculación de gotas de la fase dispersa como con el comportamiento no newtoniano de la fase continua como se observa en la Figura B.3-9. (Tadros, 2004).

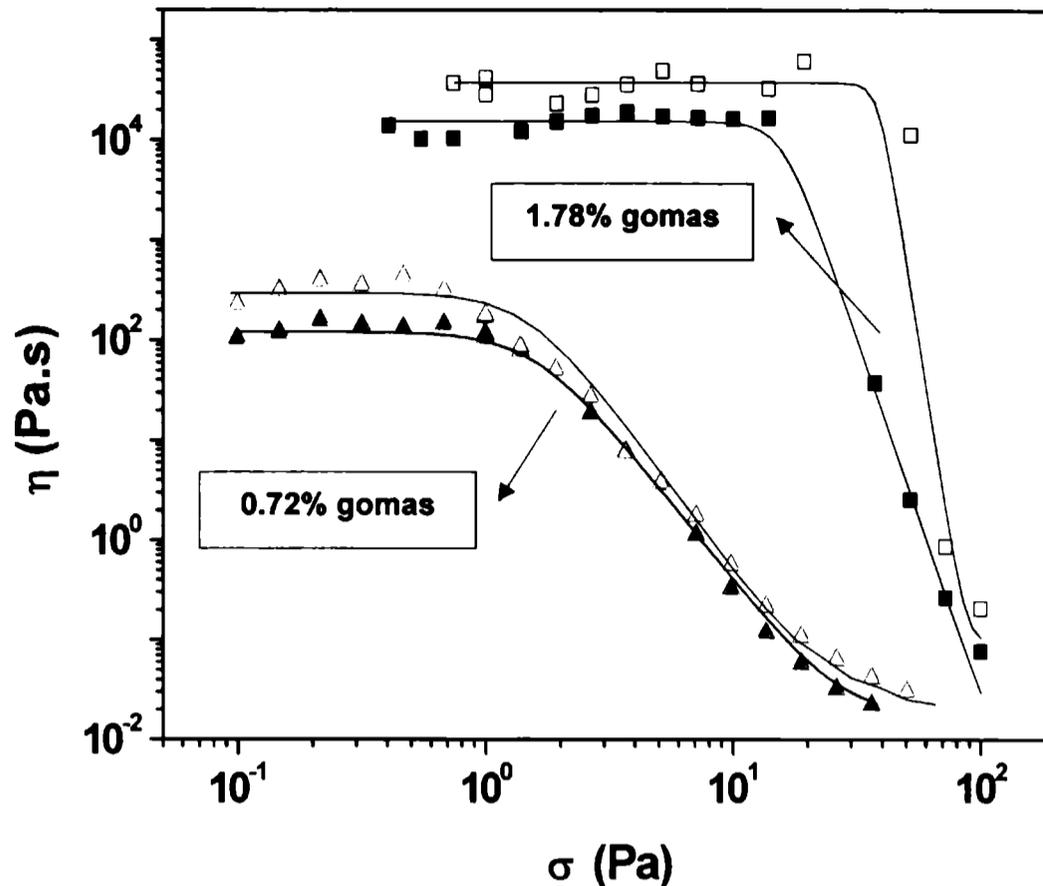


Figura B.3-9. Curvas de flujo en estado estacionario para las emulsiones correspondientes a las formulaciones 2(▲), 3(△), 7(■) y 9(□) de acuerdo con la codificación empleada en la Tabla B.3-1. En líneas continuas se observa el ajuste mediante el modelo de Ellis.

Las curvas de flujo corresponden a las de un fluido estructurado, presentando tres zonas; la primera, una zona "plateau" a bajos esfuerzos de corte (σ), indica una tendencia hacia un valor constante de viscosidad, η_0 . En un rango intermedio de esfuerzos, la curva de flujo presenta un decaimiento tipo ley de la potencia. A altos valores de σ , el decaimiento de la viscosidad se vuelve abrupto y muy notorio hasta alcanzar un segundo "plateau" de viscosidad (η_∞). Un comportamiento pseudoplástico pronunciado en emulsiones floculadas se atribuye tanto a un proceso irreversible en el cual la cizalla induce cambios en la distribución de tamaño de gotas como a un proceso reversible debido a la ruptura de los flóculos al aplicar el esfuerzo de corte (Franco y col., 1995). La transición entre la segunda y la tercera región es tan brusca que refleja probables cambios en la estructura interna del sistema inducidos por las altas velocidades de cizalla.

Las curvas de flujo fueron ajustadas con el modelo de Ellis (Ellis, 1927), que correlaciona la viscosidad aparente del fluido con el esfuerzo de corte aplicado, de acuerdo a la ecuación:

$$\eta = \eta_{\infty} + \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{1 + (\sigma / \sigma_c)^n} \quad \text{Ec. B.3-3}$$

donde η_0 y η_{∞} son las viscosidades correspondientes al primer y segundo newtoniano, respectivamente, n es el exponente y σ_c es el esfuerzo de corte de referencia, denominado "true yield stress". σ_c puede ser definido como el esfuerzo de corte a partir del cual la estructura interna de la emulsión comienza a destruirse (Tadros, 2004). A partir de la Ec. B.3-3, se obtuvieron los parámetros característicos, tal como la viscosidad a cero esfuerzo de corte (η_0), tanto para las emulsiones como para sus respectivas fases continuas. La Tabla B.3-3 y la Tabla B.3-4 muestran los parámetros del modelo de Ellis para las dispersiones de hidrocoloides y para las emulsiones estudiadas, respectivamente.

Tabla B.3-3. Parámetros del modelo de Ellis (Ec. B.3-3) para las curvas de flujo de las fases continuas.

| Contenido de hidrocoloides (%) | η_0 (Pas) | η_{∞} (Pas) | n | σ_c (Pa) |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------|-----|-----------------|
| 0.50 | 5.30 | 0.01 | 2.3 | 0.61 |
| 0.72 | 47.7 | 0.02 | 2.5 | 0.94 |
| 1.25 | 3.59×10^3 | 0.02 | 4.8 | 5.8 |
| 1.78 | 15.6×10^3 | 0.04 | 6.1 | 17 |
| 2.00 | 21.9×10^3 | 0.09 | 7.1 | 28 |

Tanto la Figura B.3-9 como la Tabla B.3-4 permiten ver que el contenido de hidrocoloides tiene un control significativo sobre la viscosidad de las emulsiones estudiadas. Un cambio en el contenido de gomas de 0.72% (nivel -1) a 1.78% (nivel +1), incrementa notablemente la viscosidad de la primera zona newtoniana (η_0), aproximadamente en dos órdenes de magnitud y produce emulsiones con un aumento en las zonas de unión entre las cadenas poliméricas, lo que se ve reflejado en mayores valores en el esfuerzo de fluencia verdadero, σ_c ("true yield stress") y en el abrupto decaimiento observado en las curvas. Por otro lado, el aumento en el contenido de aceite desde 12.9% (nivel -1) a 27.1% (nivel +1), permitió ver la misma tendencia pero en una escala mucho menor. En este caso no se observaron modificaciones en la forma de la curva de flujo aun cuando el contenido de aceite en la

emulsión fue el doble. Esto confirma que el efecto producido por el contenido de aceite no fue tan marcado como el registrado por el contenido de gomas, en el rango de concentraciones estudiadas.

Tabla B.3-4. Parámetros del modelo de Ellis (Ec. B.3-3) para las curvas de flujo de las emulsiones estudiadas. La codificación corresponde con la empleada en la Tabla B.3-1.

| Formulación | η_0 (Pas) | η_∞ (Pas) | n | σ_c (Pa) |
|-------------|--------------------|----------------------|------|-----------------|
| 1 | 3.70×10^3 | 2.1×10^{-2} | 4.7 | 5.4 |
| 2 | 1.21×10^2 | 1.7×10^{-2} | 3.1 | 1.6 |
| 3 | 1.55×10^4 | 3.0×10^{-3} | 7.2 | 16 |
| 4 | 4.10×10^1 | 9.7×10^{-3} | 2.4 | 0.5 |
| 5 | 3.66×10^3 | 1.9×10^{-2} | 4.9 | 4.4 |
| 6 | 1.85×10^4 | 1.9×10^{-2} | 6.2 | 20 |
| 7 | 2.98×10^2 | 1.8×10^{-2} | 3.4 | 1.5 |
| 8 | 3.79×10^4 | 9.2×10^{-2} | 15.6 | 38 |
| 9 | 2.01×10^5 | 2.1×10^{-2} | 25.7 | 39 |

Para predecir el valor de η_0 a partir de la fracción de aceite en la emulsión se utilizó el modelo de Mooney (Ec. B.3-4), con el fin de vincular las características reológicas de las emulsiones con su comportamiento microestructural, teniendo en cuenta las interacciones y la forma de las diferentes partículas (Launay y col., 1986; Rha y Pradipasena, 1986).

$$\eta_{r0} = \exp \left[\frac{B\phi}{1 - (\phi / \phi_{max})} \right] \quad \text{Ec. B.3-4}$$

Donde:

$\eta_{r0} = (\eta_0 / \eta_{s0})$, es la viscosidad relativa a velocidad de cizalla cero, referida a la viscosidad de la fase continua en las mismas condiciones.

B = factor de forma.

ϕ = fracción volumétrica de fase dispersa.

ϕ_{max} = fracción volumétrica de máximo empaquetamiento.

El ajuste del modelo a los datos experimentales con la Ec. B.3-4, tanto para las dispersiones de hidrocoloides como para las emulsiones propiamente dichas, se muestra en la Figura B.3-10. Los parámetros que permiten dicho ajuste se listan en la Tabla B.3-5.

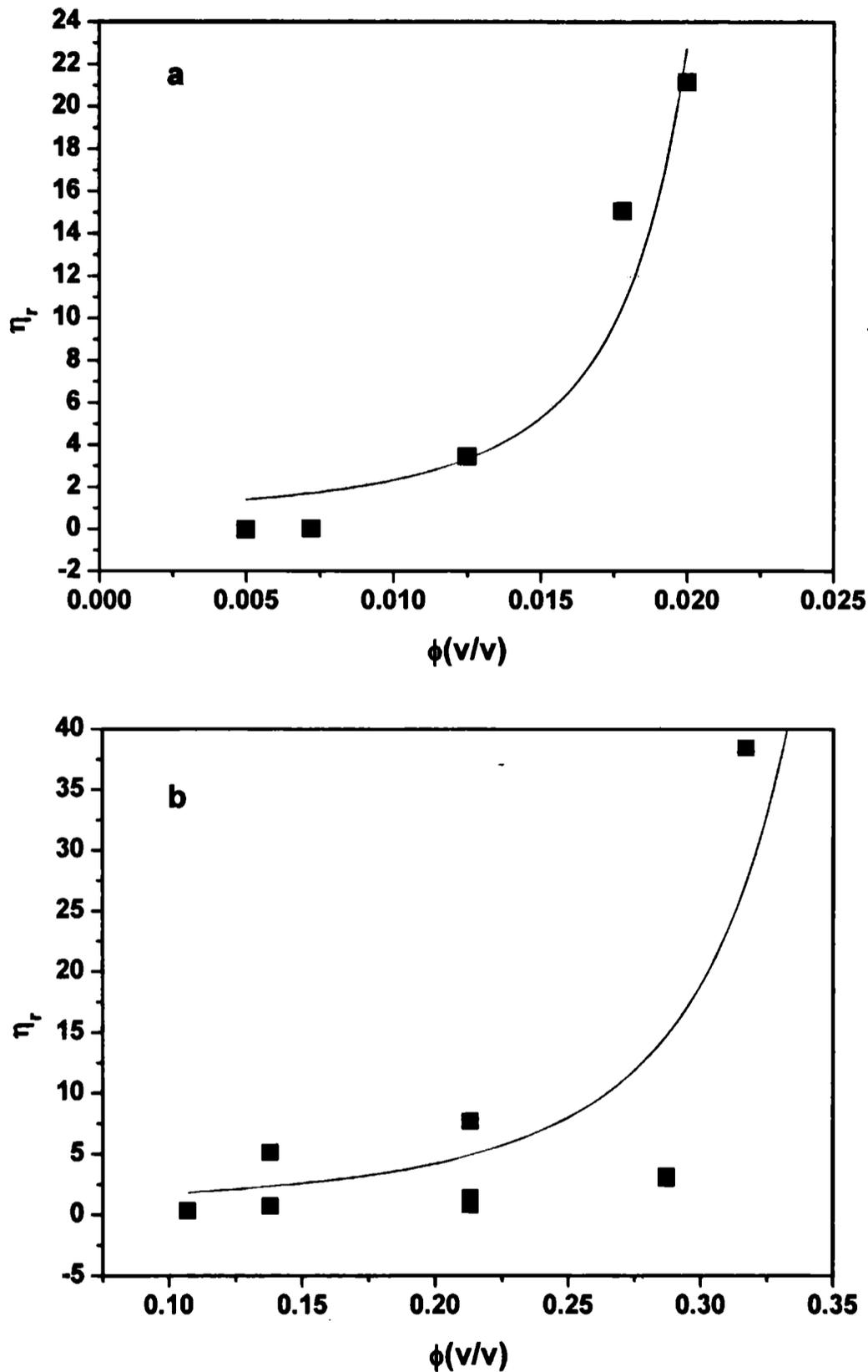


Figura B.3-10. Viscosidad relativa a cero esfuerzo de corte (η_r) en función de la fracción volumétrica (ϕ) para (a) dispersión de hidrocoloides y (b) emulsiones. (■) Datos experimentales, (—) ajuste con el modelo de Mooney.

Los parámetros obtenidos con la ecuación de Mooney permiten analizar la estructura de los sistemas en estudio. La fracción de máximo empaquetamiento (ϕ_{max})

obtenida para las dispersiones de hidrocoloides fue extremadamente baja (0.03), lo cual puede relacionarse con un sistema de partículas del tipo de varas rígidas de gran longitud con un arreglo tridimensional al azar. Esto coincide con la estructura tipo gel originada por entrecruzamientos físicos entre las cadenas laterales de la goma xántica y la cadena de manosas no sustituidas de los galactomananos (Casas y col., 2000). Las macromoléculas que presentan una conformación no esférica pueden ser interpretadas como elipsoides con un factor de forma B vinculado a la relación de sus ejes (eje mayor/eje menor) mayor que uno o como una vara rígida. El alto valor de B señala que la relación axial del sistema de macromoléculas entrelazadas varía entre 20 y 30 (Mooney, 1946).

Tabla B.3-5. Parámetros del modelo de Mooney para las fases continuas (dispersiones de hidrocoloides) y las emulsiones. B: factor de forma; ϕ_{max} : fracción volumétrica de máximo empaquetamiento. Los límites de confianza al 95% se muestran entre paréntesis.

| | B | ϕ_{max} |
|------------------------|-------------------|-----------------------|
| Fases continuas | 59 (± 2) | 0.032 (± 0.009) |
| Emulsiones | 4.8 (± 0.8) | 0.58 (± 0.06) |

Para las emulsiones alimentarias analizadas se obtuvieron los parámetros $\phi_{max} = 0.58$ y $B = 4.8$. Estos valores pueden vincularse con un sistema compuesto por partículas cilíndricas de mediana dimensión con una relación axial de aproximadamente 5, en lugar de un sistema de partículas esféricas como sería esperable para las gotas de aceite (Rha y Pradipasena, 1986). Esta particularidad puede explicarse si se considera que las gotas de la fase dispersa se agrupan formando agregados de aspecto irregular como se observó en las micrografías de la Figura B.3-3. Cuando ocurre floculación en la muestra, las partículas se asocian generando racimos de moléculas irregulares. La fracción efectiva de la fase dispersa resulta superior al contenido real de aceite ($\phi_{ef} > \phi$), ya que el volumen ocupado por las partículas contempla también el volumen de solvente inmovilizado hidrodinámicamente en los flóculos. Cuando ϕ es pequeño, los racimos de moléculas pueden moverse libremente por el medio y la muestra mantiene su carácter fluido. A medida que ϕ

aumenta, los grupos de partículas comienzan a superponerse y el sistema comienza a mostrar un comportamiento más sólido (Berli, 2003; Dickinson, 1998).

Los resultados obtenidos también se analizaron por un método de regresión lineal "stepwise" (SYSTAT, USA), para encontrar la superficie de respuesta que mejor ajustaba las η_0 experimentales (Box y Draper, 1987). La ecuación predictiva correlaciona la viscosidad a esfuerzo de corte cero, con los niveles de aceite (A) y gomas (G) de acuerdo a la Ec. B.3-2.

$$\ln(\eta_0) = 8.152 + (0.931)A + (0.83)A^2 + (2.296)G - (0.903)G^2 \quad \text{Ec. B.3-5}$$

donde las variables del proceso (nivel de aceite "A" e hidrocoloides "G") se encuentran codificadas de acuerdo a la Tabla B.3-1.

En la Figura B.3-11 se muestra el ajuste entre los valores de η_0 obtenidos de las experiencias y la superficie que surge de la Ec. B.3-5. Como puede verse, existe un ajuste satisfactorio (coeficiente de correlación, $r = 0.974$) entre los datos y la superficie, lo que permitiría el uso de esta ecuación para predecir la viscosidad de un sistema emulsionado que contenga determinados niveles de aceite e hidrocoloides, dentro del rango de concentraciones estudiadas.

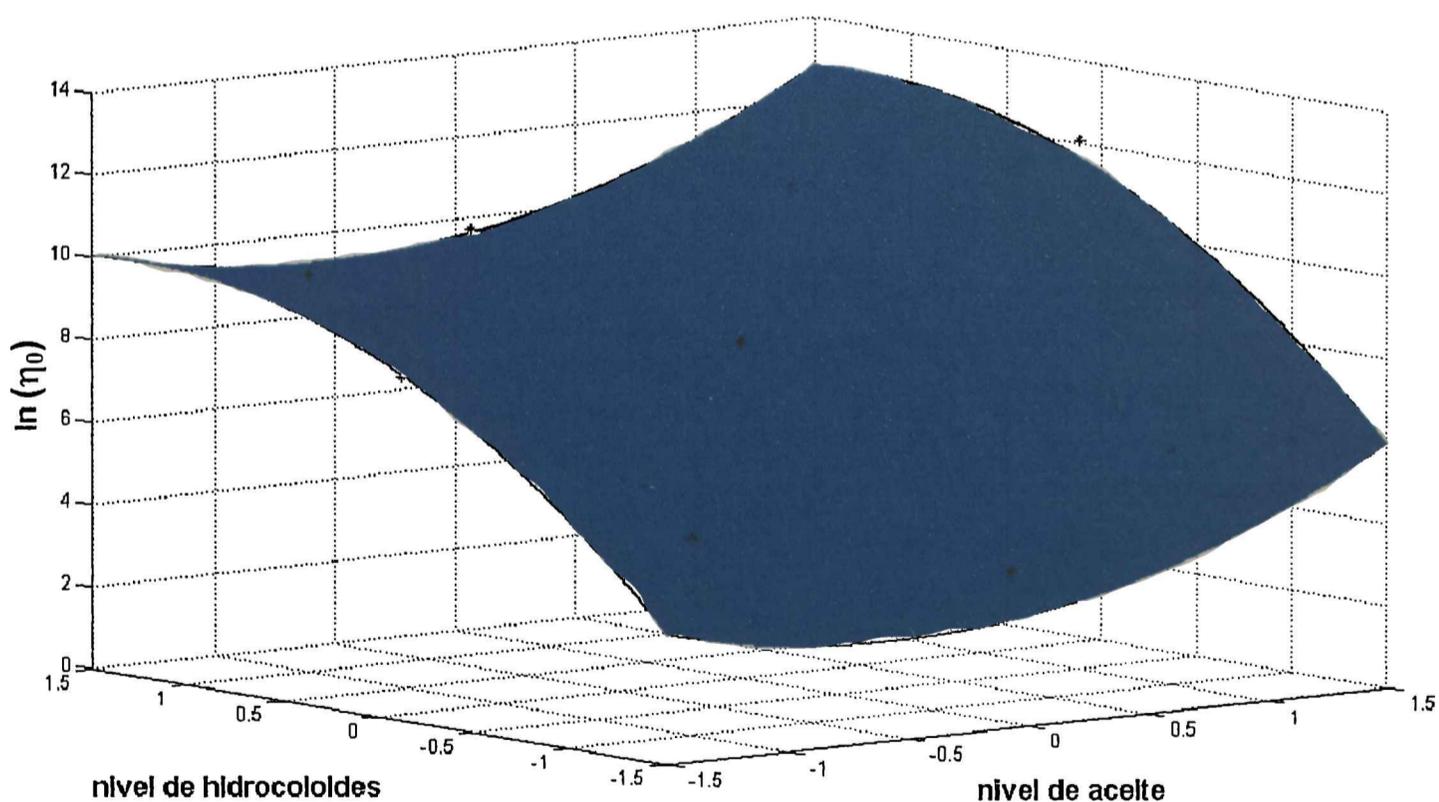


Figura B.3-11. Gráfico de superficie de respuestas para la viscosidad a cero esfuerzo de cizalla (η_0) en función de los niveles de hidrocoloides y aceite.

B.3.4 CONCLUSIONES

Se formularon emulsiones aceite-en-agua de bajo contenido lipídico con el agregado de NaCl y conteniendo ácido acético, con el agregado de mezclas de gomas xántica y guar como agente espesante de la fase continua. El proceso de cremado se vio altamente impedido, logrando un período de estabilidad superior a los ocho meses.

Los barridos de frecuencias mostraron que la evolución de los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') con la frecuencia fue extremadamente dependiente de la composición de la fase continua. Si bien se registró un incremento de ambos módulos con el contenido de aceite, se observó que el carácter de las emulsiones estaba determinado principalmente por el nivel de hidrocoloides. En las emulsiones con 1.25 % de hidrocoloides o más el módulo de almacenamiento presentó valores mayores que el módulo de pérdida (G'') en un amplio intervalo de frecuencias, mostrando un sistema altamente estructurado. Por debajo de 1.25% generó emulsiones con un comportamiento típico de una solución concentrada de polímeros, con una marcada dependencia de G' y G'' con la frecuencia, con un módulo de pérdida superior o del mismo orden que el módulo de almacenamiento ($G'' \geq G'$).

Las curvas de flujo tanto de las fases continuas como de las emulsiones exhibieron un comportamiento marcadamente pseudoplástico y fueron modeladas de manera satisfactoria mediante la ecuación de Ellis

Se utilizó el modelo de Mooney para determinar la relación entre el comportamiento reológico de las emulsiones alimentarias y las suspensiones acuosas de hidrocoloides, con parámetros microestructurales característicos, tales como la forma de las partículas y la interacción entre ellas. La ecuación que relaciona la viscosidad relativa del sistema con la fracción volumétrica permitió obtener el factor de forma y la fracción de máximo empaquetamiento en cada caso.

La metodología de superficie de respuesta permitió obtener una ecuación del tipo fenomenológica, la que resulta útil para predecir la concentración de hidrocoloides necesaria para producir una emulsión con una concentración de aceite y una viscosidad a esfuerzo de corte cero (η_0) predeterminadas.

B.4 Aplicación de gelatinas en el desarrollo de emulsiones o/w de bajo contenido lipídico

B.4.1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe una amplia variedad de hidropolímeros que se utilizan en diferentes formulaciones dentro del ámbito de la industria alimenticia y farmacéutica. Ejemplos típicos de esto son los distintos polisacáridos y la gelatina. La lista de aplicaciones de la gelatina es muy grande y hasta el presente siguen apareciendo nuevos usos. La industria farmacéutica hace un intensivo uso de la gelatina; aproximadamente el 10% del total de la producción de gelatina se destina a esta industria y la mayor parte se destina a la fabricación de cápsulas o como recubrimiento protector de los componentes que contiene el medicamento. También se emplea como agente de unión en la producción de comprimidos y pastillas, disolviéndose los componentes del medicamento en soluciones de gelatina, para luego secar la mezcla y molerla hasta obtener un polvo con el que se elaboran los comprimidos. (Poppe, 1999; Ward y Courts, 1977).

La gelatina también se utiliza en el desarrollo de emulsiones fotográficas y aunque últimamente se han descubierto muchos polímeros sintéticos, para esta función ésta sigue siendo el principal agente de unión de las películas y papeles fotográficos. El proceso fotográfico hace uso de muchas propiedades físicas de la gelatina tales como la gelificación, la solvatación y la capacidad de formación de películas delgadas (Howe, 2000).

En la industria alimentaria aparece la mayor diversidad de usos de la gelatina. Entre ellos se puede observar que, la gelatina se utiliza como conservante, agregándose en forma seca a productos de carnes enlatadas, disolviéndose en la conserva y formando un gel con los jugos exudados de la carne (Hoffman, 1991). Asimismo, la gelatina se usa normalmente como agente gelificante en alimentos elaborados con carnes, en sopas y caldos. Además, se utiliza en embutidos como jamón, lengua y otras carnes rojas. También se aplica a pollos y pescados congelados para absorber el jugo de la carne. En estos últimos casos también actúa como conservante (Poppe, 1999).

En la elaboración de mermeladas sin azúcar, la gelatina se emplea debido a la alta capacidad que posee de ligar agua, como así también resulta importante en la producción de diversos tipos de golosinas (Karim y Bhat, 2008; Poppe, 1999).

En sistemas dispersos, la gelatina resulta de gran interés debido a sus propiedades particulares. Así, en la fabricación de helados se utiliza como agente estabilizante, ya que inhibe el crecimiento de los cristales de hielo de gran tamaño y la formación de diferentes fases cuando el helado se congela. Además, la gelatina eleva el punto de fusión y provee una textura adecuada al paladar. También para reducir la sinéresis en el yogurt y en postres con leche así como estabilizante de espumas, propiedad ampliamente explotada en la fabricación de distintos productos de repostería. Al igual que la mayoría de las proteínas, la gelatina presenta una buena capacidad emulsificante, adsorbiéndose en la superficie de las gotas de aceite y de este modo se disminuye la tensión interfacial, previniendo el acercamiento de las gotas, e impidiendo, así, su agregación (Dickinson y Golding, 1997; Dickinson, 2003; McClements, 2004). La gelatina se utiliza en la fabricación de algunas pastas de carnes y en las denominadas sopas-crema (Poppe, 1999; Karim y Bhat, 2008).

Varios estudios hallados en la literatura, muestran la capacidad de la gelatina para actuar como emulsificante de emulsiones o/w (Lobo, 2002; Lobo y Svereika 2003; Muller y Hermel, 1994, Surh y col., 2006). Sin embargo, algunos autores informan que usualmente produce un tamaño de gota relativamente grande durante la homogeneización de la emulsión (Dickinson y Lopez, 2001; Lobo, 2002).

Una de las ventajas más significativas de emplear proteínas como agentes emulsificantes es su capacidad de proteger a los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de su oxidación (Hu y col., 2003). Esta característica sumada a su capacidad de gelificar, convierten a la gelatina en una alternativa interesante para ser empleada en sistemas emulsionados que sirvan como vehículo de vitaminas liposolubles.

La reología resulta una herramienta imprescindible a la hora de caracterizar las emulsiones alimenticias, ya que permite la vinculación de atributos de calidad con el comportamiento del sistema a nivel microestructural (Barnes, 1994; Quintana y col., 2007; Ross-Murphy, 1992).

B.4.2 MATERIALES Y MÉTODOS

B.4.2.1. Materiales utilizados

Se ensayaron gelatinas de grado alimenticio de diferentes pesos moleculares: 60 kDa (A), 80 kDa (B) y 120kDa (C). Todas las gelatinas ensayadas fueron de origen bovino, generosamente provistas por PB Leiner (Argentina). Las especificaciones principales del producto (brindadas por el proveedor) se muestran en la Tabla B.4-1. Las emulsiones fueron preparadas usando aceite de girasol (Molinos Río de La Plata SACIFI, Buenos Aires) como fase dispersa y NaH_2PO_4 y Na_2HPO_4 de grado analítico (Anedra, Argentina), para tamponar el pH de la fase acuosa.

Tabla B.4-1. Especificaciones principales de las muestras de gelatina utilizadas.

| Muestra de gelatina | A | B | C |
|---|-------|-------|-------|
| Peso molecular (M_w , kDa) | 60 | 80 | 120 |
| Bloom (g) | 182 | 217 | 265 |
| Viscosidad de 6.66 g/100 g solución (mPa) | 28 | 30 | 41 |
| Humedad (g/ 100 g) | 10.7 | 10.0 | 9.8 |
| Cenizas (g/ 100 g) | ≤ 2.0 | ≤ 2.0 | ≤ 2.0 |
| pH de una solución de 1 %(p/p) | 5.5 | 5.8 | 5.3 |
| Granulometría (tamaño del tamiz, mm) | 0.6 | 0.6 | 0.6 |

B.4.2.2. Preparación de las fases acuosas

Para cada muestra, las fases continuas fueron preparadas dispersando 15 g de gelatina en 500 g de solución acuosa (concentración de gelatina en la fase continua: 3%), tamponada a pH 7.0, mediante una solución 50 mM de NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 , conteniendo 0.1% de azida sódica para evitar el crecimiento microbiano (Fuerza iónica total: 0.093 mol/l). Las dispersiones fueron preparadas a una temperatura controlada de 25°C y agitadas durante toda la noche para garantizar la completa hidratación de la proteína.

B.4.2.3. Preparación de las emulsiones

Se prepararon emulsiones de una concentración de fase dispersa de 15% p/p, mediante un proceso emulsificación de de dos etapas. Primero, se llevó a cabo una emulsificación primaria, agregando la fase lipídica a las fases acuosas con distintos emulsificantes, esto es, gelatinas de diferentes pesos moleculares. La homogenización primaria se hizo en un equipo Ultraturrax T25 (IKA Labortechnik, Alemania) a 11500 rpm durante 4 minutos. Seguidamente, la pre-emulsión obtenida se sometió a grandes cizallas en un homogeneizador a válvula de alta presión (Stansted Fluid Power FPG 7400, Essex, Reino Unido) usando dos válvulas con la presión regulada en 40 MPa y 4 MPa. La pre-emulsión se hizo circular 4 veces en el equipo, con el objeto de favorecer la obtención de una emulsión de distribución de tamaño de gota pequeño y unimodal. La temperatura fue monitoreada durante la homogenización para asegurar que las emulsiones preparadas nunca superaran los 30°C.

B.4.2.4. Distribución del tamaño de gotas y estabilidad

El diámetro medio de las gotas y la distribución de tamaños en las emulsiones iniciales se determinó mediante un equipo de dispersión estática de luz Mastersizer 2000, con una unidad de dispersión Hydro 2000MU provisto con un laser He - Ne (633 nm) (Malvern Instruments Ltd., Worcester, UK), siguiendo la metodología descrita en el capítulo B.3.

Para determinar la estabilidad de las emulsiones de manera visual se colocaron cuatro alícuotas de cada emulsión ensayada en probetas de 50 ml. Las probetas fueron almacenadas a 20°C en un cuarto de temperatura controlada y observadas periódicamente. De manera complementaria se observaron alícuotas de las distintas formulaciones, diluidas previamente (1:20), en un microscopio óptico provisto de una cámara digital DC100 (Leica Microscopy Systems Ltd., Heerbrugg, Switzerland.).

B.4.2.5. Ensayos Reológicos

Todos los ensayos reológicos se realizaron en un reómetro Haake RS600 de esfuerzo controlado (ThermoElectron, Alemania) y para cada medida se realizaron al menos tres replicados, reportándose en cada caso los valores medios. Las condiciones de ensayo son análogas a las descritas en el capítulo B.3.

B.4.2.5.1. Ensayos de fluencia y recuperación

Para los ensayos de fluencia y recuperación (*creep-recovery*), las muestras de las emulsiones no deformadas se sometieron instantáneamente a un esfuerzo de cizalla constante dentro del rango de viscoelasticidad lineal (LVR). En materiales viscoelásticos, la deformación aumenta con el tiempo de ensayo transcurrido hasta llegar a un estado estacionario donde la velocidad de deformación permanece constante. En ese punto, el esfuerzo es instantáneamente retirado para permitir analizar la capacidad de recuperación del material. Todas las emulsiones fueron evaluadas bajo un esfuerzo de corte durante 1200 segundos, seguidos de un período de 600 segundos a esfuerzo nulo para permitir su recuperación.

Tanto para estos ensayos como para los ensayos oscilatorios que se describen en el punto B.4.2.5.2, el LVR fue determinado mediante ensayos de barridos de esfuerzos (entre 0.3 y 60 Pa) a una frecuencia de 6.28 rad/s.

B.4.2.5.2. Ensayos oscilatorios

Para determinar la dependencia de G' y G'' con la frecuencia, se realizaron ensayos oscilatorios de pequeña amplitud, siguiendo las condiciones descritas en el capítulo B.3. Se fijó una temperatura de 25°C y se utilizó una geometría de platos paralelos rugosos de 35 mm de diámetro.

Tanto para los ensayos oscilatorios como para los de fluencia, las emulsiones fueron medidas después de transcurridas al menos 12 hs. desde su preparación, para garantizar la completa relajación del material.

B.4.2.6. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos (ANAVA y comparaciones pareadas) se realizaron utilizando el software SYSTAT (SYSTAT Inc., Evenston, IL, USA). Para la comparación de medias de a pares se eligió el test de Bonferroni y se consideraron diferencias significativas cuando $P < 0.05$.

B.4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

B.4.3.1. Distribución de tamaño de gotas y estabilidad

La distribución de tamaños de gotas de las emulsiones modelo preparadas con gelatina de diferentes pesos moleculares se muestra en la Figura B.4-1a y, a modo de ejemplo, en la Figura B.4-1b se observa una micrografía de una emulsión estabilizada con gelatina de 120kDa. Las determinaciones del tamaño de gotas se realizaron inmediatamente después de preparada la emulsión, dispersando una alícuota de las mismas en agua destilada y agitando suavemente por 2 minutos. Como se muestra en la Figura, las distribuciones fueron monomodales en todas las emulsiones analizadas.

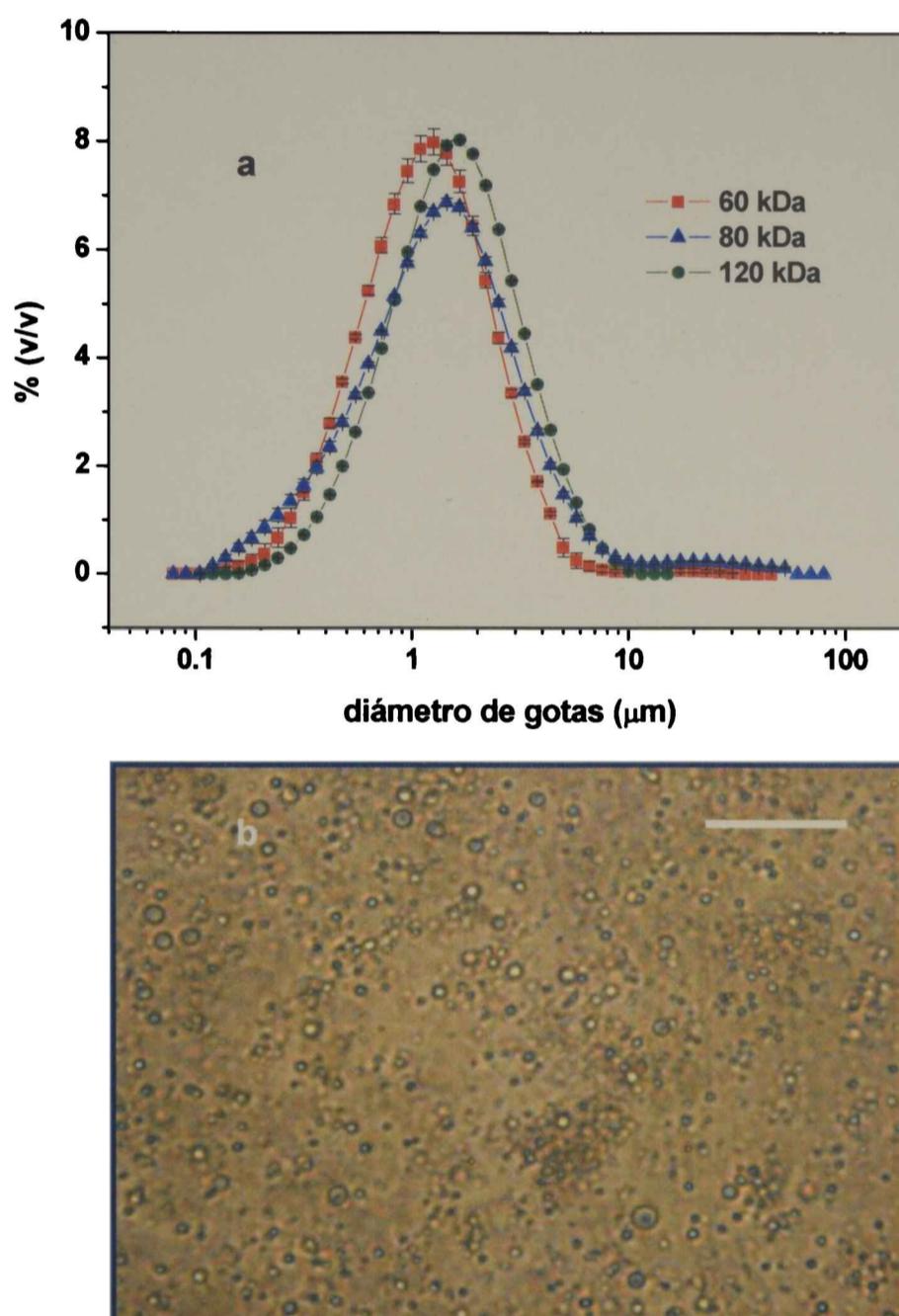


Figura B.4-1. (a) Distribución de tamaño de gotas de las emulsiones estabilizadas con gelatinas de 60 (■), 80 (▲) y 120 (●) kDa. Las barras representan los errores estándar de las medias (b) Micrografía de una emulsión o/w con 15% p/p de aceite y una fase continua con 3% p/p de gelatina de 120kDa (dilución 1:20). La barra representa 10 μm.

El diámetro de Sauter ($d_{3,2}$) de las emulsiones medidas se muestra en la Tabla B.4-2 junto con la desviación estándar correspondiente, como medida de la polidispersidad de los sistemas bajo estudio. Lo que puede observarse es un valor muy bajo de desviación estándar en todos los casos, dando cuenta de la pequeña polidispersión de las emulsiones, ocasionada por los sucesivos pasos a través del homogenizador a válvula de alta presión.

Tabla B.4-2. Diámetro de Sauter ($d_{3,2}$) para las emulsiones o/w formuladas con 3% de gelatinas de diferentes pesos moleculares y sus desviaciones estándares correspondientes.

| M_w (kDa) | $d_{3,2}$ (μm) | $s(d_{3,2})(\mu\text{m})$ |
|-------------|-----------------------------|---------------------------|
| 60 | 0.972 | 0.003 |
| 80 | 0.980 | 0.023 |
| 120 | 1.289 | 0.013 |

Mientras que las emulsiones con gelatina de 60 y 80 kDa presentaron valores de $d_{3,2}$ por debajo de 1 μm , aquellas formuladas con gelatina de 120 kDa mostraron un diámetro considerablemente mayor de aproximadamente 1.3 μm . Sin embargo, los análisis de estabilidad exhibieron el comportamiento opuesto; las emulsiones de 60kDa comenzaron a exhibir una interfase incipiente a los 8 días de almacenamiento, mientras que las de 80kDa no mostraron signos de desestabilización hasta transcurridos los 20 días de almacenamiento. Por otro lado, las emulsiones conteniendo gelatina de 120 kDa (que exhibían un diámetro de Sauter mayor) permanecieron estables por más de 6 semanas. Este resultado es una clara evidencia de que la estabilidad de estas emulsiones está ligada al peso molecular de la proteína utilizada y no al tamaño de gotas de la fase dispersa. Un comportamiento similar fue reportado previamente por Olijve y col. (2001) utilizando diferentes fases oleosas. Cuando la gelatina está compuesta por moléculas pequeñas, esto es, con un peso molecular promedio de 60 kDa, las emulsiones presentan una estabilidad muy pobre. A medida que se incrementa el peso molecular de la proteína, la estabilidad de la emulsión aumenta; fenómeno que está directamente relacionado con la protección estérica provista por el espesor del film interfacial entre las gotas de la fase dispersa y el seno de la solución acuosa (Muller y Hermel, 1994).

B.4.3.2. Ensayo de fluencia y recuperación de las emulsiones

Dentro del rango de viscoelasticidad lineal, se realizaron ensayos de fluencia y recuperación sobre las emulsiones elaboradas con distintas gelatinas. Las curvas de *creep* (expresadas en términos de la capacitancia, J , en Pa^{-1} en función del tiempo) fueron ajustadas con el modelo de Burgers, constituido por un elemento de Maxwell conectado en serie con un elemento de Kelvin-Voigt como el que se muestra esquemáticamente en la Figura B.4-2 y que describe la ecuación (Sherman, 1970; Steffe, 1996):

$$J(t) = J_0 + J_1 \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{(\lambda_{\text{ret}})_1}\right) \right) + \frac{t}{\eta_0} \quad \text{Ec. B.4-1}$$

donde J_0 es la capacitancia instantánea (Pa^{-1}), η_0 la viscosidad del amortiguador de Maxwell (Pa s), y J_1 (Pa^{-1}) y $(\lambda_{\text{ret}})_1$ (s) son la capacitancia y el tiempo de retardo asociados con el elemento de Kelvin-Voigt, respectivamente. J_0 representa la respuesta elástica instantánea del sistema a $t = 0$, mientras menor sea el valor de J_0 , mayor será la elasticidad del material (Kaschta y Schwarzl, 1994).

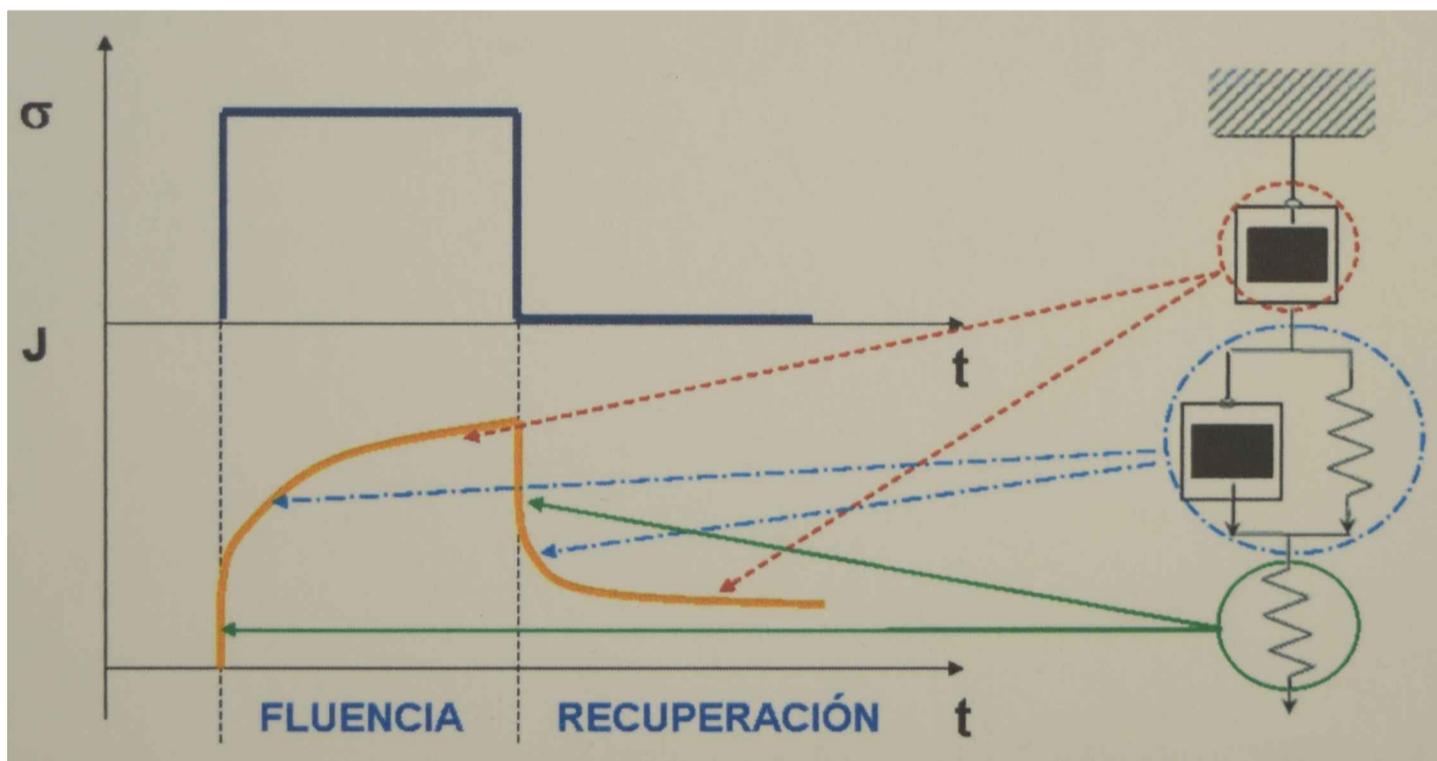


Figura B.4-2. Representación esquemática de la contribución de cada elemento del modelo de Burgers a una curva de fluencia y recuperación.

Para obtener un conjunto de parámetros más precisos y un modelo mejor ajustado, se emplearon en el ajuste tanto los resultados experimentales de la etapa de fluencia como de la recuperación. Cuando se evalúa un material viscoelástico que

obedece al modelo de Burgers dentro de la región lineal, los parámetros obtenidos durante el ensayo de fluencia serán los mismos que aquellos para la región de recuperación. De este modo, de acuerdo con el principio de superposición de Boltzmann, la capacitancia durante la recuperación vendrá dada por (Mitchell, 1976; Steffe, 1996):

$$J_R(t) = J(t) - J(t - t_1) \quad \text{Ec. B.4-2}$$

donde t_1 es el tiempo en el cual se deja de aplicar el esfuerzo sobre la muestra.

Todas las curvas de fluencia fueron satisfactoriamente modeladas ($r^2 > 0.96$) con las Ec. B.4-1 y Ec. B.4-2. En la Figura B.4-3 se muestra a modo de ejemplo la curva de fluencia recuperación al tiempo inicial para las emulsiones estabilizadas con gelatina de 120 kDa, junto con el ajuste óptimo de la misma mediante el modelo de Burgers.

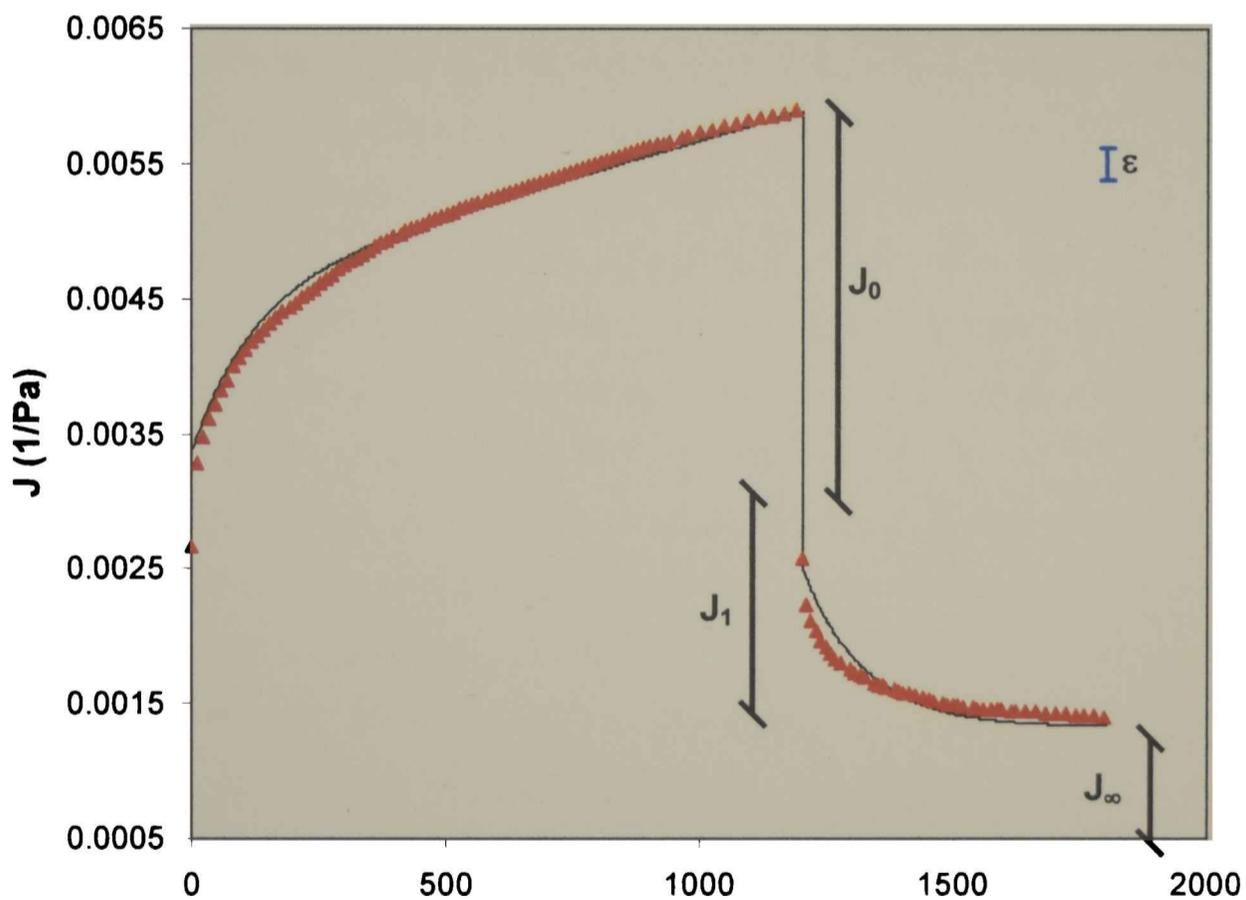


Figura B.4-3. Curva de fluencia y recuperación para una emulsión aceite-en-agua estabilizada con gelatina de 120 kDa. En línea continua se muestra el ajuste hecho con el modelo de Burgers de 4 parámetros. La barra vertical indica el error promedio (ϵ) de los datos de capacitancia.

Con el objetivo de obtener una caracterización mecánica completa de los sistemas emulsionados, se calculó la contribución porcentual de cada uno de los elementos del modelo de Burgers de acuerdo a Dolz y col. (2008) como:

$$\%J_{\text{elem}} = 100 \left[\frac{J_{\text{elem}}}{J_{\text{max}}} \right] \quad \text{Ec. B.4-3}$$

donde J_{max} es considerada la máxima capacitancia registrada en la emulsión y J_{elem} es la capacitancia asociada a cada elemento del modelo: J_0 , J_1 (Figura B.4-3). También es posible calcular, mediante la Ec. B.4-3, la contribución del desplazamiento irreversible del amortiguador de Maxwell ($J_{\infty} = t_1/\eta_0$). Adicionalmente, J_{∞} resulta un parámetro útil para estimar el porcentaje final de recuperación como:

$$\text{Recup.(\%)} = 100 \left[\frac{(J_{\text{max}} - J_{\infty})}{J_{\text{max}}} \right] \quad \text{Ec. B.4-4}$$

Todas las curvas de *creep* presentaron cualitativamente tres regiones bien definidas. Primero, una capacitancia instantánea, donde los enlaces entre las distintas unidades estructurales de las emulsiones se estiran elásticamente. En dicha región, si el esfuerzo es retirado, la estructura de la muestra se recupera completamente. La capacitancia de esta región está relacionada con el resorte de Maxwell (J_0). Para las emulsiones modelo analizadas, el valor de J_0 fue $3.37 \cdot 10^{-3} \text{ Pa}^{-1}$, lo que representó una contribución del 57.0% a la deformación total del sistema.

La segunda zona corresponde a una región dependiente del tiempo, donde los enlaces se rompen y se regeneran a distintas velocidades. Los enlaces más débiles se rompen a tiempos más cortos que los fuertes mostrando una recuperación elástica retardada (Martínez y col., 2007). J_1 del elemento de Kelvin-Voigt asociado a esta región explicó el 20.3% de la capacitancia total ($1.20 \cdot 10^{-3} \text{ Pa}^{-1}$).

Cuando el esfuerzo aplicado es retirado, se observa una región lineal Newtoniana relacionada con el amortiguador de Maxwell; Los enlaces rotos en esta etapa del ensayo de fluencia representan la deformación permanente del sistema emulsionado. El valor de J_{∞} observado para las muestras analizadas fue de $1.32 \cdot 10^{-3} \text{ Pa}^{-1}$, representando un 23.4% del J_{max} .

Dentro de la deformación total registrada en las emulsiones en estudio, el porcentaje total de recuperación observado fue de un 77.5%, lo que coincide con lo

observado en otras emulsiones aceite en agua estabilizadas con diferentes hidrocoloides (Dolz y col., 2008).

B.4.3.3. Efecto del peso molecular de la gelatina

En la Figura B.4-4 se muestran los resultados de los barridos de frecuencias (G' y G'' vs. frecuencia) para las emulsiones aceite-en-agua formuladas con gelatina de 60, 80 y 120 kDa. En todas las curvas se observó una tendencia similar, donde G' se mostró por encima de G'' en todo el intervalo de medición, pasando de una baja dependencia de ambos módulos con la frecuencia (tipo gel débil) para la gelatina de bajo peso molecular (60 kDa), a un comportamiento prácticamente independiente de la frecuencia para las muestras restantes. Esta baja dependencia del módulo de almacenamiento con la frecuencia de oscilación es conocida como la región "plateau". La región "plateau" es una zona intermedia del espectro mecánico, comprendida entre la región terminal y la zona de transición (Ferry, 1980). Se caracteriza por una disminución en la pendiente de ambos módulos (G' y G'') y la posible aparición de un mínimo en el módulo de pérdida. En sistemas poliméricos, la aparición de una región "plateau" para G' o de un mínimo en G'' en la dependencia de los módulos con la frecuencia se atribuye a la formación de una estructura tridimensional tipo gel originada por entrecruzamientos físicos entre las cadenas de polímeros. Los espectros de estas emulsiones mostraron un comportamiento característico de sólidos viscoelásticos donde los entrecruzamientos entre las moléculas de biopolímeros no son permanentes, sino que se observa un equilibrio dinámico entre la ruptura y la formación de nuevos enlaces, contribuyendo a la preservación de la estructura durante largos tiempos de observación. Es interesante señalar que a pesar de no excederse los 30°C durante todo el proceso de emulsificación, los elevados esfuerzos de cizalla a los que fueron sometidas las muestras durante la homogenización, indujeron la desnaturalización de la proteína y la posterior gelificación del sistema como se observa mediante los ensayos oscilatorios.

El incremento en el peso molecular de la proteína utilizada como estabilizante se vio reflejado en un aumento tanto en el módulo de almacenamiento como en el módulo viscoso. Esta mayor rigidez de la estructura puede ser interpretada como la causa de la mayor estabilidad de las emulsiones conteniendo gelatina 120kDa.

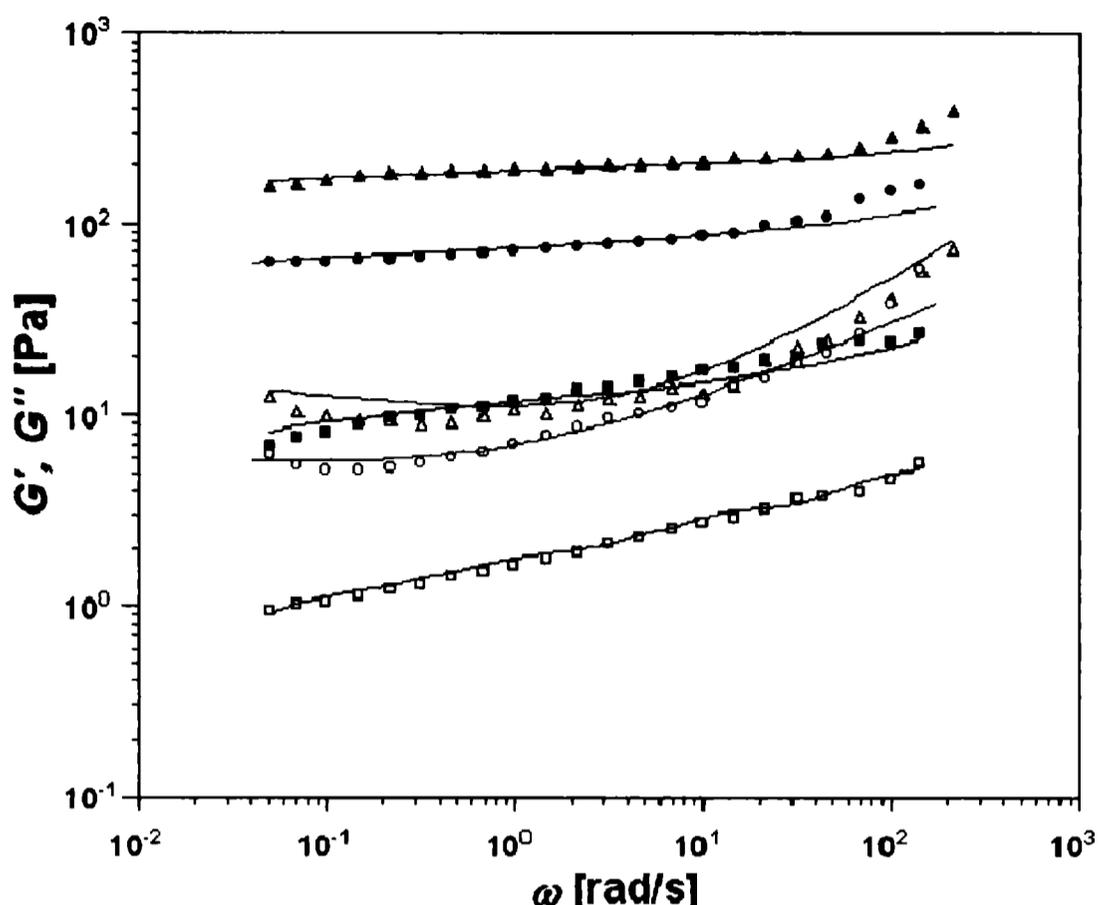


Figura B.4-4. Barridos de frecuencias (G' – símbolos llenos y G'' -símbolos vacíos) para emulsiones aceite-en-agua estabilizadas con gelatinas de 60 (■ □), 80 (● ○) y 120 (▲ △) kDa. En líneas continuas se muestra el ajuste con el modelo de Baumgaertel-Schausberger-Winter generalizado.

Como se mencionó en el Capítulo 1, un material puede ser descrito por ciertas funciones respuestas de éste que pueden ser evaluadas experimentalmente y los resultados ajustarse a un modelo de forma empírica. Un acercamiento clásico a la descripción de la respuesta de materiales, que exhiben propiedades viscosas y elásticas, está basado en la analogía con la respuesta de ciertos elementos mecánicos. Esto implica la construcción de modelos viscoelásticos por combinación de elementos mecánicos que simulan propiedades viscosas y elásticas puras, por lo que representan comportamientos viscoelásticos lineales. Los elementos mecánicos convencionales, representativos de los comportamientos viscoso y elástico lineales, son el amortiguador hidráulico y el resorte respectivamente. Uno de los modelos tradicionales es el de Maxwell generalizado (descrito en el Capítulo 1), que consiste en un número N de elementos de Maxwell (resorte y amortiguador en serie) conectados en paralelo, y donde los módulos G' y G'' quedan definidos como:

$$G' = G_e + \sum_{i=1}^N G_i \frac{(\omega\lambda_i)^2}{1 + (\omega\lambda_i)^2} \quad \text{Ec. B.4-5}$$

$$G' = \sum_{i=1}^N G_i \frac{\omega \lambda_i}{1 + (\omega \lambda_i)^2} \quad \text{Ec. B.4-6}$$

donde G_i y λ_i son la constante del resorte y el tiempo de relajación del amortiguador, respectivamente, correspondientes al elemento i -ésimo de Maxwell. G_e se conoce como módulo de equilibrio, valor al que tiende el módulo elástico del material cuando el tiempo de relajación tiende a infinito (cero en el caso de los líquidos).

Si se considera un sistema con infinitos elementos de Maxwell, en una escala de tiempos infinita, se puede definir un espectro continuo de relajación del material en función del tiempo $H(\lambda)$. Entonces, las funciones viscoelásticas se pueden calcular a partir de este espectro mediante las relaciones siguientes:

$$G(t) = G_e + \int_{-\infty}^{+\infty} H(\lambda) e^{-\frac{t}{\lambda}} d \ln \lambda \quad \text{Ec. B.4-7}$$

$$G' = G_e + \int_{-\infty}^{+\infty} H(\lambda) \frac{(\omega \lambda)^2}{1 + (\omega \lambda)^2} d \ln \lambda \quad \text{Ec. B.4-8}$$

$$G'' = \int_{-\infty}^{+\infty} H(\lambda) \frac{(\omega \lambda)}{1 + (\omega \lambda)^2} d \ln \lambda \quad \text{Ec. B.4-9}$$

donde $H(\lambda)$ representa la contribución infinitesimal para una variación infinitesimal del tiempo de relajación (Mours y Winter, 2000; Steffe, 1996).

Baumgaertel y Winter (1992) propusieron una forma específica para el espectro de tiempos de relajación $H(\lambda)$. El modelo BSW (Baumgaertel-Schausberger-Winter) generalizado describe los datos experimentales de barridos de frecuencia (G' , G'') correspondientes a moléculas lineales flexibles, con una amplia distribución de pesos moleculares, muy superior al peso molecular de entrecruzamiento.

$$H(\lambda) = G_N^0 \left[H_g \left(\frac{\lambda}{\lambda_0} \right)^{-n_0} + n_e \left(\frac{\lambda}{\lambda_e} \right)^{n_e} \right] \exp \left(- \left(\frac{\lambda}{\lambda_{\max}} \right)^\beta \right) \quad \text{Ec. B.4-10}$$

En este modelo empírico G_N^0 es el módulo plateau; H_g es un factor correspondiente a la transición vítrea; λ_e es el tiempo de inicio de la región pseudo-terminal y λ_0 es el tiempo de cruce en la transición vítrea; n_e y n_0 son las pendientes

del espectro en la zona de entrecruzamiento y la zona de transición vítrea a altas frecuencias, respectivamente. El parámetro β se vincula con la distribución de pesos moleculares y controla la nitidez del punto de cruce a la región vítrea del espectro. El módulo G_N^0 corresponde a G' cuando la tangente de pérdida es mínima. El modelo BSW ha sido satisfactoriamente empleado en varias oportunidades para representar el comportamiento de diferentes sistemas poliméricos y emulsionados (Bengochea y col., 2008; Franco y col., 1997; Quintana y col., 2002b).

La aplicación de esta teoría a los sistemas de emulsiones gelificadas estudiados se realizó mediante el uso del software IRIS Rheo-Hub (Winter y Mours, 2006) y en la Figura B.4-4, se muestra el ajuste satisfactorio a los datos experimentales. La Tabla B.4-3 muestra los parámetros predichos por el modelo BSW.

Tabla B.4-3. Parámetros predichos por el modelo de Baumgaertel - Schausberger – Winter para las emulsiones gelificadas estabilizadas con gelatina de diferentes pesos moleculares. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar.

| M_w (kDa) | 60 | 80 | 120 |
|---------------------|---|---|---|
| G_N^0 (Pa) | 15.4 (0.82) | 41.0 (1.9) | 135 (4.4) |
| λ_e (s) | 9.10 (0.18) | 40.0 (0.97) | 80.0 (2.3) |
| λ_0 (s) | $3.6 \cdot 10^{-3}$ ($8.1 \cdot 10^{-4}$) | $1.7 \cdot 10^{-2}$ ($7.7 \cdot 10^{-3}$) | $1.7 \cdot 10^{-2}$ ($6.4 \cdot 10^{-3}$) |
| λ_{max} (s) | 56.0 (1.6) | 115 (3.6) | 114 (3.3) |
| n_e | 0.14 (0.08) | 0.20 (0.04) | 0.20 (0.05) |
| n_0 | 0.27 (0.04) | 0.41 (0.07) | 0.64 (0.04) |
| H_g | $1.86 \cdot 10^{-1}$ (0.12) | $4.11 \cdot 10^{-1}$ (0.26) | $1.33 \cdot 10^{-1}$ (0.13) |
| β | $1.65 \cdot 10^{-1}$ (0.05) | $1.03 \cdot 10^{-1}$ (0.04) | $1.03 \cdot 10^{-1}$ (0.04) |
| η_0 (Pa.s) | $3.20 \cdot 10^5$ ($1.4 \cdot 10^5$) | $9.24 \cdot 10^6$ ($8.4 \cdot 10^5$) | $2.51 \cdot 10^8$ ($6.9 \cdot 10^7$) |

El desplazamiento evidenciado de λ_e a tiempos de relajación más cortos a medida que disminuye M_w , refleja un incremento en la movilidad molecular. El intervalo comprendido entre el tiempo de cruce de la transición vítrea (λ_0) y el tiempo de relajación terminal (λ_e) es una medida del ancho en que se desarrolla la zona plateau. Como se ve en la Tabla B.4-3, este intervalo mostró un incremento a medida que aumenta el peso molecular de la proteína, coincidiendo con el comportamiento registrado en otros polímeros (Ferry, 1980).

En la Figura B.4-5 se muestran los espectros de relajación calculados para las emulsiones formuladas con gelatinas diferentes pesos moleculares. Cualitativamente se observa un cambio en la forma del espectro entre las emulsiones

formuladas con gelatina de 60 kDa y las de mayores Mw. Se puede observar un cambio notorio en la pendiente de la zona de entrecruzamientos (n_e). De acuerdo a Franco y col. (1997), este incremento en el valor de la pendiente n_e puede relacionarse al desarrollo de una red más entrecruzada, lo que concuerda con lo mostrado por los otros parámetros.

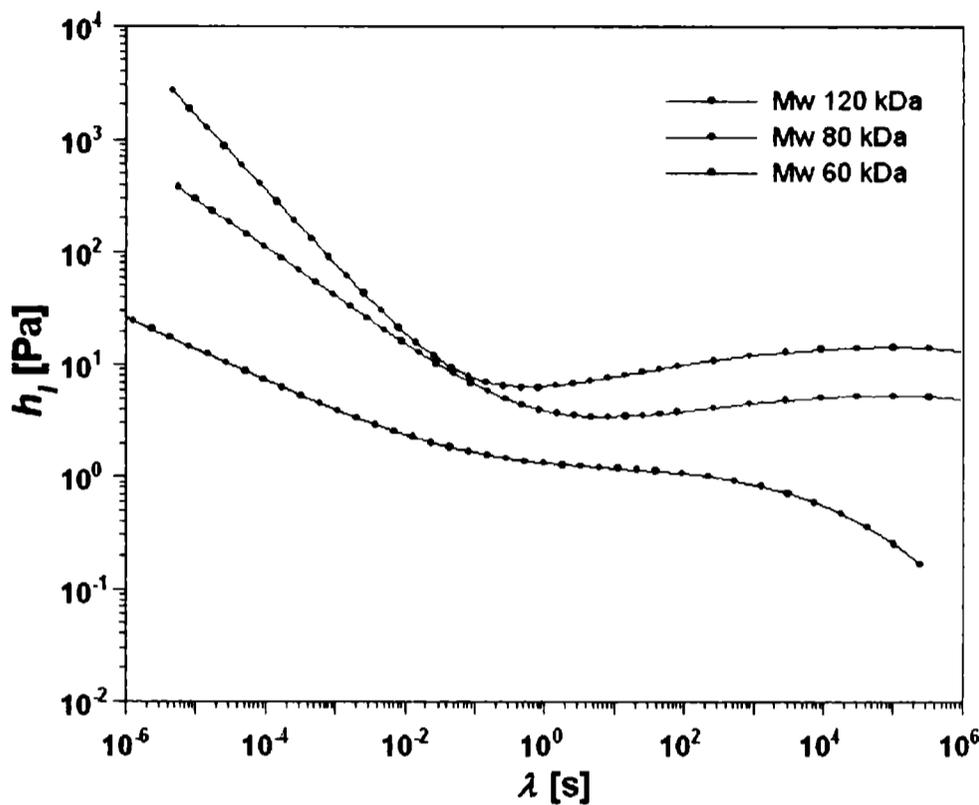


Figura B.4-5. Espectro de relajación para los sistemas emulsionados (15% p/p aceite) estabilizados con gelatina de diferentes pesos moleculares.

Físicamente, los tiempos de respuesta pertenecen al dominio discreto y su representación continua es un artilugio matemático para facilitar el manejo de la distribución de tiempos de relajación (Tschoegl, 1997). Es por esto que la dependencia de un material con el tiempo se revela en un número finito de tiempos de respuesta y su correspondiente contribución al espectro (λ_i , G_i). La relación entre el espectro continuo y el discreto fue calculada de acuerdo a (Mours y Winter, 2000):

$$G_i = H(\lambda_i) \ln \frac{\lambda_i}{\lambda_{i+1}} \quad \text{Ec. B.4-11}$$

Usando el espectro discreto obtenido a partir del modelo BSW para todas las emulsiones, se pudo calcular la viscosidad a esfuerzo de corte cero (η_0), que resulta prácticamente imposible de determinar en un ensayo de flujo con un sistema altamente estructurado como las emulsiones en estudio. Siguiendo a Jackson y col. (1994), η_0 puede estimarse como:

$$\eta_0 = \int_0^{\lambda_{\max}} H(\lambda) d\lambda = \sum_{i=1}^N G_i \lambda_i$$

Ec. B.4-12

La viscosidad a esfuerzo cero se relacionó con el peso molecular de la gelatina siguiendo una ley de la potencia como fue reportado previamente por Izuka y col. (1992). A partir de nuestros datos experimentales se encontró una relación del peso molecular de la gelatina con la viscosidad de las emulsiones en estudio del tipo $\eta_0 \propto M_w^{9.2}$.

En la Figura B.4-6 se muestra el comportamiento de la viscosidad compleja (η^*) en función de la frecuencia de oscilación y su ajuste mediante la Ec. A.3-10 ($\eta^* = A_\alpha \omega^{(\alpha-1)}$), desarrollada en el capítulo A.3 (Friedrich y Heymann, 1988). Como se observa, el ajuste resultó satisfactorio en todos los casos. Los valores de α (orden de la función de relajación) no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) y estuvieron por debajo de 0.1 para las tres formulaciones, lo que concuerda con el comportamiento de gel fuerte previamente señalado (Steffe, 1996). Por otro lado, se observó un significativo incremento ($P < 0.05$) de A_α con el peso molecular con valores de 10.8, 77.4 y 190.8 Pa para las formulaciones conteniendo gelatina de 60, 80 y 120 kDa, respectivamente.

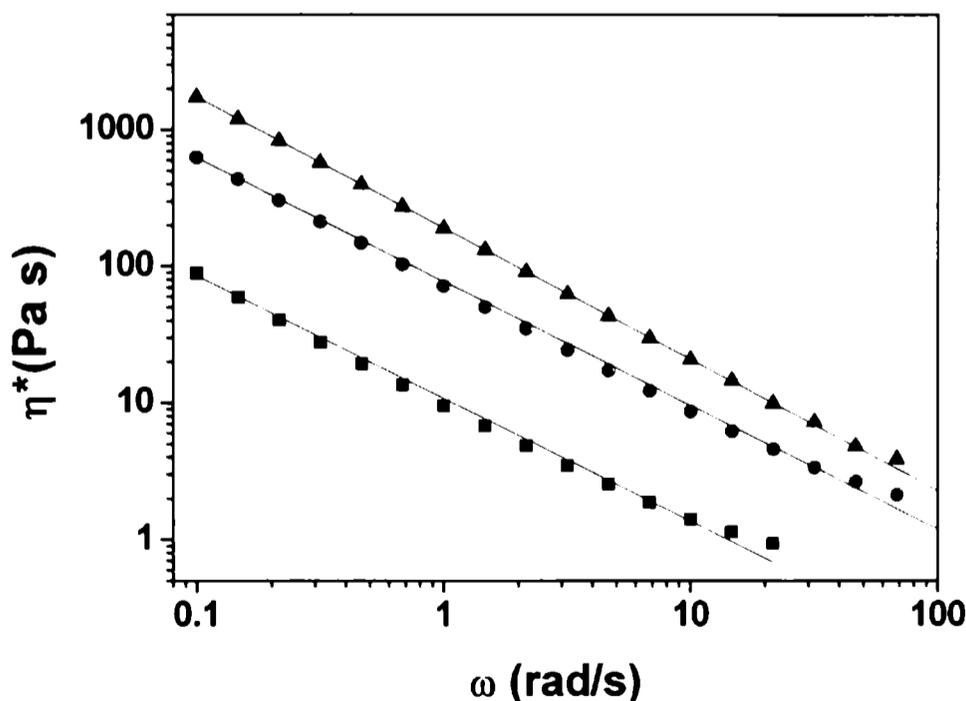


Figura B.4-6. Comportamiento de la viscosidad compleja (η^*) en función de la frecuencia de oscilación para emulsiones estabilizadas con gelatina de 60 (■), 80 (●) y 120 (▲) kDa. En líneas rectas se muestra el ajuste mediante la ecuación propuesta por Friedrich y Heymann (1988).

Este incremento marcado de A_α con el peso molecular puede ser la explicación de la mayor estabilidad observada. En este tipo de dispersiones, el espesor del film interfacial resulta una variable crítica de la estabilidad. A medida que las cadenas poliméricas de la proteína aumentan de tamaño (esto es, aumento del peso molecular promedio), la película conformada alrededor de las gotas de aceite se vuelve más gruesa, lo que se traduce en una mayor estabilidad y una red polimérica más fuerte (valores de A_α más grandes).

El efecto del peso molecular del emulsificante sobre las propiedades viscoelásticas de las emulsiones gelificadas, también puede observarse a través de las capacitancias de almacenamiento y pérdida (J' y J'') como se muestra en la Figura B.4-7. A medida que el peso molecular de la proteína disminuye, la forma de la curva de los módulos se ve modificada siguiendo un comportamiento característico que puede atribuirse a un descenso en el número de entrecruzamientos por molécula de gelatina.

Todos los análisis diferentes de los ensayos dinámicos condujeron a la misma conclusión, donde tanto la viscosidad como las características elásticas de las emulsiones aumentaron con el peso molecular de la proteína. Los cambios en los parámetros característicos del material G_0 , λ_e , η_0 , y A_α , mostraron una correlación positiva entre el grado de entrecruzamiento y el peso molecular de la gelatina usada como emulsificante.

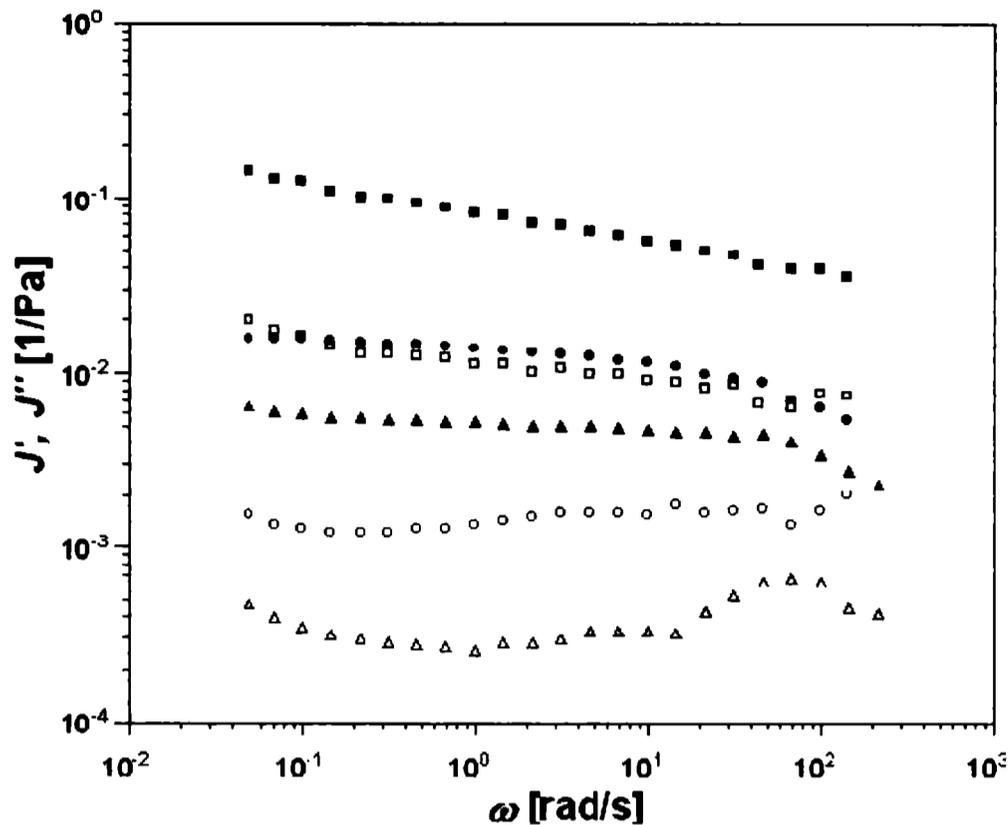


Figura B.4-7. Capacitancias de almacenamiento (J' , símbolos vacíos) y pérdida (J'' , símbolos llenos) en función de la frecuencia para emulsiones estabilizadas con gelatinas de 60 (\square \blacksquare), 80 (\circ \bullet) y 120 (\triangle \blacktriangle) kDa.

B.4.3.4. Efecto del tiempo de almacenamiento

Dada la alta estabilidad evidenciada por las emulsiones que contenían gelatina de 120kDa, se evaluó el comportamiento viscoelástico de las mismas durante su almacenamiento.

Se realizaron ensayos de fluencia y recuperación durante el almacenamiento de las emulsiones, los que fueron ajustados con el modelo de Burgers. Sin embargo, ninguno de los parámetros característicos del modelo mostró diferencias significativas durante el tiempo de almacenamiento ($P > 0.05$) debido a la dispersión entre los replicados de cada muestra. Varios autores han mencionado que esta gran variación observada en los análisis de *creep* es uno de los mayores problemas que presenta este tipo de ensayos transitorios (Alzamora y col., 2008; van Vliet, 2002).

Las emulsiones también fueron estudiadas mediante ensayos oscilatorios, observándose un marcado incremento de los módulos elástico y viscoso con el tiempo de almacenamiento (Figura B.4-8)

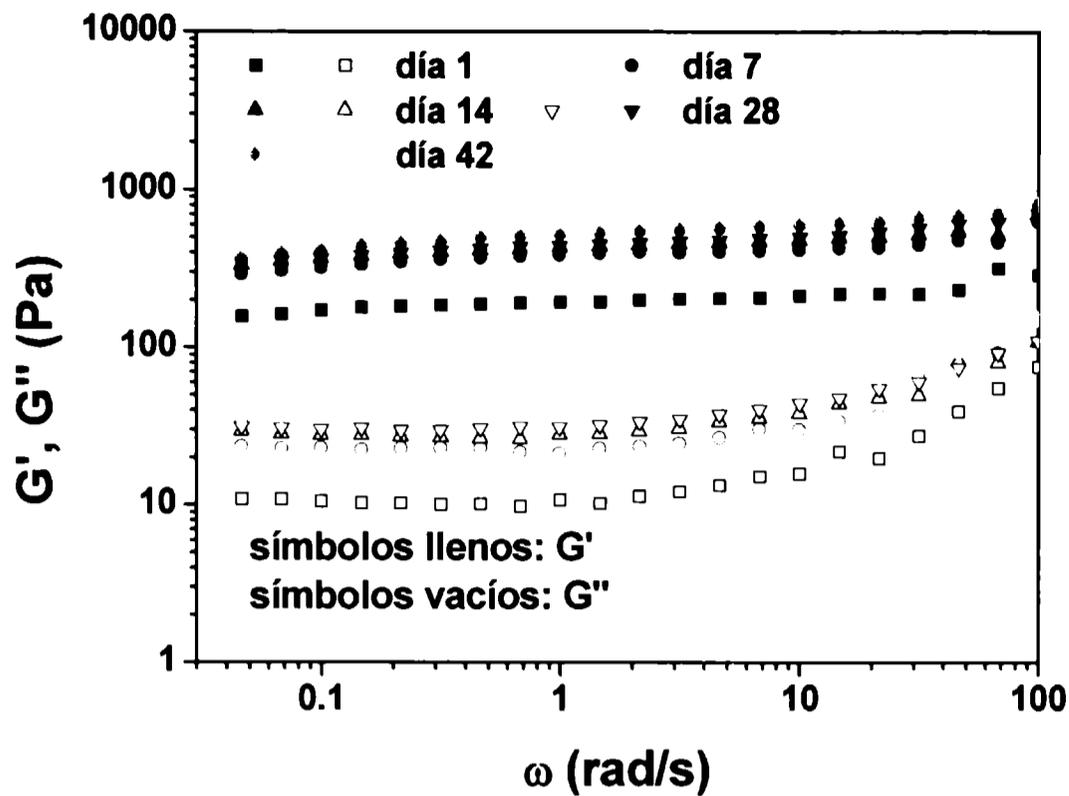


Figura B.4-8. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre los barridos de frecuencias para emulsiones aceite-en-agua estabilizadas con gelatina de 120 kDa.

Teniendo en cuenta las características cualitativamente similares entre los distintos espectros mecánicos, se empleó el principio empírico de superposición en función del tiempo de almacenamiento y utilizando como factor de normalización el módulo "plateau", G_N^0 .

El módulo "plateau" (G_N^0) es un parámetro viscoelástico definido para polímeros como la extrapolación de la contribución de los entrecruzamientos a las funciones viscoelásticas a altas frecuencias de oscilación. Este parámetro puede considerarse como un valor característico de la zona "plateau" y puede ser fácilmente determinado a partir del mínimo de la tangente de pérdida ($\tan \delta = G''/G'$) como (Bais y col., 2005; Baumgaertel y col., 1992):

$$G_N^0 = [G']_{\tan \delta \rightarrow \text{mínimo}}$$

Ec. B.4-13

La Figura B.4-9 muestra las curvas maestras normalizadas del módulo de almacenamiento (G'/G_N^0) y pérdida (G''/G_N^0) para las emulsiones estabilizadas con gelatina de 120 kDa.

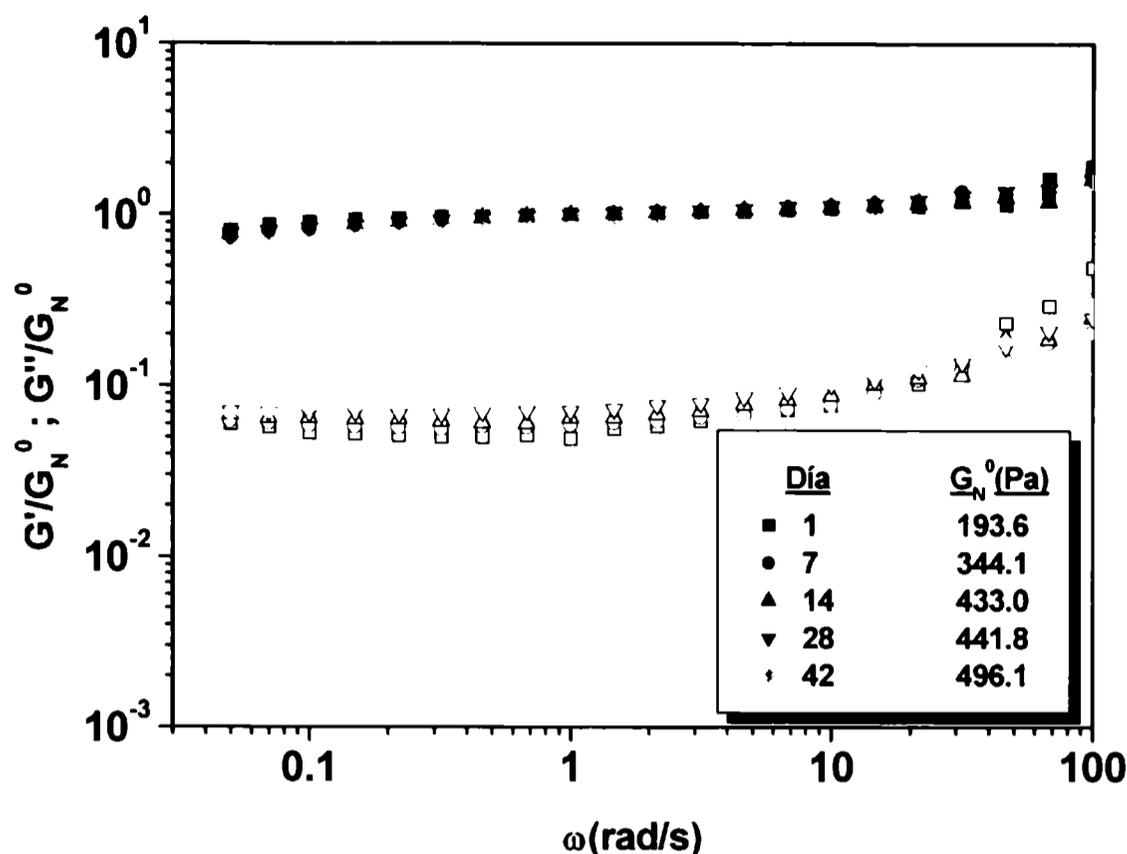


Figura B.4-9. Curva maestra normalizada de los ensayos dinámicos para el módulo elástico (G'/G_N^0 , símbolos llenos) y viscoso (G''/G_N^0 , símbolos vacíos) para emulsiones (15% p/p de aceite) estabilizadas con gelatina de 120 kDa a distintos tiempos de almacenamiento.

Existe bastante evidencia, sintetizada por Mitchell (1976), explicando que los geles de gelatina obedecen la ley de la *rubber elasticity*. Esta teoría ha sido muy satisfactoria para explicar las propiedades de la red polimérica. Los cambios que ocurren en la energía libre cuando una red *gomosa* es deformada, son producto de la suma de los cambios en la entropía de las cadenas individuales que conforman la red. En base a esta teoría de la *rubber elasticity* es posible estimar el peso molecular promedio de los segmentos poliméricos comprendidos entre dos entrecruzamientos adyacentes (M_c) (Segeren y col., 1974; Mitchell y Blanshard, 1976), empleando la relación conocida para cadenas del tipo gaussianas (Flory, 1953; Moresi y col., 2004; Rao, 2007):

$$G' = \frac{cRT}{M_c} \quad \text{Ec. B.4-14}$$

donde c es la concentración de polímero en la red (en $\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$), T es la temperatura absoluta, R ($=8.31 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) la constante de los gases ideales y M_c el peso molecular promedio de los segmentos poliméricos comprendidos entre dos entrecruzamientos adyacentes. En esta ecuación puede verse que el módulo elástico se ve incrementado

a medida que el número de enlaces se va incrementando (la longitud de los segmentos poliméricos libres va disminuyendo y consecuentemente el valor de M_c). La teoría de *rubber elasticity* fue aplicada a los sistemas en estudio asumiendo que la estructura de las emulsiones estaba dada por la red formada por la gelatina, donde las gotas de aceite actuaban como rellenos inertes retenidos por la matriz. Considerando que para estos sistemas, dentro de la región "plateau" G' coincide con G_N^0 , la Ec. B.4-14 permite calcular el peso molecular promedio de los segmentos poliméricos comprendidos entre dos zonas de unión adyacentes para los distintos tiempos de almacenamiento (Figura B.4-10).

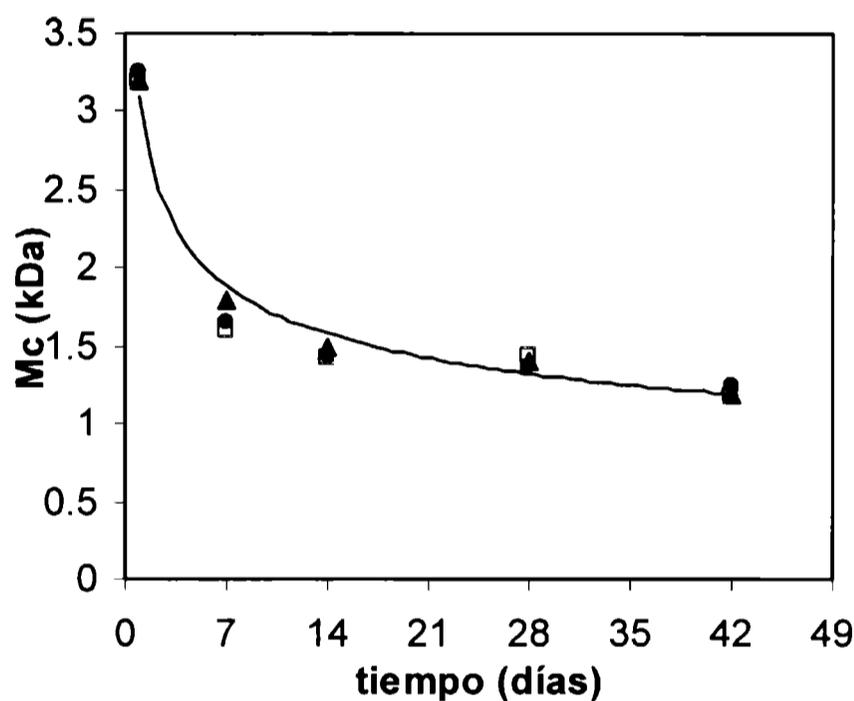


Figura B.4-10. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el peso molecular promedio de los segmentos poliméricos comprendidos entre dos entrecruzamientos adyacentes (M_c) para emulsiones estabilizadas con gelatina de 120 kDa.

El resultado de la disminución de M_c con el tiempo de almacenamiento que se observa en la Figura, puede comprenderse si se considera la tendencia que presenta la gelatina de retornar a la estructura ordenada que presentaba el colágeno. Los reordenamientos ocurridos durante el proceso de gelificación de la gelatina resultan una consecuencia tanto de entrecruzamientos físicos como químicos. Por debajo de la temperatura de gelificación, las cadenas de gelatina retornan parcialmente a la triple hélice tropocolagénica, recuperando su estructura más ordenada. Este fenómeno se produce alrededor de los 28°C (la temperatura de transición puede variar entre las distintas fuentes de procedencia de la proteína), donde se observa la transición de ovillo a hélice (*coil-helix*). El resultado es que parte de dos o tres cadenas se estabilizan en uniones físicas del tipo horquilla principalmente por puentes de

hidrógeno (de Wolf, 2003; Ledward, 1986, 1992; Olivares y col., 2006), formando así una red básicamente física, acoplada a la red covalente (Figura B.4-11).

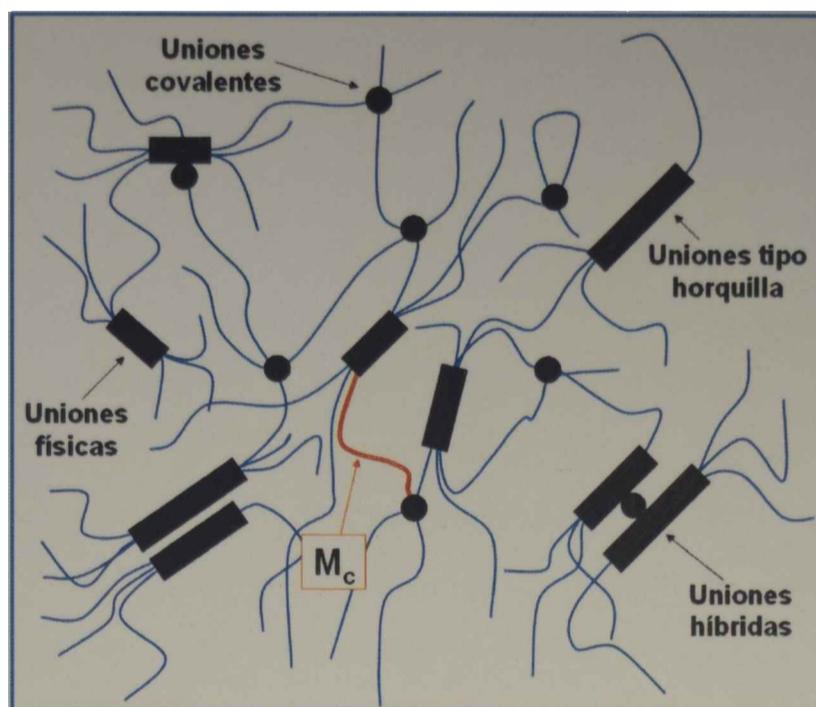


Figura B.4-11. Representación esquemática de los tipos de uniones entre moléculas de gelatina en un sistema gelificado. M_c indica el peso molecular promedio del segmento de cadena polimérica resaltado (---), comprendido entre dos enlaces adyacentes.

Durante el almacenamiento de las emulsiones este lento reajuste de las moléculas de colágeno siguió ocurriendo, generándose nuevas zonas de enlaces y permitiendo el crecimiento de las zonas de unión existentes (Bot y col., 1996; Normand y Ravey, 1997). Las pequeñas zonas de unión formadas inicialmente, a contos tiempos de maduración, comenzaron a crecer con el transcurso del tiempo de almacenamiento, induciendo una inarmonía en los enlaces (Ottone y Deiber, 2005). La disminución en el peso molecular promedio de los segmentos poliméricos comprendidos entre dos entrecruzamientos adyacentes (M_c) durante el almacenamiento puede relacionarse con dichos cambios estructurales producidos en las emulsiones, lo que induce un incremento en el módulo de elasticidad basado en una matriz más apretada que expelle las gotas de la red conduciendo a su desestabilización final.

B.4.4 CONCLUSIONES

Se obtuvieron emulsiones tipo gel, con bajo contenido lipídico, estabilizadas con gelatina de origen bovino de diferentes pesos moleculares sin la aplicación de un tratamiento térmico. La estabilidad de las emulsiones estuvo más directamente

relacionada con el peso molecular de la proteína que con el diámetro de las gotas de la fase lipídica, lográndose obtener sistemas estables por más de 6 semanas.

Los ensayos de fluencia y recuperación fueron satisfactoriamente ajustados con el modelo de Burgers de cuatro parámetros. El comportamiento viscoelástico lineal fue descrito de acuerdo al modelo de Maxwell generalizado y se estimó el espectro continuo de relajación a partir de los datos experimentales de G' y G'' , considerando el modelo de Baumgaertel - Schausberger - Winter generalizado.

Todos los diferentes análisis de los ensayos dinámicos condujeron a la conclusión de que tanto la viscosidad como las características elásticas de las emulsiones aumentaron con el peso molecular de la gelatina. Los cambios en los parámetros característicos del material mostraron una correlación positiva entre el grado de entrecruzamiento y el peso molecular de la gelatina usada.

Los ensayos oscilatorios mostraron un incremento de los módulos G' y G'' durante el almacenamiento, exhibiendo un comportamiento prácticamente independiente del módulo elástico con la frecuencia especialmente en aquellas emulsiones formuladas con gelatina de 120 kDa. Aplicando la teoría de *rubber elasticity* se calculó el peso molecular promedio de los segmentos poliméricos comprendidos entre dos entrecruzamientos adyacentes (M_c), a diferentes tiempos de almacenamiento. La disminución de M_c durante el almacenamiento puede relacionarse con los cambios estructurales producidos en las emulsiones, lo que induce un incremento en el módulo de elasticidad basado en una matriz más apretada que expelle las gotas de la red conduciendo a su desestabilización final.

Los elevados esfuerzos de cizalla a los que se sometieron las emulsiones, y la importante superficie interfacial aceite-agua, permitieron inducir la desnaturalización de la proteína y posterior gelificación del sistema. Considerando esto, este tipo de emulsiones podría resultar una adecuada alternativa para sistemas que contengan productos termolábiles en la fase lipídica.

B.5 Emulsiones gelificadas aceite – en – agua formuladas con goma gellan

B.5.1 INTRODUCCIÓN

Los componentes de un sistema emulsificado se organizan bajo el efecto de diferentes factores, tanto físicos (fuerzas intermoleculares o entre gotas, separaciones gravitacionales), como químicos (uniones covalentes) o biológicos (fermentación, etc.). Dado que las emulsiones son sistemas metaestables, su estructura inicial evoluciona con el tiempo durante el almacenamiento o transporte de las mismas, a causa de los tratamientos térmicos o esfuerzos mecánicos sufridos. Es por esto que resulta de gran importancia generar emulsiones con estructuras que, no sólo sean aceptables desde el punto de vista sensorial, sino lo suficientemente estables como para que resulte viable su comercialización. Resulta entonces un importante desafío para las emulsiones alimentarias, comprender y controlar las interacciones coloidales, microestructura y propiedades reológicas durante el procesamiento y almacenaje.

Las emulsiones pueden ser clasificadas en dos tipos diferentes. Algunas son productos finales que deben permanecer estables frente al cremado y la coalescencia durante la producción y la vida útil de los mismos; mayonesas o aderezos son ejemplos de este tipo de alimentos. También las emulsiones pueden ser empleadas como componentes en la formación de alimentos más complejos como yogures o sistemas gelificados, entre otros.

La goma gellan es un polisacárido de origen microbiano derivado de la *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461. Este agente gelificante tiene la capacidad de exhibir un cambio conformacional de un estado desordenado a uno más ordenado (doble hélice), con el descenso de la temperatura (Giavasis y col., 2000; Moritaka y col., 2003). La diversidad de texturas que pueden lograrse en estos sistemas gelificados dependen de varios factores tales como la fuerza iónica de la solución, la concentración de los polímeros con los que pueda combinarse, el tipo de cationes presentes y la temperatura (Goh y col., 2006; Ikeda y col., 2004). Las soluciones acuosas conteniendo sólo goma gellan producen geles termoreversibles. La inclusión de cationes divalentes como Ca^{+2} o Mg^{+2} promueven la gelificación y sus geles

resultan menos dependientes de la temperatura (Moritaka y col., 1991; Nickerson y col., 2004).

Comercialmente es ampliamente utilizada la goma gellan de bajo acilo (BA), que se obtiene mediante deacilación en condiciones alcalinas de la goma gellan nativa de alto contenido de grupos acilo (AA), la cual presenta la siguiente secuencia de tetrasacáridos en su estructura: (1,3) β -D-glucosa, (1,4) β -D-ácido glucurónico, (1,4) β -D-glucosa, (1,4) α -L-rhamnosa. La goma gellan nativa AA contiene un sustituyente de L-glicerato en el C2 y una sustitución parcial de un grupo acetato en el C6 en (1,3) β -D-glucosa. Estos sustituyentes afectan las propiedades de la solución, como la elevada temperatura de transición sol-gel y la menor fuerza del gel con respecto a las características de la goma gellan BA (Chandrasekaran y Thailambal, 1990).

Se han publicado numerosos trabajos sobre los mecanismos de gelificación y la estructura de la red constituida únicamente por goma gellan (Matsumura y col., 1993; Morris y col., 1999; Sworn y Kasapis, 1999; Matsukawa y Watanabe, 2007), pero existen escasos trabajos sobre geles conteniendo partículas dispersas en la matriz sólida.

Este tipo de geles blandos resulta de gran interés tecnológico por su potencial aplicación tanto en la industria cosmética, como en la farmacéutica y la alimentaria (Aguilera y Kessler, 1989; Chen y Dickinson, 1999; Dickinson y Chen, 1999, Kasapis, 1999, Kokini y van Arken, 2006). Los mismos pueden clasificarse de acuerdo a las características de las partículas dispersas como rellenos "activos" o "inertes". Los primeros son aquellos que interactúan fuertemente con la matriz del gel, lo que implica un marcado refuerzo de las propiedades mecánicas de la red y un incremento de la fuerza del gel (Yost y Kinsella, 1993). Contrariamente, los rellenos inertes presentan baja afinidad por la matriz polimérica y, por tanto, su contribución a incrementar las propiedades mecánicas del gel no resulta significativa.

A lo largo de este trabajo de Tesis se han encontrado escasos trabajos que aborden el desarrollo de emulsiones formuladas con goma gellan como estabilizante. Es por esto que en el presente Capítulo se plantea como objetivo el estudio y modelado del efecto de la goma gellan como espesante de la fase continua de emulsiones gelificadas aceite-en-agua, de bajo contenido lipídico, sobre las características reológicas del sistema.

B.5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

B.5.2.1. Materiales utilizados

Para la formulación de las emulsiones se emplearon gomas gellan de alto y bajo contenido de grupos acilo provistas por CP Kelco (San Diego, CA), cuyas especificaciones se muestran en la Tabla B.5-1. Se utilizó aceite comercial 100% de girasol (Molinos Río de La Plata SACIFI, Buenos Aires), adquirido de un comercio local y empleado sin ningún tratamiento posterior. El emulsificante empleado fue monooleato sorbitano polioxietilenado (Tween[®] 80) que fue adquirido de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Se incluyeron también ácido acético, acetato de sodio y CaCl₂ de grado analítico (Anedra, Argentina) en las formulaciones y un pequeño porcentaje de azida sódica para evitar el desarrollo de microorganismos.

Tabla B.5-1. Especificaciones principales de las gomas gellan empleadas.

| Muestra de goma gellan | KELCOGEL (bajo acilo) | KELCOGEL LT100 (alto acilo) |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Grado de acilación (g/ 100g) | 8.1 | 13.2 |
| Tamaño de partículas | | |
| <i>mesh 28 (600 mm)</i> | pasa > 99% | pasa > 99% |
| <i>mesh 42 (355 mm)</i> | pasa > 98% | pasa > 97% |
| pH de una solución de 1 %(p/p) | 5.1 | 4.8 |
| Cenizas (g/ 100 g) | ≤ 5.5 | ≤ 6.0 |
| Metales pesados (mg/Kg) | ≤ 20.0 | ≤ 20.0 |
| Arsénico (mg/Kg) | ≤ 3.0 | ≤ 2.0 |
| Plomo (mg/Kg) | ≤ 2.0 | ≤ 2.0 |

B.5.2.2. Preparación de las muestras

La elaboración de las emulsiones se realizó siguiendo un esquema similar al mostrado en la Figura B.5-1. Inicialmente se prepararon suspensiones acuosas de goma gellan dispersando la misma durante 24hs., a temperatura ambiente en un buffer ácido acético-acetato de sodio (50 mM), conteniendo 0.1% de azida sódica para evitar el desarrollo microbiano. Para la emulsificación propiamente dicha se utilizó un equipo Ultraturax, donde se homogenizaron la dispersión acuosa de goma gellan y el aceite de girasol utilizando como emulsificante 1% de Tween 80. Las condiciones de emulsificación fueron 11500 rpm durante 4 minutos. Una vez generada la emulsión, la misma fue sometida a un calentamiento bajo agitación continua hasta 90°C, a razón de 2 °C/min. Seguidamente se agregó CaCl_2 (5mM) seguido de un enfriamiento acelerado hasta 20°C para permitir la gelificación del sistema.

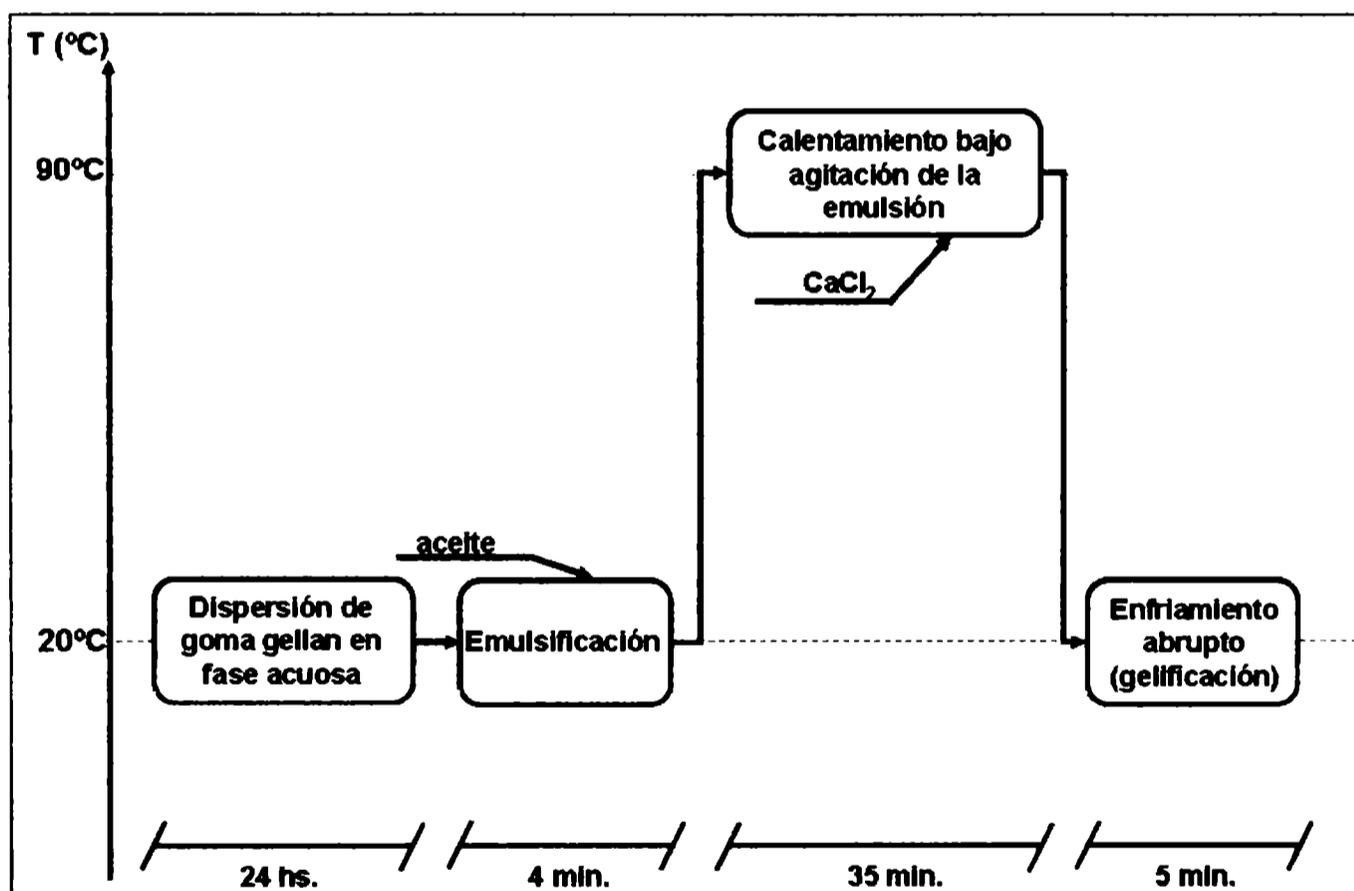


Figura B.5-1. Esquema de preparación de las emulsiones gelificadas conteniendo goma gellan.

Se estudiaron concentraciones de goma gellan entre 0.1% y 0.5% p/p, utilizando el hidrocoloide sin ningún tratamiento previo. Se barrieron concentraciones de fase dispersa entre 10 y 30%. Se estudió el comportamiento reológico de las emulsiones y las fases continuas correspondientes. Estas últimas fueron preparadas

siguiendo el mismo procedimiento previamente descrito (Figura B.5-1), exceptuando la inclusión del aceite.

B.5.2.3. Análisis reológicos

Todos los ensayos reológicos fueron realizados en un reómetro Haake RS600 de esfuerzo controlado (ThermoElectron, Alemania) y para cada medida se realizaron al menos tres replicados, reportándose en cada caso los valores medios.

B.5.2.3.1. Barridos de temperatura

Sobre las fases continuas se efectuaron barridos de temperatura para determinar el punto de gelificación, utilizando un sistema de cilindros concéntricos DIN 53018 (diámetro del sensor 41mm) como el que se muestra en la Figura B.5-2. Los ensayos se realizaron a una frecuencia fija de 6.28 rad/s y dentro del rango de viscoelasticidad lineal. Se modificó la temperatura desde 90°C a 15°C a una velocidad constante de 0.5°C min⁻¹ y se determinó la variación del comportamiento elástico y viscoso durante el ensayo.



Figura B.5-2. Esquema del sensor de cilindros concéntricos usado en los barridos de temperatura de las fases continuas.

B.5.2.3.2. Ensayos de fluencia y recuperación

Para los ensayos de fluencia y recuperación (*creep-recovery*), las muestras de las emulsiones no deformadas se sometieron instantáneamente a un esfuerzo de cizalla constante dentro del rango de viscoelasticidad lineal (LVR), como se explica en el Capítulo B.4. Las emulsiones fueron evaluadas bajo un esfuerzo de corte durante 1200 segundos, seguidos de un período de 800 segundos a $\sigma = 0$ para permitir su recuperación.

Tanto para los ensayos de fluencia y recuperación descritos en este punto como para los ensayos oscilatorios que se describen en B.5.2.3.3, el LVR fue determinado mediante ensayos de barridos de esfuerzos (entre 0.3 y 60 Pa) a una frecuencia de 6.28 rad/s.

B.5.2.3.3. Ensayos oscilatorios

Los barridos de frecuencias se realizaron de manera análoga a lo descrito en los capítulos anteriores entre 0.01 y 130 rad/s, dentro del LVR. Se utilizó una geometría de platos paralelos rugosos de 35 milímetros de diámetro para realizar las corridas oscilatorias de las emulsiones y sus respectivas fases continuas (sensor PP35S).

B.5.2.4. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos (ANAVA y comparaciones pareadas) se realizaron utilizando el software SYSTAT (SYSTAT Inc., Evenston, IL, USA). Para la comparación de medias de a pares se eligió el test de Bonferroni y se consideraron diferencias significativas cuando $P < 0.05$.

B.5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

B.5.3.1. Análisis reológico de las fases continuas

Las dispersiones de goma gellan fueron sometidas al proceso de gelificación descrito en el inciso B.5.2.2, y sobre dichas muestras se realizaron los barridos de frecuencias mostrados en la Figura B.5-3. Se estudiaron tres concentraciones de hidrocoloide (0.1, 0.3 y 0.5%) tanto de la forma deacilada (o de bajo acilo) como de aquella con alto contenido de grupos acilo. Dependiendo del tipo de hidrocoloide, los sistemas mostraron comportamientos cualitativamente diferentes. La Figura B.5-3a muestra las dispersiones con goma gellan de bajo acilo y puede observarse que, independientemente del contenido de hidrocoloide, los sistemas exhibieron un comportamiento del tipo gel verdadero, donde las curvas de G' y G'' se mostraron prácticamente paralelas e independientes de la frecuencia de oscilación. El módulo de almacenamiento estuvo una década por encima del módulo de pérdida a lo largo de todo el rango de frecuencias barridas. El espectro muestra el comportamiento característico de sistemas sólidos viscoelásticos, donde los entrecruzamientos entre las macromoléculas no son permanentes, sino que existe un equilibrio dinámico entre la ruptura y formación de interacciones intermoleculares, que contribuye a la preservación de la estructura a lo largo del tiempo de observación. Este comportamiento es característico de geles producidos por goma gellan de bajo acilo, típico de sistemas rígidos con una estructura poco elástica, dura y quebradiza (Huang y col., 2003; Kasapis y col., 1999; Rodríguez-Hernández y col., 2003).

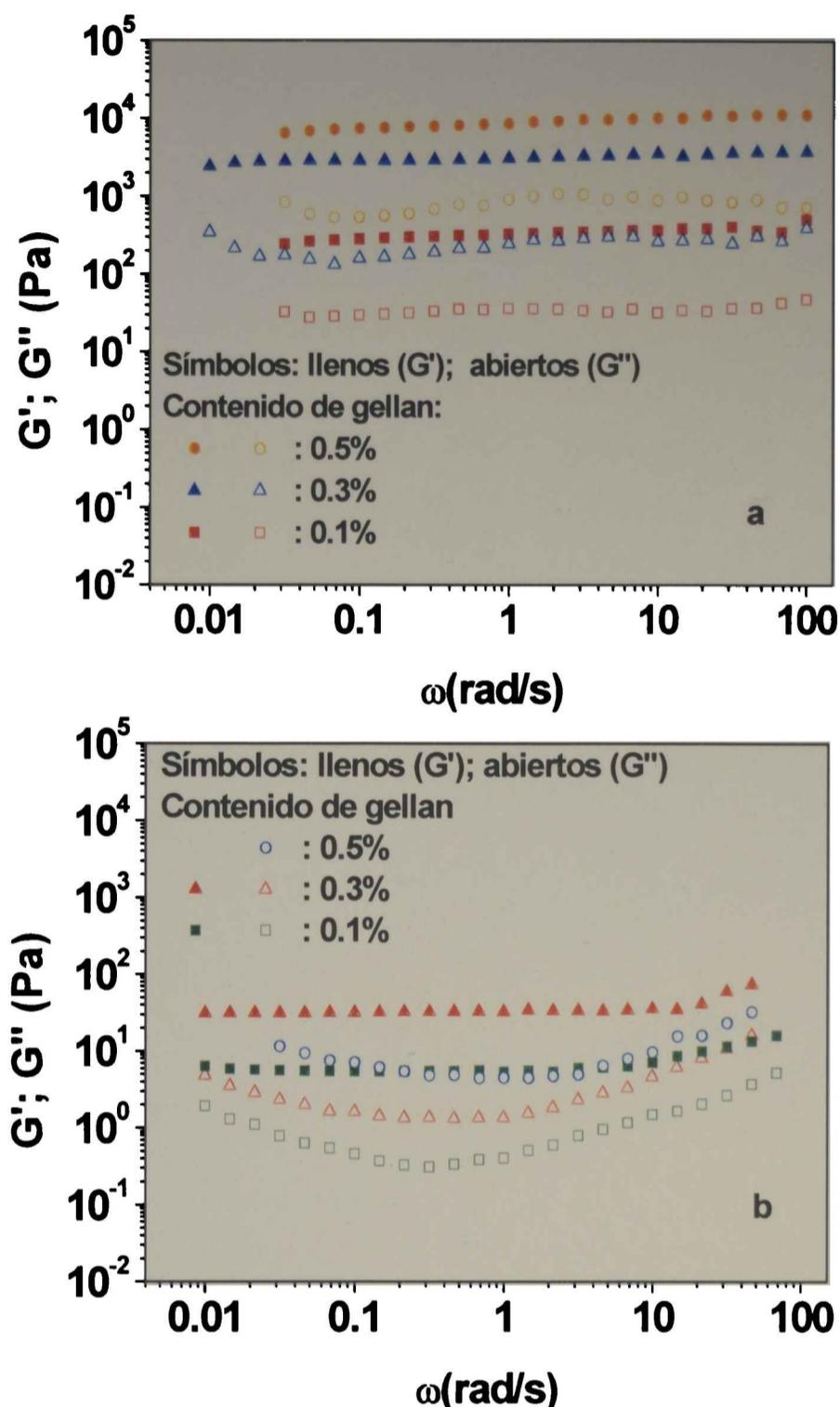


Figura B.5-3. Barridos de frecuencias para geles de goma gellan formulados con distintas concentraciones. (a) goma gellan de bajo acilo; (b) goma gellan de alto acilo.

Por otra parte, en la Figura B.5-3b se muestran los valores de G' y G'' de las dispersiones acuosas de goma gellan de alto acilo, que si bien exhibe un comportamiento de gel fuerte, las características de las curvas son marcadamente diferentes a las anteriores. En este caso, mientras que el módulo de almacenamiento (G') permanece levemente dependiente de la frecuencia, el módulo viscoso muestra un mínimo marcado en su valor a frecuencias del orden de 10^{-1} - 10^0 rad/s. Este comportamiento se ha relacionado en la bibliografía con la existencia de

entrelazamientos entre cadenas poliméricas, denominándose a esta zona de frecuencias "plateau". Los geles obtenidos con goma gellan de alto acilo presentan un comportamiento predominantemente elástico, con valores absolutos de ambos módulos aproximadamente dos órdenes de magnitud inferiores a los geles de goma gellan de bajo acilo. Esto muestra una matriz más blanda y elástica a medida que aumenta el grado de acilación de la molécula (Sworn, 2000). En las Figuras también puede verse un incremento significativo de ambos módulos con la concentración de hidrocoloide en solución, tanto para los sistemas de alto como de bajo acilo.

Sobre las dispersiones de goma gellan se realizaron barridos de temperatura para determinar el punto de gelificación. En la Figura B.5-4 se muestran las curvas correspondientes a todas las fases continuas analizadas. Durante el enfriamiento de las dispersiones acuosas pudo observarse que la viscosidad compleja ($\eta^* = ((G'^2 + G''^2)^{1/2} / \omega)$) se mantuvo prácticamente invariante hasta un determinado valor de temperatura (T_{gel} , transición sol-gel) a partir del cual se observó un abrupto aumento en todas las dispersiones consideradas.

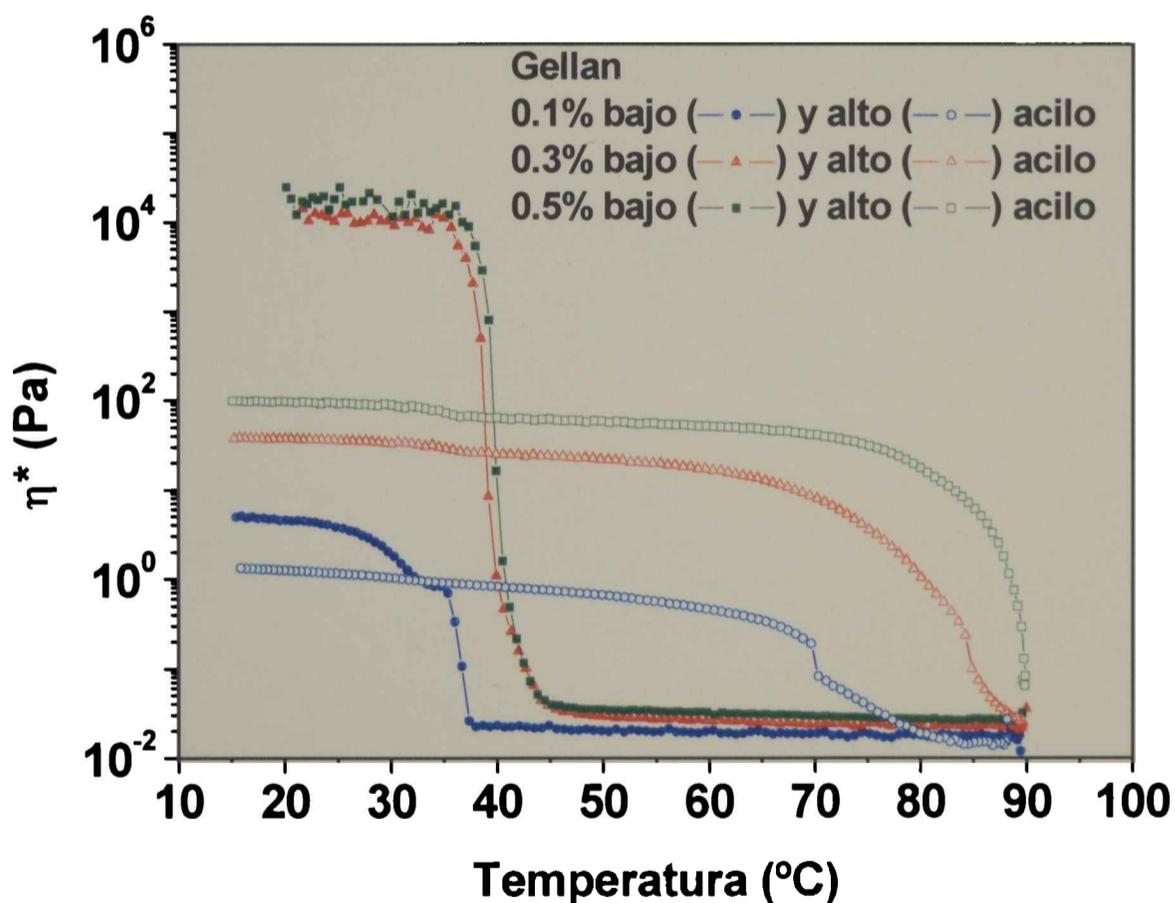


Figura B.5-4. Barridos de temperatura para dispersiones acuosas de goma gellan de alto y bajo acilo, con distintas concentraciones.

El mecanismo propuesto para la gelificación de la goma gellan está basado en el modelo de dominio (*domain model*) (Morris y col., 1980; Sworn, 2000). Las

cadena de goma gellan existen como ovillos al azar en la solución a altas temperaturas; a medida que la solución se va enfriando se produce una transición desorden-orden. Esta transición se ha atribuido a la formación de dobles hélices en el seno de la fase acuosa. Seguidamente, las dobles hélices comienzan a agregarse formando zonas de entrecruzamientos en la red estructurada para producir un gel. En el caso de la goma gellan de bajo acilo, la presencia de cationes como sodio, potasio calcio y magnesio promueven la agregación de esas dobles hélices para formar la red tridimensional con características de gel rígido y quebradizo. La presencia de mayor número de grupos acilos tiene un marcado efecto en la estructura y las características reológicas del gel, ya que si bien ocurre la misma transición desorden-orden que en la goma gellan de bajo acilo, la presencia de estos grupos limita la agregación de la hélices permitiendo que los geles que se forman sean más blandos y elásticos.

Tanto T_{gel} como la fuerza del gel se incrementaron con el contenido de hidrocoloide en solución. Por otra parte, para todas las concentraciones pudo verse una marcada diferencia en la T_{gel} de las soluciones con goma gellan de alto ($T_{gel} > 70^{\circ}\text{C}$) y bajo acilo ($T_{gel} < 50^{\circ}\text{C}$). Esta marcada diferencia en la temperatura de transición sol-gel entre los dos tipos de goma gellan, impidió el uso de la especie de bajo acilo en la producción de emulsiones gelificadas, ya que se observó experimentalmente que la cinética de desestabilización (velocidad de cremado de la fase dispersa) fue más rápida que la de gelificación de la fase continua. Como ejemplo de lo previamente mencionado, en la Figura B.5-5 se muestran las emulsiones elaboradas con 20 % de fase dispersa para un contenido de hidrocoloide de 0.3%. En el caso de goma gellan de bajo acilo se observa una desestabilización marcada de la emulsión por cremado, mientras que en la de alto acilo se muestra una distribución uniforme de la fase dispersa en todo el volumen.

En base a estos resultados que muestran la falta de estabilidad de las emulsiones formuladas con goma gellan de bajo acilo, el análisis de las emulsiones se realizó con aquellas elaboradas con goma gellan de alto acilo.



Figura B.5-5. Emulsiones gel o/w formuladas con 20% de aceite y 0.3% de goma gellan de (a) bajo acilo (desestabilizada) y (b) alto acilo (estable).

B.5.3.2. Análisis reológico de las emulsiones gelificadas

Se obtuvieron los espectros mecánicos para las emulsiones estabilizadas con distintas concentraciones de goma gellan de alto acilo y conteniendo tres porcentajes diferentes de aceite: 10, 20 y 30% p/p (Figura B.5-7). En la Figura B.5-6 se muestra la apariencia cualitativa de los sistemas estudiados. En todos los casos las emulsiones gelificadas mostraron un comportamiento similar al observado para las fases continuas correspondientes, es decir, una estructura típica de un sólido viscoelástico (como se observa en la Figura B.5-7) con un mínimo marcado en el módulo de pérdida (módulo "plateau"). Si bien el incremento en el contenido de fase dispersa produjo un leve aumento en los módulos G' y G'' , pudo verse que este efecto resultó menos significativo a medida que aumentó el contenido de goma gellan en la fase continua.



Figura B.5-6. Emulsiones gelificadas (conteniendo un 20% p/p de fase dispersa) estabilizadas con distintas concentraciones de goma gellan.

Por el contrario, el contenido de hidrocoloide en la matriz acuosa gobernó el comportamiento viscoelástico de las emulsiones, las cuales exhibieron un notorio aumento en el carácter elástico del sistema a medida que aumentó el contenido de goma gellan (Figura B.5-7).

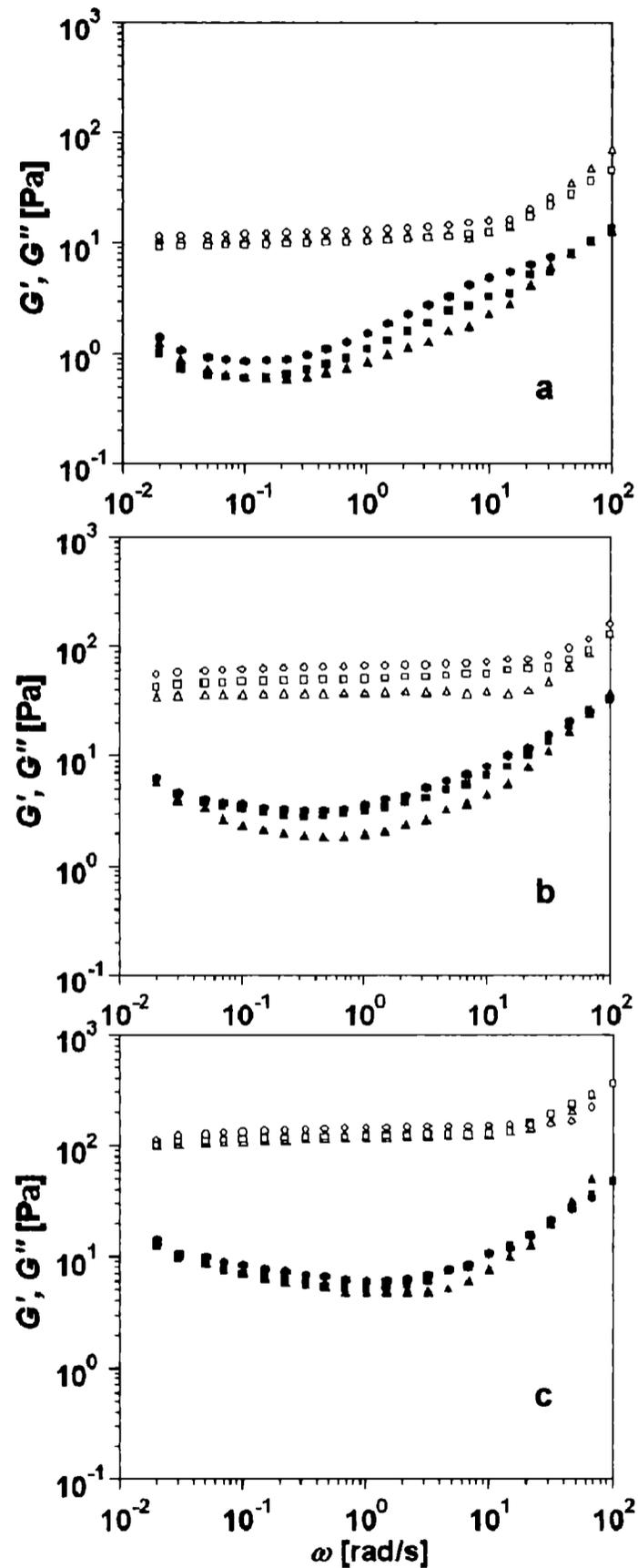


Figura B.5-7. G' (símbolos vacíos) y G'' (símbolos llenos) en función de la frecuencia para emulsiones conteniendo (\triangle \blacktriangle) 10%, (\square \blacksquare) 20% y (\circ \bullet) 30% de aceite estabilizadas con (a) 0.1%, (b) 0.3% y (c) 0.5% de goma gellan de alto acilo en la fase continua.

B.5.3.3. Ensayos de fluencia y recuperación

Tanto las emulsiones gelificadas como las fases continuas correspondientes, formuladas con goma gellan de alto acilo fueron sometidas a ensayos de fluencia y recuperación, dentro del rango viscoelástico lineal. Las curvas de *creep*, expresadas en términos de la capacitancia J (Pa^{-1}) en función del tiempo, fueron ajustadas con el modelo de Burgers de cuatro elementos (descrito en el Capítulo B.4), considerando tanto los datos experimentales de la etapa de fluencia como los de la etapa de recuperación. De tal forma, el modelo completo está representado por las siguientes ecuaciones:

$$J(t) = \begin{cases} J_0 + J_1 \left(1 - \exp\left(\frac{-t}{(\lambda_{\text{ret}})_1}\right) \right) + \frac{t}{\eta_0} & t \leq t_1 \\ J_1 \exp\left(\frac{-t}{(\lambda_{\text{ret}})_1}\right) \left(\exp\left(\frac{-t_1}{(\lambda_{\text{ret}})_1}\right) - 1 \right) + \frac{t_1}{\eta_0} & t > t_1 \end{cases} \quad \text{Ec. B.5-1}$$

donde J_0 es la capacitancia instantánea (Pa^{-1}), η_0 la viscosidad del amortiguador de Maxwell (Pa s), J_1 (Pa^{-1}) y $(\lambda_{\text{ret}})_1$ (s) son la capacitancia y el tiempo de retardo asociados con el elemento de Kelvin-Voigt, respectivamente y t_1 es el tiempo en el cual se deja de aplicar el esfuerzo sobre la muestra.

En la Figura B.5-8 se muestran las curvas de fluencia y recuperación para las distintas formulaciones analizadas. En todos los casos se observó un satisfactorio ajuste del modelo de Burgers de 4 parámetros a los datos experimentales ($r^2 > 0.89$), como se muestra en dicha Figura.

Si bien todas las formulaciones mostraron cualitativamente el mismo comportamiento, se registró un marcado cambio de los valores de capacitancia con la concentración de hidrocoloide en la fase continua. La disminución significativa ($P < 0.05$) de la capacitancia instantánea (J_0) a medida que aumentó el contenido de goma gellan, es una muestra del incremento en la rigidez de la red elástica de la emulsión traducida en una menor deformación por unidad de esfuerzo de corte aplicado. Independientemente del contenido de hidrocoloide, la inclusión de la fase lipídica a la matriz de goma gellan produjo un refuerzo de la fuerza del material, que se tradujo en un significativo incremento en los valores de capacitancia. Un posterior aumento en el contenido de aceite (entre 10 y 30%), no produjo modificaciones significativas ($P < 0.05$) en las características de fluencia de las emulsiones gelificadas.

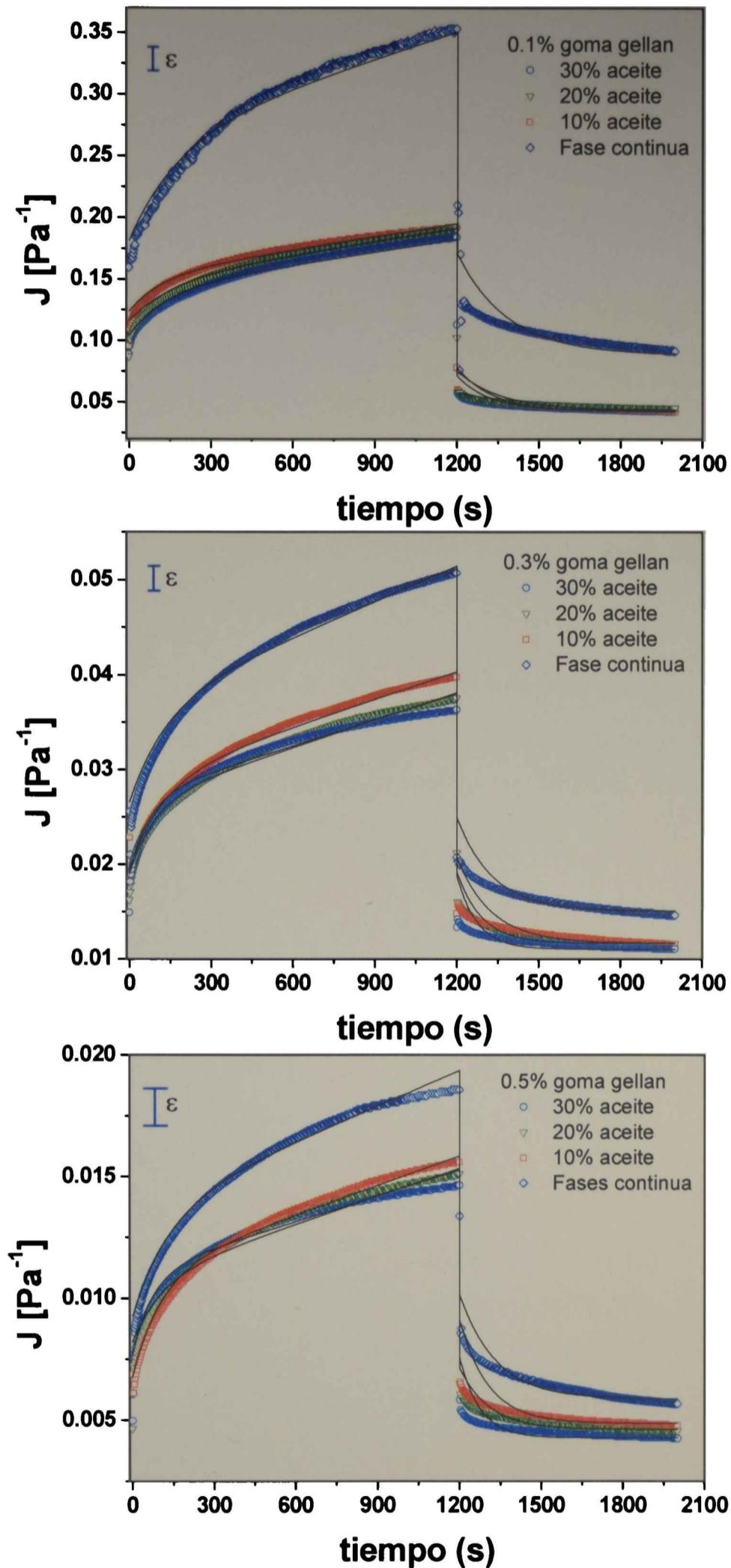


Figura B.5-8. Curva de fluencia y recuperación para emulsiones gelificadas con distintas concentraciones de aceite y goma gellan. (—) Modelo de Burgers. Las barras verticales indican los errores promedios de los datos de capacitancia (ϵ).

El parámetro de capacitancia “retardada” (J_1) mostró la misma tendencia que la observada en J_0 para todas las formulaciones, pero con valores de casi un orden de magnitud inferior (Tabla B.5-2). Este comportamiento es característico de sistemas altamente elásticos, donde el material requiere una deformación inicial para poder luego empezar a fluir (Jiménez-Ávalos y col., 2005).

El tiempo característico de retardo, $(\lambda_{ret})_1$, mostró una tendencia a disminuir tanto con el aumento en el contenido de aceite como en el contenido de hidrocoloide. Contrariamente, la viscosidad de la región Newtoniana (η_0) presentó un significativo ($P < 0.05$) incremento con el contenido de goma gellan. Al igual que con los valores de capacitancia, las emulsiones gelificadas no mostraron diferencias significativas entre sí en el parámetro η_0 , pero sí pudo observarse un marcado aumento con respecto a su fase continua correspondiente ($P < 0.05$).

Tabla B.5-2. Parámetros predichos por el modelo de Burgers de cuatro parámetros para las fases continuas y emulsiones gelificadas conteniendo distintas concentraciones de goma gellan y aceite. Entre paréntesis se muestran las desviaciones estándar.

| Gellan [g/100g] | Aceite [g/100g] | J_0 ($\times 10^3$) [Pa ⁻¹] | J_1 ($\times 10^3$) [Pa ⁻¹] | $(\lambda_{ret})_1$ [s] | η_0 ($\times 10^{-4}$) [Pa.s] |
|--------------------|--------------------|--|--|----------------------------|---|
| 0.10 | 0 | 178 (2.4) | 80.0 (2.1) | 149 (44) | 1.32 (0.04) |
| | 10 | 121 (2.3) | 30.6 (2.4) | 119 (27) | 2.79 (0.02) |
| | 20 | 117 (1.2) | 35.3 (3.4) | 142 (26) | 2.82 (0.06) |
| | 30 | 115 (1.1) | 32.5 (3.4) | 118 (18) | 2.82 (0.03) |
| 0.30 | 0 | 27.0 (0.41) | 9.30 (0.61) | 130 (36) | 7.91 (0.28) |
| | 10 | 19.5 (0.17) | 9.28 (1.0) | 108 (18) | 10.6 (0.36) |
| | 20 | 19.1 (0.48) | 8.32 (0.73) | 99.4 (8.3) | 10.6 (0.57) |
| | 30 | 19.1 (0.34) | 8.41 (0.75) | 84.6 (11) | 10.5 (0.38) |
| 0.50 | 0 | 9.39 (0.14) | 4.16 (0.11) | 118 (33) | 20.5 (0.28) |
| | 10 | 7.17 (0.37) | 3.88 (0.41) | 110 (28) | 24.7 (0.76) |
| | 20 | 8.05 (0.21) | 3.28 (0.69) | 127 (36) | 26.1 (0.72) |
| | 30 | 7.84 (0.42) | 3.46 (0.27) | 80.9 (8.9) | 28.5 (0.66) |

Si bien se observó un cambio significativo en los valores absolutos de los parámetros del modelo de Burgers con la composición de las emulsiones analizadas,

la contribución porcentual de cada elemento permaneció constante. La capacitancia instantánea representó la mayor contribución, con un valor promedio del 54% de la deformación total del sistema, mientras que J_1 explicó sólo el 21% de la capacitancia total. En los sistemas estudiados se observó un porcentaje de recuperación de la deformación superior al 70% (con un valor promedio de 72%). Esto se encuentra en concordancia con lo observado en los ensayos oscilatorios donde, si bien existe un marcado incremento en los módulos G' y G'' , las características generales del espectro mecánico permanecieron invariantes.

B.5.3.4. Determinación del espectro continuo de relajación.

Como se mencionó en el Capítulo B.4, a partir de los ensayos dinámicos es posible obtener el espectro continuo de relajación ($H(\lambda)$), considerando que el sistema puede ser representado mediante una serie de infinitos elementos de Maxwell en una escala de tiempos infinita, mediante las ecuaciones:

$$G' = G_e + \int_{-\infty}^{+\infty} H(\lambda) \frac{(\omega\lambda)^2}{1 + (\omega\lambda)^2} d\ln\lambda \quad \text{Ec. B.5-2}$$

$$G'' = \int_{-\infty}^{+\infty} H(\lambda) \frac{(\omega\lambda)}{1 + (\omega\lambda)^2} d\ln\lambda \quad \text{Ec. B.5-3}$$

El disponer del espectro de un material representa una gran ventaja, ya que se puede tener un conocimiento de su comportamiento en un amplio intervalo de tiempos. En su obtención se pueden combinar distintos tipos de ensayos para cubrir este intervalo, ya que todas las funciones viscoelásticas están relacionadas y pueden ser calculadas a partir del mismo (Mours y Winter, 2000).

Se utilizó el modelo BSW generalizado propuesto por Baumgaertel y Winter (1992) para ajustar el espectro $H(\lambda)$. La ecuación, descrita en el capítulo anterior, es:

$$H(\lambda) = G_N^0 \left[H_g \left(\frac{\lambda}{\lambda_0} \right)^{-n_0} + n_e \left(\frac{\lambda}{\lambda_e} \right)^{n_e} \right] \exp \left(- \left(\frac{\lambda}{\lambda_{\max}} \right)^\beta \right) \quad \text{Ec. B.5-4}$$

El espectro de un material caracteriza su comportamiento mecánico representado por las funciones viscoelásticas lineales. El conocimiento del espectro permite el cálculo de unas funciones viscoelásticas a partir de otras, lo que hace versátil su utilización. Por otra parte, el espectro de un material no es una función medible experimentalmente, por lo que se tiene que calcular a partir de valores experimentales de las funciones viscoelásticas lineales, las cuales sí son accesibles experimentalmente.

El espectro $H(\lambda)$ no puede ser medido directamente, sino que se lo predice a partir de los G' y G'' experimentales. Cuando la evaluación de propiedades mecánicas se realiza directamente en experimentos de relajación y fluencia, lo que se gana en simplicidad experimental se pierde en exactitud, ya que los resultados son más inexactos que los obtenidos mediante experimentos dinámicos (Baumgaertel y col., 1990).

A la vista de las expresiones involucradas (Ec. B.5-2, Ec. B.5-3 y Ec. B.5-4), el ajuste resulta un problema no lineal, que podría linealizarse eligiendo un conjunto N de valores de tiempos de relajación y calculando, mediante algún criterio matemático, los coeficientes G_i . Se dispondría entonces de la versión discreta del espectro, sustituyendo la integral por una serie. El mayor problema que presenta esta metodología es que, al ser elegido arbitrariamente el número N de pares y los valores de los tiempos de relajación, no es único el conjunto que produce un buen ajuste desde el punto de vista matemático, lo que lo convierte en un problema altamente mal condicionado (Baumgaertel y Winter, 1989).

El software desarrollado por H.H. Winter y M. Mours contiene un procedimiento de cálculo robusto para la determinación del espectro que trabaja con la inversión simultánea de las dos integrales previamente mencionadas (Ec. B.5-2 y Ec. B.5-3), que resultó ser adecuado para superar el mal condicionamiento característico del sistema (Winter, 1997).

Mediante el uso del software IRIS Rheo-Hub (Winter y Mours, 2006) se determinaron los parámetros del modelo BSW generalizado, a partir del ajuste óptimo de ambas curvas experimentales (G' y G'') de los ensayos oscilatorios simultáneamente, tal como se explicó en el capítulo anterior (sección B.4.3.3.). La Tabla B.5-3 muestra los parámetros para dicho ajuste correspondientes a dispersiones de hidrocoloides con distintas concentraciones de goma gellan de alto acilo. El modelo se obtuvo tanto para las fases continuas como para las emulsiones gelificadas

conteniendo 20% de aceite de girasol. La Figura B.5-9 (a y b) muestra, como líneas continuas, las predicciones de G' y G'' obtenidas a partir del espectro de relajación. En la misma puede observarse que para todas las formulaciones se obtuvo un satisfactorio ajuste.

Tabla B.5-3. Parámetros predichos por el modelo de Baumgaertel - Schausberger – Winter para emulsiones gelificadas estabilizadas con distintas concentraciones de goma gellan y 20% de fase lipídica, junto con su correspondiente fase continua.

| Gellan [g/100g] | 0.1 | | 0.3 | | 0.5 | |
|----------------------------------|------------|-----------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Aceite [g/100g] | 0.0 | 20 | 0.0 | 20 | 0.0 | 20 |
| G_N^0 [Pa] | 1.23 | 2.02 | 3.28 | 6.90 | 26.42 | 38.13 |
| λ_e [s] | 18.12 | 42.0 | 23.66 | 55.2 | 203.7 | 200.0 |
| λ_0 [s] | 6.07 | 7.99 | 0.341 | 0.301 | 0.020 | 0.027 |
| λ_{max} [s] | 72.5 | 94.7 | 2.41×10^4 | 9.23×10^3 | 2.45×10^4 | 1.00×10^4 |
| n_e | 0.695 | 0.730 | 0.357 | 0.41 | 0.311 | 0.330 |
| n_0 | 0.546 | 0.53 | 0.639 | 0.603 | 0.840 | 0.800 |
| H_g | 0.047 | 0.074 | 0.198 | 0.246 | 0.191 | 0.138 |
| β | 0.221 | 0.330 | 0.830 | 0.550 | 0.370 | 0.320 |

El incremento observado en el módulo "plateau" (G_N^0) concuerda con la tendencia de un marcado incremento en el carácter elástico de la red a medida que aumenta la concentración de hidocoloide; este resultado se hace mucho menos evidente cuando se aumenta el contenido de fase dispersa. Se observó una dependencia aproximada de $G_N^0 \propto c^2$, siendo c el contenido de gellan, lo que coincide con la tendencia observada para otros polímeros (Ferry, 1980; Graessley, 1974).

Se observó también un marcado corrimiento de λ_e hacia tiempos de relajación más largos y de λ_0 hacia valores más pequeños con el aumento del contenido de hidocoloides, lo cual indica un significativo aumento del ancho en que se desarrolla la región plateau causado por una menor movilidad molecular.

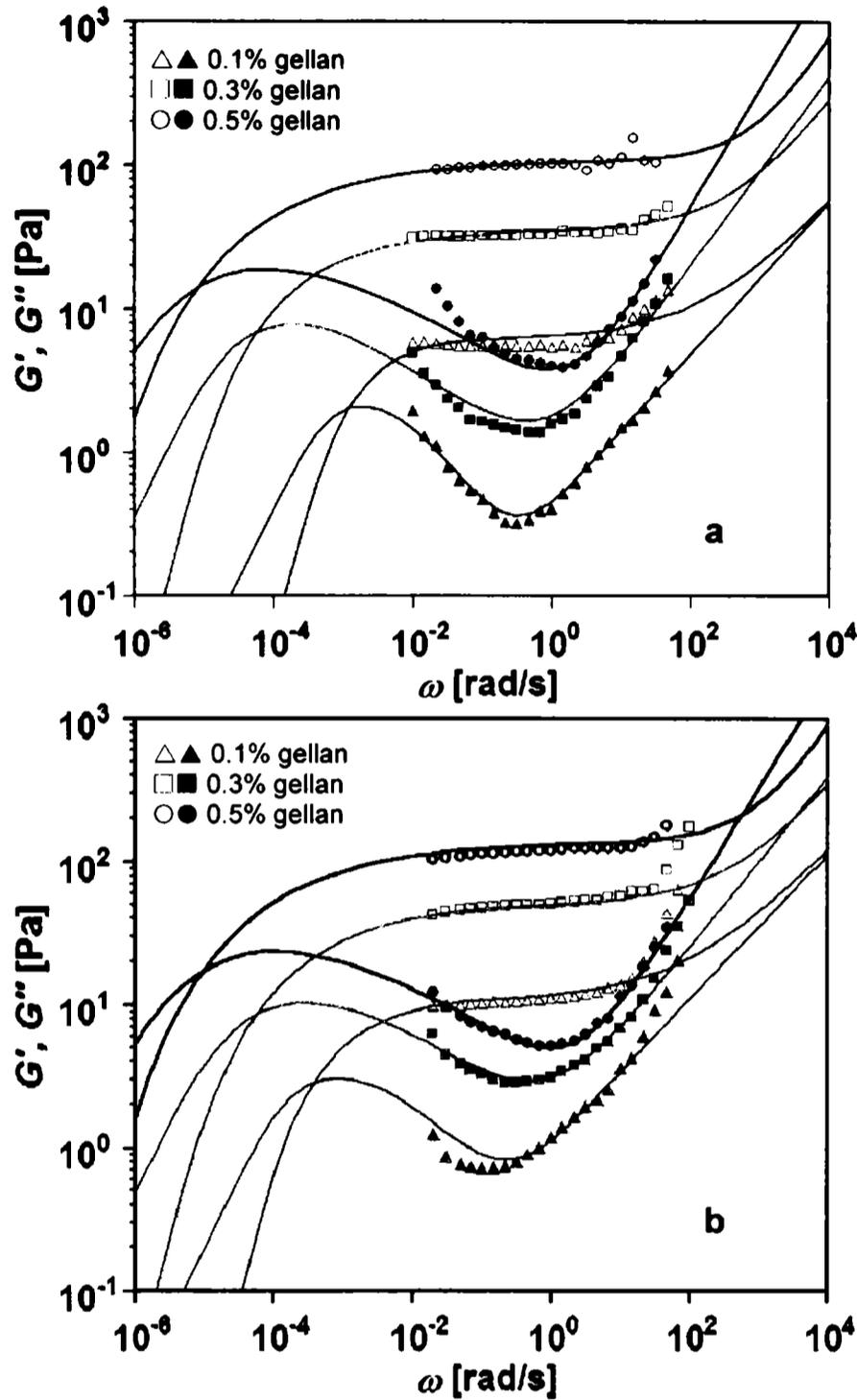


Figura B.5-9. Ajuste de los barridos de frecuencias (G' , símbolos vacíos; G'' símbolos llenos) con el modelo de Baumgaertel-Schausberger-Winter generalizado (a) dispersiones acuosas de goma gellan, (b) emulsiones aceite-en-agua con 20% de fase dispersa.

De manera análoga al espectro mecánico de relajación, en el caso de la capacitancia $J(t)$, se define un espectro continuo de retardo (“retardation”). Para infinitos elementos y tiempos de retardo infinitesimales, se define el espectro continuo de retardo $L(\lambda)$ como suma de contribuciones infinitesimales del comportamiento del material. Así, la capacitancia se expresa en términos del espectro de retardo como:

$$J(t) = J_0 + \int_{-\infty}^{+\infty} L(\lambda) \left(1 - e^{-\frac{t}{\lambda}}\right) d \ln \lambda + \frac{t}{\eta_0} \tag{Ec. B.5-5}$$

donde J_0 es la capacitancia instantánea, es decir: a tiempo de retardación cero, valor inaccesible experimentalmente; λ es el tiempo de retardación y el término $1/\eta_0$ se conoce como fluidez. También pueden obtenerse las componentes de almacenamiento y pérdida de la capacitancia mediante las ecuaciones:

$$J'(\omega) = J_0 + \int_{-\infty}^{+\infty} L(\lambda) \frac{1}{1+(\omega\lambda)^2} d\ln\lambda \quad \text{Ec. B.5-6}$$

$$J''(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} L(\lambda) \frac{\omega\lambda}{1+(\omega\lambda)^2} d\ln\lambda + \frac{1}{\omega\eta_0} \quad \text{Ec. B.5-7}$$

Existe una interrelación entre los espectros de relajación ($H(\lambda)$) y retardación ($L(\lambda)$); si se conoce uno, mediante transformadas de Laplace es posible obtener el otro (Ferry, 1980).

Por otra parte, el comportamiento de fluencia (creep) puede ser descrito en términos discretos mediante el modelo generalizado de Burgers como se mostró en la Figura B.4-2 (Capítulo B.4.), constituido por un elemento de Maxwell conectado en serie con un grupo de elementos de Voigt (Steffe, 1996). Entonces la capacitancia puede ser calculada como:

$$J(t) = J_0 + \sum_{i=1}^N J_i \left(1 - e^{-\frac{t}{\lambda_i}}\right) + \frac{t}{\eta_0} \quad \text{Ec. B.5-8}$$

donde J_0 es la capacitancia instantánea (Pa^{-1}), η_0 la viscosidad del amortiguador de Maxwell (Pa s), y J_i (Pa^{-1}) y λ_i (s) son las capacitancias y los tiempos de retardación asociados a los N elementos de Kelvin-Voigt.

Con el fin de validar el modelo obtenido a partir de los ensayos oscilatorios, se llevaron a cabo ensayos de fluencia y recuperación tanto sobre las fases continuas como sobre las respectivas emulsiones. De tal modo, a partir del espectro de relajación (Ec. B.5-4), se derivó el espectro de retardación $L(\lambda)$, y a partir de éste se calcularon los N pares (λ_i, J_i) . Luego, se simularon los resultados de los experimentos de fluencia mediante la Ec. B.5-8.

La Figura B.5-10 (a y b) muestra el ajuste logrado con el modelo BSW generalizado sobre las curvas de fluencia obtenidas experimentalmente. Como puede verse, el modelo predice razonablemente bien el comportamiento de los sistemas gelificados.

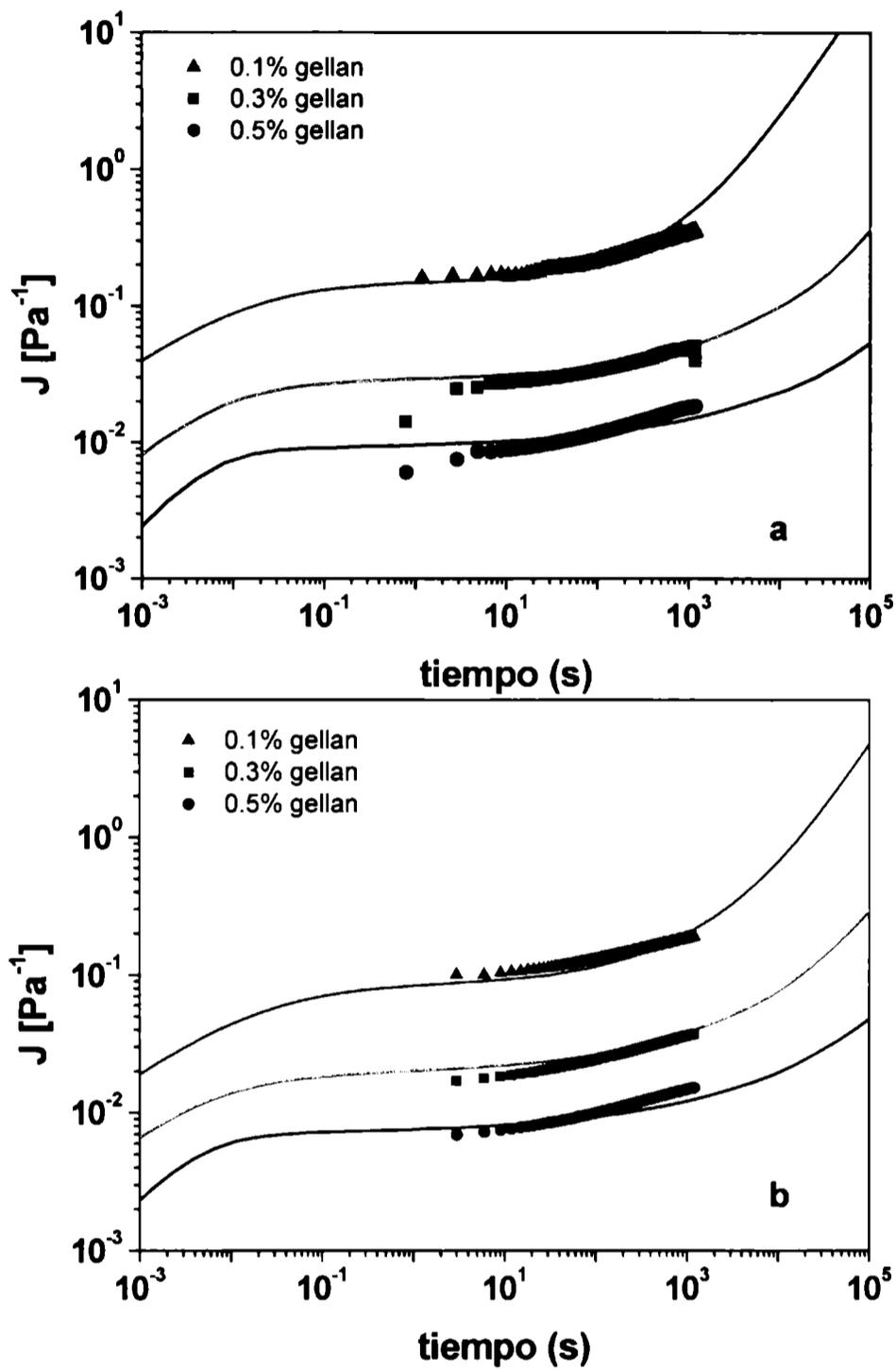


Figura B.5-10. Ajuste entre los resultados experimentales de los ensayos de fluencia y la curva predicha por el modelo de Baumgaertel-Schausberger-Winter generalizado para (a) dispersiones acuosas de goma gellan de alto acido y (b) emulsiones aceite-en-agua.

B.5.4 CONCLUSIONES

El estudio de las dispersiones de goma gellan de alto y bajo acilo permitió observar diferencias en su comportamiento reológico. Para los geles de goma gellan con bajo acilo las curvas de G' y G'' se mostraron prácticamente paralelas e independientes de la frecuencia de oscilación. El módulo de almacenamiento estuvo una década por encima del módulo de pérdida a lo largo de todo el rango de frecuencias barridas. Este comportamiento es característico de geles producidos por goma gellan de bajo acilo, típico de sistemas rígidos con una estructura poco elástica, dura y quebradiza. Los geles de goma gellan de alto acilo mostraron un mínimo en el módulo viscoso (módulo "plateau") a frecuencias del orden de 10^{-1} - 10^0 rad/s. Asimismo exhibieron un comportamiento predominantemente elástico, con valores absolutos de ambos módulos aproximadamente dos órdenes de magnitud inferiores a los geles de goma gellan de bajo acilo.

En los barridos de temperatura pudo verse que la especie de bajo acilo resultó inadecuada para elaborar este tipo de emulsiones gelificadas debido a que la velocidad de cremado fue superior a su cinética de gelificación (baja T_{gel})

Las emulsiones gelificadas con goma gellan de alto acilo presentaron un comportamiento reológico dominado principalmente por el contenido de hidrocóide en la fase continua. El contenido de aceite afectó levemente el comportamiento elástico.

Tanto las emulsiones gelificadas como las fases continuas correspondientes, formuladas con goma gellan de alto acilo fueron sometidas a ensayos de fluencia y recuperación, que fueron satisfactoriamente ajustados mediante el modelo de Burgers de 4 parámetros. El análisis de las curvas mostró una disminución de los valores de capacitancia con el aumento en la concentración de hidrocóide y con la inclusión de la fase lipídica en la emulsión. El aumento en el contenido de aceite (entre 10 y 30%) no produjo cambios significativos en las características de fluencia de las emulsiones.

El comportamiento viscoelástico de los sistemas estudiados fue satisfactoriamente modelado usando la ecuación BSW generalizado para predecir el espectro mecánico de relajación en el rango lineal. Los datos provenientes de experimentos dinámicos obtenidos en este trabajo fueron convertidos satisfactoriamente al dominio temporal mediante la aplicación del modelo BSW. A partir de la interrelación que existe entre el espectro de relajación y el de retardo, se predijeron las curvas de fluencia para los distintos sistemas y se compararon con los datos experimentales. La buena concordancia entre los mismos sirvió para validar el

espectro mecánico. El análisis de los distintos ensayos reológicos permitió comprender las características estructurales de los sistemas estudiados.

3. CONCLUSIONES GENERALES

A lo largo del presente trabajo de Tesis se abordaron dos aplicaciones alimentarias específicas de hidrocoloides, estas son, masas no fermentadas aptas para enfermos celíacos y emulsiones alimentarias de bajo contenido lipídico. Las conclusiones generales obtenidas en cada caso se sintetizan en este capítulo.

3.1 MASAS NO FERMENTADAS APTAS PARA CELÍACOS

- Se lograron desarrollar masas en base a mezclas de almidones de maíz y mandioca e hidrocoloides (gomas xántica, guar e hidroxipropilmetilcelulosa) que resultaron apropiadas para una producción industrial de este tipo de panificados aptos para enfermos celíacos.

Ambos tipos de ensayos de textura (punción y elongación) condujeron a conclusiones similares que las obtenidas mediante el análisis de los resultados de los ensayos reológicos dinámicos, dado que los parámetros de viscoelasticidad lineal (G' y G'') fueron satisfactoriamente correlacionados con las variables características de ensayos de grandes deformaciones (extensibilidad y punción).

A partir del método de optimización multivariable de la Función Objetivo se logró encontrar la formulación más conveniente que respondía a todos los parámetros de calidad seleccionados. Se determinó que, dentro de las composiciones estudiadas, el contenido óptimo de agua fue el mínimo posible (51%), mientras el porcentaje total de gommas (xántica y guar) fue el máximo (3%), de manera de dar cohesividad al producto. El agua jugaría un doble papel: por un lado se comportaría como relleno inerte disminuyendo las características elásticas del sistema, pero también como lubricante y plastificante del sistema. Contenidos muy bajos de agua (fuera del rango de medición) producen una masa quebradiza, imposible de laminar; a concentraciones muy altas, la masa es cohesiva, pero poco resistente. El contenido de proteína de suero lácteo concentrada (WPC) fue el más elevado (6.5%), de modo de contribuir a la formación de la red tridimensional que contiene a los gránulos de almidón, mientras que el porcentaje de huevo en polvo fue el mínimo (3.5%) de modo de aumentar el agua disponible para interactuar con las gommas, permitiendo formar así una red que conduzca a masas más resistentes.

- Se estudió también el efecto del tipo de hidrocoloide y fase lipídica agregada, sobre el comportamiento reológico de las masas no fermentadas libres de gluten. El análisis mostró que aquellas formulaciones desarrolladas con mezclas de biopolímeros que incluyeran xántica presentaron las mejores propiedades texturales (resistencia a la punción y elasticidad), sin importar el otro polisacárido presente. Aquellas masas desarrolladas únicamente conteniendo hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) resultaron las menos adecuadas para la elaboración industrial de masas para empanadas o tartas.

El estudio por medio de ensayos reológicos dinámicos del tipo de fase lipídica empleada en la elaboración de las masas, permitió el ajuste mediante la ecuación propuesta por Friedrich y Heymann (1988), para obtener parámetros estructurales. Se observó un marcado incremento de la fuerza de la red con el contenido de sólidos de las fases grasas, mostrando un comportamiento más elástico y una estructura más firme, en aquellas formulaciones que contenían margarina industrial. Complementariamente se vio un efecto significativo del tipo de hidrocoloides sobre la fuerza de la red formada. Cuando se utilizó HPMC en lugar de goma guar en la mezcla de hidrocoloides, se observó una disminución en la fuerza de la red que fue más notorio en las masas que contenían margarina industrial.

Tanto el incremento en la concentración de la fase lipídica como el aumento en el contenido de sólidos de las margarinas produjeron masas más elásticas y con mayor resistencia a la punción; mientras que se encontró un efecto opuesto con el incremento del contenido de aceite de girasol.

La observación microscópica de las formulaciones, realizada mediante un microscopio electrónico ambiental de barrido, no permitió observar diferencias entre las masas elaboradas con distintos hidrocoloides o fases lipídicas, ya que en todos los casos se observó cualitativamente la misma configuración. La estructura general de las masas se vio contenida por una red continua formada por los hidrocoloides donde los gránulos de almidón de maíz y mandioca se ordenaron de manera aleatoria sin mostrar en ningún caso agrupamientos de uno u otro almidón, lo que mostró la homogeneidad de la matriz observada.

- De las formulaciones analizadas previamente, se seleccionaron aquellas que mostraron las mejores características reológicas y de textura, para llevar a cabo un estudio del efecto del tiempo de almacenamiento.

Las masas fueron almacenadas a 4°C por un período de 20 días sin mostrar cambios significativos en las fuerzas de punción y elongación o en las características

reológicas. La deformación al momento de la ruptura mostró una disminución en las formulaciones con xántica/guar a partir del octavo día de almacenamiento, mientras que para aquellas muestras desarrolladas con la mezcla xántica/HPMC mantuvieron la misma extensibilidad durante todo el tiempo de almacenamiento ensayado.

El análisis textural de los productos horneados no mostró diferencias significativas entre las empanadas cocidas sin congelar y aquellas almacenadas a -20°C durante 15 días.

La evaluación sensorial de un panel semientrenado calificó como aceptable la formulación evaluada con una puntuación promedio de 75/90. Al someter a un análisis de preferencias dicha formulación contra un producto análogo, libre de gluten disponible actualmente en el mercado, dos tercios de los evaluadores mostraron una preferencia significativa por el producto optimizado en este trabajo de tesis.

En resumen, se lograron desarrollar masas aptas para enfermos celíacos en base a almidones y gomas que resultaron apropiadas para una producción industrial. Los resultados mostraron formulaciones más extensibles y menos frágiles que las disponibles actualmente en el mercado, con características texturales más próximas a masas comerciales elaboradas a base de harina de trigo, lo que facilita su manipulación. La combinación de goma xántica con los demás hidrocoloides permitió obtener masas con buena resistencia a la tensión, ya que durante el horneado las masas resistieron el aumento de volumen sin rasgarse. Las características organolépticas fueron aceptables para evaluadores no acostumbrados a este tipo de productos, lo que muestra que su consumo puede orientarse a todo el grupo familiar y no sólo a aquellas personas que padezcan la enfermedad celíaca.

3.2 EMULSIONES ALIMENTARIAS DE BAJO CONTENIDO LIPÍDICO

- Se formularon emulsiones aceite-en-agua de bajo contenido lipídico (inferior a 30% p/p en todos los casos) con el agregado de NaCl y conteniendo ácido acético, en las cuales se utilizó como agente espesante de la fase continua mezclas de gomas xántica y guar. Pese a que este tipo de sistemas emulsionados, reducidos en el contenido de fase dispersa suelen presentar grandes problemas de inestabilidad, el

proceso de cremado se vio altamente impedido por el agregado de hidrocoloides, logrando un período de estabilidad superior a los ocho meses.

Los barridos de frecuencias mostraron que la evolución de los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') con la frecuencia fue extremadamente dependiente de la composición de la fase continua. Si bien se registró un incremento de ambos módulos con el contenido de aceite, se observó que el carácter de las emulsiones estaba determinado principalmente por el nivel de gomas. En las emulsiones con 1.25% de hidrocoloides o más el módulo de almacenamiento presentó valores mayores que el módulo de pérdida en un amplio intervalo de frecuencias, mostrando un sistema altamente estructurado. Por debajo de 1.25% de hidrocoloides se generaron emulsiones con un comportamiento típico de solución concentrada de polímeros, con una marcada dependencia de G' y G'' con la frecuencia, y un módulo de pérdida superior o del mismo orden que el módulo de almacenamiento ($G'' \geq G'$).

Las curvas de flujo tanto de las fases continuas como de las emulsiones exhibieron un comportamiento marcadamente pseudoplástico y fueron modeladas de manera satisfactoria mediante la ecuación de Ellis

Se utilizó el modelo de Mooney para determinar la relación entre el comportamiento reológico de las emulsiones alimentarias y las suspensiones acuosas de hidrocoloides, con parámetros microestructurales característicos, como la forma las partículas y la interacción entre ellas. La ecuación que relaciona la viscosidad relativa del sistema con la fracción volumétrica permitió obtener el factor de forma y la fracción de máximo empaquetamiento en cada caso.

La metodología de superficie de respuesta permitió obtener una ecuación del tipo fenomenológica, la que resulta útil para predecir la concentración de hidrocoloides necesaria para producir una emulsión con una concentración de aceite y una viscosidad a esfuerzo de corte cero (η_0) predeterminadas.

- El uso de gelatina de origen bovino de diferentes pesos moleculares como hidrocoloide para el desarrollo de sistemas emulsionados, permitió lograr productos con características tipo gel, con bajo contenido lipídico y sin la aplicación de un tratamiento térmico. La estabilidad de las emulsiones estuvo más relacionada con el peso molecular de la proteína que con el diámetro de las gotas de la fase lipídica, lográndose obtener sistemas estables por más de 6 semanas.

Los ensayos de fluencia y recuperación fueron satisfactoriamente ajustados con el modelo de Burgers de cuatro parámetros. El comportamiento viscoelástico lineal

fue descrito de acuerdo al modelo de Maxwell generalizado y se estimó el espectro continuo de relajación a partir de los datos experimentales de G' y G'' , considerando el modelo de Baumgaertel - Schausberger - Winter generalizado.

Todos los análisis de los ensayos dinámicos permitieron concluir que tanto la viscosidad como las características elásticas de las emulsiones aumentaron con el peso molecular de la proteína. Los cambios en las funciones características del material mostraron una correlación positiva entre el grado de entrecruzamiento y el peso molecular de la gelatina usada como emulsificante.

Los ensayos oscilatorios mostraron un incremento de los módulos G' y G'' durante el almacenamiento, exhibiendo un comportamiento del módulo elástico prácticamente independiente de la frecuencia, especialmente en sistemas desarrollados con gelatina de alto peso molecular (120 kDa). Aplicando la teoría de *rubber elasticity* se calculó el peso molecular promedio de los segmentos poliméricos comprendidos entre dos entrecruzamientos adyacentes (M_c), a diferentes tiempos de almacenamiento. La disminución de M_c produjo una matriz más cerrada que expelía las gotas de aceite de la red conduciendo a su desestabilización y simultáneamente incrementó el módulo elástico.

Los elevados esfuerzos de cizalla a los que se sometieron las emulsiones, y la importante superficie interfacial aceite-agua, permitieron inducir la desnaturalización de la proteína y posterior gelificación del sistema. Considerando los resultados descritos, este tipo de emulsiones podría resultar una adecuada alternativa para sistemas que contengan productos termolábiles en la fase lipídica.

- En cuanto al efecto de la goma gellan como espesante de la fase continua de emulsiones gelificadas aceite-en-agua, de bajo contenido lipídico, El análisis de las dispersiones de goma gellan de alto y bajo acilo permitió observar diferencias en su comportamiento reológico. Para los geles de goma gellan con bajo acilo las curvas de G' y G'' se mostraron prácticamente paralelas e independientes de la frecuencia de oscilación. El módulo de almacenamiento estuvo una década por encima del módulo de pérdida a lo largo de todo el rango de frecuencias barridas, comportamiento típico de sistemas rígidos con una estructura poco elástica, dura y quebradiza. Los geles de goma gellan de alto acilo exhibieron un comportamiento predominantemente elástico, con valores absolutos de ambos módulos aproximadamente dos órdenes de magnitud inferiores a los geles de goma gellan de bajo acilo.

Sin embargo, la especie de bajo acilo resultó inadecuada para elaborar este tipo de emulsiones gelificadas debido a que la velocidad de cremado fue superior a su cinética de gelificación (baja T_{gel}), como se observó en los barridos de temperatura.

Las emulsiones gelificadas con goma gellan de alto acilo presentaron un comportamiento reológico dominado principalmente por el contenido de hidrocoloide en la fase continua, ya que el contenido de aceite afectó levemente el comportamiento elástico.

El comportamiento viscoelástico de los sistemas estudiados fue satisfactoriamente explicado usando el modelo BSW para predecir el espectro mecánico de relajación en el rango lineal. Los datos provenientes de experimentos dinámicos de este trabajo fueron convertidos exitosamente al dominio temporal mediante la aplicación de dicho modelo. La capacitancia fue predicha a partir de este espectro y comparada con los datos experimentales para validar el espectro mecánico. El análisis de los distintos ensayos reológicos permitió comprender las características estructurales de los sistemas estudiados.

En resumen, se desarrollaron emulsiones alimentarias estables, con bajo contenido de fase dispersa y barriendo un amplio rango de características viscoelásticas, gobernado principalmente por el tipo y concentración del hidrocoloide presente en la fase continua. El modelado del comportamiento reológico de los sistemas dispersos estudiados, permitió interpretar el comportamiento estructural de las emulsiones y cuantificar el efecto de sus distintos componentes. El agregado de diferentes hidrocoloides a los sistemas emulsionados permitió lograr productos con características muy disímiles, que incluyeron desde productos vertibles, con características fluidas, hasta sistemas de gran estructuración como es el caso de las emulsiones gelificadas. El conocimiento reológico y microestructural de estos sistemas resulta clave para la conveniente elección de aquel biopolímero que confiera al producto las características previamente seleccionadas.

4. BIBLIGRAFÍA GENERAL

- Aguilera, J. M., Kessler, H. G., 1989. Properties of mixed and filled type dairy gels. *Journal of Food Science*, 54, 1213–1217.
- Aguilera, J. M., Rojas, E., 1996. Rheological, thermal and microstructural properties of whey protein-cassava starch gels. *Journal of Food Science*, 61 (5), 962-966.
- Agyare, K. K., Xiong, Y. L. Addo, K. Akoh, C. C., 2004. Dynamic rheological and thermal properties of soft wheat flour dough containing structured lipid. *Journal of Food Science*, 69 (7), 297-302.
- Akhtar, M., Stenzel, J., Murray, B. S., Dickinson, E., 2005. Factors affecting the perception of creaminess of oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 19 (3), 521-526.
- Alger, M. S. M. (Ed.), 1990. *Polymer Science Dictionary*. London: Elsevier Applied Science.
- Alzamora, S. M., Viollaz, P. E., Martínez, V. Y., Nieto, A. B., Salvatori, D., 2008. Exploring the linear viscoelastic properties structure relationship in processed fruit tissues. En: Gutiérrez-López, G.F., Barbosa-Cánovas, G.V., Welti-Chanes, J., Parada-Arias, E. (Eds), *Food Engineering: Integrated Approaches*. New York: Springer, pp 155-181.
- Anónimo, 1982. Wheat gluten contributes to nutrition, functionality to meat, baked goods and other foods. *Food Development*, 16, 22–23.
- Anónimo, 2002. Hydrocolloids improve shelf-life and moisture retention of shelf-stable bagels. *Food Technology*, 56, 50.
- Arboleya, J. C., Wilde, P. J., 2005. Competitive adsorption of proteins with methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 19 (3), 485-491.
- Arendt, E. K., O'Brien, C. M., Schober, T., Gormley, T. R., Gallagher, E., 2002. Development of gluten-free cereal products. *Farm and Food*, 12, 21-27.
- Arentz-Hansen, H., Fleckenstein, B., Molberg, O., Scott, H., Koning, S. Jung, G., Roepstorff, P., Lundin, K. E. A., Sollid, L. M., 2004. The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac disease. *Public Library of Science Medicine*, 1, 84–92.
- Armero, E., Collar, C., 1998. Crumb Firming Kinetics of Wheat Breads with Anti-staling Additives. *Journal of Cereal Science*, 28 (2), 165-174.

- Ascher, H., Kristiansson, B., 1997. The highest incidence of celiac disease in Europe: the Swedish experience. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 24, 53–56.
- Bais, D., Trevisan, A., Lapasin, R., Partal, P., Gallegos, C., 2005. Rheological characterization of polysaccharide-surfactant matrices for cosmetic o/w emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 290, 546-556.
- Baltsavias, A., Jurgens, A., van Vliet, T., 1997. Rheological properties of short doughs at small deformation. *Journal of Cereal Science*, 26, 289–300.
- Bárcenas, M. E., Benedito, C., Rosell, C. M., 2004. Use of hydrocolloids as bread improvers in interrupted baking process with frozen storage. *Food Hydrocolloids*, 18, 769-774.
- Bárcenas, M. E., Rosell, C. M., 2005. Effect of HPMC addition on the microstructure, quality and aging of wheat bread, *Food Hydrocolloids*, 19, 1037-1043.
- Bárcenas, M. E., Rosell, C. M., 2006. Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: low temperatures and HPMC addition. *Journal of Food Engineering*, 72 (1), 92-99.
- Bárcenas, M. E., de la O-Keller, J., Rosell, C. M., 2009. Influence of different hydrocolloids on major wheat dough components (gluten and starch). *Journal of Food Engineering*, 94, 241-247.
- Barnes, H. A., Walters, K., 1985. The yield stress myth?. *Rheologica Acta*, 24, 323-326.
- Barnes, H. A., Hutton, J.F., Walters, K., 1993. *An Introduction to rheology*. Amsterdam: Elsevier.
- Barnes, H. A., 1994. Rheology of emulsions – a review. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 91, 89-95.
- Barnes, H. A., 1997. Thixotropy –a review. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 70, 1-33
- Baumgaertel, M., Winter, H. H., 1989. Determination of discrete relaxation and retardation time spectra from dynamic mechanical data. *Rheologica Acta*, 28, 511-519.
- Baumgaertel, M., Schausberger, A., Winter, H.H., 1990. The relaxation of polymers with linear flexible chains of uniform length. *Rheologica Acta*, 29, 400-408.
- Baumgaertel, M., De Rosa, M. E., Machado, J., Masse, M., Winter, H. H., 1992. The relaxation time spectrum of nearly monodisperse polybutadiene melts. *Rheologica Acta*, 31, 75- 82.

- Baumgaertel, M., Winter, H.H., 1992. Interrelation between continuous and discrete relaxation time spectra. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 44, 15-36.
- BeMiller, J. N., Whistler, R. L., 1996. Carbohydrates. En: Fennema, O.R. (Ed.), *Food Chemistry* (3^o ed.). New York: Marcel Dekker, pp. 157 - 223.
- BeMiller, F. S., Daniels, J. R., 2002. Guar-xanthan interactions. Available from: http://www.cfs.purdue.edu/class/F&N630/Virt_Class_2/guarandLBG.htm.
Accedido 4/11/2003.
- Bengoechea, C., Puppo, M. C., Romero, A., Cordobés, F., Guerrero, A., 2008. Linear and non-linear viscoelasticity of emulsions containing carob protein as emulsifier. *Journal of Food Engineering*, 87, 124-135.
- Bergenståhl, B., 1995. Emulsions. En: Beckett, S.T. (Ed.), *Physico-chemical Aspects of Food Processing*. Glasgow: Blackie Academic and Professional, pp. 49-64.
- Berland, S., Launay, B., 1995. Rheological properties of wheat flour doughs in steady and dynamic shear: effect of water content and some additives. *Cereal Chemistry*, 72 (1), 48-52.
- Berli, C., Deiber, J. A., Añon, M. C., 1999. Heat-induced phenomena in soy protein suspensions. Rheometric data and theoretical interpretation. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47, 893-900.
- Berli, C., Quemada, D., Parker, A., 2002. Modelling the viscosity of depletion flocculated emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 203, 11-20.
- Berli, C., Quemada, D., Parker, A., 2003. Gel transition of depletion flocculated emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 215, 201-204.
- Beveridge, G. S. G., Schechter, R. S., 1970. *Optimization: Theory and Practice*. New York: Mc Graw Hill.
- Bibette, J., Leal-Calderón, F., Schmitt, V., Poulin, P., 2002. *Emulsion Science: Basic principles, an overview*. Berlin: Springer.
- Bird, R. B., Armstrong, R., Hassager, O., 1977. *Dynamic of polymeric liquid*. Vol I. New York: John Wiley & Sons.
- Bloksma, A. H., Bushuk, W., 1998. Rheology and chemistry of dough. En: Pomeranz (Ed.), *Wheat: chemistry and technology*. St. Paul: AACC, pp.131–200.

- Bot, A., van Amerongen, I. A., Groot, R. D., Hoekstra, N. L., Agterof, W. G. M., 1996. Large deformation rheology of gelatin gels. *Polymer Gels and Networks*, 4, 189–227.
- Bourne, M. C., 1982. *Food texture and viscosity: concept and measurement*. Londres: Academic Press (2^o ed).
- Box, G. E. P., Draper, N. R., 1987. *Empirical model-building and response surfaces*. New York: John Wiley & Sons.
- Bruno, M., Moresi, M., 2005. Interrelationship between the transient functions of bologna using Friedrich and Heymann theory. *Journal of Texture Studies* 36, 1-24.
- Bryant, C. M., McClements, D. J., 1998. Molecular basis of protein functionality with special consideration of cold-set gels derived from heat-denatured whey. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 143-151.
- Burns, J. L., Yan, Y., Jameson, G. L., Biggs, S., 1999. Relationship between interaction forces and the structural compactness of depletion flocculated colloids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 162, 265-277.
- Cairns, P., Miles, M. J., Morris, V. J., Brownsey, G. J., 1987. X-ray fiber diffraction studies of synergistic, binary polysaccharide gels. *Carbohydrate Research*, 160, 411-423.
- Carreau, P. J., De Kee, D. C. R.; Chhabra, R. P., 1997. *Rheology of polymeric systems: principles and applications*. Cincinnati: Hanser Gardner Publications Inc.
- Casas, J. A., Mohedano, A. F., García-Ochoa, F., 2000. Viscosity of guar gum and xanthan/guar gum mixture solutions. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 80, 1722-1727.
- Case S., 2005. The gluten-free diet: how to provide effective education and resources. *Gastroenterology*, 128, 128-134.
- Cato, L., Gan, J. J., Rafael, L. G. B., Small, D. M., 2004. Gluten-free breads using rice flour and hydrocolloid gums. *Food Australia*, 55 (3), 75–78.
- Chandrasekaran, R., Thailambal, V. G., 1990. The influence of calcium ions, acetate and L-glycerate groups on the gellan double-helix. *Carbohydrate Polymers*, 12, 431-442.
- Chaplin, M. F., Kennedy, J. F., 1994. *Carbohydrate Analysis. A Practical Approach* 2nd Edition. Oxford: Oxford University Press.

- Chaplin, M., 2002. Xanthan gum. Available from: http://www.sbu.ac.uk/water/xantan_gum.htm, accedido 10/03/08.
- Charalambous, G., Doxastakis, G., 1989. *Food Emulsifiers: chemistry, technology. Functional properties and applications*. Amsterdam: Elsevier.
- Chartrand, L. J., Russo, P. A., Dulhaime, A. G., Seidman, E. G., 1997. Wheat starch intolerance in patients with coeliac disease. *Journal of the American Dietetic Association*, 97, 612–618.
- Cheftel, J. C., Cuq J. I., Lorient D., 1989. *Proteínas alimentarias*. Zaragoza: Editorial Aeribia S.A.
- Chen, J., Dickinson, E., 1999. Interfacial aging effect on the rheology of heat-set protein emulsion gel. *Food Hydrocolloids*, 13, 363–369.
- Chhabra, R. P., Richardson, J. F., 1999. *Non-Newtonian Flow in the Process Industries: Fundamentals and Engineering Applications*. Londres: Butterworth-Heinemann.
- Chirido, F. G, Garrote, J. A., Arranz, E., 2005. Enfermedad celíaca. Nuevas perspectivas terapéuticas basadas en un mejor conocimiento de su patogenia molecular. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana*, 35, 183-189.
- Cocup, R. O., Sanderson, W. B., 1987. Functionality of dairy ingredients in bakery products. *Food Technology*, 41 (10), 102–104.
- Coffey, D., Bell, A., Henderson, A., 1995. Cellulose and cellulose derivatives. En: Stephen, A.M. (ed), *Food Polisaccharides and their applications*. New York: Marcell Dekker, pp. 123-153.
- Collar, C., Armero, E., Martínez, J., 1998. Lipid binding of formula bread doughs. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 207, 110-121.
- Collar, C., Andreu, P., Martínez, J. C., Armero, E., 1999. Optimization of hydrocolloid addition to improve wheat bread dough functionality: a response surface methodology study. *Food Hydrocolloids*, 13, 467-475.
- Cunin, C., 1999. Xanthan gum – a food stabiliser of choice. *Innovations in Food Technology*, 5, 13-15.
- Dalgleish, D. G., 1996. Food Emulsions. En: Sjoblom, J. (Ed.), *Emulsions and Emulsion Stability*. New York: Marcel Dekker, pp. 287–325.
- Damodaran, S., 1997. Protein-Stabilized Foams and Emulsions. En: Damodaran, S.; Paraf, A. (Eds.), *Food Proteins and Their Applications*, New York: Marcel Dekker, pp. 57–110.

- Damodaran, S., 2005. Protein stabilization of emulsion and foams. *Journal of Food Science*, 70, 54-66.
- de la Fuente, M. A., Singh, H., Hemar, Y., 2002. Recent advances in the characterization of heat-induced aggregates and intermediates of whey proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 262-274.
- de Wit, J. N., 1981. Structure and functional behaviour of whey proteins. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 35, 47-64.
- de Wit, J. N., Klarenbeek, G., Adamse, M., 1988. Evaluation of functional properties of whey protein concentrates and whey protein isolates II. Effects of processing history and composition. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 40, 41-56.
- de Wit, J. N., 1998. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science*, 81 (3), 597-607.
- de Wolf, F. A., 2003. Collagen and gelatin. En: *Progress in biotechnology* (vol. 23). Elsevier Science B.V., pp. 133–218.
- Dea, I. C. M., Morris, E. R., Rees, D. A., Welsh, E. J., Barnes, H. A., Price, J., 1977. Associations of like and unlike polysaccharides: Mechanism and specificity in galactomannans, interacting bacterial polysaccharides, and related systems. *Carbohydrate Research* 57, 249-272.
- Dea, I. C. M., 1993. Conformational Origins of Polysaccharide Solution and Gel Properties. En: Whistler, R.L., BeMiller, J.N. (Eds). *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives* (3rd Ed.). San Diego: Academic Press, Inc., pp 21-52.
- Demetriades, K., Coupland, J. N., McClements, D. J., 1997a. Physical properties of whey protein stabilized emulsions as related to pH and NaCl. *Journal of Food Science*, 62 (2), 342-347.
- Demetriades, K., Coupland, J. N., McClements, D. J., 1997b. Physicochemical properties of whey protein-stabilized emulsions as affected by heating and ionic strength. *Journal of Food Science*, 62 (3), 462-467.
- Demetriades, K., McClements, D. J., 1998. Influence of Dextran Sulfate and NaCl on the Flocculation of Oil-in-Water Emulsions Stabilized by a Nonionic Surfatant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 3929-3935.
- Derringer, G. C., Suich, R., 1980. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology*, 12, 214-219.
- Dewar, D., Pereira, S. P., Ciclitira P. J., 2004. The pathogenesis of coeliac disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36 (1), 17-24.

- Dickinson, E., Stainsby, G., 1982. *Colloids in food*. Essex: Applied Science Publishers Ltd.
- Dickinson, E., Euston, S. R., 1991. Stability of Food Emulsions Containing both Protein and Polysaccharide. En: Dickinson, E. (Ed.), *Food Polymers, Gels and Colloids*. Londres: Royal Society of Chemistry, pp. 132–146.
- Dickinson, E., 1992. *Introduction to food colloids*. Oxford: Oxford University Press.
- Dickinson, E., Ma, J., Povey, M. J. W., 1994. Creaming of concentrated oil-in-water emulsions containing xanthan. *Food Hydrocolloids*, 8 (5), 481-497.
- Dickinson, E., Golding, M., 1997. Depletion flocculation of emulsions containing unadsorbed sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*, 11 (1), 13-18.
- Dickinson, E., 1998. Rheology of Emulsions – The Relationship to Structure and Stability. En: Binks, B.P (Ed.), *Modern Aspects of Emulsion Science*. UK: The Royal Society of Chemistry, pp 145-174.
- Dickinson, E., Chen, J., 1999. Heat-set whey protein emulsion gels: role of active and inactive filler particles. *Journal of Dispersion Science*, 20, 197–213.
- Dickinson, E., Lopez, G., 2001. Comparison of the emulsifying properties of fish gelatin and commercial milk proteins. *Journal of Food Science*, 66, 118–123.
- Dickinson, E., 2003. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17 (1), 25-39.
- Dobraszczyk, B. J., Morgenstern, M., 2003. Rheology and the breadmaking process, *Journal of Cereal Science*, 38, 229–245.
- Dodić, J., Pejin, D., Dodić, S., Popov, S., Mastilović, J., Popov-Raljić, J., Zivanovic, S., 2007. Effects of Hydrophilic Hydrocolloids on Dough and Bread Performance of Samples Made from Frozen Doughs. *Journal of Food Science*, 72 (4), 235-241.
- Dolz, M., Hernández, M. J., Delegido, J., 2008. Creep and recovery experimental investigation of low oil content food emulsions. *Food Hydrocolloids*, 22, 421-427
- Doublier, J. L., Launay, B., Cuvelier, G., 1992. Viscoelastic properties of food gels. En: Rao, M.A., Steffe, J.F. (Eds.), *Viscoelastic properties of foods*. Barking: Elsevier Science, pp. 371-434.
- Dreese, P. C., Faubion, J. M., Hosney, R. C., 1988. Dynamic rheological properties of flour, gluten, and gluten-starch doughs. I. Temperature-dependent changes during heating. *Cereal Chemistry*, 65 (4), 348-353.
- Dziezak, J. D., 1991. A focus on gums. *Food Technology*, 45 (3): 116-132.

- Edwards, N. M., Mulvaney, S. J., Scanlon, M. G., Dexter, J. E., 2003. Role of gluten and its components in determining durum semolina dough viscoelastic properties, *Cereal Chemistry*, 80, 755–763.
- Eliasson, A. V., 1986. Viscoelastic behaviour during the gelatinization of starch I: Comparison of wheat, maize, potato and waxy-barley starches. *Journal of Texture Studies*, 17 (3), 253-265.
- Eliasson, A. V., Larsson, K., 1993. *Cereals in breadmaking: a molecular colloidal approach*. New York: Marcel Dekker.
- Ellis, S.B., 1927. Thesis. USA: Lafayette College, Pa.
- Ennis, M. P., Mulvihill, D. M., 2000. Milk Proteins. En: Phillips, G.O., Williams, P.A. (eds.), *Handbook of hydrocolloids*. Boca Ratón: CRC Press.
- Eren, I., Kaymak-Ertekin, F., 2007. Optimization of osmotic dehydration of potato using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 79 (1), 344-352.
- Fasano, A., Catassi, C., 2001. Current Approaches to Diagnosis and Treatment of Celiac Disease: An Evolving Spectrum. *Gastroenterology*, 120, 636-651.
- Feighery, C. F., 1999. Coeliac disease. *British Medical Journal*, 319, 236–239.
- Ferguson A, Arranz E, O'Mahony S., 1993. Clinical and pathological spectrum of coeliac disease—active, silent, latent, potential. *Gut*, 34, 150–151.
- Ferrero, C., Martino, M. N., Zaritzky, N. E., 1993. Effect of Freezing Rate and Xanthan Gum on the Properties of Corn Starch and Wheat-Flour Pastes. *International Journal of Food Science and Technology*, 28 (5), 481 - 498.
- Ferry J. D., 1980. *Viscoelastic properties of polymers*. New York: John Wiley & Sons Inc.
- Flory, P. J., 1953. *Principles of polymer chemistry*. New York: Cornell University Press.
- Franco, J. M., Berjano, M., Guerrero, A., Muñoz, J., Gallegos, C., 1995. Flow behavior and stability of light mayonnaise containing a mixture of egg yolk and sucrose stearate as emulsifiers. *Food Hydrocolloids*, 9, 111-121.
- Franco, J. M., Berjano, M., Gallegos, C., 1997. Linear viscoelasticity of salad dressing emulsions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 713-719.
- Freeman, T. P., Shelton, D. R., 1991. Microstructure of wheat starch: from kernel to bread. *Food Technology*, 45 (3), 162-168.
- Friberg, S. E., 1997. Emulsion Stability. En: Friberg, S. E., y Larsson, K. (Eds.), *Food emulsions*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Friedrich, C. H. R., Heymann, L., 1988. Extension of a model for crosslinking polymer at the gel point. *Journal of Rheology*, 32 (3), 235-241.

- Gallagher, E., Polenghi, O., Gormley, T. R., 2002. Improving the quality of gluten-free breads. *Farm and Food*, 12 (1), 8-13.
- Gallagher, E., Gormley, T. R., Arendt, E. K., 2003. Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering*, 56, 153-161.
- Gallagher, E., Gormley, T. R., Arendt, E. K., 2004. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 143-152.
- Gallagher, E., McCarthy, D., Gormley, R., Arendt, E., 2004. Improving the Quality of Gluten-Free Products. Agriculture and Food Development Authority. Final Report: Project RMIS No. 4881, Dublin, Ireland.
- Gaonkar, A. G., 1991. Surface and interfacial activities and emulsion characteristics of some food hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 5 (4), 329-337.
- Garrido, L. B., Califano, A. N., 2007. Effect of an excess of polyelectrolyte on viscoelastic properties of suspensions of alumina and zircon mixtures *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 302, 24-30.
- Garti, N., 1997. Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 30, 222-235.
- Garti, N., 1999. What can nature offer from an emulsifier point of view: Trends and progress?. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 152, 125–146.
- Giavasis, I, Harvey, L. M., McNeil, B., 2000. "Gellan Gum," *Critical Reviews of Biotechnology*, 20 (3),177-211.
- Given, P. S., 1994. Influence of fat and oil – physicochemical properties on cookie and cracker manufacture. En: Faridi, H. (Ed.), *The science of cookie and cracker production*. New York: Chaman & Hall.
- Goff, H. D., 1997. Ice Cream. En: Gunstone, F.D., Padley, F.B. (Eds.), *Lipid Technologies and Applications*. New York: Marcel Dekker, pp. 329–354.
- Goh, K. K. T., Hainsman, D. R., Singh, H., 2006. Characterization of a high acyl gellan polysaccharide using light scattering and rheological techniques. *Food Hydrocolloids*, 20, 176-183.
- Graessley, W. W., 1974. The entanglement concept in polymer rheology. *Advances in Polymer Science*, 16, 1-179.
- Guarda, A., Rosell, C. M., Benedito, C., Galotto, M. J., 2004. Different hydrocolloids as bread improvers and antistaling agents. *Food Hydrocolloids*, 18, 241-247.

- Guerrero, A., Partal, P., Gallegos, C., 1998. Linear Viscoelastic Properties of Sucrose Ester-Stabilized Oil-in-Water Emulsions. *Journal of Rheology*, 42 (6), 1375-1388.
- Gujral, H. S., Guardiola, I., Carbonell, J. V., Rosell, C. M., 2003. Effect of cyclodextrin glycoxyl transferase on dough rheology and bread quality from rice flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3814–3818.
- Harrington, E. C., 1965. The desirability function. *Industrial Quality Control*, 21, 494-498.
- Harrington, W. F., Karr, G. M., 1970. Collagen structure in solution II. Analysis of refolding kinetics in terms of nucleation and growth processes. *Biochemistry*, 9 (19), 3725-3733
- Harrington, W. F., Rao N. V., 1970. Collagen structure in solution: 1. Kinetics of helix regeneration in single-chain gelatins. *Biochemistry*, 9 (19), 3714-3724.
- Hegenbart, S., 1993. Bind for Glory. *Food Product Design*. January: 1-11.
- Hoefler, A., 2001. *Introduction to Food Gums: Chemistry, Functionality, and Applications*. Wilmington DE.
- Hoffman, K., 1991. Method for long-term preservation of thin-layer polyacrilamide gels by producing a gelatin coating. *Journal of chromatography*, 538, 504-505.
- Horvath, K., Mehta, D. I., 2000. Celiac disease: a worldwide problem. *Indian Journal of Pediatrics*, 67, 757–763.
- Hovdenak, N., Hovlid, E., Aksnes, L., Fluge, G., Erichsen, M. M., Eide, J., 1999. High prevalence of asymptomatic coeliac disease in Norway: a study of blood donors. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 11, 185–187.
- Howe, A. M., 2000. Some aspects of colloids in photography. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 5, 288-300.
- Hu, M., McClements, D. J., Decker, E. A., 2003. Lipid oxidation in corn oil-in-water emulsions stabilized by casein, whey protein isolate, and soy protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1696–1700.
- Huang, Y., Tang, J., Swanson, B. G., Rasco, B. A., 2003. Effect of calcium concentration on textural properties of high and low acyl mixed gellan gels, *Carbohydrate Polymers*, 54 (4), 517-522.
- Huffman, L. M., 1996. Processing whey protein for use as a food ingredient. *Food Tecnology*, 50, 49-52.

- Hunt, J., Dalgleish, D., 1994. Effect of pH on the stability and surface composition of emulsions made with whey protein isolate. *Journal of Food Science*, 59, 2131- 2136.
- Hunt, J., Dalgleish, D., 1995. Heat stability of oil-in-water emulsions containing milk proteins: effect of ionic strength and pH. *Journal of Food Science*, 60 (5), 1120-1131.
- Ibanoglu, E., Erçelebi, E. A., 2007. Thermal denaturation and functional properties of egg proteins in the presence of hydrocolloid gums. *Food Chemistry*, 101 (2), 626-633.
- Ikeda, S., Nitta, Y., Temsiripong, T., Pongsawatmanit, R., Nishinari, K., 2004. Atomic force microscopy studies on cation-induced network formation of gellan. *Food Hydrocolloids*, 18 (5), 727-735.
- Izuka, A., Winter, H. H., Hashimoto, T., 1992. Molecular weight dependence of viscoelasticity of polycaprolactone critical gels. *Macromolecules*, 25, 2422-2428.
- Jackson, J. K., De Rosa, M. E., Winter, H. H., 1994. Molecular weight dependence of relaxation time spectra for the entanglement and flow behavior of monodisperse linear flexible polymers. *Macromolecules*, 27, 2426-2431.
- Jayme, M. L., Dunstan, D. E., Gee, M. L., 1999. Zeta potentials of gum arabic stabilised oil in water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 13, 459-465.
- Jiménez-Avalos, H. A., Ramos-Ramírez, E. G., Salazar-Montoya, J. A., 2005. Viscoelastic characterization of gum arabic and maize starch mixture using the Maxwell model. *Carbohydrate Polymers*, 62, 11–18.
- Johnson, S. D., Watson, R. G., McMillan, S. A., Sloan, J., Love, A. H., 1997. Prevalence of coeliac disease in Northern Ireland. *Lancet*, 350, 1370.
- Kabalnov, A. S., Wennerström, H. 1996. Macroemulsion stability, The oriented wedged theory revisited, *Langmuir*, 12, 276
- Kagnoff, M. F., 2007. Celiac disease: pathogenesis of a model immunogenetic disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 117, 41-49.
- Kamel. B. S., 1991. Emulsifiers. En: Smith, J. (Ed.), *Food Additive User's Handbook*. Glasgow: Blackie, pp. 169–201.
- Kang, K. S., Pettitt, D. J., 1993. Xanthan, Gellan, Welan, and Rhamsan. En: Whistler, R.L., BeMiller, J.N. (Eds). *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives* (3rd Ed.). San Diego: Academic Press, Inc., pp 341-398.

- Kang, M. Y., Choi, Y. H., Choi H. C., 1997. Comparison of some characteristics relevant to rice bread processing between brown and milled rice. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 13 (1), 64-69.
- Karim, A. A., Bhat, R., 2008. Gelatin Alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 644-656.
- Kasapis, S., 1999. The elastic moduli of the microcrystalline cellulose– gelatin blends. *Food Hydrocolloids*, 13, 543–546.
- Kasapis, S., Giannouli, P., Hember, M. W. N., Evageliou, V., Poulard, C., Bourgeois, B. T., Sworn, G., 1999. Structural aspects and phase behaviour in deacylated and high acyl gellan systems. *Carbohydrate Polymers*, 38, 145-154.
- Kaschta, J., Schwarzl, E. R., 1994. Calculation of discrete retardation spectra from creep data- II. Analysis of measured creep curves. *Rheologica Acta*, 33, 530 - 541.
- Kelly, C. P., Feighery, C., Gallagher, R. B., Weir, D. G., 1999. The diagnosis and treatment of gluten-sensitive enteropathy. *Advances in Internal Medicine*, 35, 341–364.
- Kenny, S., Wehrle, K., Stanton, C., Arendt, E. K., 2000. Incorporation of dairy ingredients into wheat bread: effects on dough rheology and bread quality. *European Food Research and Technology*, 210, 391-396.
- Kenny, S., Wehrle, K., Auty, M., Arendt, E. K., 2001. Influence of sodium caseinate and whey protein on baking properties and rheology of frozen dough. *Cereal Chemistry*, 78, 458-463.
- Khouryieh, H. A., Herald, T. J., Aramouni, F., Alavi, S., 2006. Influence of mixing temperature on xanthan conformation and interaction of xanthan-guar gum in dilute aqueous solutions. *Food Research International*, 39 (9), 964-973.
- Kilara, A., 2004. Whey Proteins. En: Yada, R.Y. (ed.), *Proteins in Food Processing*. Cambridge: Woodhead Publishing CRC.
- Kobayashi, K., Huang, C., Lodge, T. P. 1999. Thermoreversible Gelation of Aqueous Methylcellulose Solutions. *Macromolecules*, 32 (21), 7070–7077.
- Kobylański, J. R., Pérez, O. E., Pilosof, A. M. R., 2004. Thermal transitions of gluten-free doughs as affected by water, egg white and hydroxypropyl methylcellulose. *Thermochimica Acta*, 411, 81-89.
- Kokini, J. L., 1992, Rheological properties of foods. In Heldman, D.R. and Lund, D.B. (eds.), *Handbook of Food Engineering*. New York: Marcel Dekker, 1–39.

- Kokini, J. L., Wang, C. F., Huang, H., Shrimanker, S., 1995. Constitutive models of foods. *Journal of Texture Studies*, 26: 421-455.
- Kokini, J. L., van Aken, G., 2006. Discussion session on food emulsions and foams. *Food Hydrocolloids*, 20 (4), 438-445.
- Kuntz, L., 1999. Special Effects With Gums. *Food Product Design*. December: 1-10.
- Kwon, B. D. Foss, P. A., Rha, C.K., 1987. Rheological characterization of high viscosity polysaccharides. En: Yalpani, M. (ed.), *Industrial Polysaccharides: Genetic Engineering, Structure/Property Relations and Applications*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V., pp. 223-266.
- Lai, V. M. F.; Huang, A. L.; Lii, C. Y., 1999. Rheological properties and phase transition of red algal polysaccharide-starch composites. *Food Hydrocolloids*, 13: 409-418.
- Lang, L., 2006. *Cocina para celíacos*. Buenos Aires: Ed. Atlántida.
- Launay, B., Doublier, J. L., Cuvelier, G., 1986. Flow Properties of Aqueous Solutions and Dispersions of Polysaccharides. En: Mitchell, J.R., Ledward, D.A. (eds.), *Functional Properties of Food Macromolecules*. Londres: Elsevier Applied Science Publishers, pp. 1-78.
- Laureys, C., 1996. A natural choice for texture: rice derivatives. *Food Technology Europe*, 3, 68-71.
- Lazaridou, A., Duta, D., Papageorgiou, M., Belc, N., Biliaderis, C. G., 2007. Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *Journal of Food Engineering*, 79 (3), 1033-1047.
- Ledward, D. A., 1986. Gelation of gelatin. En: Mitchell, J.R., Ledward, D.A. (eds.), *Functional Properties of Food Macromolecules*. Londres: Elsevier Applied Science Publishers, pp. 171-201.
- Ledward, D., 1992. Gelation. *Food Science and Technology Today*, 6 (4), 236241.
- Lefebvre, J., Pruska-Kedzior, A., Kedzior, Z., Lavenant, L., 2003. A phenomenological analysis of wheat gluten viscoelastic response in retardation and dynamic experiments over a large time scale. *Journal of Cereal Science*, 38, 257-267.
- Lobas, D., Schumpe, S., Deckwer, W. D., 1992. The production of gellan exopolysaccharide with *Sphingomonas paucimobilis* E2 (DSM 6314). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37, 411-415.
- Lobo, L., 2002. Coalescence during emulsification; 3. Effect of gelatin on rupture and coalescence. *Journal of Colloid and Interface Science*, 254, 165-174.

- Lobo, L., Svereika, A., 2003. Coalescence during emulsification: 2. Role of small molecule surfactants. *Journal of Colloid Interface Science*, 261, 498–507.
- Lowe, C. W., 1967. A report on simplex evolutionary operations for multiple responses. *Transactions of the Institution of the Chemical Engineers*, 45, 3-7.
- Lundin, K. E. A., Nilsen, E. M., Scott, H. G., Loberg, E. M., Gloen, A., Bratlie, J., Skar, V., Mendez, E., Lovik, A., Kett, K., 2003. Oats induced villous atrophy in celiac disease. *Gut*, 52, 1649–1652.
- Lupano, C. E., 2003. Discs for “empanadas” with whey protein concentrate. *Journal of Food Technology*, 1 (4), 182-186.
- Maier, H., Anderson, M., Karl, C., Magnuson, K., Whistler, R. L., 1993. Guar, Locust Bean, Tara, and Fenugreek Gums. En: Whistler, R.L., BeMiller, J.N. (Eds). *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives* (3rd Ed.). San Diego: Academic Press, Inc., pp 181-225.
- Manley, D., 2001. *Biscuit, cracker and cookie recipes for the food industry*. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd.
- Mannie, E., Asp, E.H., 1989. Dairy ingredients in baking. *Cereal Foods World*, 44 (3), 143–146.
- Martínez, V. Y., Nieto, A. B., Castro, M. A., Salvatori, D., Alzamora, S. M., 2007. Viscoelastic characteristics of Granny Smith apple during glucose dehydration. *Journal of Food Engineering*, 83, 394-403.
- Martini, S., Herrera, L., 2000. Crystalization behavior of milk fat systems: kinetics and polymorphism. En: *Research Advances in Oil Chemistry*. Killipalam: Global Research Network, pp. 1-23.
- Matsukawa, S., Watanabe, T., 2007. Gelation mechanism and network structure of mixed solution of low- and high-acyl gellan studied by dynamic viscoelasticity, CD and NMR measurements. *Food Hydrocolloids*, 21, 1355–1361.
- Matsumura, Y., Kang, I. J., Sakamoto, H., Motoki, M., Mori, T., 1993. Filler effects of oil droplet on the viscoelastic properties of emulsion gels. *Food Hydrocolloids*, 7, 227–240.
- McCleary, B. V., Dea, I., Windust, J., Cooke, D., 1984. Interaction properties of D-galactose-depleted guar galactomannan samples. *Carbohydrate Polymers*, 4 (4), 253-270.
- McClements, D. J., 1999. *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*. Florida: CRC Press.

- McClements, D. J., 2000. Comments on Viscosity Enhancement and Depletion Flocculation by Polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 14, 173-177.
- McClements, D. J., 2004. Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9 (5), 305-313.
- McKenna, B. M., Lyng, J. G., 2003. Introduction to food rheology and its measurement. En: McKenna, B.M. (ed) *Texture in food. Volume 1: Semi-solid foods*. Boca Raton: Woodhead Publishing Ltd.
- Mewis, J., Wagner, N. J., 2009. Thixotropy. *Advances in Colloid and Interface Science*, 147, 214-227.
- Mezdour, S., Cuvelier, G., Cash, M. J., Michon, C., 2007. Surface rheological properties of hydroxypropyl cellulose at air-water interface. *Food Hydrocolloids*, 21, 776-781.
- Miner P. E., 1993. Emulsion Rheology: Creams and Lotions. En: Laba, D. (Ed.), *Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries*. New York: Marcel Dekker, pp. 313–370.
- Mitchell, J. R., Blanshard, J. M. V., 1976. Rheological properties of alginate gels. *Journal of Texture Studies*, 7, 219-234.
- Mitchell, J. R., 1976. Rheology of gels. *Journal of Texture Studies*, 7, 313-339.
- Montes, S., White, J. L., 1993. Rheological models of rubber-carbon black compounds: low interaction viscoelastic models and high interaction thixotropic - plastic - viscoelastic models. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 49 (2), 277-298.
- Mooney, M., 1946. A viscometer for measurements during thixotropic recovery; results with a compounded latex. *Journal of Colloid Science*, 1 (2), 195-208.
- Moresi, M., Bruno, M., Parente, E., 2004. Viscoelastic properties of microbial alginate gels by oscillatory dynamic tests. *Journal of Food Engineering*, 64, 179–186.
- Moritaka, H., Fukuba, H., Kumeno, K., Nakahama, N., Nishinari, K., 1991. Effect of monovalent and divalent cations on the rheological properties of gellan gels. *Food Hydrocolloids*, 4, 495–507.
- Moritaka, H., Kimura, S., Fukuba, H., 2003. Rheological properties of matrix-particle gellan gum gel: effects of calcium chloride on the matrix. *Food Hydrocolloids*, 17 (5), 653-660.
- Morr, C. V., Foegeding, E. A., 1990. Composition and functionality of commercial whey and milk protein concentrates and isolates: a status report. *Food Technology*, 44, 100-112.

- Morris, E. R., Rees, D. A., Robinson, G., 1980. Cation-specific aggregation of carrageenan helices: Domain model of polymer gel structure. *Journal of Molecular Biology*, 138 (2), 349-362
- Morris, E. R., Richardson, R. K., Whittaker, L. E., 1999. Rheology and gelation of deacylated gellan polysaccharide with Na⁺ as the sole counterion. *Colloid and Polymer Science*, 114, 109–115.
- Mours, M., Winter, H. H., 2000. Mechanical Spectroscopy. En: Tanaka, T. (Ed), *Methods in Polymer Science: Modern Methods in Polymer Research and Technology*. San Diego: Academic Press, pp. 495-546.
- Muller, H. J., Hermel, H., 1994. On the relation between the molecular mass distribution of gelatin and its ability to stabilize emulsions. *Colloid and Polymer Science*, 272, 433–439.
- Murray, J. A., 1999. The widening spectrum of celiac disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 354-365.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., Anderson-Cook, C. M., 2009. *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Mäikki, Y., Heiniö, R., Autio, L., 1993. Influence of oat gum, guar gum and carboxymethylcellulose on the perception of sweetness and flavour. *Food Hydrocolloids*, 6 (6), 525-532.
- Nahringbauer, I., 1995. Dynamic Surface Tension of Aqueous Polymer Solutions, I: Ethyl(hydroxyethyl)cellulose (BERMOCOLL cst-103). *Journal of Colloid and Interface Science*, 176 (2), 318-328.
- Narsimhan, G., 1992. Emulsions. En: Schwartzberg, H.G.; Hartel, R.W. (eds.) *Physical chemistry of foods*. New York: Marcel Decker, Inc., pp. 307-386.
- Nickerson, M. T., Paulson, A. T., Speers, R. A., 2004. A time-temperature rheological approach for examining food polymer gelation. *Trends in Food Science and Technology*, 15 (12), 569-574.
- Normand, V., Ravey, J. C., 1997. Dynamic study of gelatin gels by creep measurements. *Rheologica Acta*, 36, 610-617.
- Olijve, J., Mori, F., Toda, Y., 2001. Influence of the molecular-weight distribution of gelatin on emulsion stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 243, 476– 482.

- Olivares, M. L., Peirotti, M. B., Deiber, J. A., 2006. Analysis of gelatin chain aggregation in dilute aqueous solutions through viscosity data. *Food Hydrocolloids*, 20, 1039–1049.
- Ortolani, C., Pastorello, E. A., 1997. Symptoms of food allergy and food intolerance. Study of nutritional factors in food allergies and food intolerance. CEC, Luxembourg, 26–45.
- Ottone, M. L., Deiber, J. A., 2005. Modeling the rheology of gelatin gels for finite deformations. Part 1. Elastic rheological model. *Polymer*, 46, 4928–4937
- Pantanelli, A., 2001. Pastas Frescas. *Alimentos Argentinos*, 17, 62-68.
- Parker, A., Gunning, P. A., Ng, K., Robins, M. M., 1995. How does xanthan stabilise salad dressing?. *Food Hydrocolloids*, 9 (4), 333-342.
- Partal, P., Guerrero, A., Berjano, M., Gallegos, C., 1999. Transient Flow of O/W Sucrose Palmitate Emulsions. *Journal of Food Engineering*, 41 (1), 33-41.
- Pérez, O. E., Carrera-Sanchez, C., Rodríguez-Patino, J. M., Pilosof, A. M. R., 2007. Adsorption dynamics and surface activity at equilibrium of whey proteins and hydroxypropyl methylcellulose mixtures at air-water interface. *Food Hydrocolloids*, 21, 794-803.
- Petkowicz, C. L. O., Reicher, F., Mazeau, K., 1998. Conformational analysis of galactomannans: from oligomeric segments to polymeric chains, *Carbohydrate Polymer*, 37, 25-39.
- Phan-Thien, N., Safari-Ardi, M., 1998. Linear viscoelastic properties of flour–water doughs at different water concentrations. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 74, 137-150.
- Phillips, G. O., Williams, P. A., 2003. *Handbook of hydrocolloids*. Boca Ratón: CRC Press.
- Picarelli, A., Maiuri, L., Mazzilli, M. C., Coletta, S., Ferrante, P., Di Giovanbattista, F., Greco, M., Torsoli, A., Auricchio, S., 1996. Gluten-sensitive disease with mild enteropathy. *Gastroenterology*, 111, 608–616.
- Pollock, T. J., 1993. Gellan-related polysaccharides and the genus *Sphingomonas*. *Journal of General and Applied Microbiology*, 139, 1939-1945.
- Poppe, J., 1999. Gelatin. En: Imenson, A. A. (Ed.), *Thickening and gelling agents for food*. Maryland: Chapman & Hall Food Science Book. Aspen Publishers, Inc.
- Pszczola, D. E. 1993. Gellan gum wins IFT's Food Technology Industrial Achievement Award. *Food Technology*, 47 94–96.

- Puppo, M. C., Martini, S., Hartel, R. W., Herrera, M. L., 2002. Effects of sucrose esters on isothermal crystallization and rheological behavior of blends of milk-fat fraction sunflower oil. *Journal of Food Science*, 67 (9), 3419-3426.
- Pylar, E.J., 1988. *Baking Science and Technology Vol. II*, (3^o ed.). Kansas City: Sosland Pub Co.
- Quemada, D, Berli, C., 2002. Energy of interaction in colloids and its implications in rheological modeling. *Advances in Colloid and Interface Science*, 98, 51-85
- Quintana, J. M., Califano, A. N., Zaritzky, N. E., Partal, P., 2002a. Effect of Salt on the Rheological Properties of Low-in-Fat O/W Emulsions Stabilized with Polysaccharides. *Food Science and Technology International*, 8 (4), 213-222.
- Quintana, J. M., Califano, A. N., Zaritzky, N. E., Partal, P., Franco, J.M., 2002b. Linear and nonlinear viscoelastic behavior of oil-in-water emulsions stabilized with polysaccharides. *Journal of Texture Studies*, 33 (3), 215-236.
- Quintana, J. M., Lorenzo, G., Zaritzky, N. E., Califano, A. N., 2007. Hydrocolloids as o/w emulsion stabilizers: Effect of the structural features during storage. En: Lupano, C. E. (ed), *Functional Properties of Food Components*. Kerala: Research Signpost, pp. 1-22.
- Radford, S. J., Dickinson, E., 2004. Depletion Flocculation of Caseinate-Stabilized Emulsions: What is the Optimum Size of the Non-Absorbed Protein Nano-Particles?. *Colloid and Surfaces A- Physicochemical and Engineering Aspects*, 238, 71-81.
- Ranhotra, G. S., Loewe, R. J., Puyat, L. V., 1975. Preparation and evaluation of soy-fortified gluten-free bread. *Journal of Food Science*, 40 (1), 62-64.
- Rao, M. A., 2007. *Rheology of fluids and semisolids foods* (Barbosa-Cánovas, G.V., Ed). New York: Springer.
- Rasper, V. F., 1993, Dough rheology and physical testing of dough. En: Kamel, B.S., Stauffer, C.E., Kamel, B.S., Stauffer, C.E. (eds.), *Advances in Baking Technology*. Glasgow: Blackie Academic & Professional, 107–133.
- Ravindra, P., Genovese, D. B., Foedgeding, E. A., Rao, M. A., 2004. Rheology of heated mixed whey protein isolate/cross-linked waxy maize starch dispersions. *Food Hydrocolloids*, 18 (5), 775-781.
- Rha, C., Pradipasena, P., 1986. Viscosity of Proteins. En: Mitchell, J.R., Ledward, D.A. (eds.), *Functional Properties of Food Macromolecules*. Londres: Elsevier Applied Science Publishers, pp. 79-120.

- Ribotta, P. D., Pérez, G. T., León, A. E., Añón, M. C., 2004. Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough. *Food Hydrocolloids*, 18 (2), 305-313.
- Roberts, G. P., Barnes, H. A., Carew, P., 2001. Modelling the flow behaviour of very shear-thinning liquids. *Chemical Engineering Science*, 56, 5617-5623.
- Robins, M. M., 2000. Emulsions – creaming phenomena. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 5, 265-272.
- Robins, M. M., Hibberd, D. J., 1998. Emulsion Flocculation and Creaming. En: Binks, B.P. (ed.), *Modern Aspects of Emulsion Science*. UK: The Royal Society of Chemistry, pp 115-144.
- Rodd, A. B.; Dunstan, D. E.; Boger, D. V., 2000. Characterization of xanthan gum solutions using dynamic light scattering and rheology. *Carbohydrate Polymers*, 42: 159-174.
- Rodríguez-Hernández, A. I., Durand, S., Garnier, C., Tecante, A., Doublier, J. L., 2003. Rheology-structure properties of gellan systems: Evidence of network formation at low gellan concentrations. *Food Hydrocolloids*, 17 (5), 621-628.
- Rohn, C. L., 1995. *Analytical polymer rheology: structure-processing-property relationships*. Hanser Publishers.
- Rosell, C. M., Rojas, J. A., Benedito de Barber, C., 2001. Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. *Food Hydrocolloids*, 15, 75-81.
- Ross, M. H., Reith, E. J., Romrell, L. J., 1992. *Histología*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Ross-Murphy, S. B., 1992. Structure and rheology of gelatin gels: recent progress. *Polymer*, 33 (12), 2622-2627.
- Safari-Ardi, M., Phan-Thien, N., 1998. Stress relaxation and oscillatory tests to distinguish between doughs prepared from wheat flours of different varietal origin. *Cereal Chemistry*, 75, 80-84.
- Sanchez, M. C., Valencia, C., Franco, J. M., Gallegos, C., 2001. Wall slip phenomena in oil-in-water emulsions: effect of some structural parameters. *Journal of Colloid and Interface Science*, 241, 226-232.
- Sanderson, G. R., 1981. Polysaccharides in food. *Food Technology*, 35, 50-57, 83.
- Sanderson, G. R., 1996. Gums and their use in food systems. *Food Technology*, 50, 81-84.
- Sarkar, N., Walker, L. C. 1995. Hydration—dehydration properties of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Carbohydrate Polymers*, 27 (3), 177-185.

- Schorsch, C., Garnier, C., Doublier, J. L., 1997. Viscoelastic properties of xanthan/galactomannan mixtures: comparison of guar gum with locust bean gum. *Carbohydrate Polymers*, 34, 165-175.
- Schramm, L. L., 2005. *Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications*. Weinheim: John Wiley and Sons.
- Segeren, A. J. M., Boskamp, J. V., van den Tempel, M., 1974. Rheological and swelling behaviour of alginate gels. *Faraday Discussion of the Chemical Society*, 57, 255- 262.
- Selomulyo, V. O., Zhou, W., 2007. Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers. *Journal of Cereal Science*, 45, 1–17.
- Sharadanant, R., Khan, K., 2003a. Effect of hydrophilic gums on the quality of frozen dough: Dough characteristics from calorimetric and rheological studies. *Cereal Chemistry*, 80, 764-772.
- Sharadanant, R., Khan, K., 2003b. Effect of hydrophilic gums on the quality of frozen dough: Bread characteristics. *Cereal Chemistry*, 80, 773- 780.
- Shatwell, K. P., Sutherland, I. W., Ross-Murphy, S. B, Dea, I. C. M., 1990. Influence of the acetyl substituent on the interaction of xanthan with plant polysaccharides-II. Xanthan-guar gum systems. *Carbohydrate Polymers*, 14, 115-130.
- Sherman, P., 1970. *Industrial rheology*. New York: Academic Press.
- Shewry, P. R., Popineau Y., Lafiandra, D., Belton, P., 2001. Wheat Glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project. *Trends in Food Science and Technology*, 11, 433-441.
- Shiau, S. Y., Yeh, A. I., 2001. Effects of alkali and acid on dough rheological properties and characteristics of extruded noodles. *Journal of Cereal Science*, 33, 27-37.
- Sikora, M., Kowalski, S., 2007. Polysaccharide-Polysaccharide hydrocolloids interactions. En: Yuryev, V., Tomasik, P., Bertoft, E. (Eds), *Starch: Achievements in Understanding of Structure and Functionality*. New York: Nova Science Publisher.
- Sivaramakrishnan, H. P., Senge, B., Chattopadhyay, P. K., 2004. Rheological properties of rice dough for making rice bread, *Journal of Food Engineering*, 62 (1), 37–45.
- Skerritt, J. H., Hill, A. S., 1992. How 'free' is 'gluten-free'? Relationship between Kjeldahl nitrogen values and gluten protein content for wheat starches. *Cereal Chemistry*, 69, 110–112.

- St. Angelo, A. J., 1989. A Brief Introduction to Food Emulsions and Emulsifiers. En: Charalambous, G., Doxastakis, G., (Eds.), *Food Emulsifiers: Chemistry, Technology, Functional Properties and Applications*. Amsterdam: Elsevier, pp. 1–8.
- Stahel, N., 1983. Dairy proteins for the cereal food industry: Functions, selection and usage, *Cereal Foods World*, 28 (8), 453–454.
- Steffe, J. F., 1996. *Rheological methods in food process engineering*. East Lansing: Freeman Press.
- Stephen, A. M., Phillips, G. O., Williams, P. A., 2006. *Food Polysaccharides and Their Application* (2^o ed.). Boca Raton: Marcel Dekker.
- Sun, C., Gunasekaran, S., Richards, M. P., 2007. Effect of Xanthan Gum on Physicochemical Properties of Whey Protein Isolated Stabilized Oil-in-Water Emulsions. *Food Hydrocolloids*, 21 (4), 555-564.
- Surh, J., Decker, E. A., McClements, J., 2006. Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by fish gelatin. *Food Hydrocolloids*, 20, 596–606.
- Sworn, G., 2000. Gellan Gum. En: Phillips, G. O., Williams, P. A. (eds.), *Handbook of hydrocolloids*. Boca Ratón: CRC Press.
- Sworn, G., Kasapis, S., 1999. Molecular origins of the rheology of high sugar gellan systems. *Progress in Colloid and Polymer Science*, 114, 116–122.
- Tabilo-Munizaga, G., Barbosa-Cánovas, G. V., 2005. Rheology for the Food Industry. *Journal of Food Engineering*, 67 (2), 147-156.
- Tadros, T., 1996. Correlation of viscoelastic properties of stable and flocculated suspensions with their interparticle interactions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 68, 97-200.
- Tadros, T., 2004. Application of Rheology for Assessment and Prediction of the Long-Term Physical Stability of Emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108, 227-258.
- Tolstoguzov, V., 2003. Thermodynamic considerations of starch functionality in foods. *Carbohydrate Polymers* 51: 99-111.
- Tornberg, E., Olsson, A., Persson, K., 1997. The structural and interfacial properties of food proteins in relation to their function in emulsions. En: Friberg, S. E., Lersson, K. (Eds.), *Food emulsions*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Toufeili, I., Dagher, S., Shadarevian, S., Nouredine, A., Sarakbi, M., Farran, M. T., 1994. Formulation of gluten-free pocket-type flat breads: optimization of

- methylcellulose, gum arabic, and egg albumen levels by response surface methodology. *Cereal Chemistry*, 71 (6), 594-601.
- Tschoegl, N. W., 1997. Time dependence in material properties: An Overview. *Mechanics of Time Dependent Materials*, 1, 3–31.
- van Vliet, T., 2002. On the relation between texture perception and fundamental mechanical parameters for liquids and time dependent solids. *Food Quality and Preference*, 13, 227-236.
- Walstra, P., 1993. Introduction to Aggregation Phenomena. En: Dickinson, E.; Walstra, P. (Eds.), *Food Colloids and Polymers: Stability and Mechanical Properties*. Londres: Royal Society Chemistry, pp. 3–15.
- Walstra, P., 1996. Dispersed systems. En: Fennema, O.R. (ed), *Food Chemistry* (3 ed.). New York: Marcel Dekker, pp. 95-155.
- Ward, A. G., Courts, A., 1977. *The Science and Technology of Gelatin*. Londres: Academic Press.
- Ward, M. F., Andon, S. A., 2002. Hydrocolloids as film formers, adhesives and gelling agents for bakery and cereal products. *Cereal Foods World*, 47 (2), 52-55.
- Weipert, D., 1990. The benefits of basic rheometry in studying dough rheology, *Cereal Chemistry*, 67, 311–317.
- Wen-Ching, K., Wen-Chian, L., Yu-Ting, T., Chang-Wei, H., 2007. Kinetics of winter mushrooms (*Flammulina velutipes*) microstructure and quality changes during thermal processing. *Journal of Food Engineering*, 81 (3), 587-598.
- Whistler, R. L.; BeMiller, J., 1984. Molecular structure of starch. En: Whistler, R.L., BeMiller, J, Paschall, E. (Eds.), *Starch, chemistry and technology*. Orlando: Academic Press.
- Whistler, R. L., 1993. Introduction to industrial gums. En: Whistler, R.L.; BeMiller, J.N. (Eds), *Industrial Gums: polysaccharides and their derivatives* (3rd ed). New York: Academic Press.
- Winter, H. H., 1997. Analysis of dynamic mechanical data: Inversion into a relaxation time spectrum and consistency check. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 68, 225-239.
- Winter, H. H., Mours, M., 2006. The cyber infrastructure initiative for rheology. *Rheologica Acta*, 45, 331–338.
- Yost, R., Kinsella, J. E., 1993. Properties of acidic whey protein gels containing emulsified butter fat droplets. *Journal of Food Science*, 58, 158–163.

- Young, A. H., 1984. Fractionation of Starch. En: Whistler, R.L., BeMiller, J, Paschall, E. (Eds.), Starch, chemistry and technology. Orlando: Academic Press, pp. 249-283.
- Zadow, J. G., Hardham, J. F., 1981. Studies on the use of whey protein concentrates in bread, Australian Journal of Dairy Technology, 36, 60–63.