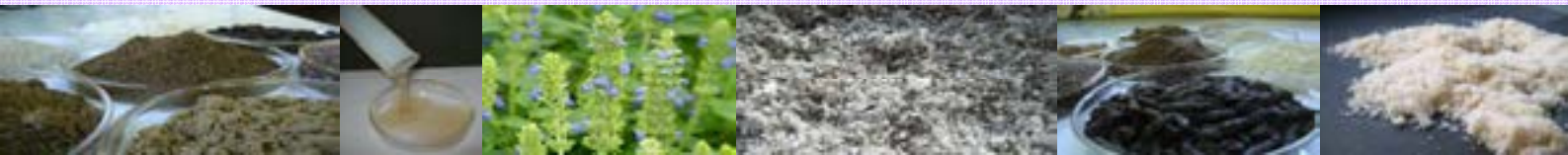




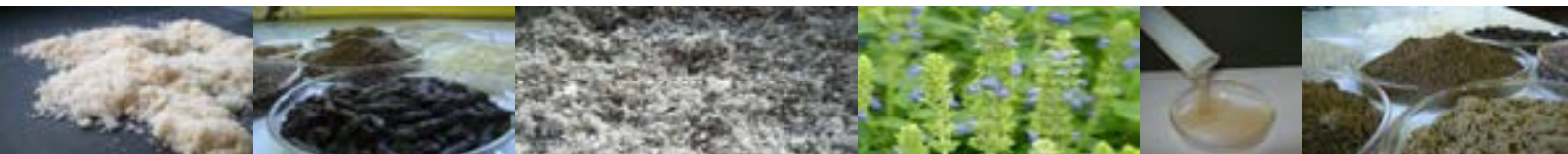
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Facultad de Ciencias Exactas

Departamento de Química



**CARACTERIZACIÓN Y FUNCIONALIDAD DE
SUBPRODUCTOS DE CHÍA (*Salvia hispanica* L.)
APLICACIÓN EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



Tesis Doctoral
Marianela Ivana Capitani

Director

Dra. Mabel C. Tomás

Codirector

Ms. Sc. Susana M. Nolasco

Año 2013

El presente trabajo de Tesis para optar al título de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA-UNLP-CONICET) y en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA) bajo la dirección de la Dra. Mabel Cristina Tomás y la codirección de la Ms. Sc. Susana M. Nolasco.

*Dedicada a la memoria de mi papá,
que desde donde esté va guiando mi camino...
y renace en cada uno de mis logros!*

“Nadie está solo en sus atribuciones, siempre hay alguien más pensando, alegrándose, o sufriendo de la misma manera, y eso nos da fuerza para afrontar mejor el desafío que tenemos ante nosotros...”

Paulo Coelho

AGRADECIMIENTOS

Durante esta etapa de mi vida que hoy culmina, quiero agradecer de todo corazón a aquellas personas e instituciones que hicieron posible que el presente trabajo de Tesis llegue a un final feliz... aún a los que no se encuentren en esta lista, pero que estuvieron en este camino, GRACIAS!!!

A mis directoras de Tesis, *Dra. Mabel Tomás y Ms. Sc. Susana Nolasco* por ESTAR siempre que las necesité, por su dedicación constante, consejos del trabajo y de la vida... por sus experiencias... cualquier palabra me resulta pequeña para expresar todo lo que les agradezco.

Al *Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) (CONICET La Plata - UNLP)* y al *Núcleo de Investigación y Desarrollo en Tecnología de Semillas y Alimentos (TECSE) (Facultad de Ingeniería - UNCPBA)*, especialmente a los *Dres. Noemí Zaritzky, Rodolfo Mascheroni* y los *Ing. Fabián Irassar e Isabel Riccobene*, por haberme brindado la posibilidad de desarrollar el presente trabajo de Tesis en sus instituciones.

A las siguientes instituciones y entidades que mediante diversos tipos de financiamiento posibilitaron la realización del presente trabajo de Tesis. Al *Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)*, *Universidad Nacional de La Plata (UNLP)*, *Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA)*, *Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT)*, *Secretaría de Relaciones Exteriores del Gobierno de México (SER)*.

Al *Dr. Jorge Wagner* y su grupo de trabajo de la *Universidad Nacional de Quilmes (UNQ)*, *Mariana Rabey, Paula Sceni, Gonzalo Palazolo* y *Andrés Márquez* por brindarme la posibilidad de realizar en sus laboratorios parte de los ensayos de esta Tesis y por la atención recibida reflejando la calidad de grupo humano.

Al personal del CINDEFI, por su colaboración en la liofilización del mucílago de chía, especialmente *al Dr. Cavallito*.

A las *Dras. Viviana Spotorno (INTA - Castelar)*, *Viviana Sorrivias (CRIBABB)*, *Susana Guaita (INTA - Balcarce)*, *Ing. M. Alejandra Miranda (UATBB)* por su aporte técnico a este trabajo de Tesis.

A Norma “Piky” Tedesco y Melisa Tonetto por las traducciones al idioma inglés de los trabajos presentados en revistas científicas y Congresos.

A Carmen Mateo por ser la persona con la cual comencé a transitar el camino de la investigación, por su ayuda impagable, sus palabras de aliento y su gran enseñanza.

A los Dres Luis Chel Guerrero y David Betancur Ancona por abrirme las puertas de su institución durante mi estancia de investigación en la *Universidad Autónoma de Yucatán (UADY - Mérida - México)*.

A los integrantes del *Laboratorio de Ciencia de Alimentos* de la *Facultad de Ingeniería Química (UADY)*, especialmente a Luis Jorge Corzo Ríos por su dedicación en las experiencias de reología y análisis de datos, a Mukthar Sandoval Peraza por enseñarme la determinación de fibra dietética y a Felipe, Marcos, Ruby, Daniel, Zaydi y Emanuel por acompañarme en mis horas de trabajo en el laboratorio y en las tardes de paseo.

A Gabriel Rosado Rubio y su familia (Gabi, Chave, Bety y mis hermanitos mexicanos - Nadia, Diana y Gabrielito -) por abrirme las puertas de su casa y por su compañía cuando estaba a miles de km de mi hogar.

A mis compañeras de oficina de la *Facultad de Ingeniería (UNCPBA)*, Karina, Belén y Mónica por su amistad, contención y por compartir sus conocimientos conmigo.

A mis compañeros y amigos del grupo de investigación: Darío, Vanesa y Estefa por incluirme como uno más de ustedes durante mis horas de trabajo en el CIDCA. A Lu porque en poco tiempo descubrí una persona con gran emprendimiento... por su disposición, por su compañía en algunos de mis viajes a Quilmes y las horas de trabajo en el reómetro... gracias!

A Francisco Speroni y Cristián Ortiz por su colaboración en la obtención del mucílago liofilizado, a Facundo Massolo y Luis Rodoni por su aporte en la determinación de la actividad antioxidante de los subproductos de chía, a Gabriel

Lorenzo, Natalia Ranalli y Lucas Marchetti por sus consejos y ayuda en el uso del reómetro.

A cada uno de los integrantes de la *Facultad de Ingeniería (UNCPBA)*, especialmente al *Departamento de Ingeniería Química* con quienes he compartido innumerables momentos durante el trascurso de estos años.

A mis amigos, especialmente *Dani, Andrea e Iván* por poder contar con ellos cuando se los necesita y hacerme aflorar más de una vez una sonrisa!

A *Sandra López (Sabha Devi Natha)* por ayudarme a descubrir en mí conocimientos que se llevan en el alma y por cruzarse en mi camino en la etapa final de mi Tesis. Gracias por transmitirme tranquilidad!

A mi familia, especialmente a mi *mamá* por ser el ejemplo pleno que con esfuerzo y dedicación se alcanzan los objetivos en la vida y por enseñarme a que nunca hay que bajar los brazos!

A *Nati*, mi hermana por orientarme a disfrutar el día a día, por sus consejos, por todo lo que hemos compartido durante esta etapa, por brindarme su espacio junto con *Vero, Gabi, Lu y Juli* en cada uno de mis viajes a La Plata.

A *Carlos*, la persona que le da luz a mis días... por su inmenso amor, su compañía, sus innumerables ayudas y sobre todo su gran paciencia! Por comprenderme y demostrarme que todos somos capaces de hacer las cosas.

A *María, Carlos, Ana, Marina, Anto, Ciro y Joaqui*, mi familia del corazón por la calidez de su hogar y por hacerme sentir como uno más de ellos!

RESUMEN

Teniendo en cuenta las tendencias actuales de los consumidores en cuanto a la ingesta de alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados (ω -9, ω -6 y ω -3), fibra dietética y antioxidantes con propiedades benéficas para la salud, para prevenir y/o controlar el padecimiento de enfermedades crónicas (diferentes tipos de cáncer, enfermedades coronarias, colesterol, diabetes, obesidad, constipación, apendicitis, entre otras), la chía (*Salvia hispanica* L.) es un cultivo con importantes propiedades nutritivas, cuyos componentes podrían contribuir en el desarrollo de alimentos funcionales.

En este sentido, la semilla de chía y sus productos derivados (aceite, harinas y mucílago) presentan altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, principalmente ácido linolénico ω -3 (aproximadamente 60%), antioxidantes (ácidos clorogénico y cafeico, miricetina, quercetina, kaempferol y flavonoles), vitaminas y minerales (riboflavina, niacina, tiamina, calcio, fósforo, potasio, cinc y cobre) y fibra dietética (alrededor de 50% de fibra dietética insoluble y 5% de fibra dietética soluble).

En función de las consideraciones realizadas, en este trabajo de Tesis se propuso desarrollar el estudio de la obtención y caracterización de la harina de chía (residuo de la extracción del aceite a partir de la semilla -prensado en frío y extracción sólido-líquido-), de las fracciones ricas en fibra y en proteínas y del mucílago, así como la aplicación de dichos subproductos en la elaboración de alimentos funcionales, con propiedades benéficas para la salud del consumidor.

En el **Capítulo I**, se presenta una introducción sobre las características de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.) y sus componentes. Asimismo, se realiza una breve reseña histórica de este cultivo y sus usos actuales. Por otra parte, se describen las propiedades funcionales de la fibra dietética y de las diferentes fuentes de hidrocoloides, con un enfoque especial en la funcionalidad de estos componentes en la estabilización de emulsiones O/W.

El **Capítulo II**, se refiere a la obtención y caracterización -físicoquímica y funcional- de las harinas residuales del proceso de extracción de aceite de semillas de chía (prensado en frío y extracción sólido-líquido), así como de las fracciones ricas en fibra y en proteínas obtenidas mediante la tamización de dichas harinas. Por otra parte, se caracteriza la harina residual del proceso de extracción sólido-líquido, obtenida a partir de semillas con previa separación del mucílago.

En el **Capítulo III**, se presenta la obtención del mucílago de chía mediante dos metodologías diferentes (Métodos I y II) así como su caracterización fisicoquímica y funcional. Además, se exhiben las imágenes microscópicas (SEM) de las semillas con y sin mucílago, del proceso de exudación del mucílago, del mucílago liofilizado y de diferentes dispersiones del mismo en agua. Por otra parte, se analiza el efecto de diferentes variables (concentración de mucílago, temperatura, pH, fuerza iónica y presencia de sacarosa) sobre las propiedades reológicas del mucílago de chía (índices de consistencia y de comportamiento de flujo, tixotropía y $\tan \delta$). Asimismo, se evalúa el efecto del agregado de una sal monovalente (NaCl) o divalente (CaCl_2) y del método de obtención del mucílago de chía (Métodos I y II) sobre las propiedades reológicas del mismo.

En el **Capítulo IV** se estudia el efecto de la incorporación de diferentes niveles de mucílago de chía sobre la estabilidad de emulsiones O/W en función del tiempo de almacenamiento refrigerado ($4\pm 1^\circ\text{C}$). Para ello, se realizó la caracterización óptica de las emulsiones, la determinación de la distribución y el tamaño de partículas y el comportamiento de flujo.

Finalmente, se exponen las **Conclusiones generales** obtenidas a partir de este trabajo de Tesis y en base a ellas, las **Perspectivas futuras**.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1. Introducción general.....	1
1. La chía.....	2
1.1. Antecedentes generales.....	2
1.2. Características de la chía.....	4
1.3. Composición química y aspectos nutricionales de la semilla de chía.....	7
1.3.1. Contenido de aceite y composición de ácidos grasos.....	8
1.3.2. Contenido de proteínas y composición de aminoácidos.....	9
1.3.3. Vitaminas y minerales.....	10
1.3.4. Fibra.....	11
1.3.5. Antioxidantes.....	12
1.4. Aspectos legislativos y usos actuales.....	13
2. Fibra dietética.....	14
2.1. Definición.....	14
2.2. Clasificación de la fibra dietética.....	16
2.2.1. Fibra dietética soluble (FDS).....	16
2.2.2. Fibra dietética insoluble (FDI).....	16
2.3. Propiedades funcionales de la fibra dietética.....	17
2.3.1. Degradación bacteriana.....	17
2.3.2. Capacidad de retención de agua (CRA).....	17
2.3.3. Capacidad de absorción de agua (CAb).....	18
2.3.4. Capacidad de adsorción de agua (CAAd).....	18
2.3.5. Capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO).....	19
2.3.6. Intercambio de cationes.....	19
3. Hidrocoloides.....	19
3.1. Factores que afectan el comportamiento de los hidrocoloides.....	21
3.2. Clasificación de los hidrocoloides.....	22
3.2.1. Hidrocoloides exudados de plantas.....	23

3.2.2. Hidrocoloides derivados del almidón y la celulosa.....	23
3.2.3. Hidrocoloides provenientes de semillas.....	24
3.2.4. Hidrocoloides provenientes de algas.....	24
3.2.5. Hidrocoloides de origen microbiano.....	24
3.2.6. Hidrocoloides de origen animal.....	25
3.3. Elección adecuada de hidrocoloides.....	25
4. Reología de alimentos.....	26
4.1. Clasificación de un material de acuerdo a su comportamiento reológico.....	27
4.2. Viscosidad de flujo estacionario.....	28
4.2.1. Fluidos pseudoplásticos o dilatantes.....	29
4.2.2. Plástico de Bingham.....	30
4.2.3. Plásticos generales (Herschel-Bulkley).....	30
4.3. Tixotropía.....	31
4.4. Viscoelasticidad.....	31
4.4.1. Pruebas dinámicas.....	32
5. Emulsiones.....	34
5.1. Formación de emulsiones.....	35
5.2. Estabilidad de las emulsiones.....	36
5.3. Agentes emulsificantes y estabilizantes.....	39
6. Objetivos.....	42
Objetivo general.....	42
Objetivos específicos.....	42
CAPÍTULO 2. Obtención y caracterización de harinas, fracciones ricas en fibra y fracciones ricas en proteínas de chía.....	43
INTRODUCCIÓN.....	44
MATERIALES Y MÉTODOS.....	48
1. Materia vegetal.....	48

2. Obtención de las harinas residuales.....	48
2.1. Extracción por prensado.....	48
2.2. Extracción con solvente.....	49
2.3. Harina sin mucílago.....	49
2.3.1. Extracción del mucílago de chía.....	50
3. Obtención de las fracciones ricas en fibra y de las fracciones ricas en proteínas.....	50
4. Almacenamiento de las harinas, fracciones ricas en fibra y fracciones ricas en proteínas.....	50
5. Caracterización de las harinas, fracciones ricas en fibra y fracciones ricas en proteínas.....	51
5.1. Propiedades fisicoquímicas.....	51
5.1.1. Distribución de tamaño de partículas.....	51
5.1.2. Determinación del contenido de humedad.....	51
5.1.3. Determinación del contenido de proteínas.....	51
5.1.4. Determinación de lípidos residuales.....	52
5.1.5. Determinación del contenido de cenizas.....	53
5.1.6. Determinación de fibra cruda.....	53
5.1.7. Esquema de análisis de Van Soest.....	54
5.1.8. Determinación del contenido de fibra dietética total (FDT), soluble (FDS) e insoluble (FDI).....	58
5.1.9. Minerales.....	59
5.1.10. Contenido de fósforo.....	60
5.1.11. Componentes antioxidantes.....	60
5.1.12. Actividad antioxidante.....	63
5.2. Propiedades funcionales.....	64
5.2.1. Capacidad de retención de agua (CRA).....	64
5.2.2. Capacidad de retención de aceite (CRA).....	65
5.2.3. Capacidad de absorción de agua (CAb).....	65
5.2.4. Capacidad de adsorción de agua (CAAd).....	66

5.2.5. Capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO).....	66
5.2.6. Actividad emulsificante (AE) y estabilidad de la emulsión (EE).....	67
5.2.7. Caracterización óptica de las emulsiones mediante un analizador vertical de barrido (QuickScan).....	67
6. Análisis estadístico.....	69
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	70
1. Caracterización comparativa de los subproductos de chía obtenidos después de la extracción del aceite por prensado y con solvente.....	70
1.1. Propiedades fisicoquímicas.....	70
1.1.1. Distribución de tamaño de partículas.....	70
1.1.2. Composición proximal.....	72
1.1.3. Fibra dietética total (FDT), soluble (FDS) e insoluble (FDI).....	74
1.1.4. Esquema de análisis de Van Soest.....	76
1.1.5. Minerales.....	78
1.1.6. Componentes antioxidantes.....	79
1.1.7. Actividad antioxidante.....	81
1.2. Propiedades funcionales.....	82
1.3. Estabilidad global de emulsiones formuladas con los subproductos de chía.....	85
CONCLUSIONES PARCIALES.....	88
DIFUSIÓN DE RESULTADOS.....	90
CAPÍTULO 3. Obtención, caracterización y propiedades funcionales del mucílago de chía.....	92
INTRODUCCIÓN.....	93
MATERIALES Y MÉTODOS.....	99
1. Materia vegetal.....	99
2. Obtención del mucílago de chía.....	99
2.1. Mucílago obtenido mediante Método I (Argentina) (MOA).....	99
2.2. Mucílago obtenido mediante Método II (México) (MOM).....	99

3. Observaciones microscópicas.....	100
4. Propiedades fisicoquímicas.....	100
4.1. Determinación del contenido de humedad.....	100
4.2. Composición proximal.....	100
5. Propiedades funcionales.....	101
5.1. Determinación de la solubilidad.....	101
5.2. Capacidad de retención de agua (CRA).....	101
5.3. Capacidad de retención de aceite (CRa).....	101
5.4. Capacidad de absorción de agua (CAb).....	101
5.5. Capacidad de adsorción de agua (CAAd).....	101
5.6. Capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO).....	102
5.7. Propiedades reológicas.....	102
5.7.1. Determinación del comportamiento de flujo.....	102
5.7.2. Determinación del comportamiento viscoelástico.....	103
5.7.3. Determinación del efecto de un conjunto de variables sobre el comportamiento de flujo.....	103
5.8. Determinación de la fuerza del gel.....	104
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	105
1. Caracterización del mucílago de chía.....	105
1.2. Composición proximal.....	105
1.3. Observaciones microscópicas.....	107
1.3.1. Morfología y caracterización anatómica de las núculas de chía.....	107
1.3.2. Exudación del mucílago.....	109
1.3.3. Caracterización de las núculas de chía después de la extracción del mucílago....	110
1.4. Propiedades funcionales.....	113
1.4.1. Solubilidad.....	113
1.4.2. CRA, CAAb, CAAd, CRa y CAMO.....	114
1.4.3. Propiedades reológicas.....	115

1.4.3.1. Comportamiento de flujo.....	115
1.4.3.2. Comportamiento viscoelástico.....	119
1.4.3.3. Efecto de un conjunto de variables sobre las propiedades reológicas del mucílago de chía.....	121
1.4.3.3.1. Efecto del método de obtención del mucílago (I y II) y del tipo de sal agregada (NaCl y CaCl ₂) sobre las propiedades reológicas de dispersiones de mucílago de chía.....	128
1.4.4. Fuerza del gel del mucílago de chía.....	133
CONCLUSIONES PARCIALES.....	135
DIFUSIÓN DE RESULTADOS.....	137
CAPÍTULO 4. Aplicación del mucílago de chía en emulsiones O/W.....	138
INTRODUCCIÓN.....	139
MATERIALES Y MÉTODOS.....	142
1. Muestras.....	142
2. Preparación de las dispersiones.....	142
3. Preparación de las emulsiones O/W.....	142
4. Caracterización de las emulsiones O/W.....	143
4.1. Caracterización óptica mediante un analizador vertical de barrido (QuickScan).....	143
4.2. Distribución y tamaño de partículas.....	143
4.3. Observaciones microscópicas.....	144
4.4. Ensayos reológicos.....	144
4.4.1. Comportamiento de flujo en estado estacionario.....	145
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	146
1. Estabilidad de las emulsiones.....	146
2. Análisis de la distribución y el tamaño de partículas.....	151
3. Observaciones microscópicas.....	159
4. Comportamiento de flujo en estado estacionario.....	162
CONCLUSIONES PARCIALES.....	166

DIFUSIÓN DE RESULTADOS.....	167
CONCLUSIONES GENERALES.....	168
PERSPECTIVAS FUTURAS.....	174
BIBLIOGRAFÍA.....	177

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Tabla 1.1. Características de la localización de los sitios de cultivo de la chía.....	6
Tabla 1.2. Energía y composición centesimal correspondiente a diversos granos.....	8
Tabla 1.3. Composición proximal correspondiente a diversos cultivos (% b.s.).....	8
Tabla 1.4. Composición acídica de diversas fuentes de ácidos grasos ricos en ω -3.....	9
Tabla 1.5. Contenido de aminoácidos correspondientes a hidrolizados de proteínas de semillas de chía.....	10
Tabla 1.6. Contenido de vitaminas y minerales presentes en semillas de chía y en harina residual desgrasada.....	11
Tabla 1.7. Concentración de antioxidantes fenólicos presentes en extractos de semilla de chía.....	12
Tabla 1.8. Composición de diversos tipos de harina de chía autorizadas en el Código Alimentario Argentino.....	13
Tabla 1.9. Clasificación de los principales hidrocoloides de acuerdo a su origen.....	23
Tabla 1.10. Principales dispositivos de homogeneización y sus características.....	36

CAPÍTULO 2

Tabla 2.1. Distribución de los componentes en la materia seca.....	44
Tabla 2.2. Componentes de la materia seca y disponibilidad nutritiva.....	46
Tabla 2.3. Condiciones operativas empleadas en la determinación de tocoferoles por cromatografía líquida de alta resolución.....	61
Tabla 2.4. Relación masa/carga (m/z) para la detección de los compuestos polifenólicos presentes en harina de chía.....	63
Tabla 2.5. Distribución de tamaño de partículas de las harinas de chía.....	71
Tabla 2.6. Distribución de tamaño de partículas de las fracciones ricas en fibra y en proteínas de chía.....	71
Tabla 2.7. Composición proximal de las harinas de chía (<i>Salvia hispanica</i> L.).....	73
Tabla 2.8. Composición proximal de las fracciones obtenidas a partir del tamizado de harinas de extracción de chía (<i>Salvia hispanica</i> L.).....	74
Tabla 2.9. Contenido de fibra dietética total (FDT), insoluble (FDI) y soluble (FDS) en los subproductos de chía (% b.s.).....	75

Tabla 2.10. Composición de los subproductos de chía analizados según el método de Van Soest, expresados en % (b.s.).....	77
Tabla 2.11. Contenido de minerales (mg/kg) de harinas, fracciones ricas en fibra y fracciones ricas en proteínas de chía (<i>Salvia hispanica</i> L.) (b.s.).....	79
Tabla 2.12. Actividad antioxidante de los subproductos de chía de obtenidos mediante ambos métodos de extracción de aceite, medida como decoloración del catión ABTS ⁺	82
Tabla 2.13. Propiedades funcionales de los subproductos de chía (<i>Salvia hispanica</i> L.)	83

CAPÍTULO 3

Tabla 3.1. Bloques del diseño factorial fraccionado.....	103
Tabla 3.2. Niveles estudiados de las variables independientes.....	104
Tabla 3.3. Composición proximal (% b.s.) del mucílago de chía obtenido mediante distintas metodologías.....	107
Tabla 3.4. Propiedades funcionales del mucílago de chía (g/g).....	115
Tabla 3.5. Parámetros de la Ley de la Potencia para dispersiones de mucílago de chía a diferentes concentraciones.....	118
Tabla 3.6. Diseño experimental, parámetros de la Ley de la Potencia -curvas de ida y de regreso- y tixotropía de diferentes dispersiones de mucílago de chía.....	122
Tabla 3.7. Parámetros de la Ley de la Potencia -curvas de ida y de regreso- y tixotropía de dispersiones de mucílago de chía con el agregado de 0,05 M de sal monovalente o divalente.....	129
Tabla 3.8. Valores de la $\tan \delta$ (G''/G') correspondiente a las diferentes dispersiones de mucílago de chía, de acuerdo al diseño factorial completo.....	132

CAPÍTULO 4

Tabla 4.1. Diámetros promedio de Brouker (D[4,3]) correspondientes a emulsiones O/W (ϕ_m 0,20) formuladas con 0,25 % de mucílago en función del tiempo de almacenamiento refrigerado.....	158
Tabla 4.2. Parámetros de la Ley de la Potencia de emulsiones O/W (ϕ_m 0,20) con distintas concentraciones de MOM ₇ y MOA ₁₉ correspondientes a los 6 días de almacenamiento refrigerado.....	165

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1. Plántulas (izquierda) e Inflorescencias de <i>Salvia hispanica</i> L. (centro y derecha).....	5
Figura 1.2. Semillas de chía (<i>Salvia hispánica</i> L.) (4x).....	5
Figura 1.3. Reograma característico de fluidos newtonianos y no newtonianos en condiciones de flujo.....	29
Figura 1.4. Reograma característico de fluidos estructurales.....	30
Figura 1.5. Mecanismos de desestabilización de una emulsión.....	39

CAPÍTULO 2

Figura 2.1. Esquema de la prensa de tornillo.....	49
Figura 2.2. Esquema del método de análisis de Van Soest.....	55
Figura 2.3. Esquema del analizador vertical de barrido (QuickScan).....	68
Figura 2.4. Contenido de tocoferoles del aceite residual de la harina y fracciones ricas en fibra y en proteínas de chía obtenidas por prensado.....	80
Figura 2.5. Contenido de antioxidantes fenólicos presentes en harinas y fracciones ricas en fibra de chía.....	81
Figura 2.6. Cinéticas de desestabilización de emulsiones O/W (50:50 p/p) formuladas con los diferentes subproductos de chía (<i>Salvia hispanica</i> L.).....	86

CAPÍTULO 3

Figura 3.1. Diagrama de polímeros en solución.....	94
Figura 3.2. Fenómenos generales de la gelificación.....	95
Figura 3.3. Estructura del mucílago de chía.....	97
Figura 3.4. Micrografías de núculas de <i>Salvia hispanica</i> L. obtenidas por SEM.....	108
Figura 3.5. Micrografías de núculas de <i>Salvia hispanica</i> L.....	109
Figura 3.6. Micrografías que ilustran el fenómeno de mixocarpia de núculas de chía (<i>Salvia hispanica</i> L.) en función del tiempo de hidratación.....	110
Figura 3.7. Micrografías obtenidas por SEM correspondientes a núculas de <i>Salvia hispanica</i> L. después de la extracción del mucílago.....	111
Figura 3.8. Micrografías obtenidas por SEM del mucílago de <i>Salvia hispanica</i> L.....	112

Figura 3.9. Micrografías obtenidas por SEM de diferentes dispersiones de mucílago en agua.....	112
Figura 3.10. Solubilidad (%) de dispersiones de mucílago de chía en función de la temperatura y pH.....	113
Figura 3.11. Efecto de la velocidad de deformación sobre la viscosidad aparente a 25°C de dispersiones de mucílago de chía.....	116
Figura 3.12. Curvas de flujo de dispersiones de mucílago de chía con diferentes concentraciones (% p/v) a 25°C.....	119
Figura 3.13. Barrido de frecuencias para las dispersiones de mucílago de chía con diferentes concentraciones (% p/v).....	120
Figura 3.14. Diagrama de Pareto correspondiente al índice de consistencia (k) de la curva de flujo de ida.....	123
Figura 3.15. Diagrama de Pareto correspondiente al índice de comportamiento de flujo (n) de la curva de flujo de ida.....	125
Figura 3.16. Diagrama de Pareto correspondiente al índice de consistencia (k) de la curva de flujo de regreso.....	126
Figura 3.17. Diagrama de Pareto correspondiente al índice de comportamiento de flujo (n) de la curva de flujo de regreso.....	126
Figura 3.18. Diagrama de Pareto correspondiente a la tixotropía.....	127
Figura 3.19. Diagrama de Pareto correspondiente a la $\tan \delta$	128
Figura 3.20. Interacción Método de obtención de mucílago x tipo de sal para el índice de consistencia (k) correspondientes a la curva de flujo de ida.....	130
Figura 3.21. Interacción Método de obtención de mucílago x tipo de sal para el índice de consistencia (k) correspondientes a la curva de flujo de regreso.....	130
Figura 3.22. Interacción mucílago x sal para n correspondiente a la curva de flujo de regreso.....	131
Figura 3.23. Interacción mucílago x sal para tixotropía.....	131
Figura 3.24. Interacción mucílago x sal para $\tan \delta$	132
Figura 3.25. Comportamiento de carga frente al desplazamiento de los geles de mucílagos de chía (MOA ₁₉ y MOM ₇).....	133

CAPÍTULO 4

Figura 4.1. Esquema de los distintos mecanismos de floculación.....	141
Figura 4.2. Analizador óptico vertical de barrido QuickScan.....	143
Figura 4.3. Analizador de tamaño de partículas Malver Mastersizer.....	144

Figura 4.4. Perfiles diferenciales correspondientes a una emulsión O/W (Φ_m 0,20) formulada con el agregado de 0,25% de mucílago de chíá (MOA ₁₁).....	146
Figura 4.5. Perfiles diferenciales correspondientes a una emulsión O/W (Φ_m 0,20) formulada con el agregado de 0,75% de mucílago de chíá (MOA ₁₁).....	147
Figura 4.6. Cinética de desestabilización de emulsiones O/W (Φ_m 0,20), con diferentes concentraciones de mucílago de chíá, correspondientes a la Zona I (10-20 mm).....	149
Figura 4.7. Cinética de desestabilización de emulsiones O/W (Φ_m 0,20), con diferentes concentraciones de mucílago de chíá, correspondientes a la Zona II (45-55 mm).....	150
Figura 4.8. Emulsiones O/W (Φ_m 0,20) después de 7 días de almacenamiento refrigerado.....	151
Figura 4.9. Distribución de tamaño de partículas en volumen en función del almacenamiento (días) a $4\pm 1^\circ\text{C}$ de emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de MOM ₇	153
Figura 4.10. Distribución de tamaño de partículas en volumen en función del almacenamiento (días) a $4\pm 1^\circ\text{C}$ de emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de MOM ₁₁	154
Figura 4.11. Distribución de tamaño de partículas en volumen en función del almacenamiento (días) a $4\pm 1^\circ\text{C}$ de emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de MOM ₁₉	155
Figura 4.12. Distribución de tamaño de partículas en superficie correspondientes a emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de mucílago de chíá (t = 0 d).....	156
Figura 4.13. Distribución de tamaño de partículas en superficie correspondientes a emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de mucílago de chíá (t = 120 d).....	157
Figura 4.14. Micrografías de emulsiones O/W con diferentes concentraciones de MOM ₇ (t = 0 d).....	159
Figura 4.15. Micrografías de emulsiones O/W con diferentes concentraciones de MOA ₁₁ (t = 0 d).....	160
Figura 4.16. Micrografías de emulsiones O/W con diferentes concentraciones de MOA ₁₉ (t = 0 d).....	160
Figura 4.17. Micrografías de emulsiones O/W con 0,25% de mucílago de chíá (t = 120 d).....	161
Figura 4.18. Efecto de la concentración de mucílago de chíá (MOM ₇) y del tiempo de almacenamiento (días) a $4\pm 1^\circ\text{C}$ sobre la viscosidad de emulsiones O/W.....	162
Figura 4.19. Efecto de la concentración de mucílago de chíá (MOA ₁₉) y del tiempo de almacenamiento (días) a $4\pm 1^\circ\text{C}$ sobre la viscosidad de emulsiones O/W.....	163

LISTADO DE ABREVIATURAS

ω -3	ácidos grasos omega-3
ω -6	ácidos grasos omega-6
τ	Esfuerzo de deformación
$\dot{\gamma}$	Velocidad de deformación
σ_i	Tensión interfacial
η	Viscosidad
Φ	Fracción volumétrica de fase dispersa
%BS	Porcentaje de Back-scattering
BS ₀	Back-scattering inicial
G'	Módulo de almacenamiento o elástico
G''	Módulo de pérdida o viscoso
T	Temperatura
t	tiempo
tan δ	tangente del ángulo de fase
n	Índice de comportamiento de flujo
k	Índice de consistencia
-s	extracción con solvente
-p	extracción por prensado
AE	Actividad emulsificante
ANOVA	Análisis de varianza
AOCS	American Oil Chemists' Society
b.s.	base seca
CAA	Código Alimentario Argentino
CAb	Capacidad de absorción de agua
CAd	Capacidad de adsorción de agua
CAMO	Capacidad de absorción de moléculas orgánicas
CRA	Capacidad de retención de agua
CRa	Capacidad de retención de aceite
D[3,2]	Diámetro promedio de Sauter en superficie
D[4,3]	Diámetro promedio de De Brouker en volumen
EE	Estabilidad emulsificante
ELN	Extracto libre de nitrógeno
FAO	Food and Agriculture Organization

FC	Fibra cruda
FD	Fibra dietética
FDA	Fibra detergente ácido
FDI	Fibra dietética insoluble
FDN	Fibra detergente neutro
FDS	Fibra dietética soluble
FDT	Fibra dietética total
FG	Fuerza del gel
FRF	Fracción rica en fibra
FRP	Fracción rica en proteínas
HLB	Balance hidrofílico-lipofílico
Hs	Harina de extracción con solvente
Hsm	Harina sin mucílago
Hp	Harina de extracción por prensado
HPLC	Cromatografía líquida de alta presión (High Performance Liquid Chromatography)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
MOA	Mucílago de chía obtenido mediante Método I (Argentina)
MOM	Mucílago de chía obtenido mediante Método I (México)
O/W	Emulsión aceite en agua
PC	Pared celular
R ²	Coeficiente de correlación
SEM	Microscopía electrónica de barrido (Scanning Electron Microscopy)
TEAC	Actividad antioxidante equivalente a Trolox

CAPÍTULO 1

Introducción general

1. La chía

1.1. Antecedentes generales

La chía (*Salvia hispanica* L.) es un cultivo autóctono de Mesoamérica con una extensa historia agrícola. Si bien ninguna fuente afirma de manera categórica que la chía sea originaria de un lugar específico, existe una alta probabilidad relacionada con los territorios que actualmente ocupan la República Mexicana y Guatemala (Tecante 2010, comunicación personal).

Existen evidencias que demuestran que la semilla de chía fue utilizada como alimento hacia el año 3500 a.C., siendo cultivada en el Valle de México entre los años 2600 y 900 a.C. por las civilizaciones teotihuacanas y toltecas. Asimismo, fue uno de los principales componentes de la dieta de los Aztecas junto con la quinoa, el amaranto, el maíz y alguna variedad de porotos (Rodríguez Vallejo, 1992). La importancia de estos cinco cultivos en la dieta azteca está bien fundamentada en el *Codex Florentino* escrito en tiempos de la conquista de América entre 1548 y 1585 por Fray Bernardino de Sahagún, titulado *Historia general de las cosas de Nueva España*, en el cual se describen algunos aspectos relacionados con la producción, comercialización y usos de la chía. La chía era utilizada como materia prima para la elaboración de medicinas, alimentos y pinturas, así como en ofrendas a los dioses durante las ceremonias religiosas (Sahagún, 1579). Las semillas eran tostadas y se mezclaban con agua para consumirse como gachas (masa blanda medio líquida) o bien se mezclaban con harina para hornear. El aceite se usaba en pinturas o como emoliente y el mucílago como una pasta (ungüento extendido en lienzo) aplicado en heridas o para remover la suciedad del ojo (Ortiz de Montellano, 1978). Tenochtitlán, la capital del Imperio Azteca, recibía entre 5000 y 15000 toneladas de chía anualmente como tributo de los pueblos conquistados (Codex Mendoza, 1542). Con respecto a los Mayas, no existe evidencia que la chía fuera cultivada en el apogeo de su civilización (800 a.C. a 900 d.C), aunque la existencia de un intenso comercio entre los centros Teotihuacanos y Mayas durante varios siglos hacen suponer que también era conocida por este pueblo precolombino, el cual ocupó una gran parte de México, Guatemala, Honduras y El Salvador (Ayerza y Coates, 2005).

Cuando los conquistadores invadieron América, las tradiciones de los nativos fueron suprimidas y la mayor parte de su agricultura intensiva y de su sistema de comercialización destruidos hasta casi su extinción. Muchos cultivos que habían

tenido la mayor preponderancia en las dietas precolombinas fueron prohibidos por los españoles debido a su estrecha asociación con los cultos religiosos y reemplazados por especies exóticas (trigo, cebada, arroz, entre otras) demandadas por los conquistadores (Soustelle, 1955; Engel, 1987). Así, de los cinco cultivos básicos de la dieta azteca, la chía y el amaranto perdieron sus lugares privilegiados y casi desaparecieron, siendo los efectos de la persecución española mayores sobre la chía.

Sin embargo, esta especie logró sobrevivir a la persecución de los conquistadores españoles debido a la conservación de algunas tradiciones precolombinas por parte de pequeños grupos de descendientes de las naciones Nahua. Así, estos pueblos lograron vencer a los conquistadores y las presiones de la cultura impuesta permaneciendo aislados en el sudoeste de México y las zonas montañosas de Guatemala. Actualmente, los descendientes de los Nahua y de los Mayas utilizan este grano ancestral en una popular bebida denominada “agua fresca de chía”, aunque su preparación difiere de la realizada por los antiguos Mexicanos la cual era consumida por razones étnicas o religiosas (Ayerza y Coates, 2005).

Durante muchos años las semillas de chía fueron comercializadas solamente en los mercados mexicanos. En 1965 la chía comenzó a estar disponible en comercios dietéticos del sudeste de California y Arizona (Hicks, 1966) y hacia finales de los años 1980s se comenzó a comercializar como un alimento para mascotas (Chia Pets), incrementándose la demanda de las semillas y posibilitando la venta mayoritaria de su producción.

En 1991 se inició el Proyecto Regional del Noroeste de Argentina, con el fin de identificar y llevar a producción comercial nuevos cultivos industriales, los que pudieran ayudar a diversificar la producción agrícola e incrementar las ganancias de los agricultores de dicha región. Desde su comienzo, organizaciones privadas y gubernamentales de los Estados Unidos y de Argentina han trabajado en este proyecto en forma cooperativa. Durante el curso del mismo, la chía fue identificada como la especie más promisoría, siendo cultivada comercialmente (Ayerza y Coates, 2005).

Paralelamente, los resultados de las investigaciones científicas acerca de los efectos negativos de las grasas saturadas, los ácidos grasos trans y el desbalance entre los ácidos grasos ω -6 y ω -3 en la dieta occidental, así como los beneficios del

consumo de ácidos grasos ω -3 para prevenir la ocurrencia de enfermedades cardiovasculares, depresión, cáncer y otras patologías comenzaron a ser cada vez de mayor interés. Asimismo, la información sobre la chía -fuente natural de este tipo de ácidos grasos, antioxidantes y fibra dietética- acrecentó las expectativas en torno a su cultivo. En virtud de ello, su uso como alimento comenzó a expandirse fuera de México (Ayerza y Coates, 2005). Actualmente, su cultivo se ha extendido a otras áreas como Australia y el Sudeste de Asia (Jamboonsri y col., 2012).

En base a lo expresado anteriormente, la ciencia actual permite explicar por qué las antiguas civilizaciones consideraban a la chía un componente básico de su dieta. La composición química y el valor nutricional asociado le confieren un gran potencial para incorporarla en los mercados alimenticios e industriales. A su vez, esta información ha brindado una excelente oportunidad para desarrollar una industria agrícola capaz de ofrecer al mundo un “cultivo nuevo y antiguo a la vez” (Ayerza y Coates, 2005).

1.2. Características de la chía

El género *Salvia* incluye unas 900 especies y se distribuye extensamente en varias regiones del mundo, tales como Sudáfrica, América Central, América del Norte, Sudamérica y Asia Sur-Oriental. Las plantas pueden ser herbáceas o leñosas y sus flores muy atractivas de variados colores.

S. hispanica es una planta herbácea anual de 1 a 1,5 m de altura, con tallos ramificados de sección cuadrangular, con pubescencias cortas y blancas. Las hojas miden 8-10 cm de longitud y 4-6 cm de ancho, se encuentran opuestas con bordes aserrados y de color verde intenso. Las flores son hermafroditas de un tono entre violeta y celeste o blancas, pedunculadas y reunidas en grupos de seis o más, en verticilos sobre el raquis de la inflorescencia (**Figura 1.1**).

El fruto, al igual que otras especies de la familia *Lamiaceae*, es típicamente un esquizocarpo consistente en lóculos indehiscentes que se separan para formar 4 mericarpios parciales denominados núculas, comúnmente conocidos como “semillas”, los cuales son monospermos, ovales, suaves y brillantes, de color pardo grisáceo con manchas irregulares marrones en su mayoría y algunos blancos y miden entre 1,5 a 2,0 mm de longitud (Ayerza y Coates, 2005) (**Figura 1.2**).



Figura 1.1. Plántulas (izquierda) e Inflorescencias de *Salvia hispanica* L. (centro y derecha)



Figura 1.2. Semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) (4x) (Guiotto y col., 2011)

S. hispanica se encuentra naturalmente en áreas de bosques de encino o de pinoencino y se distribuye en ambientes semicálidos y templados del Eje Neovolcánico Transversal de las Sierras Madre Occidental, del Sur y de Chiapas, en altitudes que oscilan entre 1400 y 2200 m. Históricamente, esta especie ha sido cultivada tanto en ambientes tropicales como subtropicales, en áreas libres de heladas y en regiones con heladas anuales, desde el nivel del mar hasta los 2500 m. La **Tabla 1.1** muestra las características de algunas localidades donde la chía ha sido y es aún cultivada.

Tabla 1.1. Características de la localización de los sitios de cultivo de la chía (Ayerza y Coates, 2005)

País	Localidad	Latitud	Elevación (msnm)	T° anual/estación ² (°C)	Precipitaciones anuales/estación (mm)	Ciclo de cultivo (días)
Argentina	El Carril	25° 05' S	1170	17,3/16,6	560/390	150
Bolivia	Santa Cruz	17° 43' S	437	24,6/22,8	1141/566	150
Colombia ¹	La Unión	4° 32' N	920	24/23,8	1118/341	90
México ¹	México	19° 00' N	2259	15,5/16,3	579/470	150
México	Acatic	20° 55' N	1680	18,5/-	700/553	150
Perú ¹	Ica	14° 05' S	396	21,1/20,4	3/1	150

¹ Discontinuo

² Promedio de la estación de cultivo de la chía

Actualmente, a nivel comercial la chía se cultiva en Argentina, México, Bolivia, Guatemala, Ecuador y Australia. En el año 2008, "The Ord Valley", en el extremo noroccidental de Australia, fue el principal productor de semillas de chía del mundo, con un área sembrada de 750 ha y una perspectiva de cultivo para 2009 de 1700 ha, lo que representa dos tercios de su producción mundial (Matt, 2008).

En países donde las condiciones climáticas no permiten la realización del cultivo a campo (Gran Bretaña), las semillas se siembran en un invernadero durante los meses de marzo y abril. La germinación usualmente tarda un lapso de dos semanas y las plántulas se trasplantan cuando tienen la altura suficiente para ser colocadas en macetas individuales y luego en tierra firme desde finales de la primavera hasta principios del verano (Plants for a Future, 2002).

Debido a que es una planta sensible al fotoperiodo (longitud del día), la estación de crecimiento depende de la latitud a la cual se realice el cultivo. Por ejemplo, un cultivar sembrado en La Unión (Valle del Cauca, Colombia) presenta un ciclo de cultivo de 90 días, mientras que la duración del ciclo del mismo cultivar sembrado en El Carril (Salta, Argentina) es de 150 días. A mayores latitudes, como Choele-Choel (39° 11' S, Argentina) y Tucson (32° 14' N, Estados Unidos) la chía no produce semillas ya que la planta muere por la ocurrencia de heladas antes del fin de la floración (Coates y Ayerza 1996, 1997, 1998). En Argentina es un cultivo estival, el cual se circunscribe a las provincias del noroeste -NOA- (Jujuy, Salta, Tucumán, Catamarca y Santiago del Estero).

El rendimiento promedio de esta especie en plantaciones comerciales es de alrededor de 500 - 600 kg/ha, aunque se han logrado obtener hasta 1260 kg/ha (Coates y Ayerza, 1998). En parcelas experimentales de la provincia de Salta, con la implementación de riego y fertilización nitrogenada, se han registrado rendimientos de 2500 kg/ha.

La fecha de siembra ha influenciado la producción en el noroeste argentino, abordando la misma desde mediados de enero hasta principios de marzo, siendo óptima la primera quincena de febrero. La temperatura, la luz, el tipo de suelo y la nutrición de las plantas afectan tanto la cantidad como la calidad del aceite contenido en la semilla de chía. Así, se ha registrado una correlación negativa entre las temperaturas medias y el contenido del ácido graso α -linolénico de la semilla de chía formada a principios de abril y a fines de mayo (Ayerza, 1995). Es probable que las altas temperaturas reduzcan la formación del ácido graso α -linolénico, tal como ocurre en otras oleaginosas según lo informado por Howell y Collins (1957). Además, la etapa de desarrollo de la planta puede contribuir a diferencias en la composición química de la semilla (Peiretti y Gai, 2009).

1.3. Composición química y aspectos nutricionales de la semilla de chía

La **Tabla 1.2** muestra la composición de las semillas de chía y la correspondiente a los cinco cereales de mayor importancia a nivel mundial (arroz, cebada, avena, trigo, maíz). En la misma puede observarse que el contenido de proteínas, lípidos, fibra y energía de la semilla de chía es mayor que los presentes en los demás cultivos. Además, si bien la chía es conocida principalmente como una importante fuente de ácidos grasos ω -3, también contiene otros compuestos de importancia a nivel nutricional. Por otra parte, en la **Tabla 1.3** se presenta la composición química de la semilla de chía comparada con cultivos que actualmente están siendo revalorizados. Puede observarse que la semilla de chía presenta un contenido de proteínas similar al de sésamo y un tenor de lípidos semejante al de lino y cártamo (Elleuch y col., 2007; Bozan y Timelli, 2008; Ixtaina, 2010). Por otra parte, cabe resaltar que la chía presenta un nivel de ambos componentes superior a los de quinoa y amaranto (Ruales y Nair, 1992; Loubes y col., 2012).

Tabla 1.2. Energía y composición centesimal correspondiente a diversos granos

Grano	Energía kcal/100g	Proteínas	Lípidos	%		
				Carbohidratos	Fibra	Cenizas
Arroz ¹	358	6,5	0,5	79,1	2,8	0,5
Cebada ¹	354	12,5	2,3	73,5	17,3	2,3
Avena ¹	389	16,9	6,9	66,3	10,6	1,7
Trigo ¹	339	13,7	2,5	71,1	12,2	1,8
Maíz ¹	365	9,4	4,7	74,3	3,3	1,2
Chía ^{2,3}	550	19-23	30-35	9-41	18-30	4-6

¹United States Department of Agriculture (2002); ²Ayerza y Coates (2004); ³Diario oficial de la Unión Europea (2009)

Tabla 1.3. Composición proximal correspondiente a diversos cultivos (% b.s.)

Grano	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos + fibra	Cenizas
Quinoa ¹	14,1	9,7	72,5	3,4
Amaranto ²	16,2	7,9	71,5	3,3
Sésamo ³	25,8	52,2	22,7	4,7
Cártamo ⁴	12,6	27,5	51,9	1,9
Lino ⁴	17,9	33,6	38,1	3,9
Chía ⁵	29	32	34	5

¹Ruales y Nair (1992); ²Loubes y col. (2012); ³Elleuch y col. (2007); ⁴Bozan y Timelli (2008); ⁵Ixtaina (2010)

1.3.1. Contenido de aceite y composición de ácidos grasos

El contenido de aceite presente en la semilla de chía es de alrededor de 33%, el cual presenta el mayor porcentaje de ácido α -linolénico conocido hasta el momento (62 - 64%) (Ayerza, 1995) así como el tenor más elevado (82,3%) de ácidos grasos esenciales (ácidos α -linolénico y linoleico), seguido por el cártamo, el lino y el girasol con 75, 72 y 67%, respectivamente. Los aceites de colza y de oliva presentan un alto nivel de ácidos grasos insaturados (67 y 82%, respectivamente) debido al gran contenido de ácido oleico aunque con un bajo tenor de ácidos grasos poliinsaturados (27 y 11%, respectivamente).

Actualmente, se disponen en el mercado de cuatro fuentes de ácidos grasos ω -3. Las dos más importantes en cuanto a su volumen de producción son las asociadas al pez "menhaden" (*Brevoortia tyrannus*) y la semilla de lino, mientras que las restantes están constituidas por la semilla de chía y las algas marinas. La **Tabla 1.4** muestra la composición ácida de dichas fuentes. De estas cuatro materias primas, el lino (*Linum usitatissimum* L.) y la chía son los cultivos agrícolas

que presentan la mayor concentración de ácido α -linolénico (Ayerza, 1995; Oomah y Kenasehuk, 1995; Coates y Ayerza, 1996). Las otras dos fuentes son de origen marino y contienen principalmente DHA y EPA (ácidos docosahexanoico y eicosapentanoico, respectivamente), ambos ácidos grasos ω -3 de cadena larga.

Tabla 1.4. Composición acídica de diversas fuentes de ácidos grasos ricos en ω -3 (Adaptada de Ayerza y Coates, 2005)

Aceite	Ácido graso (% del total de ácidos grasos)										
	14:0	16:0	16:1 ¹	18:0	18:1 ²	18:2 ³	18:3 ⁴	20:4 ³	20:5 ⁴	22:5 ⁴	22:6 ⁴
Pez “Menhaden”	8,0	15,2	10,5	7,8	14,5	2,1	1,5	1,2	13,2	4,9	8,6
Algas	4,2	14,5	27,6	0,8	5,4	2,3	1,7	4,7	27,7	-	-
Chía	-	6,9	-	2,8	6,6	19,0	63,8	-	-	-	-
Lino	-	5,5	-	1,4	19,5	15,0	57,5	-	-	-	-

14:0: ácido mirístico; 16:0: ácido palmítico; 16:1: ácido palmitoleico; 18:0: ácido esteárico; 18:1: ácido oleico; 18:2: ácido linoleico; 18:3: ácido α -linolénico; 20:4: araquidónico; 20:5: ácido eicosapentanoico (EPA); 22:5: docosapentanoico (DPA); 22:6: ácido docosahexanoico (DHA); ¹ ω -7; ² ω -9; ³ ω -6; ⁴ ω -3

Cabe señalar que los aceites de chía, lino y algas marinas -especies vegetales- se diferencian del obtenido a partir del pez “menhaden”, especialmente en que este último contiene cantidades apreciables de colesterol (521 mg/100g) (United States Department of Agriculture, 2002).

Los efectos benéficos del pescado han recibido mucha atención, dado que la evidencia científica muestra que los ácidos grasos EPA y DHA pueden incidir en la reducción del riesgo de ocurrencia de enfermedades cardiovasculares (Song y col., 2000). No obstante, es necesario considerar que dichos ácidos grasos se oxidan más rápidamente que los ácidos linoleico, α -linolénico y araquidónico, originando productos de oxidación con implicancias desde el punto de vista toxicológico (Freese y Mutanen, 1997).

Por otra parte, en lo que respecta al enriquecimiento de alimentos con ácido graso ω -3, la chía presenta la ventaja de no aportar el característico “olor a pescado” -lo que la diferencia de las otras fuentes previamente mencionadas- y a su vez, presenta un menor contenido de sodio (Ayerza y Coates, 2005).

1.3.2. Contenido de proteínas y composición de aminoácidos

La chía posee un contenido de proteínas que oscila entre 19 y 23% (ver **Tabla 1.2**), el cual es mayor que el asociado a los cereales tradicionales tales como

trigo, maíz, arroz, avena y cebada (Ayerza y Coates, 2005), presentando como ventaja adicional el no contener gluten, motivo por el cual ha sido aprobada por la Asociación Celíaca Argentina como apta para su uso en pacientes celíacos.

Los aminoácidos de las proteínas de la chía se muestran en la **Tabla 1.5**. Como puede observarse, las proteínas de chía presentan un adecuado perfil de aminoácidos esenciales. Entre ellos, puede destacarse el contenido de lisina, así como los tenores de metionina y cistina los cuales son mayores que los presentes en las proteínas de otras semillas oleaginosas (Ting y col., 1990). Se ha demostrado que la chía puede incorporarse a la dieta humana junto con otros granos a fin de producir un balance de proteínas más equilibrado (Ayerza y Coates, 2011).

Tabla 1.5. Contenido de aminoácidos correspondientes a hidrolizados de proteínas de semillas de chía (Ayerza y Coates, 2005)

Aminoácido	g/16 g N	Aminoácido	g/16 g N
Ácido aspártico	7,64	Isoleucina	3,21
Treonina	3,43	Leucina	5,89
Serina	4,86	Triptófano	-
Ácido glutámico	12,40	Tirosina	2,75
Glicina	4,22	Fenilalanina	4,73
Alanina	4,31	Lisina	4,44
Valina	5,10	Histidina	2,57
Cistina	1,47	Arginina	8,90
Metionina	0,36	Prolina	4,40
Total			80,64

1.3.3. Vitaminas y minerales

La semilla de chía es una buena fuente de vitaminas B (**Tabla 1.6**). Investigaciones recientes muestran que el bajo nivel de vitamina B en sangre está asociado al aumento del riesgo de sufrir una enfermedad cardiocoronaria fatal y apoplejía (American Heart Association, 1999). La comparación del contenido de vitaminas de la chía con respecto al de otros cultivos tradicionales muestra que el nivel de niacina (vitamina B3) es mayor que el presente en maíz, soja, arroz y cártamo, mientras que su tenor de vitamina A es inferior al de maíz. Las concentraciones de tiamina (vitamina B1) y de riboflavina (vitamina B2) son similares a las del arroz y el maíz, aunque menores que las de soja y cártamo (Ayerza y Coates, 2005).

Tabla 1.6. Contenido de vitaminas y minerales presentes en semillas de chía y en harina residual desgrasada

Nutriente	Semilla de chía	
	Entera ¹	Harina desgrasada ²
Macroelementos (mg/100g)		
Calcio	714	1180
Potasio	700	1100
Magnesio	390	500
Fósforo	1067	1170
Microelementos (mg/100g)		
Aluminio	2	4,3
Boro	-	1,4
Cobre	0,2	2,6
Hierro	16,4	20,4
Manganeso	2,3	6,8
Molibdeno	0,2	-
Sodio	-	2,9
Zinc	3,7	8,5
Vitaminas (mg/100g)		
Niacina	6,13	11,30
Tiamina	0,18	0,79
Riboflavina	0,04	0,46
Vitamina A	44 IU	-

¹Instituto Nacional de Alimentos (2003); ² Brown (2003)

Con respecto al contenido de minerales, las semillas de chía son una excelente fuente de calcio, fósforo, magnesio, potasio hierro, zinc y cobre (**Tabla 1.6**). Además, contienen entre 13-354, 2-12 y 1,6-9 veces más calcio, fósforo y potasio, respectivamente que el trigo, arroz, cebada, avena y maíz. Asimismo, en comparación con la leche, las semillas de chía presentan un contenido 6 veces mayor de calcio, el doble de fósforo y 4,6 veces más de potasio (United States Department of Agriculture (USDA), 2002; Instituto Nacional de Alimentos, 2003).

Los niveles de hierro en las semillas de chía y en la harina desgrasada son muy elevados, presentando valores poco frecuentes en semillas (Bushway y col., 1981).

1.3.4. Fibra

El análisis comparativo del contenido de fibra de las semillas de chía (18-30%) respecto al de otros cereales, permite apreciar que la chía tiene 1,6; 2,3;

2,6; 8,3 y 9,8 veces más contenido de fibra dietética que la cebada, trigo, avena, maíz y arroz, respectivamente (ver **Tabla 1.2**). El contenido de fibra en la harina residual de chía -luego de la extracción de aceite- representa alrededor de un 40%, del cual un 5% corresponde a fibra soluble, denominada mucílago.

1.3.5. Antioxidantes

La **Tabla 1.7** muestra los compuestos polifenólicos presentes en extractos hidrolizados y no hidrolizados obtenidos a partir de la semilla de chía (Taga y col., 1984).

Vázquez-Ovando y col. (2009) obtuvieron una fracción de harina de chía rica en fibra (FRF) y evaluaron su actividad antioxidante, la cual fue de 488,8 mmol equivalentes Trolox (TE)/g, valor similar al informado para el salvado de sorgo con alto contenido de taninos (Awika y col., 2003), mayor que el de algunos granos de trigo (Iqbal y col., 2005) y la mitad del informado para el vino tinto, el que presenta uno de los niveles más altos de actividad antioxidante (Saura-Calixto y Goñi, 2006). La elevada actividad antioxidante de la FRF es atribuible a la presencia de los compuestos polifenólicos citados en la **Tabla 1.7**, principalmente los ácidos cafeico y clorogénico (Taga y col., 1984) y la quercetina, la cual es uno de los compuestos más potentes y estables (Huang y col., 2005).

Tabla 1.7. Concentración de antioxidantes fenólicos presentes en extractos de semilla de chía (Taga y col., 1984)

Compuesto	g/kg de semilla de chía
Extracto no hidrolizado	
Flavonoles	nd
Ácidos cinámicos	
Ácido cafeico	$6,6 \times 10^{-3}$
Ácido clorogénico	$7,1 \times 10^{-3}$
Extracto hidrolizado	
Flavonoles	
Miricetina	$3,1 \times 10^{-3}$
Quercetina	$0,2 \times 10^{-3}$
Kaempferol	$1,1 \times 10^{-3}$
Ácidos cinámicos	
Ácido cafeico	$13,5 \times 10^{-3}$

1.4. Aspectos legislativos y usos actuales

Mediante las Resoluciones Conjuntas 201 y 567/2008 se realizó una modificación del Artículo 896 bis, a fin de incorporar la semilla de chía en el Código Alimentario Argentino (CAA). En dicho artículo, se denomina semillas de chía a las semillas sanas, limpias y bien conservadas de *Salvia hispanica* L., de color marrón oscuro, tamaño muy pequeño y de buena fluidez, con aroma suave, agradable y propio de la semilla. El máximo contenido de agua permitido (determinado a 100-105°C) es de 7%, con un mínimo de 33% de materia grasa, menos de 0,5% de semillas dañadas y libres de insectos vivos. Las semillas no deben contener más de 1% de materias extrañas, de las cuales el material mineral debe ser inferior a 0,25%, mientras que los insectos muertos, fragmentos o restos de insectos y/u otras impurezas de origen animal no deben superar el 0,1% (Código Alimentario Argentino, 2008).

En el año 2009, se incorporó al CAA el Artículo 1407 bis, en el cual se incluyó con la denominación de harina de chía al producto proveniente de la molienda de la semilla de chía (*Salvia hispanica* L.), debiendo presentar esta última características de semilla sana, limpia y bien conservada, que haya sido sometida a prensado para la remoción parcial o prácticamente total del aceite que contiene. En el mismo, se tienen en cuenta dos tipos de harina de chía, según lo especificado en la **Tabla 1.8**.

Tabla 1.8. Composición de diversos tipos de harina de chía autorizadas en el Código Alimentario Argentino (Art. 1407 bis, CAA)

	Harina de chía	
	Parcialmente desgrasada	Desgrasada
Humedad (100-105 °C) (%)	9	5
Proteína (N x 6,25) mín. (%)	20	29
Grasa (Extracto etéreo) máx. (%)	18	7
Fibra total máx. (%)	35	52
Cenizas (500-550 °C) máx.	5	6

En el mismo año, mediante Resoluciones Conjuntas 76 y 391/2009 Modificación (06/2009), se autorizó el uso de aceite de chía exclusivamente en

suplementos dietarios, en los términos del Artículo 1381 del Código Alimentario Argentino (CAA).

A nivel internacional, la semilla de chía es considerada como un suplemento dietario por la FDA (Food and Drug Administration). En este sentido, en el año 2009, quedó autorizada en el mercado comunitario (Unión Europea) la comercialización de semillas de chía (*S. hispanica*) y semillas de chía trituradas, para ser utilizadas como un nuevo ingrediente alimentario en productos de panadería con un contenido máximo de semillas de chía del 5% (Comisión de las Comunidades Europeas, 2009). Además, la industria alimentaria de diversos países, incluyendo Reino Unido, Canadá, Chile, Australia, Nueva Zelanda y México, utilizan la semilla de chía o su aceite en la elaboración de productos tales como cereales para el desayuno, jugos de frutas, tortas, yogur, entre otros (Borneo y col., 2010).

Las ventajas nutricionales de la chía descritas en los diversos trabajos científicos previamente citados así como la comercialización de productos que la incluyen como ingrediente alimentario están en creciente avance a nivel mundial. Actualmente, es posible encontrar semillas de chía en alimentos destinados al consumo humano y animal, utilizándola en la elaboración de panes, galletitas, barras energéticas, suplementos dietarios, bebidas energéticas y aceite. Además, se han logrado obtener productos de origen animal enriquecidos con ω -3, tales como huevos, pollo, carne bovina, chorizo, jamón, leche y quesos, los cuales presentan atributos sensoriales aceptables por parte del consumidor (Antruejo y col., 2011; Langman y col., 2006; Ramírez, 2009; Salazar-Vega y col., 2009; Salvador-Vega y col., 2010).

2. Fibra dietética

2.1. Definición

La importancia que ha adquirido el consumo de fibra dietética (FD) en los últimos años, ha llevado a la industria alimentaria al desarrollo de nuevos alimentos, más saludables y con un alto contenido de fibra dietética, vitaminas y bajo tenor de colesterol (Sáenz y Gasque, 1999; Saura-Calixto y Jiménez-Escrig, 2001).

La relación entre la ingesta de FD y enfermedades crónicas y gastrointestinales ha sido analizada por Trowell (1972), quién asoció una baja prevalencia de enfermedades cardiovasculares en los países africanos en

comparación con los países europeos y americanos, debido a la diferencia en su alimentación dada por la ingesta de granos refinados y enteros, respectivamente. Muchos estudios epidemiológicos indican que la fibra dietética reduce el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, diabetes, obesidad, cáncer de colon y otra diversidad de enfermedades. Por ello, la importancia de aumentar el consumo de alimentos ricos en fibra (Lee y col., 1992).

Así se han realizado estudios focalizados en la relación existente entre la ingesta de granos enteros y la disminución de padecer enfermedades crónicas (Seal, 2006). La fracción de polisacáridos de los cereales está asociada con una cierta cantidad de compuestos fenólicos, surgiendo así el concepto de fibra dietética antioxidante (FDA) (Jiménez-Escrig y col., 2001; Martínez Tome y col., 2004; Saura-Calixto, 1998; Yu y col., 2002). En alrededor del 95% de los granos, los compuestos fenólicos se encuentran ligados a la pared celular de los polisacáridos. En otras especies vegetales, éstos también pueden estar ligados a pectinas y a otras estructuras de polisacáridos (Ishii, 1997; Jiménez-Escrig y col., 2001; Saura-Calixto y Díaz-Rubio, 2007).

Ahora bien, no existe una definición universal ni tampoco un método analítico que permita determinar todos los componentes alimentarios que ejercen los efectos fisiológicos de la fibra. Según Rojas Hidalgo (1976), “la fibra no es una sustancia sino un concepto, más aún, una serie de conceptos diferentes en la mente del botánico, químico, fisiólogo, nutriólogo o gastroenterólogo”. Tras la definición de Trowell y col. (1976) se han considerado fibra dietética a los polisacáridos vegetales y a la lignina, los cuales son resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas del ser humano.

A medida que han ido aumentando los conocimientos sobre la fibra tanto a nivel estructural como en sus efectos fisiológicos, se han dado otras definiciones que amplían dicho concepto.

La American Association of Cereal Chemists (2001) define: “la fibra dietética es la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso. La FD incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas de las plantas. La FD promueve

efectos fisiológicos beneficiosos como laxante y/o atenúa los niveles de colesterol y/o glucosa en sangre”.

En síntesis, podemos decir que son sustancias de origen vegetal, hidratos de carbono o derivados de los mismos, excepto la lignina, que resisten la hidrólisis por parte de las enzimas digestivas humanas y llegan intactos al colon donde algunos pueden ser hidrolizados y fermentados por la flora colónica.

2.2. Clasificación de la fibra dietética

La fibra dietética puede clasificarse como soluble e insoluble de acuerdo a su comportamiento en medio acuoso.

2.2.1. Fibra dietética soluble (FDS)

La fibra soluble en contacto con agua forma un retículo donde ésta queda atrapada, dando lugar a soluciones de gran viscosidad. Los efectos derivados de la viscosidad de la fibra son los responsables de sus acciones sobre el metabolismo lipídico, hidrocarbonado y en parte de su potencial anticarcinogénico. Dada la capacidad de la FDS de formar geles, tiene la propiedad de retardar la evacuación gástrica, lo que a su vez hace más eficiente la digestión y absorción de los alimentos, generando una mayor sensación de saciedad (Tiwarly y col., 1997). Dentro de este grupo se encuentran gomas, mucílagos, algunas pectinas, ciertos tipos de hemicelulosas y polisacáridos solubles.

2.2.2. Fibra dietética insoluble (FDI)

Las fibras insolubles son capaces de retener el agua en su matriz estructural formando mezclas de baja viscosidad, lo cual produce un aumento del volumen de la masa fecal, acelerando el tránsito intestinal. Estas fibras incluyen celulosa, lignina y algunas fracciones de hemicelulosa (Escudero Álvarez y González Sánchez, 2006).

Por otra parte, existe una gran variedad de componentes no convencionales asociados a la fibra dietética, los cuales por su baja digestibilidad pueden contribuir con propiedades semejantes. En este sentido, su inclusión dentro de la fibra es motivo de controversia, tal es el caso de los taninos, ceras, glicoproteínas, minerales, compuestos de Maillard, quitina y formas provenientes del metabolismo digestivo del hombre (polidextrosas) (Pak, 1996).

La naturaleza química de la FD varía entre las diferentes capas de una semilla. Generalmente, en los cereales las capas externas son ricas en FDI mientras que la fracción de FDS es mayor cerca del endospermo. Por lo tanto, los procesos de molienda pueden ser modulados para obtener fracciones ricas en FD y también para incrementar la relación de FDS/FDI (Vitaglione y col., 2008).

2.3. Propiedades funcionales de la fibra dietética

Denominadas así por su posible asociación con efectos fisiológicos benéficos en el organismo, conocidas también como propiedades fisicoquímicas por su dependencia con la estructura química de los polisacáridos constituyentes y la influencia de factores como el tamaño de partículas, pH, temperatura y fuerza iónica (Fleury y Lahaye, 1991), estas propiedades son:

2.3.1. Degradación bacteriana

La FD no puede ser degradada enzimáticamente por el intestino delgado de los mamíferos. Sin embargo, es fermentable en distinto grado en el intestino grueso. Por ejemplo, pectinas, mucílagos y gomas resultan ser completamente degradados, mientras que la celulosa, lo es sólo parcialmente (Ruiz-Roso y col., 2001; Valenzuela y Maiz (2006). El grado de degradación bacteriana tiene varias consecuencias importantes:

- las cadenas cortas de ácidos grasos producidas pueden influenciar las respuestas fisiológicas de la fibra (Pomare y col., 1985),
- los procesos de fermentación pueden producir una disminución del pH del intestino grueso y afectar el metabolismo microbiano,
- las células bacterianas pueden contribuir significativamente al peso de la materia fecal y por consiguiente, al volumen de la materia fecal.

2.3.2. Capacidad de retención de agua (CRA)

La CRA expresa la cantidad máxima de agua que puede ser retenida por gramo de material seco en presencia de agua y bajo la acción de una fuerza patrón y que se encuentra en equilibrio con el medio de potencial químico conocido (Schneeman, 1989; Thibaut y col., 1992).

La capacidad que tiene la FD para retener agua es de suma importancia, en relación con la formulación y el procesamiento de alimentos altos en fibra, ya que de

esta propiedad depende en gran medida el nivel máximo de incorporación de la misma (Zambrano y col., 2001).

La CRA está influenciada por la naturaleza de la matriz fibrosa y por la forma en cómo se encuentra ligada a las moléculas de agua (Fleury y Lahaye, 1991). Es importante por su grado de asociación con efectos saciantes, el aumento del tamaño del bolo alimenticio, el peristaltismo intestinal y los incrementos del volumen y el peso de las heces, además de su efecto laxante (Danisco, 2003; Duque y col., 1998). La hidratación de las fibras resulta en la formación de un gel por lo tanto, la difusión de nutrientes para su absorción puede disminuir debido a la partición de los mismos entre el gel y el medio acuoso del intestino, así como por el aumento de la viscosidad del contenido fecal.

Cabe señalar que las pectinas, mucílagos y algunas hemicelulosas poseen una gran capacidad de retención de agua (Dello Staffolo, 2003).

2.3.3. Capacidad de absorción de agua (CAb)

La CAb se define como la cantidad de agua que una fuente de fibra es capaz de absorber cuando se la coloca en un exceso de agua. Esta propiedad es importante por ejemplo, en procesos tales como la extrusión, en el que el material que se somete al proceso es humectado antes o durante el mismo.

En algunas ocasiones y dependiendo de la composición de la fibra no es posible distinguir entre CAb y CRA ya que el material retiene casi la totalidad del agua absorbida (Robertson y col., 1981; Chen y col., 1984).

2.3.4. Capacidad de adsorción de agua (CA_d)

Esta propiedad considera el comportamiento termodinámico de las fibras en términos de los principios de sorción, donde las isotermas se basan en el equilibrio de vapor de agua del medio con respecto al alimento. Esta capacidad no puede ser relacionada con la CRA y la CAb, debido a que la forma en la que el agua es adsorbida en sitios activos es diferente a la absorción, pero sí es importante su determinación en relación a la estabilidad y cambios deteriorativos de la fuente de fibra durante el almacenamiento (Wallingford y Labuza, 1983; Cadden, 1988).

2.3.5. Capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO)

Se refiere a los ácidos biliares, colesterol y ciertos compuestos tóxicos (drogas, agentes carcinogénicos y mutagénicos). Algunos tipos de fibra ayudan a eliminar ácidos biliares, incrementando la excreción de los mismos a través de la materia fecal. La capacidad de incrementar la excreción de ácidos biliares en las heces ha sido correlacionada con la disminución de colesterol en plasma, por efecto de ciertos polisacáridos no celulósicos solubles, tales como las pectinas y la goma guar (Zambrano y col., 2001).

2.3.6. Intercambio de cationes

La reducción de la disponibilidad de minerales y la absorción de electrolitos asociado con algunas dietas ricas en fibra, son indudables debido a la unión de minerales y electrolitos a la matriz de la misma. El número de grupos carboxilo libres en los residuos de azúcar y el contenido de ácido urónico de los polisacáridos parece estar relacionado con las propiedades de intercambio de cationes de las fibras (Olds Schneeman, 1986).

3. Hidrocoloides

Los hidrocoloides son polímeros de alto peso molecular (polisacáridos y proteínas) que tienen una gran afinidad por el agua donde se dispersan y forman soluciones coloidales. En la actualidad, los hidrocoloides son comúnmente empleados en una diversa variedad de sectores industriales como ingredientes con funciones espesantes y gelificantes de soluciones acuosas, estabilizantes de espumas, emulsiones y dispersiones, agentes inhibidores del crecimiento de cristales, liberación controlada de sabores, encapsulantes, formadores de películas y modificadores de textura (Williams y Phillips, 2000; Koocheki y col., 2009a). Si bien estos compuestos no influyen directamente en el sabor y en el gusto de los alimentos, son muy efectivos en la formación de geles, la retención de agua y de aromas (Bai y col., 1978; Speers y Tung, 1986).

Los hidrocoloides cumplen un papel muy importante en la aceptabilidad general de alimentos ya que mejoran la sensación bucal y aumentan la estabilidad física de los mismos. Dichos compuestos son incorporados en una amplia gama de formulaciones de alimentos, especialmente para evitar procesos físicos no deseados

tales como la cristalización y la separación gravitacional, los que podrían ocurrir durante el transporte y almacenamiento de los mismos e incidir en la aceptación de los alimentos por parte del consumidor (Osman, 1975; Morley, 1983; Walker, 1983; Houska y col., 1998).

Cabe señalar que el uso de hidrocoloides en la industria alimentaria ha tenido un gran incremento en las últimas décadas. Si bien los mismos se incorporan en concentraciones inferiores al 1%, su presencia tiene 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 en el desarrollo de formulaciones con un alto contenido de fibra y bajo contenido de grasas. Estos cambios han sido la causa de un crecimiento en el mercado de los hidrocoloides que a principios del siglo XXI alcanzó alrededor de U\$S 4.4 billones anuales con un volumen total de 260.000 toneladas (Williams y Phillips, 2000).

Ahora bien, las propiedades físicas de los hidrocoloides son afectadas por las diversas fuentes de obtención, los métodos de preparación, el procesamiento térmico, así como las condiciones de pH, contenido de sal y temperatura en el alimento. Todos los hidrocoloides interactúan con el agua, reduciendo su difusión. Generalmente, los hidrocoloides neutros son menos solubles mientras que los polielectrolitos son más solubles. El agua puede ser retenida por puentes de hidrógeno, por estructuración de la misma o bien localizarse dentro de los espacios intra e intermoleculares. En las interacciones entre los hidrocoloides y el agua se establece un balance reversible entre la pérdida de entropía y la ganancia de entalpía, pero el proceso puede ser limitado desde el punto de vista cinético y la red óptima no llegar a alcanzarse (Chaplin y Kennedy, 1994). Los hidrocoloides pueden exhibir un gran número de conformaciones en solución. Así, hidrocoloides de alto peso molecular, conformacionalmente rígidos, presentan esencialmente superficies estáticas, lo que favorece 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, lo cual puede tener un efecto económico

sustancial. Además, los hidrocoloides pueden proveer agua para aumentar la flexibilidad (plasticidad) de otros componentes del alimento.

Por otra parte, muchos hidrocoloides pueden formar geles. Los geles son redes que contienen agua líquida aunque 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 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 formar una red a más altas concentraciones y las moléculas similares pueden envolverse una alrededor de la otra (formando zonas de uniones tipo hélice) sin pérdida de uniones puente de hidrógeno, reduciendo la heterogeneidad conformacional y minimizando la superficie hidrofóbica de contacto con el agua. En esas circunstancias puede necesitarse la formación de un número mínimo 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 la sinéresis (Whistler, 1993).

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

3.1. Factores que afectan el comportamiento de los hidrocoloides

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

El peso molecular está básicamente relacionado con la longitud de la cadena. Así 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 será 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 (Hoefler, 2001).

La secuencia de monómeros influye sobre la estabilidad frente a cambios en el pH de la solución o en la capacidad espesante o de gelación en sistemas alimenticios (Hegenbart, 1993). Con respecto a este último aspecto, cabe mencionar la influencia de la composición de las cadenas laterales del polímero. Éstas últimas pueden variar ampliamente en tamaño y propiedades espesantes o de 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 polisacáridos complejos como cadenas laterales, los cuales les confieren características diversas.

Otro de los factores que influyen en las propiedades de los hidrocoloides es la forma en que se distribuyen las cadenas laterales en las moléculas (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. Así, si la distribución se registra de modo no homogéneo, aparecen zonas “lisas” donde la cadena principal se encuentra escasamente sustituida y zonas “ramificadas” donde se concentra la mayor parte de las cadenas laterales. Un ejemplo de esta distribución irregular se observa en la mayoría de los galactomananos, los cuales presentan un mayor o menor grado de uniformidad en la sustitución dependiendo del hidrocoloide, lo que conlleva a que exhiban distintas propiedades específicas (Hegenbart, 1993; Hoefler, 2001; Sikora y Kowalski, 2007).

3.2. Clasificación de los hidrocoloides

En la **Tabla 1.9** se presentan los hidrocoloides de mayor importancia comercial clasificados de acuerdo a su origen.

Tabla 1.9. Clasificación de los principales hidrocoloides de acuerdo a su origen

	Árboles	celulosa
	Gomas exudadas de plantas	goma arábica, goma karaya, goma tragacanto
Botánico	Planta	almidón, pectinas, celulosa
	Semillas	goma guar, garrofín, goma tara, goma tamarindo
	Tubérculos	goma “konjac”
Algas	Algas rojas	agar, carragenanos
	Algas marrones	alginato
Microbiano		goma xántica, dextrano, goma “gellan”, celulosa
Animal		gelatina, caseinato, quitosano, proteína de suero

3.2.1. Hidrocoloides exudados de plantas

Corresponden al grupo de gomas más antiguos; casi todas las familias de plantas presentan alguna especie que exuda 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, siendo las mismas 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 esto les confiere una ventaja competitiva en el mercado (Williams y Phillips, 2000).

3.2.2. Hidrocoloides derivados del almidón y la celulosa

Tanto el almidón como la celulosa se encuentran disponibles en una diversa cantidad de plantas y suelen ser buenas materias primas para el desarrollo de distintas gomas. Mediante tratamientos térmicos, de oxidación o derivatizaciones es posible el desarrollo de hidrocoloides adecuados para cada tipo de aplicación. Si bien el costo de las materias primas resulta relativamente bajo, los procesos de

modificación pueden llegar a ser demasiados complejos, lo que elevaría su precio e incidiría negativamente a nivel comercial.

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 muy empleados debido a la capacidad de formar geles termorreversibles y a sus propiedades interfaciales (Sarkar y Walter, 1995; Kobayashi y col., 1999).

3.2.3. Hidrocoloides provenientes de semillas

Muchas semillas contienen polisacáridos de reserva diferentes del almidón y algunas se cosechan para obtener varias de las gomas disponibles en el mercado. Las gomas más antiguamente conocidas son las del membrillo, *psyllium*, lino y garrofín, teniendo algunas de ellas relevancia en la actualidad. La mayoría provienen de plantas anuales, las cuales 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, cuyo cultivo era conocido desde principios del siglo XX. No obstante, recién en la década de 1940 comenzó a emplearse para obtener su hidrocoloide, convirtiéndose el mismo en uno de los más importantes del mercado (Williams y Phillips, 2000).

3.2.4. Hidrocoloides provenientes de algas

Este tipo de hidrocoloides comprenden tres grupos principales: alginatos (derivados del ácido algínico), agar y carragenanos. Los primeros se extraen sólo a partir de algas marrones, mientras que los otros dos se encuentran únicamente en algas rojas. El proceso de extracción es relativamente simple permitiendo la remoción de una gran cantidad del peso seco de las algas y la obtención de un producto relativamente puro (Williams y Phillips, 2000).

3.2.5. Hidrocoloides de origen microbiano

Existe una amplia variedad de microorganismos capaces de producir polisacáridos estructurales a partir de su crecimiento en fuentes de energía de bajo costo tales como granos o melaza. Esta técnica de desarrollo de gomas industriales provee una gran variedad de hidrocoloides con propiedades muy diversas y se

encuentra en constante crecimiento a fin de satisfacer los requerimientos a nivel industrial (Williams y Phillips, 2000).

3.2.6. Hidrocoloides de origen animal

Este tipo de hidrocoloides corresponde al grupo más abundante y diverso en la naturaleza. Por ejemplo, a partir de mamíferos o peces es posible obtener macropolímeros los que mediante algunos procesos fisicoquímicos conducen a proteínas o carbohidratos de gran utilidad en la industria alimentaria. Los más importantes dentro de esta clasificación son el colágeno, útil para obtener la gelatina y la quitina, extraída del esqueleto de los crustáceos, la cual mediante una deacetilación puede transformarse en quitosano (Williams y Phillips, 2000).

3.3. Elección adecuada de hidrocoloides

La selección adecuada de los hidrocoloides a emplear en el desarrollo de un producto está determinada por las características funcionales requeridas y se encuentra influenciada por el precio y la seguridad de abastecimiento. Éstas son las razones por las cuales el almidón es el más común de los agentes espesantes. Sin embargo, es interesante señalar que la goma xántica, desde comienzos de 1970s, se ha convertido en uno de los espesantes más elegidos a pesar de su elevado costo. Esta particularidad está asociada a su comportamiento reológico característico es decir, a su posibilidad de generar soluciones altamente viscosas a muy bajas concentraciones, resistir cambios de pH, fuerza iónica y temperatura del sistema sin alterar ampliamente su viscosidad. En este caso, las soluciones presentan una alta viscosidad frente a bajas velocidades de deformación y ante el incremento del esfuerzo comienzan a fluir fácilmente. Estas propiedades la tornan útil para su aplicación en aderezos, evitando el cremado de las gotas de aceite cuando se encuentran en reposo, pudiendo fluir al agitar el envase.

Desde hace muchos años, la gelatina es el agente gelificante más difundido. No obstante, si bien existe una gran actividad en torno al desarrollo de sustitutos de la misma, sigue siendo masivamente utilizada debido a sus características particulares. El resto de los hidrocoloides ha sufrido también alteraciones en sus precios y consumo en los últimos años, debido a la aparición de nuevos productos

así como a la optimización de los procesos de obtención y purificación (Williams y Phillips, 2000).

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-, la responsable de la búsqueda de nuevos componentes que confieran características específicas a los alimentos. Por ello, el estudio de las propiedades reológicas es una etapa clave en el desarrollo de un producto que contenga este tipo de ingredientes.

Las propiedades reológicas de los hidrocoloides en solución dependen de diversos factores, tales como la concentración del componente, la temperatura, el grado de dispersión, disolución, carga eléctrica, tratamientos térmicos previos y/o mecánicos, presencia o ausencia de electrolitos, entre otros (Rao y Anantheswaran, 1982; Marcotte y col., 2001). El estudio de los efectos individuales o combinados de esos factores es importante, especialmente cuando los mismos van a ser utilizados para modificar los atributos de textura de los alimentos y también en el diseño, la evaluación y el modelado de procesos.

4. Reología de alimentos

El término reología se atribuye a Bingham Lafayette y significa “el estudio de la deformación y el comportamiento de flujo de la materia”. Otra de las definiciones más completa es: “La reología es la ciencia que estudia la deformación de un material bajo la influencia de un esfuerzo” (Muller, 1973).

Dentro de la industria alimentaria, existen diversas áreas donde el conocimiento de información provista por la reología se hace indispensable. A continuación se detallan las principales áreas.

- *Diseño de plantas*: selección y diseño de cañerías y bombas, determinación de la transferencia de masa y energía, diseño de equipos de llenado, extrusores, homogeneizadores, etc.
- *Control de calidad*: de las materias primas y de los productos en diferentes etapas del proceso.
- *Evaluación sensorial de atributos*: mediciones cuantitativas que permiten correlacionar los atributos cualitativos señalados por los consumidores en los ensayos sensoriales.

- *Estudio de la estructura de los alimentos:* conformación molecular de los distintos constituyentes.

La reología de alimentos está a menudo asociada al comportamiento de alimentos líquidos. Sin embargo, existe una tendencia creciente en considerar que la respuesta que brindan tanto los alimentos sólidos como los 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 esfuerzo a las que se encuentren sometidos. Como ejemplo pueden citarse el chocolate fundido, aderezos, purés, los cuales presentan un comportamiento sólido a bajos esfuerzos y líquido a mayores esfuerzos (McKenna y Lyng, 2003).

Así, se pueden distinguir nítidamente dos respuestas mecánicas extremas; la de los sólidos y la de los líquidos, que responden a la Ley de Hooke y a la Ley de Newton, respectivamente. Además, es sabido que existen muchos materiales cuyo comportamiento no puede ser descrito mediante estos modelos constitutivos extremos. No obstante, la teoría de la elasticidad (Ley de Hooke) puede modificarse para describir deformaciones finitas y la Ley de Newton generalizarse para describir el comportamiento de líquidos 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.

Como se ha mencionado anteriormente, la reología es la ciencia que estudia el flujo y la deformación de los materiales sometidos a fuerzas externas. Por ello, podría decirse que la misma analiza la relación existente entre las variables esfuerzo (τ), deformación producida (γ), gradiente de velocidad o velocidad de deformación ($dy/dt = \dot{\gamma}$) y tiempo (t).

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

Las teorías lineales de elasticidad e hidrodinámicas 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):

$$\tau = G \gamma \quad \text{Ec. 1.1}$$

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

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad \text{Ec. 1.2}$$

donde η es la viscosidad

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

4.2. Viscosidad de flujo estacionario

En términos generales, 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 el cual puede ser descrito, en todo el rango del gradiente de medición, mediante la Ley de Newton (**Ec. 1.2**) y 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 esfuerzo (Rohn, 1995). Estos fluidos suelen ser sistemas dispersos (emulsiones, suspensiones, etc.), soluciones de macromoléculas (fluidos biológicos) o materiales fundidos (plásticos) con un cierto grado de estructuración. En este punto hay que distinguir entre un comportamiento newtoniano y un fluido no newtoniano. Un fluido no newtoniano puede tener un comportamiento newtoniano en un cierto rango de esfuerzo lo suficientemente bajo para no modificar su estructura. Sin embargo, la aplicación de un esfuerzo superior a un valor 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 de ser lineal y puede ser muy variada, obteniendo diferentes tipos de comportamiento tal como se muestra en el gráfico de esfuerzo de corte en función de la velocidad de deformación (reograma) **Figura 1.3.**

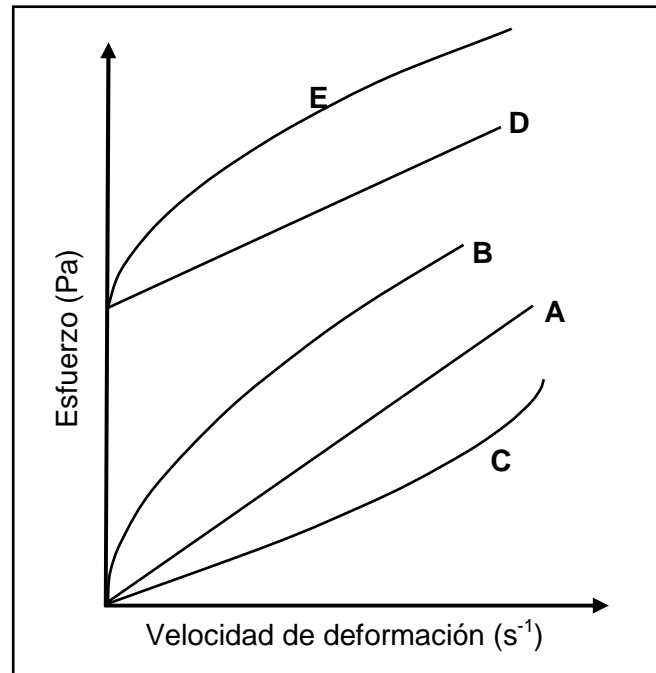


Figura 1.3. Reograma característico de fluidos newtonianos y no newtonianos en condiciones de flujo. **A:** fluido newtoniano, **B:** pseudoplástico, **C:** dilatante, **D:** plástico de Bingham, **E:** plástico de Herschel-Bulkley

4.2.1. Fluidos pseudoplásticos o dilatantes

Son aquéllos que siguen la Ley de la Potencia:

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. 1.3}$$

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*”).

4.2.2. Plástico de Bingham

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

$$\tau = \tau_0 + \eta \dot{\gamma} \quad \text{Ec. 1.4}$$

donde τ_0 es el esfuerzo límite o esfuerzo umbral mínimo necesario para producir fluencia. Por debajo de este esfuerzo, la viscosidad se considera infinita.

4.2.3. 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:

$$\tau = \tau_0 + \eta \dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. 1.5}$$

Al aplicar un amplio rango de velocidades de deformación, una gran cantidad de sistemas de fluidos no newtonianos, presentan un reograma más complejo, como el que se muestra en la **Figura 1.4**. Así, a gradientes muy bajos es frecuente observar un comportamiento newtoniano, el cual pasa a ser pseudoplástico a gradientes intermedios, para luego nuevamente ser newtoniano a gradientes elevados.

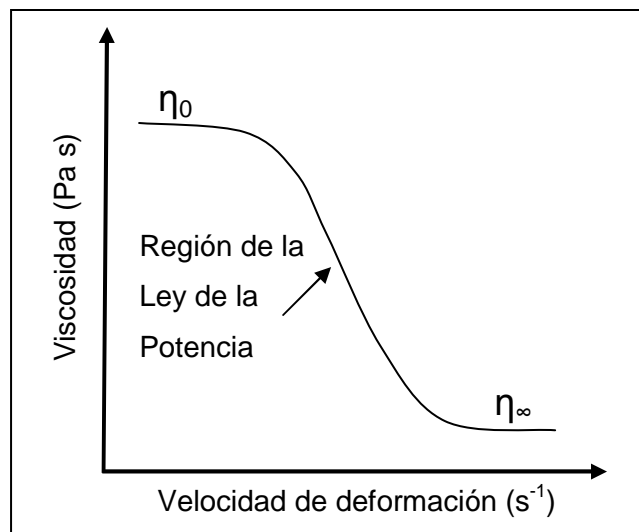


Figura 1.4. Reograma característico de fluidos estructurales (η_0 : viscosidad inicial; η_∞ : viscosidad infinito)

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. 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 produce una disminución de la viscosidad hasta llegar a un gradiente de velocidad en el cual la viscosidad no varía más, al haberse alcanzado la orientación o destrucción completa.

4.3 Tixotropía

Mewis (1979) y Cheng (1987) han definido la tixotropía como una disminución continua de la viscosidad aparente con respecto al tiempo y la subsecuente recuperación de la misma cuando el flujo se suspende. La representación gráfica corresponde a una curva similar a la de la pseudoplasticidad, en cuanto a que la viscosidad desciende a medida que aumenta la velocidad de deformación. Sin embargo, difiere de ella en que el descenso de la viscosidad no está relacionado exclusivamente con la velocidad de deformación, sino también con el tiempo. Así, cuando la velocidad de deformación es constante, η desciende en función del tiempo, de manera que no sólo depende de la velocidad, sino también de la duración de la deformación. Cuando la velocidad de deformación desciende, el producto se espesa lentamente hasta reasumir su comportamiento original (Muller, 1973). Cuando las representaciones de esfuerzo en función de la velocidad de deformación son dependientes del tiempo, forman un bucle conocido como *histéresis*.

4.4. Viscoelasticidad

La mayoría de los sistemas alimenticios presentan estructuras complejas las cuales exhiben características del tipo viscosas y elásticas, simultáneamente. 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, utilizada para recuperar parcialmente la forma original al desaparecer la fuerza externa

aplicada (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 que tanto el esfuerzo como la deformación sean lo suficientemente pequeños como para que ambas magnitudes puedan describirse 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 menor valor para predecir fenómenos que ocurren cuando se aplican grandes deformaciones, como es el caso de las operaciones del procesamiento de alimentos (Kokini y col., 1995).

Por otra parte, 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.

Un gran número de materiales presenta tanto un comportamiento viscoso como elástico, por ejemplo pueden mencionarse los polímeros orgánicos, materiales de construcción, plásticos, etc. En el campo de los alimentos se pueden aportar ejemplos donde, además del aroma, el sabor y la apariencia, la viscoelasticidad influye en la aceptación por parte del consumidor, como son los emulsificantes, agentes estabilizantes, hidrocoloides, polímeros biológicos, pectinas, mayonesas, goma de mascar, etc. (Borwankar y Shoemaker, 1992).

4.4.1. Pruebas dinámicas

Las pruebas dinámicas o ensayos oscilatorios se han convertido en el método más común de estudio del comportamiento viscoelástico de un gran número de materiales, incluyendo a los alimentos, ya que aportan resultados rápidos con mínimos cambios físicos y químicos.

En este tipo de ensayos, se somete a la muestra a un movimiento que varía armónicamente con el tiempo (movimiento oscilatorio). Así, utilizando geometrías específicas se pueden aplicar sólo deformaciones (o esfuerzos) considerados bajos para no exceder el intervalo de viscoelasticidad lineal, lo que permite que la recuperación completa sea posible.

Habitualmente se aplica a la muestra una deformación (o esfuerzo) sinusoidal según el tipo de reómetro utilizado, ocasionando que cierto esfuerzo (o deformación) sea transmitido a través de ésta y su magnitud y fase exponencial (fase lag) van a depender de la naturaleza viscoelástica del material.

En materiales muy viscosos, gran parte del esfuerzo se disipa como pérdida por fricción, mientras que en los muy elásticos, la transmisión del esfuerzo es acentuada. Análogamente, la fase lag es alta para sustancias muy viscosas y atenuada para materiales que muestran un alto grado de elasticidad (Ferry, 1980; Steffe, 1996).

Es importante definir dos funciones características, las cuales facilitan la interpretación del comportamiento viscoelástico de los materiales. Éstas son el módulo de almacenamiento o elástico (G') y el módulo de pérdida o viscoso (G'').

El módulo de almacenamiento, G' , está relacionado con la parte de energía que queda almacenada y puede recuperarse. Es decir, es una medida de la elasticidad. El módulo de pérdida, G'' , está relacionado con la energía que se disipa, siendo por lo tanto, una medida del carácter viscoso del material. La combinación de estos dos parámetros define un número complejo, denominado módulo complejo G^* , el cual representa la resistencia total del material a la deformación aplicada cuando es considerado un sólido elástico.

Otros parámetros útiles para 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, el cual 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 almacenada en dicho periodo (Ferry, 1980).

5. Emulsiones

Una emulsión es un sistema formado al menos por dos fases inmiscibles, una continua y otra dispersa. La fase dispersa se encuentra formando pequeñas gotas dentro de la fase continua. En la mayoría de las emulsiones alimentarias, los diámetros de gota varían entre 0,1 y 100 μm (McClements, 1999). Las emulsiones pueden clasificarse según la distribución de las fases acuosa y oleosa.

- *emulsiones aceite en agua* (oil in water, O/W): sistemas donde la fase oleosa se encuentra dispersa en una fase continua acuosa (leche, mayonesa, etc.).
- *emulsiones agua en aceite* (water in oil, W/O): la fase continua es oleosa con gotas de agua dispersas. La manteca y la margarina son los ejemplos más importantes de este tipo de emulsiones.
- *emulsiones múltiples*: 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).
- *emulsiones O/W aireadas o espumadas*: sistemas que pueden contener una fase sólida o gaseosa en las fases líquidas. Por ejemplo, las cremas heladas 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) o de una *fracción másica de fase dispersa* (Φ_m) (McClements, 1999). Si V_d y m_d son el volumen y la masa de la fase dispersa y V_e y m_e , el volumen y la masa de la emulsión, entonces Φ y Φ_m se definen según las siguientes ecuaciones.

$$\phi = \frac{V_d}{V_e} \quad \text{Ec. 1.6}$$

$$\phi = \frac{m_d}{m_e} \quad \text{Ec. 1.7}$$

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

$$\phi_m = [(\phi\delta_d / \phi\delta_d + (1 - \phi)\delta_c)] \quad \text{Ec. 1.8}$$

Los valores de Φ y Φ_m coinciden sólo cuando las densidades de las dos fases que constituyen el sistema son iguales (McClements, 1999).

5.1. Formación de emulsiones

El proceso por el cual dos fases inmiscibles se convierten en una emulsión se denomina homogeneización y consecuentemente, el dispositivo diseñado para llevar a cabo este proceso recibe el nombre de homogeneizador. Durante la formación de las gotas de la emulsión el área interfacial aumenta considerablemente, de manera que la energía libre superficial del sistema se incrementa. Durante la preparación de una emulsión se pueden distinguir tres procesos críticos: formación y ruptura de las gotas, adsorción del agente emulsificante en la interfase y coalescencia de las gotas (McClements, 1999).

Durante el proceso de homogeneización, la interfase entre las dos fases líquidas inmiscibles se deforma y comienzan a producirse gotas, en su mayoría, de tamaño muy grande. Estas gotas deben deformarse y romperse para formar gotas de menor tamaño, por fuerza de ruptura. Las gotas de un líquido en otro que es inmiscible tienden a adoptar una forma esférica para minimizar la energía libre interfacial (Palazolo, 2006).

El agente emulsificante necesario para la formación de la emulsión debe adsorberse en la interfase, disminuyendo la tensión interfacial. Además, es sumamente importante que el mismo recubra la interfase creada en una escala de tiempo similar a la del proceso de homogeneización. En el caso que la adsorción sea muy lenta en comparación con la capacidad del homogeneizador de generar el área interfacial, se produce el proceso de coalescencia de las gotas recién formadas. Este hecho hace que el proceso de formación de la emulsión no sea eficiente (Ford y col., 1997).

En el mercado existen diversos tipos de homogeneizadores. La elección de un homogeneizador en particular depende del volumen de emulsión que se desea preparar, la naturaleza de los materiales de partida, el tamaño de gota deseado y el costo (McClements, 1999). La **Tabla 1.10** muestra los principales tipos de homogeneizadores utilizados a escala industrial y de laboratorio. La intensidad de

agitación mecánica se atribuye a la densidad de energía en el líquido (ϵ), la cual es la cantidad de energía mecánica disipada por unidad de volumen y por unidad de tiempo, es decir la potencia por unidad de volumen. La cantidad total de energía mecánica suministrada debe ser extremadamente grande, debido a la oposición de la presión de Laplace (**Ec. 1.9**) (Walstra, 1983; Ford y col., 1997). La mayoría de la energía suministrada actúa en un tiempo muy corto y localmente, disipándose como calor. Por tal motivo, la temperatura del sistema debe controlarse especialmente en los dispositivos de alta densidad de energía.

$$\Delta PL = \frac{4\sigma_i}{d} \quad \text{Ec. 1.9}$$

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

Tabla 1.10. Principales dispositivos de homogeneización y sus características (Palazolo, 2006)

Tipo de homogeneizador	Densidad de energía (ϵ) ¹	Modo de operación ²	Mecanismo de ruptura ³	Tamaño de gota ⁴	Viscosidad de la muestra ⁵
Baja velocidad (cuchilla)	B	D	L, T	5	B - M
Alta velocidad (sistema cuchilla y rotor/estator)	B	D	L, T	2	B - M
Molino coloidal	I	C	L, T	1	M - A
Válvula de alta presión	A	C	T, C	0,1	B - M
Ultrasónico	A	D	T, C	0,1	B - M
Membrana	A	C	T	0,1	B - M

¹ A = alta; I = intermedia; B = baja; ² C = continuo; D = discontinuo; ³ L = flujo laminar; T = flujo turbulento; C = cavitación; ⁴ tamaño de gota máximo en promedio; ⁵ B = baja; M = mediana; A = alta

5.2. Estabilidad de las emulsiones

A fin de lograr una mayor estabilidad en un producto emulsionado, se trata que el mismo 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 pueden originar la variación en la distribución espacial o el tamaño de las gotas, mientras que los procesos químicos pueden producir 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. Así, mientras algunos productos deben permanecer estables durante largos periodos de tiempo (mayonesas, aderezos), otros requieren un proceso de desestabilización controlada durante su manufactura o elaboración, como es el caso de la margarina, la manteca o las cremas heladas.

En lo que se refiere a la estabilidad de una emulsión, dos conceptos son importantes de distinguir: la *estabilidad termodinámica* y la *estabilidad cinética*. La primera está asociada a 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).

Desde el momento en que se forma una emulsión, inmediatamente después de la homogeneización, comienza el proceso de desestabilización. 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, la microestructura y la viscoelasticidad de las fases involucradas (McClements, 1999). Los principales mecanismos de desestabilización que pueden presentarse en una emulsión son: separación gravitacional, floculación, coalescencia, coalescencia parcial, desproporción e inversión de fases, los cuales se describen a continuación:

- **Separación gravitacional (cremado/sedimentación).** Es la separación causada por el movimiento ascendente (*cremado*, en emulsiones O/W); o descendente (*sedimentación*, en emulsiones W/O) de las gotas debido a su menor o mayor

densidad que la fase continua, respectivamente (Walstra, 1996) (**Figura 1.5. a y b**). De acuerdo a la Ley de Stokes, la velocidad de cremado en una emulsión es directamente proporcional al tamaño de la gota de la fase dispersa y a la diferencia de densidades de las fases dispersa y continua e inversamente proporcional a la viscosidad de la fase continua (McClements, 1999).

- **Coalescencia.** Es un proceso que genera un aumento del tamaño de las gotas y conduce a la reducción del área interfacial. Se produce por aproximación, colisión, deformación y ruptura de la película interfacial; las gotas individuales se unen perdiendo su identidad y forman gotas más grandes (**Figura 1.5. c**). Este proceso depende de la frecuencia, energía y eficiencia de colisión entre las gotas, así como también de la resistencia y viscoelasticidad de la película que rodea a las gotas. La coalescencia causa el cremado o la sedimentación más rápida de la emulsión debido al aumento del tamaño de las gotas. En emulsiones O/W, la coalescencia conduce al “oiling off” -formación de una capa de aceite en la parte superior de la emulsión- (**Figura 1.5. d**); mientras que en emulsiones W/O lleva a la acumulación de agua en la parte inferior del sistema (McClements, 1999).

- **Floculación.** En una emulsión las gotas están en movimiento continuo por efecto de la energía térmica, la gravedad y las fuerzas mecánicas aplicadas, lo que favorece la colisión entre las gotas, las cuales pueden apartarse o quedar agregadas, dependiendo de la magnitud relativa de las fuerzas repulsivas y atractivas entre ellas. La floculación es el proceso en el cual cada gota retiene su identidad sin fusionarse, llevando a una disminución en el número de partículas presentes en la emulsión (**Figura 1.5. e**). La floculación puede ser reversible o irreversible, de acuerdo a las fuerzas que mantienen unidas a las gotas. El proceso está controlado por un equilibrio global entre las fuerzas de atracción (electrostáticas, de van der Waals, hidrofóbicas y por depleción) y de repulsión (electrostáticas, estéricas y de hidratación). El grado de floculación alcanzado depende de dos factores: la frecuencia de las colisiones (número de encuentros entre gotas por unidad de tiempo y unidad de volumen de emulsión) y la eficiencia de las colisiones (fracción efectiva de colisiones que llevan a la agregación) (McClements, 1999).

- **Inversión de fases.** Cambio de una emulsión O/W a una W/O o viceversa. Puede producirse por una elevada fracción volumétrica de fase dispersa, por efecto de trabajo mecánico o de la temperatura (Campbell y col., 1996; McClements, 1999).

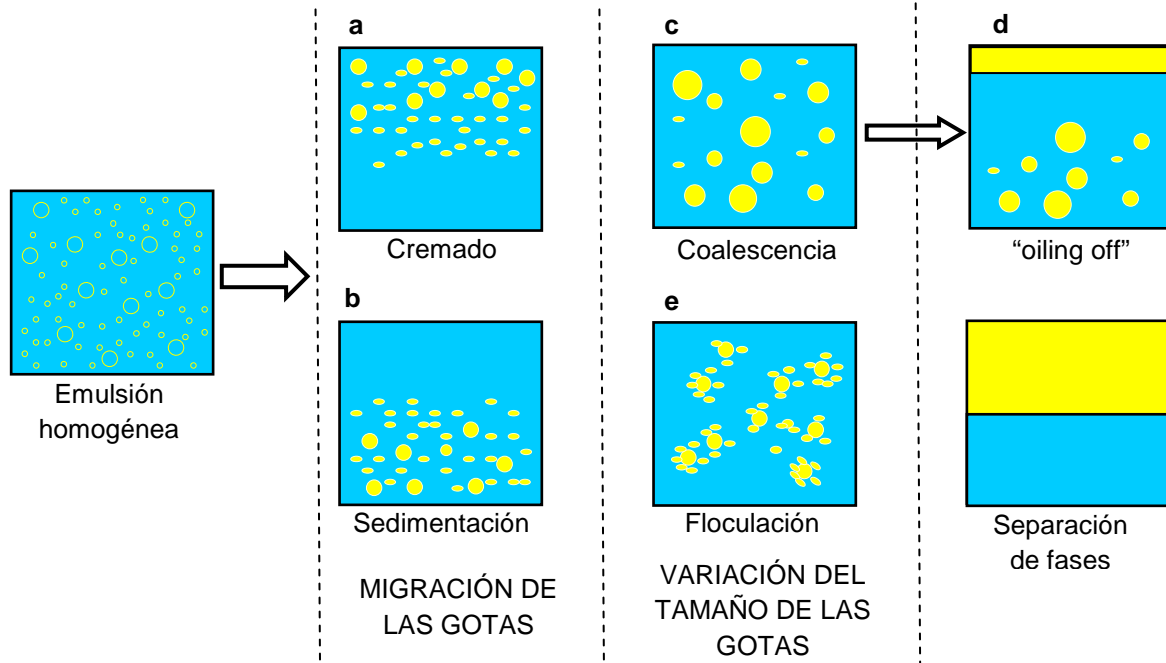


Figura 1.5. Mecanismos de desestabilización de una emulsión (Cortesía Beckman Coulter)

5.3. Agentes emulsificantes y estabilizantes

Un emulsificante es una molécula anfifílica que tiene una cabeza polar con una 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 agentes emulsificantes usados para estabilizar emulsiones alimentarias y espumas se clasifican según dos categorías (Damodaran, 1997; Kamel, 1991; St. Angelo, 1989):

- especies de bajo peso molecular tales como lípidos, fosfolípidos (lecitinas), mono y diglicéridos, ésteres de sorbitán 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 lo que les otorga sus características hidrofóbicas. Por otra

parte, los grupos polares pueden ser glicerol (mono y diglicéridos) y especies fosfoglicéridas sustituidas (fosfolípidos) (Dalglish, 1996). A estos surfactantes se los distingue por su valor de HLB (balance hidrofílico-lipofílico). El HLB 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 HLB, más lipofílico es el surfactante y cuanto más alto, más hidrofílico. Emulsificantes con valores de HLB entre 3 y 6 se consideran lipofílicos, ya que se disuelven preferentemente en lípidos y tienden a formar emulsiones agua en aceite. En cambio, emulsificantes con valores de HLB entre 8 y 18 serían hidrofílicos, se disuelven preferentemente en agua y tienden a formar emulsiones aceite en agua. Los emulsificantes que tienen valores de HLB entre 6 y 8, son de naturaleza intermedia (Charalambous y Doxastakis, 1989).

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). Si bien 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, empleándolos comúnmente en la preparación de emulsiones O/W.

Los agentes estabilizantes de sistemas emulsionados suelen ser polisacáridos o mezclas de éstos, los 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 bien, en el caso de emulsiones concentradas a través de la formación de una red de partículas que proporciona propiedades elásticas adicionales al sistema entero, de modo tal que el cremado está fuertemente impedido (Dickinson y col., 1994; Parker y col., 1995). Este mecanismo es más efectivo a bajas fracciones volumétricas de aceite, donde las gotas individuales se encuentran separadas e inmovilizadas en una red tridimensional del biopolímero. La presencia de partículas coloidales no absorbidas (proteínas, polisacáridos) en la fase continua de una emulsión causa un incremento de las fuerzas atractivas entre las gotas, debido a un efecto osmótico asociado a la exclusión de estas partículas por una estrecha región que rodea a cada gota, causando floculación por depleción. Sin embargo, cuando la concentración de estas partículas excede un cierto límite, la velocidad de floculación

puede disminuir debido al incremento de la viscosidad de la fase continua, produciendo un movimiento retardado de las gotas (Dickinson, 2009). Sin embargo, otros polisacáridos pueden reducir la tensión interfacial y adsorberse en la superficie formando una película interfacial, la cual mejora la estabilidad de las emulsiones aceite en agua (Gaonkar, 1991; Garti, 1999). Existen diversas mezclas de polisacáridos solubles en agua, hidrofílicos tales como goma arábiga, agar, alginato, carragenanos y quitina, cuyas suspensiones en agua pueden ser bastante viscosas e incluso gelar, pudiendo formar películas interfaciales viscosas alrededor de las gotas de aceite dispersas (Dickinson y Euston, 1991). Dichos compuestos son utilizados para estabilizar suspensiones, espumas y emulsiones en muchos alimentos y en diversos productos medicinales (Goff, 1997; Miner, 1993).

En cuanto al rol que desempeñan los hidrocoloides presentes en la fase acuosa de una emulsión O/W, en lo que se refiere a las características reológicas de la misma, es necesario considerar que la reología de una emulsión está gobernada por los siguientes factores:

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

Además, la viscosidad de una emulsión es directamente proporcional a la viscosidad de la fase continua. En consecuencia, cualquier alteración de la misma tendrá influencia en la reología de la emulsión (McKenna y Lyng 2003).

6. Objetivos

En virtud de lo expuesto, los objetivos del presente trabajo de Tesis Doctoral se detallan a continuación.

Objetivo general

- Estudiar las características fisicoquímicas y funcionales de subproductos de semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) y evaluar su potencial aplicación en la industria alimentaria

Objetivos específicos

- Estudiar las propiedades fisicoquímicas y funcionales de harinas residuales obtenidas a partir de diferentes procesos de extracción de aceite de semillas de chía (prensado en frío y extracción sólido-líquido)
- Obtener fracciones ricas en fibra y en proteínas a partir de las harinas residuales de chía y evaluar sus propiedades fisicoquímicas y funcionales
- Evaluar el efecto de la separación del mucílago de las semillas de chía, previa a la extracción del aceite mediante hexano, sobre las características fisicoquímicas y funcionales de la harina residual
- Obtener el mucílago de chía (*Salvia hispanica* L.) mediante distintas metodologías y caracterizar sus propiedades fisicoquímicas y funcionales
- Investigar la aplicación potencial del mucílago de chía como agente espesante/estabilizante en la industria alimentaria

Obtención y caracterización de harinas, fracciones ricas en fibra y fracciones ricas en proteínas de chía

INTRODUCCIÓN

Según el sistema empleado para la extracción del aceite de semillas de oleaginosas, los residuos que se obtienen reciben diferentes denominaciones. Si bien no existe una uniformidad de criterios para designarlos, en algunos países se denominan genéricamente “tortas”. En general, se acostumbra a diferenciar los residuos según su contenido de aceite.

- **“Expeller”**: residuo obtenido en la extracción de aceite a presión continua. Las temperaturas a las que son sometidas las semillas se encuentran en el rango de 120-140°C. El “expeller” contiene hasta un 8% de aceite residual. Se caracteriza por presentar una forma achatada y tener una cara lisa y otra rugosa.

- **Harina**: es el residuo de la extracción de aceite por medio de solventes. La concentración del aceite residual puede alcanzar hasta un 2%.

Las harinas están constituidas por nutrientes, materiales inertes, agua (humedad) y en algunos casos de ciertos compuestos que afectan su calidad como fitatos, inhibidores de tripsina, saponinas y pigmentos (Pérez, 2001). En la **Tabla 2.1** se presenta la distribución de los componentes en la materia seca.

Tabla 2.1. Distribución de los componentes en la materia seca

Materia seca	Materia orgánica	Hidratos de carbono	Solubles	Almidón Azúcares	
			Estructurales	Celulosa Hemicelulosa Lignina	
		Compuestos nitrogenados		Nitrógeno no proteico Proteínas	
		Lípidos			
		Vitaminas			
		Otros	Ác. orgánicos, Ác. nucleicos, etc.		
		Materia inorgánica (cenizas)	Solubles en ácido (minerales) Insolubles en ácido (sílice)		

La materia seca se considera formada por el contenido celular y la pared celular (PC).

La primera estructura formada durante el desarrollo de la PC es la *laminilla media*, la cual se alcanza por deposición de sustancias pécticas (polisacáridos ricos en ácido galacturónico) principalmente como sales de calcio, responsables de la cohesión intercelular. Subyacente a la laminilla media, se forma la *pared celular primaria* la cual puede visualizarse como una matriz amorfa de sustancias pécticas (principalmente arabinogalactanos), hemicelulosas y glicoproteínas estrechamente asociadas a una red de microfibrillas de celulosa. Adyacentemente a la pared primaria se encuentra la *pared celular secundaria*, en cuya matriz están presentes una amplia variedad de polisacáridos -entre ellos xilanos- en una red de microfibrillas de celulosa orientadas formando láminas paralelas (Manrique y Lajolo, 2001). La PC se va lignificando a medida que madura. Los rumiantes pueden hacer un uso parcial de la PC debido a que su utilidad se halla limitada por el nivel de lignina, el cual impide el accionar de las enzimas de los microorganismos, tornándose menos digestible el alimento. Así, lo que no es PC, se trata de contenido celular, donde se encuentran las proteínas, azúcares, lípidos y ácidos orgánicos. A medida que la pared celular envejece, no sólo se lignifica sino que también disminuye el contenido celular, convirtiéndose en menos nutritiva (Pérez, 2001).

La PC está compuesta por tres componentes: celulosa, hemicelulosa y lignina.

La **celulosa** es el constituyente estructural mayoritario de la pared celular, representando entre 20-30% y 40-90% del peso seco de las paredes primaria y secundaria, respectivamente. Consiste en un polímero lineal de residuos de D-glucosa unidos por enlaces β (1 \rightarrow 4) que se asocian mediante puentes de hidrógeno formando agregados conocidos como *microfibrillas*. En la pared celular primaria esas microfibrillas de celulosa se encuentran entrelazadas al azar formando una estructura de red dispersa, mientras que en la pared celular secundaria se hallan frecuentemente posicionadas en planos paralelos adyacentes sin entrelazarse.

Las **hemicelulosas** comprenden un conjunto de polisacáridos estructurales que pueden variar ampliamente de acuerdo al tipo de célula del que provienen y que poseen la capacidad de ligarse a las fibrillas de celulosa mediante puentes de hidrógeno. Entre estos polisacáridos, se encuentran xilanos, glucanos, galactanos, mananos, fructanos, xiloglucanos, glucomananos y arabinoxilanos.

La **lignina** es un polímero de alto peso molecular derivado del fenilpropano. Si bien no es un carbohidrato, se estudia en conjunto con la celulosa y hemicelulosa por la relación que tiene con estos compuestos. La lignina da rigidez a las paredes celulares y la protege de los ataques de microorganismos.

La **Tabla 2.2** ejemplifica los conceptos expuestos sobre la composición de las partes que integran la materia seca y su disponibilidad nutritiva.

Tabla 2.2. Componentes de la materia seca y disponibilidad nutritiva¹

Fracción	Compuesto químico	Disponibilidad nutritiva	
		Rumiantes	No rumiantes
Contenido celular	Azúcares simples	Completa	Completa
	Almidón	Completa	Completa
	Pectina ²	Completa	Alta
	Lípidos	Alta	Alta
	Proteínas solubles	Alta	Alta
	Nitrógeno no proteico	Alta	Baja
	Otros (ác. orgánicos)	alta	Alta
Pared celular	SDA Hemicelulosa	Parcial	Baja
	Proteína insoluble	Parcial	Baja
	Celulosa	Parcial	Baja
	FDA Lignina	Indigestible	Indigestible
	Nitrógeno lignificado	Indigestible	indigestible

FDA: Fibra detergente ácido; SDA: Soluble detergente ácido

¹Aello y Di Marco (1997)

²La pectina es un componente de la pared celular que se solubiliza con el detergente neutro, por eso se incluye en el contenido celular

Después de la extracción del aceite de las semillas de chíá, se obtiene una harina con un contenido importante de fibra, proteínas y otros compuestos tales como flavonoles (miricetina, quercetina, kaempferol) y ácidos cinámicos (ácidos cafeico y clorogénico) con actividad antioxidante (Taga y col., 1984).

Para la obtención de productos con un elevado contenido de un componente en particular existen diversos métodos y procesos, los cuales pueden afectar las propiedades de la materia prima. En tratamientos por vía húmeda, un inconveniente es la pérdida de proteínas solubles (Bergthaller y col., 2001) así como las

modificaciones estructurales de algunos componentes, por ejemplo la pérdida de compuestos de naturaleza fenólica. Por otra parte, se ha empleado el fraccionamiento en seco en la obtención de almidones y proteínas de leguminosas (Otto y col., 1997). La principal ventaja de este fraccionamiento es la simplicidad del procesamiento, junto con la disminución o eliminación del uso de agua u otros disolventes, con la consecuente ventaja de no generar efluentes o residuos.

La búsqueda de fuentes con un contenido elevado de proteínas ha llevado a la elaboración de concentrados proteicos ($\approx 70\%$ base seca, b.s.); aislados proteicos ($> 90\%$ b.s.) y fracciones ricas en proteína (con un contenido superior a la harina integral) (Endres, 1989). En general, la separación de las proteínas se fundamenta en las diferencias que existen entre ellas, tales como: la masa molecular relativa, la carga relativa, la afinidad para con otras moléculas, el grado de solubilidad y el tamaño de las partículas (Mathews y Van Holde, 1990). Basándose en esta última característica, se puede emplear el método de la separación física para la obtención de una fracción rica en proteínas, la que puede llevarse a cabo mediante operaciones de fluidización o de tamizado de la harina (Endres, 1989).

La necesidad de contar con nuevas fuentes de productos ricos en proteínas o en fibra radica en los beneficios asociados a las mismas. Así, suplementos con un alto contenido en fibra son recomendados en el tratamiento del síndrome de colon irritable para el mejoramiento del tránsito intestinal (Singh y col., 2008). Además, se ha encontrado que los productos ricos en fibra y en proteínas ayudan a la reducción de 12,8% de los niveles plasmáticos de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de 12,3% de glucosa (Aller y col., 2004).

En virtud de lo expuesto, en este capítulo se llevo a cabo la obtención y caracterización -físicoquímica y funcional- de las harinas residuales del proceso de extracción de aceite de semillas de chía (prensado en frío y extracción sólido-líquido), así como de las fracciones ricas en fibra y en proteínas obtenidas mediante la tamización de dichas harinas. Por otra parte, se caracteriza la harina obtenida como subproducto del proceso de extracción previa del mucílago de las semillas de chía.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Material vegetal

Las semillas de chía utilizadas fueron provistas por la firma comercial Nutracéutica Sturla SRL., Argentina (20 kg), provenientes de cultivos realizados en la provincia de Salta (25° S y 65,5° O). Las mismas se conservaron en envases plásticos cerrados herméticamente a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de la realización de las experiencias.

2. Obtención de las harinas residuales

Las harinas residuales fueron obtenidas como subproductos de diferentes procesos de extracción de aceite: extracción por prensado y extracción sólido-líquido (extracción con solvente).

2.1. Extracción por prensado

La harina fue obtenida luego de la extracción del aceite de semillas de chía mediante una prensa de tornillo helicoidal a escala piloto marca Komet (Modelo CA 59 G IBG Monforts, Mönchengladbach, Alemania) (**Figura 2.1**). Antes de la extracción del aceite, el contenido de humedad de las semillas fue ajustado a 10% con el objetivo de aumentar el rendimiento de aceite y evitar problemas de atoramiento durante el proceso de prensado. Este contenido de humedad fue seleccionado debido a que se obtuvo la máxima capacidad de prensado, definiéndose la misma como el peso de aceite extraído en un tiempo determinado. La humidificación se llevó a cabo según la metodología propuesta por Singh y Bargale (2000). El agua se agregó a la muestra mediante aspersion. Luego se colocó en un recipiente metálico con cierre hermético y se almacenó durante 48 h hasta alcanzar el equilibrio. El recipiente fue sometido a agitación, a intervalos regulares de tiempo, para asegurar una distribución uniforme de la humedad en el material.

La extracción del aceite se llevó a cabo en una sola etapa a 25-30°C. Las semillas fueron suministradas a la prensa desde la tolva por gravedad, según la demanda. La longitud total y efectiva, así como el diámetro interno del barral de la prensa fueron de 7, 3 y 3,5 cm, respectivamente. La longitud y el diámetro del tornillo fueron de 15 y 3 cm, respectivamente. Se utilizó una restricción de 5 mm y una

velocidad de prensado de 20 rpm, la cual fue establecida mediante ensayos preliminares. La temperatura de salida de la torta o residuo de extracción fue controlada con un termómetro digital colocado en el orificio de salida (reducción) de la prensa. La cantidad de harina obtenida fue determinada gravimétricamente y expresada como porcentaje en peso (g harina/100 g semilla, b.s.). Dicha harina se denominó Hp.

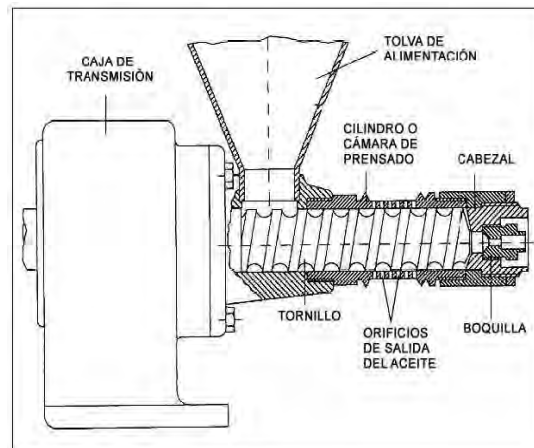


Figura 2.1. Esquema de la prensa de tornillo

2.2. Extracción con solvente

La harina de chía se obtuvo luego de la extracción del aceite en un equipo Soxhlet, empleando como disolvente *n*-hexano (grado analítico, CAS N°: 110-54-3, valoración: mínimo 96%, punto de ebullición: 69°C) siguiendo la norma IUPAC 1.122 (IUPAC, 1992), de semillas de chía previamente trituradas en un molinillo de laboratorio de cuchilla horizontal (Moulinex, Argentina) durante 60 s. Para ello, se dispusieron aproximadamente 40 g de las muestras trituradas en cartuchos de papel Whatman N°3. El proceso se efectuó durante 8 h a una temperatura de 80°C y a presión atmosférica. Por último, la harina se desolventizó para eliminar el solvente residual. El contenido de harina se determinó gravimétricamente y se expresó como porcentaje en masa de la semilla triturada libre de humedad (g harina/100 g semilla, b.s. y desgrasada), denominándose dicha harina Hs.

2.3. Harina sin mucílago

Se denominó harina sin mucílago al residuo obtenido luego del proceso de extracción de aceite en equipo Soxhlet (sección 2.2.) a partir de semillas de chía a las cuales previamente se les extrajo el mucílago. Dicha harina se denominó Hsm.

2.3.1. Extracción del mucílago de chía

El mucílago se obtuvo remojando las semillas enteras de chía en agua (1:10 p/v), durante 4 h, a temperatura ambiente y con agitación manual durante los primeros 15 min para lograr la completa hidratación de las semillas y evitar su aglomeración. Posteriormente, dicha mezcla se distribuyó en bandejas de plástico (9 x 5 x 15 cm) en una capa de 1 cm de espesor, se cubrieron con papel aluminio, se congelaron a -20°C durante 96 h y se liofilizaron (-50°C, 0,033 mbar (25 µm Hg), 4 d) (Liofilizador RIFICOR, Argentina). Por último, el mucílago seco se separó de las semillas mediante un proceso de tamizado (agitador Zonytest, Argentina), malla N° 20 ASTM (840 µm), en tres periodos de 15 min cada uno, previo a la separación manual de la mezcla de semillas y de mucílago liofilizado.

3. Obtención de las fracciones ricas en fibra y de las fracciones ricas en proteínas

Las fracciones ricas en fibra y en proteínas se obtuvieron mediante un fraccionamiento vía seca de las harinas residuales de extracción (Hs y Hp, respectivamente), según la metodología propuesta por Vázquez-Ovando y col. (2010). Las harinas se tamizaron en un agitador Zonytest, a través de una malla N° 100 ASTM (149 µm) durante 20 min. La fracción retenida sobre el tamiz se consideró rica en fibra, denominándose FRFs (s-extracción solvente) y FRFp (p-extracción prensado), mientras que la fracción que pasó por el tamiz se consideró rica en proteínas, denominándose FRPs (s-extracción solvente) y FRPp (p-extracción prensado).

4. Almacenamiento de las harinas, fracciones ricas en fibra y fracciones ricas en proteínas

Los subproductos de chía obtenidos luego de la extracción con solventes fueron almacenados en recipientes de plástico cerrados herméticamente a temperatura ambiente, mientras que los correspondientes a la extracción por prensado se almacenaron en recipientes de vidrio a 5±1°C hasta su posterior utilización.

5. Caracterización de las harinas, fracciones ricas en fibra y fracciones ricas en proteínas

5.1. Propiedades fisicoquímicas

5.1.1. Distribución de tamaño de partículas

El análisis de tamaño de partículas se realizó en un agitador Zonytest (Argentina) equipado con una serie de tamices (ASTM) comprendidos entre los números 10 y 325, los que fueron sometidos a vibración continua durante 60 min. El material retenido en cada tamiz se pesó, calculándose el porcentaje de cada fracción.

5.1.2. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad fue evaluado según la técnica de la AOCS (1998). Para ello se distribuyó uniformemente 1 g de harina en cápsulas de aluminio, las cuales fueron secadas en una estufa de circulación forzada durante 2 h a 130°C. La muestra se llevó a temperatura ambiente en un desecador antes de determinar su peso. El procedimiento se realizó por triplicado. El porcentaje de humedad en base seca se calculó según la ecuación:

$$H^{\circ}(\text{b.s.}) = \frac{P_h - P_s}{P_s} \times 100 \quad \text{Ec. 2.1}$$

donde:

P_h : peso de la muestra antes del calentamiento (g)

P_s : peso de la muestra después del calentamiento (g)

5.1.3. Determinación del contenido de proteínas

El contenido de **proteína cruda** se determinó utilizando el método de Kjeldahl (AOAC, 1990), empleando un digestor y destilador Büchi (Suiza).

Digestión

La muestra (1 g) se colocó en el tubo digestor junto con 10 g de catalizador, el cual consistió en una mezcla al 7% de $\text{SO}_4\text{Cu}:\text{SO}_4\text{K}_2$. Seguidamente, se añadieron 25 mL de H_2SO_4 concentrado y se procedió al calentamiento. Se preparó en forma paralela un blanco. Una vez que la solución se hubo aclarado, se prosiguió el

calentamiento por otros 30 min, con lo cual se aseguró la completa oxidación de la materia orgánica. Se retiró y se dejó enfriar. Luego se agregaron 100 mL de agua.

Destilación

Se preparó una solución de H_3BO_3 al 4% a la que se añadió una solución indicadora. Esta última se preparó con 0,02 g de rojo de metilo y 0,04 g de verde de bromocresol disueltos en 19 mL de alcohol y 1 mL de agua destilada. La proporción de solución indicadora fue de 5 mL por litro de H_3BO_3 al 4%. Se colocaron 50 mL de esta solución ácida preparada en un erlenmeyer de 250 mL el que se situó a la salida del condensador para recoger el amonio destilado. Se añadió NaOH al 30% a la muestra digerida para liberar el amonio, hasta que la solución tomó una coloración azul intensa. Esta coloración se debe a la formación de un complejo entre iones amonio y cobre e indica que la cantidad de NaOH fue suficiente para neutralizar el exceso de H_2SO_4 .

La destilación se llevó a cabo hasta recoger aproximadamente 100 mL de líquido en el erlenmeyer colector. A fin de determinar el amonio absorbido por el H_3BO_3 se tituló el destilado con HCl 0,1 N.

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{[(V_1 - V_B) \times N_{\text{HCl}}] \times 0,014}{w_1} \times 100 \quad \text{Ec. 2.2}$$

donde:

V_1 : volumen de HCl consumido en la titulación de la muestra (mL)

V_B : volumen de HCl consumido en la titulación del blanco (mL)

w_1 : peso de la muestra, expresado en base seca (g)

N_{HCl} : Normalidad del ácido sulfúrico utilizado en la titulación

A fin de estimar el porcentaje de proteínas se multiplicó el % Nitrógeno por un factor $F = 6,25$.

5.1.4. Determinación de lípidos residuales

Los **lípidos residuales** se estimaron utilizando *n*-hexano (grado analítico, CAS N°110–54–3, valoración: mínimo 96%, punto de ebullición: 69°C) como solvente en un equipo Soxhlet con ciclos térmicos a 80°C, 8 h siguiendo la norma IUPAC 1.122 (IUPAC, 1992). La harina residual fue molida utilizando un molinillo de cuchillas de laboratorio (Moulinex, cuchillas horizontales, Argentina) durante 60 s. El

solvente fue removido del aceite utilizando un rotavapor R-114 (Büchi, Suiza) a 40°C a presión reducida bajo una corriente de nitrógeno. El contenido de aceite fue determinado gravimétricamente y expresado como porcentaje en peso sobre base seca (% , b.s.).

5.1.5. Determinación del contenido de cenizas

La determinación de **cenizas** se basó en la técnica AOCS Ba-49 (1998). La muestra (2 g) se calentó sobre tela metálica con mechero hasta residuo carbonoso y se llevó a mufla a 550°C hasta obtener un residuo blanquecino (aproximadamente 2 h). El contenido de cenizas se expresó como porcentaje en peso de harina seca.

$$\% \text{ cenizas} = \frac{\text{peso de la muestra calcinada}}{\text{peso de la muestra seca}} \times 100 \quad \text{Ec. 2.3}$$

5.1.6. Determinación de fibra cruda

La fibra cruda (FC) permite estimar el contenido de los carbohidratos estructurales. Una porción de la celulosa y hemicelulosa se disuelve así como la mayor parte de la lignina, mientras que algunos compuestos nitrogenados pueden quedar retenidos en el residuo. Este método indica que a valores mayores de FC menos digestible es una muestra.

La muestra exenta de grasa se sometió a dos procesos sucesivos de hidrólisis con ácido sulfúrico 0,255 N e hidróxido de sodio 0,313N, ambas en caliente durante 30 min. El residuo menos el contenido de cenizas se considera fibra (AOCS Ba 6-84, 1998).

Procedimiento

Se pesaron aproximadamente 2 g de muestra (w_1) y se transfirieron a un erlenmeyer de 1 L con cuello esmerilado. Se adicionaron 200 mL de H_2SO_4 0,255 N (1,25% p/v) (calentado previamente hasta llegar a ebullición), unas gotas de alcohol amílico como antiespumante y algunas perlas de vidrio. El dispositivo se conectó a un refrigerante y se calentó a ebullición suavemente durante exactamente 30 min, agitando periódicamente para mezclar el contenido y desprender las partículas de las paredes. Posteriormente, se filtró hacia otro recipiente a través de un embudo preparado con una malla metálica (Nº 200), se lavó el residuo varias veces con agua

hirviendo para eliminar el ácido y se arrastró la muestra hacia otro erlenmeyer de 1 L con cuello esmerilado y se le adicionó 200 mL de NaOH 0,313 N (1,25% p/v), que había sido previamente calentado hasta el punto de ebullición. Nuevamente se conectó cada erlenmeyer con su refrigerante y se llevó a ebullición durante exactamente 30 min tomando las mismas precauciones que en el tratamiento anterior. Luego se filtró a través de un crisol Gooch N°1, el que fue previamente calcinado en mufla a 600°C durante aproximadamente 2 h. El residuo se lavó varias veces con agua destilada en estado de ebullición, luego con 15 mL de alcohol etílico al 96% y se filtró a sequedad.

El crisol con el residuo se colocó en una estufa a 105°C hasta peso constante, se dejó enfriar dentro de un desecador y se pesó (w_2). Luego, se incineró en una mufla a 600°C durante 1 h, nuevamente se dejó enfriar dentro de un desecador y se pesó (w_3).

El contenido de fibra cruda se determinó como:

$$\% \text{FC} = \frac{(w_2 - w_3)}{w_1} \times 100 \quad \text{Ec. 2.4}$$

donde:

w_1 : peso de la muestra inicial, expresada en base seca (g)

w_2 : peso del residuo insoluble seco (g)

w_3 : peso de la muestra calcinada (g)

5.1.7. Esquema de análisis de Van Soest

Este método divide a la célula vegetal en dos partes (Guiragossian y col., 1977; AOAC, 1990):

- **contenido celular**, altamente digestible
- **pared celular**, parcialmente digestible y dependiente del grado de lignificación

El método de análisis separa la pared del contenido celular y sus componentes: celulosa, hemicelulosa y lignina. Para tal fin, la técnica hace uso de detergentes ácidos y neutros. En la **Figura 2.2** se muestra la separación de las diferentes fracciones.

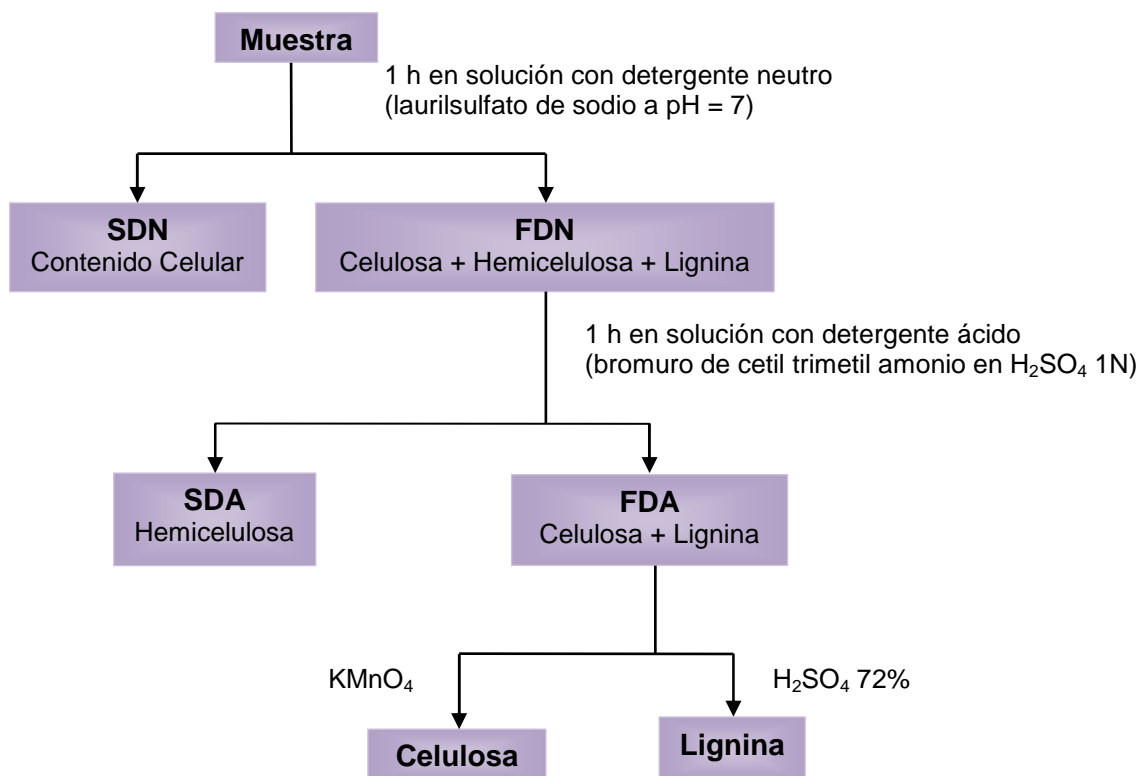


Figura 2.2. Esquema del método de análisis de Van Soest. SDN: soluble en detergente neutro; FDN: fibra detergente neutro; SDA: soluble en detergente ácido; FDA: fibra detergente ácido

De esta manera, se tiene el siguiente balance:

Materia seca (MS) = SDN (contenido celular) + FDN (pared celular)

Pared celular (FDN) = SDA (hemicelulosa) + FDA (celulosa + lignina)

Determinación de Fibra Detergente Neutro

Este análisis permite evaluar de modo rápido el contenido de fibra total en alimentos fibrosos (Guiragossian y col., 1977).

Solución de detergente neutro

A cada litro de agua destilada se agregaron 30 g de laurilsulfato de sodio; 18,61 g de EDTA; 4,56 g de fosfato de hidrógeno disódico; 6,81 g de borato de sodio decahidratado y 10 mL de etilenglicol (2-etoxietanol). Se ajustó el pH en el rango 6,9-7,0.

Procedimiento

La muestra se colocó en un erlenmeyer de 500 mL con boca esmerilada. Se añadieron 100 mL de solución de detergente neutro. Se conectó el refrigerante y se colocó sobre la placa calefactora. Se calentó a reflujo durante 1 h.

El contenido del erlenmeyer se filtró a través de un crisol Gooch de porosidad N°1, previamente tarado, empleando vacío. El residuo se enjuagó con aproximadamente 300 mL de agua caliente (80°C) y finalmente con 10-15 mL de acetona.

El crisol con su contenido se colocó en estufa a 105°C durante toda la noche. Se dejó enfriar en un desecador y se pesó.

$$\% \text{ FDN} = \frac{(w_2 - w_1)}{w_3} \times 100 \quad \text{Ec. 2.5}$$

donde:

w_1 : peso del crisol (g)

w_2 : peso del crisol y el residuo (g)

w_3 : peso de la muestra en base seca (g)

Determinación de Fibra Detergente Ácido*Solución de detergente ácido*

Se añadieron 20 g de bromuro de etiltrimetilamonio a 1 L de H₂SO₄ 1N

Procedimiento

La muestra se colocó en un erlenmeyer de boca esmerilada junto con 100 mL de solución detergente ácido. Se conectó el refrigerante y se colocó en la placa calefactora. La temperatura se ajustó de manera tal de lograr la ebullición de 3-5 min. Luego, se redujo el calentamiento y la ebullición se prosiguió por 1 h.

Los sólidos del erlenmeyer se filtraron en un crisol Gooch de porosidad N°1, previamente tarado, a presión reducida. Se lavó varias veces con agua caliente (80-90°C), posteriormente, con acetona hasta que el líquido de lavado fuera incoloro. El último enjuague se realizó con hexano. El crisol con el residuo se colocó en una estufa a 105°C durante toda la noche, se enfrió en desecador y se pesó. El residuo se reservó para determinar el contenido de lignina.

$$\% \text{FDA} = \frac{(w_2 - w_1)}{w_3} \times 100 \quad \text{Ec. 2.6}$$

donde:

w_1 : peso del crisol (g)

w_2 : peso del crisol y el residuo (g)

w_3 : peso de la muestra en base seca (g)

Determinación de Lignina

En la determinación de la lignina se utiliza a la fibra detergente ácido como paso previo al procedimiento. El detergente remueve la proteína y otros materiales solubles en ácido, los que pueden interferir con la determinación de lignina. El principio del procedimiento está basado en que la fibra detergente ácido está constituida principalmente por lignocelulosa, a partir de la cual se disuelve la celulosa con la solución de H_2SO_4 72%. El residuo remanente está constituido por lignina y materiales insolubles en ácido.

Por ello, el residuo proveniente de la determinación de la fibra detergente ácido se colocó en un crisol dentro de un cristizador con la solución de H_2SO_4 72% fría a una temperatura de 20-23°C. Luego de 3 h, se procedió al filtrado bajo vacío y enjuague del residuo con agua caliente (80-90°C) hasta que el líquido de lavado estuviese libre de ácido. Se llevó el crisol con el residuo a una estufa a 105°C durante toda la noche. Luego, se lo calcinó en una mufla a 500°C, 3 h, se enfrió y se pesó.

$$\% \text{Lignina} = \frac{(w_2 - w_1)}{w_3} \times 100 \quad \text{Ec. 2.7}$$

donde:

w_1 : peso del crisol (g)

w_2 : peso del crisol y el residuo (g)

w_3 : peso de la muestra en base seca (g)

5.1.8. Determinación del contenido de fibra dietética total (FDT), soluble (FDS) e insoluble (FDI)

El contenido de fibra dietética total (FDT), fibra dietética soluble (FDS) e insoluble (FDI) se determinó utilizando el método enzimático gravimétrico de Prosky y col., 1988.

Fibra dietética total

Esta determinación se realizó utilizando cuatro crisoles para fibra (Gooch N°2) los cuales fueron calcinados en una mufla a 550°C durante 45 min para eliminar todas las impurezas. Posteriormente, se agregaron 0,5 g de celite (Sigma C-8656) y 10 mL de etanol al 78% el cual se eliminó mediante vacío para formar una capa homogénea de celite. Se colocaron en estufa a 130°C durante 90 min hasta alcanzar peso constante, se dejaron enfriar en desecador y se pesaron.

Muestras de 1 g (b.s.), se transfirieron a erlenmeyers de 500 mL y se les adicionaron 50 mL de buffer fosfato 0,05 N pH 6 (se pesaron 9,6593 g de NaH_2PO_4 y 1,4 g de Na_2HPO_4 , se disolvieron con 700 mL de agua destilada, se ajustó el pH a 6 con HCl 0,325 N o NaOH 0,275 N y se aforó a 1L). Posteriormente, los erlenmeyers se colocaron durante 10 min en un baño (R76, USA) con agua a 100°C y agitación constante a 60 rpm, para atemperar la muestra. Seguidamente, se les añadió 0,1 mL de la enzima de α -amilasa termoestable (Sigma A-3306), tapándolos rápidamente con papel aluminio y agitándolos durante 15 min a la misma velocidad. Trascurrido el tiempo, los erlenmeyers se retiraron del baño y se enfriaron bajo canilla hasta temperatura ambiente, ajustándose el pH a 7,5.

A continuación, los erlenmeyers se colocaron en un baño a 60°C durante 10 min y se les agregó 0,1 mL de proteasa (Sigma P-3910, 25 mg de proteasa disuelta en 0,5 mL de buffer fosfato a pH 6), se taparon y agitaron durante 30 min a 60 rpm. Luego se retiraron del baño, se enfriaron a temperatura ambiente y se ajustó el pH a 4,0. Seguidamente se llevaron al baño de agua por 10 min hasta que alcanzaron una temperatura de 60°C y se les adicionó 0,3 mL de amiloglucosidasa (Sigma A-9913), incubándose durante 30 min con agitación constante a 60 rpm. Al término de ese tiempo, a cada erlenmeyer se le agregó etanol al 95% previamente calentado a 60°C, en una relación 1:4 v/v (aproximadamente 300 mL a cada matraz).

El contenido de cada erlenmeyer se filtró bajo vacío en cada uno de los crisoles Gooch con el celite. El residuo depositado en los erlenmeyers se lavó 3

veces con 20 mL de etanol al 78%, 2 veces con 10 mL de etanol al 95% y 2 veces con 10 mL de acetona, para precipitar los polisacáridos solubles. Los crisoles con el residuo se colocaron en una estufa de convección de aire a 105°C durante 12 h, se enfriaron en desecador y se pesaron (P_1). Cabe destacar que esta determinación se realizó por cuadruplicado. En los residuos de la muestra de dos crisoles se determinó el contenido de proteínas (Nitrógeno x 6,25) mientras que los correspondientes a los otros dos crisoles se incineraron durante 4 h a 550°C para determinar el contenido de cenizas.

La determinación del porcentaje de FDT se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{FDT} = \frac{(P_1 - P_2 - P_3)}{W} \times 100 \quad \text{Ec 2.8}$$

donde:

P_1 : peso del residuo insoluble (g)

P_2 : peso de las proteínas (g)

P_3 : peso de las cenizas (g)

W: peso de la muestra expresada en base seca (g)

Fibra dietética insoluble

Se realizó siguiendo la misma técnica que para FDT, sin el tratamiento con etanol al 95% en relación 1:4 (Prosky y col., 1988). Los cálculos se realizaron en forma similar a los descriptos para la determinación de FDT.

Fibra dietética soluble

Se obtuvo por diferencia entre la fibra dietética total y la fracción insoluble (Prosky y col., 1988).

$$\% \text{FDS} = \% \text{FDT} - \% \text{FDI} \quad \text{Ec. 2.9}$$

5.1.9. Minerales

La cuantificación del contenido de minerales tales como calcio, magnesio, hierro, cobre y zinc fue realizada mediante espectroscopía de absorción atómica utilizando un espectrómetro GBC 902 Atomic Absorption Spectrometer (GBC Scientific Equipment, Australia). Las muestras fueron mineralizadas (550°C, 16 h)

hasta obtención de cenizas blancas. Las cenizas fueron diluidas en HCl concentrado y filtradas para llevarlas a medio líquido. Las muestras se analizaron por triplicado y los resultados fueron expresados en mg/kg de muestra (b.s.).

5.1.10. Contenido de fósforo

El contenido de fósforo total fue determinado mediante el método colorimétrico siguiendo la metodología de la AOCS Ca12-55 [1] (1998).

Para ello se pesaron 3 g de muestra, los cuales fueron calcinados a 650°C en presencia de óxido de magnesio y las cenizas fueron retomadas con ácido clorhídrico. Los iones ortofosfato presentes reaccionaron con el molibdato de amonio para formar un compuesto de fosfomolibdato. Este compuesto se redujo a azul de molibdeno con SnCl₂, habiéndose obtenido previamente una curva de calibración a partir de una solución diluida de fósforo a distintas concentraciones (0-2,5 µg/mL). La medición espectrofotométrica del complejo azul formado se leyó a 650 nm. La cantidad de fósforo (P) en la muestra (mg/kg) se calculó a partir del valor hallado mediante la curva de calibración (A).

$$P = \frac{A}{PM}$$

Ec. 2.10

donde:

A: cantidad de P determinado de la curva de calibración (µg)

PM: peso de la muestra expresada en base seca (g)

5.1.11. Componentes antioxidantes

Tocoferoles

El contenido de tocoferoles se determinó sobre la fracción lipídica de las harinas (Hs, Hp), de las fracciones fibrosas (FRFs, FRFp) y de las fracciones ricas en proteínas (FRPs, FRPp), obtenida mediante la extracción con solvente (*n*-hexano, Soxhlet, 80°C, 8 h (IUPAC, 1992).

El contenido de tocoferoles se determinó mediante una técnica cromatográfica basada en las normas IUPAC 2.432 (1992) y AOCS Ce8-89 (1998). La muestra de aceite se disolvió en hexano grado HPLC para su posterior separación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detector de fluorescencia. La

concentración de tocoferoles se determinó por el método de estándar externo, utilizando el α -tocoferol como referencia y se expresó en μg de tocoferol/g aceite.

La descripción del equipo y condiciones de trabajo se especifican en la **Tabla 2.3**. Los parámetros de trabajo se ajustaron con una solución de aceite de soja y de germen de trigo (1 g de cada uno de los aceites diluidos en 25 mL de fase móvil). Se identificaron los picos correspondientes a los tocoferoles en función de los tiempos de retención relativos y de patrones (α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol).

Tabla 2.3. Condiciones operativas empleadas en la determinación de tocoferoles por cromatografía líquida de alta resolución

Cromatógrafo	HPLC Hewlett Packard Serie 1050
Columna	Lichrosorb Si 60; 25 x 0,4 cm, 5 μm de tamaño de partícula
Detector	Fluorescencia Agilent 1100 Series; λ excitación: 290 nm; λ de emisión: 330 nm
Fase móvil	Isopropanol:hexano, 0,5:99,5 (v/v), filtrado y desgasificado
Velocidad de flujo	1,5 mL/min
Volumen de inyección	20 μl

Curva de calibración

Para la obtención de la curva de calibración se utilizó un estándar de α -tocoferol (Sigma T#3251, 95% de pureza), preparándose una solución de 10 mg de este compuesto diluidos en 100 mL de *n*-hexano. A fin de determinar la concentración real de esta solución, se tomó una alícuota de 10 mL y se colocó en un frasco color ámbar. El hexano se evaporó con una corriente de nitrógeno y al residuo resultante se le añadió 10 mL de metanol. Se midió la absorbancia a 292 nm en un espectrofotómetro UV. El valor obtenido se dividió por 0,0076, obteniéndose la concentración de tocoferoles en $\mu\text{g/mL}$. A partir de la solución estándar de α -tocoferol se prepararon diluciones de diferentes concentraciones para realizar la curva de calibración.

Preparación y análisis de las muestras

Las muestras fueron preparadas en el momento de ser utilizadas para su

análisis. Se pesaron aproximadamente 0,5 g de aceite en un matraz aforado de 5 mL y se llevó a volumen con hexano de calidad HPLC, homogeneizándose la solución mediante un baño ultrasónico. Los recipientes fueron envueltos con papel aluminio a fin de proteger las muestras de la luz.

Los resultados del análisis permitieron cuantificar el contenido de los tocoferoles presentes en el aceite. Este valor se expresó como μg de tocoferol/g de aceite, siendo calculado a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{Concentración de tocoferol } (\mu\text{g/g}) = [\text{Toc}] \times \frac{V}{m} \quad \text{Ec. 2.11}$$

donde:

[Toc]: concentración de tocoferol calculado a partir de la curva de calibración ($\mu\text{g/mL}$)

V: volumen de la muestra (mL)

M: peso del aceite (g)

Antioxidantes fenólicos

Los compuestos polifenólicos se extrajeron después de someter a la muestra (1 g) a tres extracciones con 10 mL de una mezcla de ácido acético 10%: acetonitrilo cada vez, en una proporción de 50:50, 50:50 y 30:70 agitando primero en vortex durante 30 s y luego en un agitador rotativo (variador electrónico de velocidad 220 v) durante 15 min. Posteriormente las muestras se centrifugaron a 498xg durante 10 min (centrifuga Sorwall Instruments RC3C, USA). La fase acuosa se concentró hasta sequedad en un evaporador centrífugo (tipo speed-vac) Heto VR-1. El residuo se disolvió en 500 μL acetonitrilo: ácido acético 10% (50:50) y se analizó por HPLC-MS (Hewlett Packard 1050, USA).

Los análisis fueron llevados a cabo en un cromatógrafo Surveyor Plus, provisto de bomba cuaternaria y autocargador, acoplado a una trampa lineal de iones LTQ XL (Thermo Fisher Scientific, USA). Las separaciones cromatográficas se realizaron utilizando una columna C_{18} (150 mm x 2 mm x 1 mm; 335 μm) XTerra (Waters) y una columna de guardia C_{18} (4 mm x 2 mm) (Phenomenex); la fase móvil consistió en 0,1% de ácido acético en acetonitrilo:agua (95:5) (solvente A) y 0,1% ácido acético en agua (solvente B), a 300 $\mu\text{L/min}$ y 20°C. Se aplicó el siguiente gradiente: el porcentaje de solvente A se aumentó de 10 a 50% en los primeros 5 min, luego fue mantenido hasta $t = 12$ min; posteriormente, se disminuyó a 10% en

t = 13 min, manteniéndose constante durante los últimos 4 min próximos a la inyección. El volumen de inyección fue de 20 μ L. Todos los ensayos fueron realizados por duplicado.

La detección fue realizada en un detector de masas utilizando una sonda de ionización química a presión atmosférica (APCI) operando en modo ion positivo. Los polifenoles formaron $[M+H]^+$, los cuales fueron detectados de acuerdo a las relaciones masa/carga que se indican en la **Tabla 2.4**.

Tabla 2.4. Relación masa/carga (m/z) para la detección de los compuestos polifenólicos presentes en harina de chíá

Compuesto polifenólico	Relación m/z
Ácido cafeico	181
Kaempferol	287
Quercetina	303
Miricetina	319
Ácido clorogénico	355

La miricetina fue utilizada para crear el archivo de ajuste para el método instrumental. La cuantificación de las muestras fue realizada mediante el método de estándar externo para polifenoles en el rango de 100-3 μ M (Taga y col., 1984; de Rijke y col., 2006).

5.1.12. Actividad antioxidante

Preparación de los extractos

La extracción de los componentes fenólicos se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Re y col., (1999), con algunas modificaciones. Se pesó 1 g de muestra y se le adicionó 10 mL de etanol. Esta mezcla se homogeneizó en vortex durante 2 min, se dejó decantar y se filtró (papel nylon 0,45 μ m). El sobrenadante se transfirió a un balón y se evaporó en equipo rotavapor (Buchi R-124, Alemania) a fin de concentrar la muestra. Luego se redisolvió en 1 mL de etanol.

Ensayo de decoloración del radical catiónico ABTS

La actividad antioxidante se determinó mediante un ensayo de decoloración del radical catiónico cromóforo 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico ABTS $^{\bullet+}$) según la metodología desarrollada por Re y col., (1999). Este ensayo se fundamenta

en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^{•+}, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El radical ABTS^{•+} fue producido tras incubar en la oscuridad una disolución acuosa de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM) durante 16 h, a 25°C. Una vez formado el radical ABTS^{•+} se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 (±0,05) a 734 nm (longitud de onda de máxima absorción), utilizando un espectrofotómetro Hitachi U1900 (Japón). A 1 mL de dilución de radical ABTS^{•+} se le añadieron 100 µL del extracto de la muestra, se agitó y midió la absorbancia a 734 nm exactamente luego de 6 min (tiempo de reacción para que la reducción porcentual de la absorbancia se encuentre entre 20 y 80%, para que la medición sea válida). La disminución de la coloración (azul) fue expresada como el porcentaje de inhibición de ABTS, la cual es comparada con una curva patrón de un antioxidante estándar de referencia. Para conocer la actividad antioxidante de los extractos se obtuvieron curvas de calibración utilizando ácido clorogénico como antioxidante de referencia en un rango de concentraciones de 0,2 a 4,2 mM/mL.

Los resultados se expresaron como µmol/L de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetra-metil-croman-2-carboxílico), equivalente por g de muestra, considerando que el ácido clorogénico reduce 2 veces más la absorbancia que el Trolox (Walker y Everette, 2009).

5.2. Propiedades funcionales

5.2.1. Capacidad de retención de agua (CRA)

La capacidad de retención de agua se determinó siguiendo la técnica de Chau y col., (1997). En un tubo de centrífuga de 50 mL de capacidad se adicionaron 10 mL de agua destilada a 1 g de muestra (b.s). Esta suspensión se homogeneizó en vortex durante 1 min y se centrifugó a 2200xg durante 30 min (centrífuga refrigerada Rolco CR-5850, radio 22cm, Argentina). Se retiró el agua sobrenadante y se pesó la suspensión fibrosa, determinando la ganancia en peso de agua.

La capacidad de retención de agua fue expresada como los gramos de agua retenidos por gramo de muestra (b.s.).

$$CRA = \frac{(\text{peso final} - \text{peso inicial})}{\text{peso inicial}}$$

Ec. 2.12

5.2.2. Capacidad de retención de aceite (CRa)

La capacidad de retención de aceite se determinó según la técnica de Chau y col., (1997). Se adicionaron 10 mL de aceite refinado de maíz a 1 g de muestra (b.s.). Esta suspensión se homogeneizó en vortex durante 1 min y se centrifugó a 2200xg durante 30 min (centrífuga refrigerada Rolco CR-5850, radio 22cm, Argentina). Se retiró el aceite sobrenadante y se pesó la suspensión fibrosa, determinando así la ganancia en peso de aceite.

La capacidad de retención de aceite fue expresada como los gramos de aceite retenidos por gramo de muestra (b.s.). La densidad del aceite de maíz fue 0,92 g/mL.

$$CRa = \frac{(\text{peso final} - \text{peso inicial})}{\text{peso inicial}} \quad \text{Ec. 2.13}$$

5.2.3. Capacidad de absorción de agua (CAb)

La capacidad de absorción de agua se realizó según el método 88-04 propuesto por la AACCC (1984).

En primer lugar se determinó la CAb aproximada. Para ello, se pesaron 2 g de muestra (b.s.), se le adicionó agua destilada hasta la saturación (aprox. 35 mL), se homogeneizó en vortex durante aproximadamente 1 min, se centrifugó a 2000xg durante 10 min, para luego retirar el exceso de agua y pesar. La CAb aproximada se calculó de la siguiente manera:

$$CAb_{\text{aprox.}} = \frac{(\text{peso final} - \text{peso inicial})}{\text{peso inicial}} \quad \text{Ec. 2.14}$$

Con el valor de la CAb aproximada se calculó el peso de la muestra para la determinación, empleando la siguiente fórmula:

$$\text{peso de muestra} = \frac{15}{(CAb_{\text{aprox.}} + 1)} \quad \text{Ec. 2.15}$$

Posteriormente, se determinó la cantidad de agua necesaria para completar a 15 g el peso de la muestra utilizada. Dicho cálculo se realizó restando a 15 el peso

de la muestra determinado previamente. El resultado obtenido fue la cantidad de agua adicionada a la muestra para completar un peso de 15 g.

Para determinar la CAb se colocó la muestra en cuatro tubos de centrifuga adicionando 1,5 y 0,5 mL de agua destilada por encima y por debajo de lo determinado, se homogeneizó bien y centrifugó a 2000xg por 10 min, se retiró el sobrenadante y se pesó. Se calcularon los gramos de agua absorbidos en cada tubo para obtener un promedio. La CAb de la muestra se calculó de la siguiente manera:

$$CAb = \frac{\text{promedio de agua absorbida(g)}}{\text{peso de muestra(g)}} \quad \text{Ec. 2.16}$$

5.2.4. Capacidad de adsorción de agua (CA_d)

La capacidad de adsorción de agua se determinó siguiendo la técnica de Chen y col., (1984). Se pesó 1 g de muestra (b.s.) y se colocó en un microambiente de 98% de humedad relativa en equilibrio, el cual se generó colocando en un recipiente de vidrio herméticamente cerrado 20 mL de solución salina saturada de sulfato de potasio y llevando a estufa a 25°C. La muestra se dejó en ese ambiente hasta peso constante, informando esta capacidad como la ganancia en peso expresada en gramos de agua por gramo de muestra seca.

$$CA_d = \frac{\text{g de agua adsorbida} \times 100}{\text{g de muestra}} \quad \text{Ec. 2.17}$$

5.2.5. Capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO)

Esta propiedad se determinó siguiendo la técnica de Zambrano y col., (2001). Se pesaron 3 g de muestra (b.s.) y se colocó en un tubo de centrifuga de 50 mL de capacidad con un exceso de aceite refinado de maíz (densidad = 0,92 g/mL) (aprox. 25 mL) y se dejó en reposo en la oscuridad durante 24 h. Luego se centrifugó a 2000xg durante 15 min a 25°C (centrífuga refrigerada Rolco CR-5850, radio 22 cm, Argentina).

La capacidad de absorción de moléculas orgánicas se expresó como la absorción de componentes hidrofóbicos y se calcula en términos de ganancia de peso de la muestra.

$$\text{CAMO} = \frac{(\text{peso final} - \text{peso inicial})}{\text{peso inicial}} \times 100 \quad \text{Ec. 2.18}$$

5.2.6. Actividad emulsificante (AE) y estabilidad de la emulsión (EE)

Estas determinaciones se realizaron siguiendo la técnica descrita por Chau y col., (1997). Se pesaron 2 g de muestra, se le adicionó 100 mL de agua destilada y se homogeneizó en Ultra-Turrax T-25 (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik, Alemania) a 7800 rpm durante 2 min, luego se le adicionó 100 mL de aceite refinado de maíz (densidad = 0,92 g/mL) y se homogeneizó nuevamente a 11.500 rpm durante 2 min. Se tomaron muestras y se colocaron en tubos de centrifuga graduados (15 mL), se centrifugaron (centrífuga Rolco) a 2000 rpm durante 10 min y se midió el volumen de la emulsión remanente.

La actividad emulsificante se calculó de la siguiente manera:

$$\text{AE} = \frac{\text{volumen de emulsión remanente (mL)}}{\text{volumen original de la emulsión (mL)}} \quad \text{Ec. 2.19}$$

La estabilidad de la emulsión (EE) se determinó mediante el calentamiento de las emulsiones preparadas a 80°C por 30 min, enfriando luego a temperatura ambiente y centrifugando a 2000 rpm durante 10 min. La EE fue expresada como los mL del volumen de la emulsión remanente respecto del volumen original de la emulsión.

$$\text{EE} = \frac{\text{volumen de emulsión remanente (mL)}}{\text{volumen original de la emulsión (mL)}} \quad \text{Ec. 2.20}$$

5.2.7. Caracterización óptica de las emulsiones mediante un analizador vertical de barrido (QuickScan)

La estabilidad global de las emulsiones se determinó mediante un analizador óptico vertical de barrido QuickScan (Beckman Coulter, USA). Este equipo permite detectar los diferentes procesos de desestabilización que pueden afectar a una emulsión. Otras ventajas asociadas a esta metodología, con respecto a las técnicas espectrofotométricas tradicionales y a la evaluación subjetiva en forma visual, se relacionan con la posibilidad de analizar la emulsión sin la destrucción de la muestra,

el fácil manejo de la misma en la celda de medida y la buena reproducibilidad de los resultados (Pan y col., 2002).

El equipo QuickScan posee las siguientes características: la muestra a ser analizada está contenida en un tubo o celda de vidrio, el cual es colocado cerca de una cabeza lectora móvil compuesta por una fuente de luz IR- cercano ($\lambda = 850 \text{ nm}$) y dos detectores sincrónicos: uno a 0° y otro a 135° (**Figura 2.3**). El detector de “Transmisión” (T) recibe la luz que atraviesa la muestra (0°), mientras que el detector de “Back-scattering” (luz dispersada), la luz dispersada por la misma (135°). La cabeza lectora móvil realiza un barrido a lo largo de toda la altura del tubo de muestra (65 mm, aproximadamente), adquiriendo los datos de “Transmisión” y de “Back-scattering”, o luz dispersada (%BS) cada $40 \mu\text{m}$. De esta manera, es posible obtener las curvas correspondientes a los porcentajes de luz transmitida y dispersada, relativo a estándares externos, en función de la altura de la muestra en mm. El equipo permite hacer varias mediciones en función del tiempo, obteniendo una serie de perfiles e información acerca de las cinéticas de desestabilización en cada caso (Pan y col., 2002).

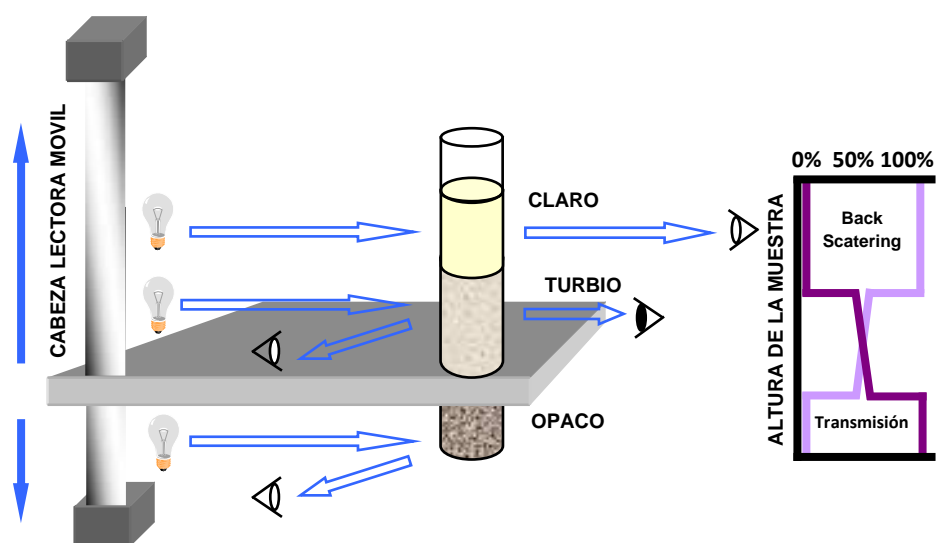


Figura 2.3. Esquema del analizador vertical de barrido (QuickScan) (Cortesía Beckman Coulter)

El %BS da una estimación relativa del número de gotas correspondientes a la fase dispersa de una emulsión en el momento de la medición. Así, cuanto mayor es este valor también lo es la cantidad de luz dispersada por las gotas y la turbidez de

la muestra. Ahora bien, si los valores de este parámetro disminuyen en función de la longitud de la celda y del tiempo, este hecho puede relacionarse con una disminución en el número de partículas, debido a un aumento del tamaño de las mismas y por ende, a la ocurrencia de un proceso de coalescencia. En cambio, si el perfil de %BS se desplaza hacia la parte superior del tubo, puede observarse en este caso un proceso de “creaming” (cremado). Este hecho se debe a que el desplazamiento de las gotas hace que el porcentaje de luz dispersada disminuya en la zona que las mismas abandonan. Cabe aclarar que ambos procesos pueden ocurrir en forma simultánea (Márquez, 2009).

6. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos a partir de las determinaciones realizadas por triplicado, fueron analizadas mediante el análisis de varianza ANOVA seguido por el test de Tukey ($p < 0,05$), usando el software InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Caracterización comparativa de los subproductos de chía obtenidos después de la extracción del aceite por prensado y con solvente

El proceso de extracción del aceite de las semillas de chía permitió la obtención de $75,2\pm 0,5\%$ (b.s.) de harina residual por prensado (Hp) y $80,8\pm 0,3\%$ (b.s.) de harina residual por solvente (Hs). En tanto, el proceso de tamizado de las harinas registró un rendimiento de $79,9\pm 0,8$ y $85,8\pm 0,5\%$ de fracciones fibrosas (FRFs y FRFp, respectivamente) con un tamaño de partículas $> 149 \mu\text{m}$, así como $20,1\pm 0,7$ y $14,2\pm 0,5\%$ de fracciones ricas en proteínas FRPs y FRPp, respectivamente (tamaño de partículas $< 149 \mu\text{m}$).

Por otra parte, luego de la extracción del mucílago de las semillas de chía ($3,8\pm 0,1\%$ b.s.), se obtuvo un rendimiento de harina residual (Hsm) similar al de Hs ($82,3\pm 0,5\%$ (b.s.)).

1.1. Propiedades fisicoquímicas

1.1.1. Distribución de tamaño de partículas

En las **Tablas 2.5** y **2.6** se presenta el análisis diferencial de tamaño de partículas de las harinas de chía correspondientes al proceso de extracción por prensado y solvente (Hp, Hs y Hsm) y de las fracciones ricas en fibra y en proteínas, respectivamente. La Hs presentó un mayor porcentaje de partículas de menor tamaño (rango de 44 a $149 \mu\text{m}$) que la Hsm y la Hp, logrando dichas partículas distribuirse por todos los tamices, mientras que en la Hp, quedaron únicamente retenidas en la fracción de mayor tamaño, debido a que la presencia de lípidos residuales pudo influir en la aglomeración de las partículas. Por otra parte, en las fracciones fibrosas de ambas harinas residuales no se detectó la presencia de dichas partículas. En las muestras correspondientes al proceso de extracción por solvente, los tamaños de partículas mayoritarios comprendieron un rango entre 149 a $1410 \mu\text{m}$ para Hs y FRFs (79,5 y 98,5%, respectivamente), entre 250 a $1410 \mu\text{m}$ para Hsm (79%) y entre 44 a $250 \mu\text{m}$ para FRPs (92,2%), mientras que en las muestras de extracción por prensado, los tamaños de partículas mayoritarios abarcaron el rango de 250 a $1410 \mu\text{m}$ para Hp y FRFp (82,3 y 95,3%, respectivamente) y entre 105 a $250 \mu\text{m}$ para FRPp (100%).

Tabla 2.5. Distribución de tamaño de partículas de las harinas de chíá

Tamiz	Tamaño de partículas (μm)	% de partículas retenidas		
		Harinas de extracción		
		prensado	solvente	
		Hp	Hs	Hsm
10	>2000	1,2		0,7
14	1410-2000	1,2	0,4	5,4
20	840-1410	11,1	8,3	27,4
35	500-840	22,3	22,0	21,9
60	250-500	48,9	35,2	29,7
100	149-250	1,2	14,0	5,3
140	105-149	13,9	7,2	4,1
200	74-105	0,2	2,8	2,8
325	44-74		8,5	1,9
<325	<44		1,6	0,9

Tabla 2.6. Distribución de tamaño de partículas de las fracciones ricas en fibra y en proteínas de chíá

Tamiz	Tamaño de partículas (μm)	% de partículas retenidas			
		Hp		Hs	
		Fracción >149 μm	Fracción <149 μm	Fracción >149 μm	Fracción <149 μm
10	>2000	1,2		0,2	
14	1410-2000	1,9		0,4	
20	840-1410	14,0		11,8	
35	500-840	33,0		29,5	
60	250-500	48,3		43,9	
100	149-250	1,6	98,7	13,3	12,4
140	105-149		1,3	0,7	23,6
200	74-105			0,2	13,9
325	44-74				42,25
<325	<44				7,81

La comparación de las fracciones ricas en fibra permitió observar que la FRFp presentó una mayor proporción de partículas de mayor tamaño ($> 250 \mu\text{m}$) que la FRFs (98,4 y 85,8%, respectivamente). Por otra parte, mediante la evaluación de las fracciones ricas en proteínas pudo evidenciarse que la FRPs presentó una distribución más homogénea de sus partículas, exhibiendo aproximadamente 87,6% de las mismas un tamaño $< a 149 \mu\text{m}$. Por otra parte, el análisis diferencial de tamaño de partículas de la FRPp mostró un 98,7% de partículas retenidas sobre el tamiz número 100, sin lograr una distribución homogénea de las mismas. Esto puede deberse a la presencia de lípidos residuales en esta muestra, los cuales pueden ocasionar la aglomeración de las partículas, tal como se observó en Hp.

1.1.2. Composición proximal

En la **Tabla 2.7** se muestra la composición proximal de las harinas de chíá procedentes de ambos métodos de extracción (prensado y solvente, respectivamente). Como puede observarse, las muestras exhibieron un alto porcentaje de proteínas y de fibra cruda, presentando estos componentes diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre ambos métodos de extracción estudiados, con niveles superiores para las harinas de extracción con solvente; no se registraron diferencias en la composición proximal de las harinas de solvente extraídas a partir de semillas con y sin mucílago. Por otra parte, el contenido de lípidos fue estadísticamente superior ($p < 0,05$) en la Hp, indicando que el sistema de extracción de aceite tuvo influencia en el tenor de aceite residual de las harinas. Resultados similares han sido observados en harinas obtenidas después de la extracción del aceite con solvente (1,1 – 1,7% de aceite residual) y por prensado (7,5 – 12,4% de aceite residual) de diferentes variedades de semillas de lino (Mueller y col., 2010). Los tres tipos de harinas (Hp, Hs, Hsm), presentaron niveles de fibra cruda superiores que los registrados en harinas de sésamo, soja, lino y canola, 5,8, 3,5, 5,3 y 11,5%, respectivamente (Egbekun y Ehieze, 1997; Khattab y Arntfiel, 2009). Por otra parte, el contenido de proteínas de la Hs y la Hsm fue superior a los valores registrados en harinas de girasol de distinta procedencia (20,6 – 23,1% y 37,8%; Pacheco de Delahaye y col., 1994; Pérez y col., 2004, respectivamente), canola y lino (36,1 y 40%; Sun y col., 2008; Khattab y Arntfiel, 2009, respectivamente) y similar a los informados para harinas de lino

(38,9 – 43,3%; Khattab y Arntfiel, 2009; Mueller y col., 2010). En lo que se refiere a la Hp, su contenido de proteínas fue mayor al observado en harina de canola (30,5%) y similar al de harina de lino (36,9%) obtenidas por la misma metodología (Sun y col., 2008; Mueller y col., 2010).

Tabla 2.7. Composición proximal de las harinas de chía (*Salvia hispanica* L.)

Componente	Contenido (% b.s.)		
	Harina de extracción		
	prensado	solvente	
	Hp	Hs	Hsm
Humedad	10,8 ± 0,3 ^a	10,5 ± 0,2 ^a	10,7 ± 0,0 ^a
Proteínas	35,0 ± 0,4 ^a	41,4 ± 0,3 ^b	42,4 ± 0,7 ^b
Fibra cruda	23,8 ± 0,3 ^a	27,6 ± 0,1 ^b	27,7 ± 0,9 ^b
Lípidos	11,4 ± 0,8 ^b	0,2 ± 0,1 ^a	0,2 ± 0,2 ^a
Cenizas	6,3 ± 0,1 ^a	7,2 ± 0,1 ^b	7,8 ± 0,1 ^b
ELN*	23,5 ± 0,2 ^a	23,6 ± 0,6 ^a	21,9 ± 0,8 ^a

ELN: extracto libre de nitrógeno; *Calculado por diferencia

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

La determinación de los componentes principales de las fracciones obtenidas de las harinas de extracción estudiadas, registró en la fracción gruesa (tamaño de partícula > 149 μm) que la mayoría de los componentes presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con respecto a los de la fracción fina (tamaño de partícula < 149 μm), a excepción del contenido de lípidos en las fracciones de Hs y en los extractos libres de nitrógeno de las fracciones de la Hp (**Tabla 2.8**). En las fracciones gruesas, el contenido de fibra cruda se concentró en un 6 y un 19%, con respecto al de las harinas, a expensas de una disminución en el contenido de proteínas. En contraste, en las fracciones finas el contenido de proteínas se incrementó en un 53,4 y 30,3% (FRPs y FRPp, respectivamente) con respecto al de las harinas, siendo dichas fracciones ricas, en fibra las “gruesas” y en proteínas las “finas” (**Tabla 2.8**). En virtud de ello, el proceso de tamizado permitió la retención de hidratos de carbono estructurales presentes en la pared celular de los vegetales así como la transferencia de componentes del contenido celular

(Pérez, 2001). Un comportamiento similar fue registrado al cabo del fraccionamiento por vía seca de harina desgrasada de chíá mexicana, en el que se obtuvieron dos fracciones: una fracción rica en fibra con 29,6% (b.s.) de fibra cruda, similar a la FRFs y una fracción rica en proteínas con 44,6% (b.s.), nivel inferior a la FRPs (Vázquez-Ovando y col., 2010).

Cabe señalar que el método de extracción de aceite empleado para obtener las harinas afectó el tenor de lípidos residuales tanto de las fracciones ricas en fibra como de aquéllas ricas en proteínas. Cabe destacar que la FRPp presentó un contenido de lípidos residuales significativamente superior a la FRFp, lo que podría producir la aglomeración de las partículas pequeñas, resultando concordante con los resultados obtenidos en el análisis de distribución de tamaño de partículas.

Tabla 2.8. Composición proximal de las fracciones obtenidas a partir del tamizado de las harinas de extracción de chíá (*Salvia hispanica* L.)

Componente	Contenido (% b.s.)			
	Hp		Hs	
	Fracción >149 µm	Fracción <149 µm	Fracción >149 µm	Fracción <149 µm
Humedad	10,0 ± 0,2 ^a	10,4 ± 0,5 ^a	10,3 ± 0,0 ^a	10,6 ± 0,0 ^a
Proteínas	33,7 ± 0,1 ^a	45,6 ± 0,1 ^c	35,3 ± 0,2 ^b	63,5 ± 0,1 ^d
Fibra cruda	25,3 ± 0,8 ^c	10,1 ± 0,2 ^b	32,8 ± 0,3 ^d	6,5 ± 0,0 ^a
Lípidos	10,8 ± 0,1 ^b	13,4 ± 0,1 ^c	0,2 ± 0,1 ^a	0,3 ± 0,0 ^a
Cenizas	6,0 ± 0,0 ^a	7,8 ± 0,0 ^c	6,6 ± 0,0 ^b	9,2 ± 0,1 ^d
ELN*	24,2 ± 0,8 ^a	23,1 ± 0,4 ^a	25,0 ± 0,6 ^b	20,5 ± 0,0 ^a

ELN: extracto libre de nitrógeno; *Calculado por diferencia

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

1.1.3. Fibra dietética total (FDT), soluble (FDS) e insoluble (FDI)

El análisis de fibra dietética total (FDT), insoluble (FDI) y soluble (FDS) de las harinas (Hp, Hs y Hsm) y de las fracciones ricas en fibra y en proteínas, indicó que todas las muestras presentaron un alto contenido de FDT, siendo la fracción mayoritaria de este componente la FDI, frente a un contenido de 3,5 a 6% de FDS, a excepción de la harina obtenida de semillas sin mucílago, en la cual el contenido de

FDS fue estadísticamente inferior ($p < 0,05$) al del resto de las muestras (1,5%) (**Tabla 2.9**). Las fracciones ricas en fibra exhibieron un contenido de FDT y FDI significativamente superior ($p < 0,05$) al resto de las muestras, presentando la FRFs un nivel estadísticamente superior de los mismos. Por otra parte, en las fracciones ricas en proteínas se observó un contenido de FDT y de FDI significativamente inferior al resto de las muestras (**Tabla 2.9**). Cabe destacar que la harina obtenida de semillas de chía con previa extracción del mucílago (Hsm), exhibió un contenido de FDI estadísticamente superior ($p < 0,05$) al registrado en la Hs, a expensas de una reducción significativa de su contenido de FDS.

Tabla 2.9. Contenido de fibra dietética total (FDT), insoluble (FDI) y soluble (FDS) en los subproductos de chía (% b.s.)

Muestras	FDT	FDI	FDS	FDI/FDS
Hp	43,7 ± 0,8 ^b	40,1 ± 1,3 ^b	3,6 ± 0,6 ^b	11
FRFp	49,5 ± 0,7 ^d	44,4 ± 0,2 ^c	5,2 ± 0,4 ^{bcd}	8,5
FRPp	26,1 ± 0,2 ^a	20,9 ± 1,3 ^a	5,3 ± 1,1 ^{cd}	4
Hs	46,1 ± 0,9 ^c	41,1 ± 0,5 ^b	4,9 ± 0,6 ^{bcd}	8,4
FRFs	52,7 ± 0,5 ^e	46,6 ± 0,6 ^d	6,1 ± 0,1 ^d	7,6
FRPs	25,5 ± 0,7 ^a	21,9 ± 0,2 ^a	3,8 ± 0,5 ^{bc}	5,7
Hsm	47,1 ± 0,2 ^c	45,6 ± 0,4 ^{cd}	1,5 ± 0,2 ^a	30,4

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que el proceso de fraccionamiento por vía seca usando malla 100 logró concentrar de forma eficiente el contenido de FDT. Las fracciones fibrosas de chía presentaron una composición de fibra dietética insoluble y soluble en el rango de lo informado para un residuo fibroso de chía de origen mexicano (53,4 y 3,1% de FDI y FDS, respectivamente; Vázquez-Ovando y col., 2009) y de un residuo fibroso de *Canavalia ensiformis* (52,5 y 3,4% de FDI y FDS, respectivamente; Betancur-Ancona y col., 2004), aunque diferente, principalmente en el contenido de FDS, al informado en diversas frutas y verduras (cáscara de maracuyá 57, 47,6, 9,4%, guayaba 64,1, 55,2, 8,9% (Chau y Huang,

2003), alcachofa 58,8, 44,5, 14,3% para FDT, FDI y FDS, respectivamente (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1999).

La ingesta de cantidades apropiadas de fibra dietética (FD) está relacionada con la prevención de enfermedades tales como la hipercolesterolemia, diabetes, cáncer de colon, obesidad, entre otras (Lecumberri y col., 2007). La relación entre la FDI y la FDS es una información importante debido a los efectos nutricionales y fisiológicos que ocasiona en los consumidores. La Asociación Americana de Diabetes recomienda una ingesta diaria de fibra de 25 a 30 g, con una proporción de FDI/FDS de 3 a 1 (Borderías y col., 2005). En los subproductos de semillas de chía con mucílago, esta relación varió en un rango de 4 a 11 correspondiendo los valores más bajos a las fracciones ricas en proteínas. Asimismo, la relación FDI/FDS fue menor a la detectada por Vázquez-Ovando y col (2009) para un residuo fibroso de chía mexicana (17,1) y al observado por Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso (1999) en salvado de trigo (14,2). Para el subproducto obtenido de semillas de chía sin mucílago, esta relación se incrementó debido a la extracción de la fracción soluble.

Estos resultados convierten a los subproductos de chía estudiados en ingredientes interesantes para ser incorporados en diversos alimentos, debido a las características previamente comentadas.

1.1.4. Esquema de análisis de Van Soest

La **Tabla 2.10** muestra los resultados correspondientes a los análisis de FDN y FDA, calculados a partir del método propuesto por Van Soest (Guiragossian y col., 1977). En las harinas de chía y las fracciones ricas en fibra, la FDN varió en un rango de 52,9 a 65,0%. Los resultados obtenidos son elevados frente a los informados por Villela y col., (1999) en residuos de frutas de maracuyá (45,86%) e incluso al compararlos con un residuo fibroso de chía mexicana (54,51%; Vázquez-Ovando y col., 2009) y otras leguminosas analizadas por Rehinan y col. (2004) quienes informan como mayor valor 29,8% de FDN en lentejas. Así, estos resultados sugieren que tanto las harinas como las fracciones ricas en fibra de chía, están formadas en su mayoría por la presencia de polisacáridos estructurales (celulosa y hemicelulosas) y lignina, los cuales actuarían como FDI. Cabe destacar que la Hsm exhibió un contenido de FDN significativamente superior ($p < 0,05$) al de Hs, relacionado con su nivel de FDI también significativamente superior (ver **Tabla 2.9**).

Por otra parte, las fracciones ricas en proteínas presentaron pequeñas cantidades de FDN. Teniendo en cuenta esta información, se sugiere que las harinas y las FRF de chíá podrían ser incorporadas como ingredientes en la elaboración de alimentos funcionales debido a que el consumo de FDI está relacionado con el aumento del volumen y el peso de la masa fecal, lo que se refleja en el mejor funcionamiento del sistema digestivo, reducción del padecimiento de enfermedades tales como constipación, estreñimiento, cáncer de colon, entre otras (Escudero-Álvarez y González-Sánchez, 2006).

Tabla 2.10. Composición de los subproductos de chíá según el método de Van Soest, expresados en % (b.s.)

Muestras	FDN	FDA	Lignina	Celulosa	Hemicelulosa
Hp	59,3 ± 3,3 ^{cd}	32,3 ± 2,4 ^{bc}	7,5 ± 0,1 ^d	22,0 ± 1,8 ^b	30,3 ± 2,0 ^c
FRFp	62,2 ± 2,1 ^d	35,0 ± 0,3 ^{bcd}	8,1 ± 0,2 ^d	25,9 ± 1,4 ^{bc}	29,9 ± 0,6 ^c
FRPp	30,8 ± 2,0 ^b	12,0 ± 0,2 ^a	3,3 ± 0,1 ^a	9,9 ± 0,3 ^a	18,0 ± 0,2 ^b
Hs	52,9 ± 0,3 ^c	38,1 ± 1,2 ^d	4,5 ± 0,7 ^{ab}	34,6 ± 1,3 ^d	14,8 ± 1,2 ^b
FRFs	65,0 ± 0,1 ^d	35,5 ± 0,0 ^{cd}	5,5 ± 0,5 ^{bc}	28,2 ± 0,4 ^c	31,3 ± 0,0 ^c
FRPs	15,8 ± 0,4 ^a	9,9 ± 0,2 ^a	3,0 ± 0,2 ^a	7,6 ± 0,0 ^a	5,9 ± 0,2 ^a
Hsm	63,6 ± 2,1 ^d	30,8 ± 1,2 ^b	6,9 ± 0,5 ^{cd}	23,1 ± 0,9 ^b	33,6 ± 1,0 ^c

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

El contenido de FDA (porción menos digerible de la FD, como celulosa, lignina y cenizas insolubles en ácido) fue estadísticamente superior en las harinas y las respectivas FRF respecto de las demás fracciones, siendo estos valores similares a los informados para residuos de *C. ensiformis* (30,72%; Betancur-Ancona y col., 2004). En cuanto al contenido de lignina, se registraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las fracciones fibrosas, siendo este componente mayor en la FRFp. Este hecho puede atribuirse al mayor porcentaje de partículas de mayor tamaño presentes en la FRFp (98,4 y 85,8 % en FRFp y FRFs, respectivamente). Resultados similares se han obtenido en salvado de trigo “grueso” y “fino” (4,1 y 2,6% de lignina, respectivamente) (Kirwan y col., 1974). Los contenidos de celulosa y de hemicelulosa, en las harinas y FRF, pueden indicar que las paredes celulares

están formadas en una mayor proporción por complejos celulosa-hemicelulosa, con un consecuente contenido bajo de pectinas, tal como ocurre en la pared celular de la mayoría de las monocotiledóneas (Vázquez-Ovando y col., 2010). En tanto, la FRFs exhibió cantidades significativamente menores de celulosa con respecto a la Hs.

1.1.5. Minerales

En todos los subproductos de chíá fue posible la detección de fósforo, calcio, magnesio, hierro, zinc y cobre, siendo los tres primeros los minerales presentes en una mayor proporción (**Tabla 2.11**). A su vez, puede observarse que en las fracciones ricas en proteínas se logró obtener una mayor concentración de minerales con excepción del Ca, el cual estuvo presente en una menor proporción en estas muestras.

En todas las muestras la concentración de los minerales analizados, fue superior a la detectada por Ragaee y col. (2006) para harinas de trigo duro, arroz y sorgo, mientras que el contenido de hierro fue mayor al observado para sésamo (Egbekun y Ehieze, 1997) y similar al de cebada (Ragaee y col., 2006). La Hs se caracterizó por su elevado nivel de fósforo y calcio, coincidiendo con los valores obtenidos por Bushway y col. (1981) en harinas de otra variedad de chíá (*Salvia polystachya*) obtenida por la misma metodología.

La relación entre calcio y fósforo (Ca:P) estuvo comprendida en un rango de 0,49 a 0,79 para todas las muestras estudiadas, correspondiendo el menor valor a la FRFp y el mayor a la Hs. Dicha relación se asemeja a la de una dieta normal de EEUU y Canadá (Mota-Blancas y Perales-Caldera, 1999). Para una efectiva utilización por parte de los rumiantes y evitar posibles desórdenes nutricionales, la relación Ca:P debería estar comprendida entre 1:1 y 2:1. Asimismo, es necesario considerar que normalmente se absorbe del 20 al 30% del calcio ingerido y que dicha absorción se ve influenciada por otros constituyentes de los alimentos tales como proteínas, fibra, ácido fítico y fósforo (Mota-Blancas y Perales-Caldera, 1999). En virtud de lo expuesto, los resultados obtenidos sugieren que los subproductos de chíá analizados, podrían ser utilizados como suplementos en harinas de otros cereales, debido al alto contenido de este mineral. Dado que en todos los casos se registraron niveles elevados de FD, sería necesario realizar un análisis de

dializabilidad para obtener información adicional sobre la biodisponibilidad de este mineral (Kerneck y Cashman, 2000).

Tabla 2.11. Contenido de minerales (mg/kg) de harinas, fracciones ricas en fibra y fracciones ricas en proteínas de chíá (*Salvia hispanica* L.) (b.s.)

Muestras	Ca	Mg	Fe	Zn	Cu	P
Hp	6250±0,07 ^e	5147±0,03 ^e	131±0,00 ^c	111±0,00 ^d	21±0,00 ^a	9988,5±0,03 ^a
FRFp	6678±0,07 ^f	4032±0,03 ^c	156±0,00 ^d	101,4±0,00 ^c	26,4±0,03 ^d	12476±0,15 ^a
FRPp	391±0,00 ^b	6215±0,03 ^f	195±0,00 ^e	138±0,00 ^f	30,5±0,00 ^f	17500±0,08 ^b
Hs	8060±0,07 ^g	3460±0,04 ^b	117,3±0,00 ^a	100±0,00 ^b	24±0,00 ^c	10205±0,11 ^a
FRFs	6150±0,07 ^d	3220±0,04 ^a	121,0±0,00 ^b	96±0,00 ^a	22,6±0,00 ^b	9012,5±0,07 ^a
FRPs	336±0,00 ^a	6755±0,03 ^g	395±0,00 ^g	154±0,00 ^g	33±0,00 ^g	17700±0,01 ^b
Hsm	4226±0,03 ^c	4803±0,03 ^d	235±0,00 ^f	121±0,00 ^e	30±0,00 ^e	12050±0,15 ^a

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

1.1.6. Componentes antioxidantes

La **Figura 2.4** presenta la composición y el contenido de tocoferoles correspondientes a los subproductos de chíá obtenidos mediante el proceso de extracción por prensado en frío. En dichas muestras, la concentración de tocoferoles totales varió en un rango de 470 a 614 $\mu\text{g/g}$ para Hp y FRPp, respectivamente. El γ -tocopherol fue el componente principal (aprox. 95%), seguido por δ - y α -tocopherol. Estas muestras exhibieron una concentración de tocoferoles totales mayor que el aceite de chíá obtenido por la misma metodología (238 $\mu\text{g/g}$) (Ixtaina y col., 2011). Estos resultados muestran que el proceso de extracción por prensado del aceite no es proporcional al de extracción de tocoferoles, siendo menor la proporción de éstos últimos.

Las muestras procedentes del proceso de extracción de aceite con solvente presentaron trazas de tocoferoles (datos no mostrados). Este hecho está asociado al bajo contenido lipídico de las mismas (ver **Tablas 2.7** y **2.8**) y a la alta concentración de estos componentes en el aceite de chíá obtenido con solvente (300 $\mu\text{g/g}$) (Ixtaina y col., 2011).

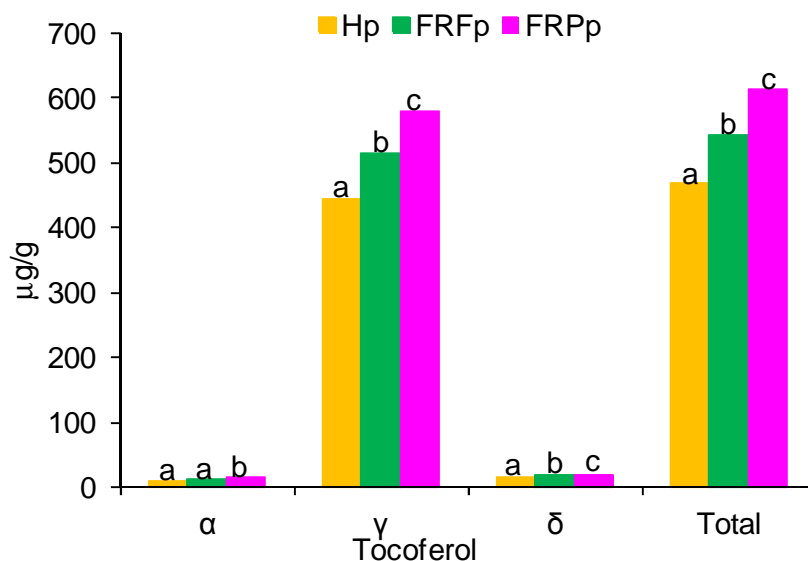


Figura 2.4. Contenido de tocoferoles del aceite residual de la harina y fracciones ricas en fibra y en proteínas de chía obtenidas por prensado

Por otra parte, el contenido de compuestos polifenólicos de los subproductos de chía se presenta en la **Figura 2.5**. En todos los casos se detectó la presencia de ácidos clorogénico y cafeico, quercetina, miricetina y kampferol, presentando un contenido total de componentes polifenólicos en un rango comprendido entre 3.3×10^{-4} a 5.7×10^{-4} mol/kg, no registrándose diferencias significativas en la concentración de componentes polifenólicos totales ($p > 0,05$). Sin embargo, Hs y FRFs exhibieron concentraciones significativamente superiores ($p < 0,05$) de quercetina y miricetina que las muestras obtenidas por prensado (Hp y FRFp). Análogamente, el ácido clorogénico se detectó en mayores niveles en las muestras obtenidas por solvente, siendo significativamente superior sólo en la FRFs ($p < 0,05$). Por otra parte, las muestras provenientes del proceso de extracción por prensado exhibieron concentraciones significativamente superiores de ácido cafeico que las muestras obtenidas por solvente ($p < 0,05$).

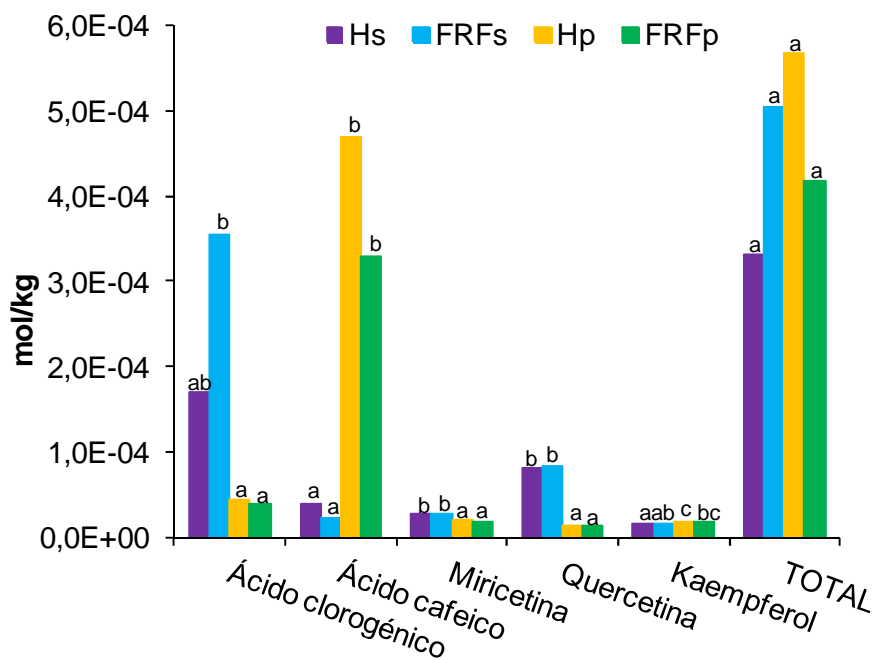


Figura 2.5. Contenido de antioxidantes fenólicos presentes en harinas y fracciones ricas en fibra de chíá

1.1.7. Actividad antioxidante

En la **Tabla 2.12** se presenta la actividad antioxidante de las harinas y las fracciones ricas en fibra y en proteínas de chíá. Hp, FRFp y FRPp presentaron una mayor actividad antioxidante que Hs, FRFs, FRPs y Hsm. Este hecho, puede relacionarse con el contenido de tocoferoles totales presentes en las muestras obtenidas por prensado, los cuales son sustancias naturales con actividad antioxidante. Por otra parte, la FRFs exhibió una actividad antioxidante significativamente superior ($p < 0,05$) que la Hs, mientras que dentro de los subproductos correspondientes al proceso de extracción por prensado, la Hp presentó mayor actividad antioxidante. Este hecho podría atribuirse al mayor contenido de componentes fenólicos (ver **Figura 2.5**). En tanto, no se observaron diferencias significativas asociadas a esta propiedad entre Hs y Hsm ($p > 0,05$).

La actividad antioxidante de los subproductos de chíá estudiados presentó un nivel superior al detectado en salvado de trigo y harina entera de grano molido de sorgo y cebada (48,5, 51,7 y 14,9 TEAC, $\mu\text{mol/g}$; Iqbal y col., 2005 y Ragae y col., 2006, respectivamente) y similar al de una fracción fibrosa de chíá mexicana (488,8 TEAC, $\mu\text{mol/g}$; Vázquez-Ovando y col., 2009).

Tabla 2.12. Actividad antioxidante de los subproductos de chía obtenidos mediante ambos métodos de extracción de aceite, determinada como decoloración del catión ABTS⁺

Muestras	Actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC, $\mu\text{mol/g}$)
Hp	557,2 \pm 28,18 ^d
FRFp	446,4 \pm 19,81 ^c
FRPp	351,0 \pm 36,9 ^{bc}
Hs	226,6 \pm 4,13 ^a
FRFs	348,6 \pm 51,77 ^b
FRPs	214,9 \pm 33,99 ^a
Hsm	187,4 \pm 33,21 ^a

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

1.2. Propiedades funcionales

En la **Tabla 2.13** se presentan las propiedades funcionales de los diversos subproductos de chía estudiados. Puede observarse que entre las muestras provenientes de la extracción de aceite con solvente (Hs, FRFs, FRPs y Hsm) y las correspondientes a la extracción por prensado (Hp, FRFp y FRPp), las principales diferencias registradas se relacionan con las propiedades de afinidad por el aceite (CRA y CAMO), siendo significativamente superiores ($p < 0,05$) en las correspondientes al proceso de extracción con solvente. Este comportamiento puede atribuirse al mayor contenido de proteínas y lípidos asociado a los procesos de extracción con solvente y prensado, respectivamente (ver **Tablas 2.7** y **2.8**). En la mayoría de las muestras, la CRA fue mayor a la CAb, lo que indica que el material retiene casi la totalidad del agua absorbida (Robertson y col., 1981; Chen y col., 1984). La alta capacidad para retener agua por parte de los subproductos de chía puede asociarse a la presencia de sustancias mucilaginosas, las cuales actúan como FDS, siendo concordante con una disminución de dicha propiedad en la harina obtenida de semillas sin mucílago (**Tabla 2.13**). En este sentido, los subproductos de chía con mucílago podrían ser incorporados en diversos alimentos debido a la capacidad de la FDS de retener agua y de incrementar la sensación de saciedad, así como también de disminuir el tiempo de absorción de los nutrientes (Scheneeman, 1987).

Tabla 2.13. Propiedades funcionales de los subproductos de chía (*Salvia hispanica* L.)

Propiedades	Hp	FRFp	FRPp	Hs	FRFs	FRPs	Hsm
CRA (g/g)	10,58 ±0,55 ^d	8,28±0,33 ^{bc}	4,87±0,36 ^a	10,64±0,60 ^d	9,19±0,29 ^c	7,37±0,29 ^b	5,25±0,39 ^a
CAb (g/g)	6,81±0,30 ^b	6,13±0,37 ^b	4,20±0,34 ^a	6,45±0,41 ^b	10,52±0,87 ^c	5,86±0,25 ^b	4,79±0,49 ^a
CAd (g/g)	0,29±0,02 ^a	0,29±0,01 ^{ab}	0,56±0,03 ^d	0,37±0,02 ^{bc}	0,53±0,04 ^d	0,69±0,01 ^e	0,40±0,00 ^c
CRa (g/g)	1,26±0,02 ^a	1,40±0,18 ^a	1,09±0,01 ^a	2,03±0,08 ^b	2,06±0,03 ^{bc}	2,35±0,17 ^c	2,94±0,14 ^d
CAMO (g/g)	0,83±0,01 ^a	0,82±0,01 ^a	0,79±0,02 ^a	1,64±0,02 ^b	1,73±0,05 ^c	1,94±0,03 ^d	2,22±0,01 ^e
AE (mL/100mL)	51,00±1,15 ^{ab}	44,33±1,15 ^a	49,59±1,55 ^{ab}	56,00±0,77 ^b	53,33±0,00 ^b	55,36±0,00 ^b	50,00±2,44 ^{ab}
EE (mL/100mL)	47,33±1,00 ^b	34,33±1,15 ^a	50,00±1,62 ^{bc}	60,00±0,00 ^d	57,67±1,15 ^{cd}	54,47±1,26 ^{bcd}	53,33±0,00 ^{bcd}

Valores seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

Las harinas Hs y Hp presentaron una capacidad similar para retener, absorber y adsorber agua (CRA, CAb y CAd), siendo sus CAb mayor a la de harinas de canola y soja (3,90 y 3,28 g/g, respectivamente) y similar a la de harina de lino (6,03 g/g), mientras que la CRA de la Hs fue similar a la registrada en harina de soja y canola (2,01 y 2,09 g/g, respectivamente) (Khattab y Arntfield, 2009). Asimismo, tanto Hs como Hp exhibieron una AE mayor que las correspondientes a las harinas de lino, soja y canola. Por otra parte, la EE fue significativamente menor ($p < 0,05$) en la Hp. Este hecho puede deberse al alto porcentaje de lípidos residuales y al bajo contenido de proteínas presentes en este tipo de subproducto.

Las fracciones ricas en fibra (FRFs y FRFp) presentaron diferencias entre sí en sus propiedades funcionales, excepto en la CRA, siendo sus niveles significativamente superiores ($p < 0,05$) en FRFs. Ambas FRF evidenciaron una gran capacidad para retener y absorber agua, así como una gran capacidad para actuar como agente emulsificante y estabilizante de emulsiones (**Tabla 2.13**). Asimismo, la CRA de ambas FRF fue mayor a la correspondiente para fibra de soja (4,9 g/g), salvado de trigo (6,1 g/g) (Mongeau y Brassard, 1982), cáscara de maíz y de trigo (2,32 y 2,48 g/g, respectivamente) (Zambrano y col., 2001). Además, la FRFs presentó una CRA similar a la de los residuos fibrosos de cebada (2,00 g/g) y de *Canavalia ensiformis* (2,3 g/g) (Betancur-Ancona y col., 2004), mientras que su CAb fue mayor a los valores observados en zanahoria, nopal y cascarilla de maíz, trigo y soja (6,36; 5,75; 3,18; 3,17; 2,91 y 1,42 g/g, respectivamente) (Zambrano y col., 2001) y similar al de una fracción fibrosa de chía mexicana (11,73 g/g) (Vázquez-Ovando y col., 2009). En tanto, su CAd y CAMO fue mayor a la de la fracción fibrosa mexicana (0,3 y 1,09 g/g, CAd y CAMO respectivamente) (Vázquez-Ovando y col., 2009) y similar a la de cascarilla de maíz, soja y trigo (Zambrano y col., 2001). Por otra parte, la FRFs presentó una AE similar y una EE menor que la de una fracción fibrosa de chía mexicana (Vázquez-Ovando y col., 2009).

Con respecto a las fracciones ricas en proteínas, la FRPs exhibió una capacidad para retener, absorber y adsorber agua estadísticamente superior ($p < 0,05$) a la FRPp. Asimismo, las propiedades relacionadas con la afinidad por el aceite (CRA y CAMO) fueron significativamente superiores en FRPs. Este

comportamiento puede asociarse al contenido superior de proteínas en FRPs y al elevado tenor de aceite residual en FRPp (ver **Tabla 2.8**).

Si bien, generalmente se observaron diferencias entre las propiedades funcionales de las harinas y sus respectivas fracciones ricas en fibra y en proteínas (**Tabla 2.13**), el proceso de tamizado no generó una tendencia definida en dichas propiedades, excepto en la CRA. Esta propiedad presentó niveles significativamente superiores en las harinas que en sus correspondientes fracciones ricas en fibra y en proteínas. Asimismo, también fue significativamente superior en las fracciones ricas en fibras respecto a las fracciones ricas en proteínas. Este hecho puede relacionarse con el tamaño de partículas de las muestras, ya que al aumentar el tamaño de partículas, la capacidad para retener agua aumenta (Borroto y col., 1995). De la misma forma, cabe destacar que la CRA puede verse afectada por ciertos parámetros experimentales tales como agitación, temperatura, tiempo de remojo y magnitud de la fuerza externa aplicada, así como por condiciones químicas del medio (pH, fuerza iónica). Estos factores pueden alterar la estructura física de la fuente de fibra, dando lugar a importantes cambios sobre esta propiedad (Sangnark y Noomhorm, 2003).

1.3. Estabilidad global de emulsiones formuladas con los subproductos de chía

En la **Figura 2.6** se muestra el comportamiento obtenido mediante un analizador vertical de barrido (QuickScan) de los subproductos de chía estudiados con respecto a la estabilidad de las emulsiones O/W ensayadas. Los valores de Backscattering inicial (BS_0) variaron en un rango de 57,3 a 69,1%, los cuales corresponden a las emulsiones preparadas con Hp y FRPs, respectivamente. Además, puede observarse que las emulsiones provenientes de las muestras del proceso de extracción por solvente (Hs, FRFs y FRPs), presentaron una estabilidad mayor que las muestras del proceso de extracción por prensado (Hp, FRFp y FRPp) durante todo el periodo ensayado. Este comportamiento puede atribuirse al mayor contenido de proteínas y de fibra, así como al menor tenor de lípidos residuales presentes en las muestras provenientes del proceso de extracción con solvente (ver **Tablas 2.7 y 2.8**).

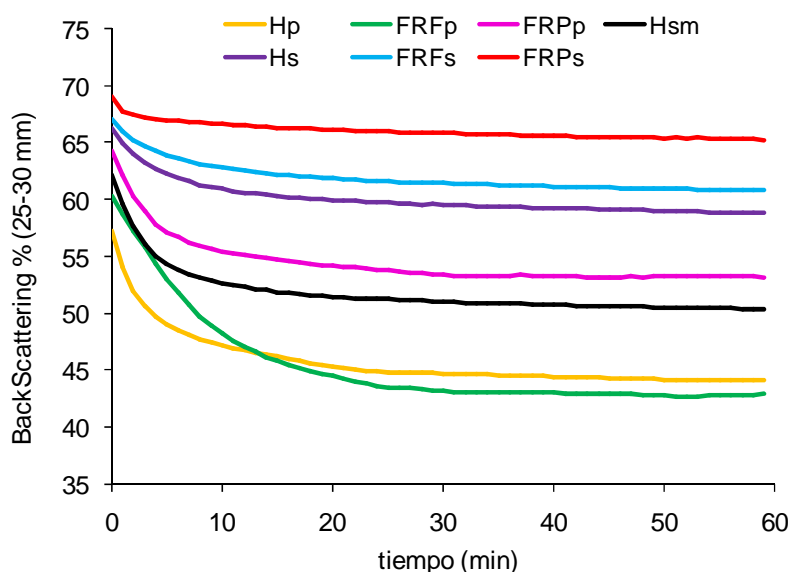


Figura 2.6. Cinéticas de desestabilización de emulsiones O/W (50:50 p/p) formuladas con diferentes subproductos de chía (*Salvia hispanica* L.)

Así, para cada método de extracción (prensado en frío y solvente), las fracciones ricas en proteínas exhibieron los valores más altos de BS durante todo el periodo analizado, siendo el porcentaje de reducción del mismo de 5,5 y de 17,2% de BS en FRPs y FRPp, respectivamente, frente a una disminución del 11,2 y 23% de BS en las harinas correspondientes (Hs y Hp, respectivamente) y del 9,4 y 29% en la FRFs y la FRFp, respectivamente. Este hecho puede atribuirse al alto tenor de proteínas en dichas fracciones (ver **Tabla 2.8**) componentes con propiedades emulsificantes. Por otra parte, pudo observarse que ambas fracciones fibrosas presentaron un comportamiento similar al de sus respectivas harinas.

Por otra parte, las harinas provenientes del proceso de extracción con solvente (con y sin mucílago) presentaron una capacidad emulsificante inicial alta (66,3 y 62,2 %BS para Hs y Hsm, respectivamente), sin embargo la misma disminuyó notablemente en la Hsm al cabo del periodo analizado (60 min) (50,4 %BS). Este hecho puede atribuirse a la ausencia de mucílago en Hsm, teniendo en cuenta que dichos polisacáridos pueden contribuir a la estabilidad de las emulsiones, ya sea por su gran carácter hidrofílico, estructura ramificada y/o alto peso molecular, aportando sus propiedades espesantes y/o gelificantes. De esta manera, los polisacáridos forman una barrera frente a los mecanismos de desestabilización, al incrementar la

viscosidad de la fase acuosa de la emulsión disminuyendo así el movimiento de las gotas dispersadas (Dickinson, 1988).

CONCLUSIONES PARCIALES

- El método de extracción de aceite (prensado en frío y sólido-líquido) de las semillas de chía afecta las propiedades fisicoquímicas y funcionales de las harinas residuales y sus correspondientes fracciones ricas en fibra y en proteínas. Dicha influencia está asociada al contenido de lípidos residuales de los subproductos estudiados.
- La harina obtenida como subproducto del proceso de extracción del mucílago de chía (Hsm) exhibió una composición proximal similar a la harina de semillas con mucílago (Hs). Sin embargo, presentaron propiedades funcionales estadísticamente diferentes. La CRA y CAb fue mayor en Hs, debido a la presencia de mucílago (FDS) capaz de retener agua en su matriz, mientras que la CRa y CAMO fue mayor en Hsm. Estas diferencias podrían atribuirse a factores tales como el tamaño de partícula y al contenido de celulosa de la harina.
- El proceso de tamizado de las harinas (Hs y Hp) permitió obtener cuatro fracciones: dos ricas en fibra (32,8 y 25,3% b.s., FRFs y FRFp, respectivamente) con un tamaño de partícula mayor a 149 μm y dos ricas en proteínas (63,5 y 45,6% b.s., en FRPs y FRPp, respectivamente) con un tamaño de partícula menor a 149 μm . Se obtuvieron rendimientos de 79,9 y 85,8% de fracciones fibrosas (FRFs y FRFp respectivamente) y de 20,1 y 14,2% para las fracciones ricas en proteínas (FRPs y FRPp, respectivamente). En todas las fracciones se logró concentrar el componente de interés con respecto a la harina desgrasada.
- Las fracciones ricas en fibra presentaron un alto contenido de FDT (52,7 y 49,5% b.s., en FRFs y FRFp, respectivamente), compuestas en su mayoría por FDI (46,6 y 44,4% b.s., en FRFs y FRFp, respectivamente), con una elevada proporción de celulosa y de hemicelulosa (28,2 y 25,4% b.s. y de 31,3 y 29,9% b.s., en FRFs y FRFp, respectivamente). Estos niveles de fibra fueron significativamente superiores a los registrados en las harinas y en las fracciones ricas en proteínas.
- Todos los subproductos de chía exhibieron una alta actividad antioxidante, debido a la presencia de componentes polifenólicos y de tocoferoles en el caso de Hp, FRFp y FRPp. Los principales antioxidantes polifenólicos encontrados fueron

ácidos clorogénico y cafeico, quercetina, seguidos de trazas de miricetina y kampferol. El contenido total de tocoferoles varió de 470 a 614 $\mu\text{g}/\text{kg}$, siendo el principal compuesto el γ -tocoferol, seguido de α - y δ -tocoferol, en menores concentraciones.

- Hs, FRFs y FRPs presentaron niveles más elevados de las propiedades funcionales estudiadas que Hp, FRFp y FRPp. Cabe señalar que las propiedades relacionadas con la afinidad por el aceite (CRa y CAMO) fueron significativamente superiores ($p < 0,05$) en los subproductos del proceso de extracción con solvente. Este hecho puede deberse al bajo contenido de aceite residual y al alto tenor de proteínas en dichas muestras, o bien a la influencia de ciertos parámetros experimentales, los que pueden alterar la estructura física de la muestra, generando cambios en las propiedades funcionales.

DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Publicaciones en Revistas Científicas Internacionales

- Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. Marianela I. Capitani, Viviana Spotorno, Susana M. Nolasco, Mabel C. Tomás. *LWT - Food Science and Technology* 45 (2012), 94-102.

Capítulos de libro

- Characterization and functionality of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina. Marianela I. Capitani, Susana M. Nolasco, and Mabel C. Tomás. En *Dietary fibre: sources, properties and their relationship to health*. Eds. Dr. Maira R. Segura Campos, Dr. Luis Chel Guerrero, Dr. David Betancur Ancona, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, México. Resumen aceptado (Febrero 2013).
- Effect of mucilage extraction on the functional properties of chia meals. Marianela I. Capitani, Susana M. Nolasco, and Mabel C. Tomás. En *Food Industry*. Ed. InTech, Croacia (2013), Capítulo 19, 421-437. Disponible on-line (<http://dx.doi.org/10.5772/53171>).

Presentaciones en Congresos con trabajo extendido

- Propiedades fisicoquímicas y funcionales de diversas harinas de chía (*Salvia hispanica* L.). Marianela I. Capitani, Susana M. Nolasco y Mabel C. Tomás. XIII Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceites, Rosario, Santa Fe, Argentina, 4 al 6 de noviembre de 2009. pp. 166-167. ISBN N° 978-987-22799-1-2.
- Estudio de las propiedades fisicoquímicas y funcionales de una fracción fibrosa de chía (*Salvia hispanica* L.). Marianela I. Capitani, Viviana Spotorno, Susana M. Nolasco y Mabel C. Tomás. XVII Jornadas de Jóvenes Investigadores Asociación de Universidades Grupo Montevideo (AUGM), Concordia, Entre Ríos, Argentina, 27 al 29 de octubre de 2009.

- Estudio comparativo de las características de la harina y una fracción fibrosa de chía (*Salvia hispanica* L.). Marianela I. Capitani, Viviana Spotorno, Susana M. Nolasco y Mabel C. Tomás. XII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CYTAL), Facultad de Ciencias de la Alimentación (UNER), Concordia, Entre Ríos, Argentina, 7 al 9 de octubre de 2009. ISBN N° 978-987-22165-3-5.

- Caracterización y funcionalidad de una fracción rica en fibra de semillas de chía (*Salvia hispanica* L.). Marianela I. Capitani, Susana M. Nolasco y Mabel Tomás. III Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, Argentina, 15 al 17 de abril de 2009. ISBN N° 978-987-24620-8-6, pp. 55-60.

Presentaciones en Congresos

- Subproductos de diferentes procesos de extracción de aceite: fracciones ricas en proteínas de chía (*Salvia hispanica* L.). Marianela I. Capitani, Susana M. Nolasco y Mabel Tomás. XIV Congreso y Exposición sobre Grasas y Aceites de la Sección Latinoamericana de AOCS, Cartagena, Colombia, 17 al 21 de octubre de 2011.

Obtención, caracterización y propiedades funcionales del mucílago de chía

INTRODUCCIÓN

Es común encontrar en la bibliografía los términos “gomas” y “mucílagos” empleados como sinónimos. Sin embargo, las gomias son sustancias que liberan las plantas como protección frente a una lesión o debido a condiciones climáticas adversas tales como la sequía. Por otra parte, los mucílagos son constituyentes normales de los vegetales, producto de su metabolismo y se acumulan en células especiales dentro de los tejidos. Se localizan como material de reserva hidrocarbonado, reserva de agua en plantas o bien como elementos estructurales en vegetales inferiores (algas), proporcionándoles elasticidad y suavidad. Los mucílagos no exudan de forma espontánea desde los vegetales, teniendo que recurrirse en muchas ocasiones a la trituración y/o a la utilización de disolventes para su extracción. Son extraídos regularmente con agua fría o caliente, además de ser insolubles en alcohol. Las gomias generalmente se disuelven fácilmente en agua, mientras que los mucílagos forman dispersiones de gran viscosidad, capaces de absorber más de cien veces su peso en agua (Reynoso Cortés, 2002; Jani y col., 2009). Acacia, tragacanto y goma guar son ejemplos de gomias, mientras que los mucílagos se encuentran en diferentes partes de las plantas. Por ejemplo en las células epidérmicas de las hojas (senna), en la cáscara de las semillas (lino, *psyllium*), raíces (malvaviscos, olmo), laminilla media (aloe), cladodios de cactus (*Opuntia* spp o mucílago de nopal) (Sáenz y col., 2004; Evans, 2004).

Las gomias y mucílagos tienen ciertas similitudes, ambos son hidrocoloides vegetales. Son sustancias translúcidas amorfas y polímeros de un monosacárido o mezcla de monosacáridos, muchos de ellos combinados con ácidos urónicos. Su estructura química general corresponde a la de polisacáridos heterogéneos con un alto contenido de galactosa, manosa, glucosa y derivados de osas (principalmente ácidos). La estructura y conformación de las gomias o mucílagos está determinada por los enlaces glucosídicos que presentan, así como por los monosacáridos que las constituyen. Las propiedades fisicoquímicas más importantes que presentan estos hidrocoloides son: la dispersión en agua, viscosidad y gelificación, siendo las mismas específicas para cada tipo de sustancia. Así, la dispersión en agua depende esencialmente de la estructura química de los polisacáridos. Los polisacáridos lineales (**Figura 3.1 a**) ocupan más espacio, son poco dispersables en agua y forman soluciones más viscosas que los compuestos altamente ramificados del

mismo peso molecular. Este hecho se debe a que sus moléculas presentan fuertes interacciones, formando zonas cristalinas muy densas con difícil acceso al agua. Por otra parte, los polisacáridos ramificados (**Figura 3.1 b**) se dispersan más fácilmente que los lineales, ya que disminuye el número de interacciones moleculares, facilitando su solvatación. Asimismo, estos compuestos gelifican más fácilmente y son más estables. Sin embargo, sus disoluciones exhiben viscosidades aparentes menores que los polímeros lineales. Esto se debe a que la viscosidad depende en general del volumen efectivo es decir, el volumen de una esfera cuyo diámetro sea igual a la longitud máxima de la molécula estirada. Este volumen es casi siempre mayor en las moléculas lineales que en las ramificadas del mismo peso molecular. Para el caso de las gomas o mucílagos con carga negativa, la dispersión y la viscosidad se incrementan, por efecto de la repulsión intermolecular de sus grupos iónicos, teniendo moléculas relativamente estiradas que forman puentes de hidrógeno más efectivos con el agua (Pacheco-Aguirre, 2010).

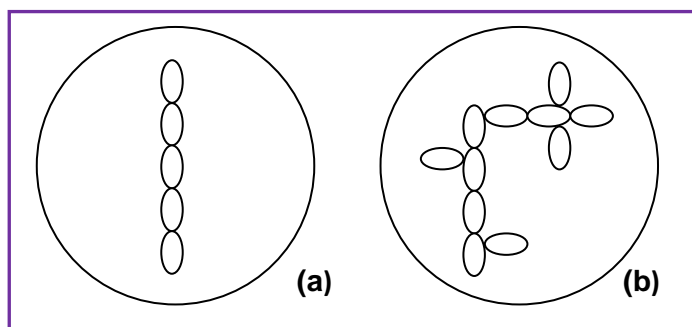


Figura 3.1. Diagrama de polímeros en solución. (a) cadena lineal; (b) cadena ramificada (Pacheco-Aguirre, 2010)

La viscosidad es un fenómeno que se manifiesta por espesamiento de un sistema líquido y ocurre por la resistencia que pone un fluido a la deformación. Así, los fluidos de viscosidad elevada presentan cierta resistencia a fluir; mientras que los fluidos de baja viscosidad fluyen con mayor facilidad. Teniendo en cuenta este fenómeno, las propiedades de dispersión y resistencia al flujo están relacionadas con la presencia de grupos OH y varían según el tipo de goma o mucílago, dependiendo de factores intrínsecos -propios de la molécula- (peso molecular, grado de ionización y de ramificación) y extrínsecos -propios del medio- (pH, temperatura, fuerza iónica) (Pacheco-Aguirre, 2010).

Además de la estructura química, la concentración del polisacárido es otro factor que afecta el tiempo necesario para alcanzar la máxima viscosidad. Asimismo, este fenómeno depende del tipo de goma o mucílago. Por ejemplo, en el caso de la goma arábiga, la viscosidad máxima se alcanza entre el 10 al 20% de concentración, en comparación con la goma tragacanto que sólo requiere el 1%. Esto se debe a la presencia de grupos carboxílicos en la estructura química de la goma tragacanto, lo que la hace más dispersable en agua. Por otra parte, los polisacáridos que presentan una mayor sustitución de grupos carboxílicos se hidratan más rápido que los que tienen una menor cantidad (Pacheco-Aguirre, 2010).

La gelificación implica además la asociación de las cadenas entre sí o de segmentos de cadenas entre ellas, según las etapas de transición que se indican a continuación (**Figura 3.2**):

- *Estado de dispersión*: donde el polímero está en forma de solución y las macromoléculas no están organizadas unas con respecto a otras
- *Gel elástico*: aparece cuando las cadenas están suficientemente asociadas para formar una red o gel
- *Gel rígido*: a medida que las cadenas se organizan entre sí, el gel se transforma cada vez más rígido, lo que da lugar al fenómeno de sinéresis; ya que el gel se contrae y exuda una parte de la fase líquida

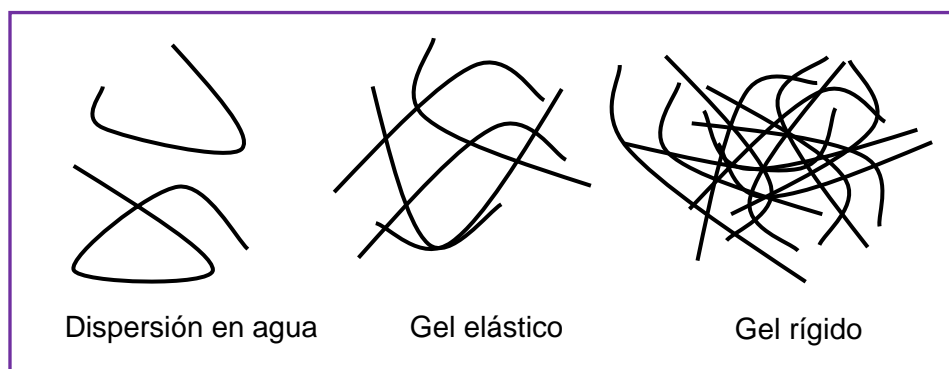


Figura 3.2. Fenómenos generales de la gelificación (Pacheco-Aguirre, 2010)

Las gomas y mucílago se pueden clasificar de la siguiente manera:

De acuerdo a su origen

Naturales:

- plantas:
 - a) exudados de árboles: goma arábica, goma ghatti, goma karaya
 - b) semillas: goma guar, goma garrofín, *psyllium*, quince, tamarindo, okra
 - c) extractos: pectinas
 - d) raíces o tubérculos: almidón
- algas: agar, carragenatos, alginatos
- animal: quitina y quitosano
- microbiano (bacterias y hongos): goma xántica, dextranos

Semisintéticas:

- derivados del almidón: acetato de almidón, fosfato de almidón
- derivados de la celulosa: carboximetilcelulosa (CMC), hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), metilcelulosa (MC)

De acuerdo a su estructura química

Según la carga:

- no iónicos: goma guar, goma garrofín, tamarindo, goma xántica, celulosa, galactomananos
- aniónicos: goma arábica, karaya, tragacanto, “gellan”, agar, alginato, carragenatos y pectina ácida

Según la forma:

- lineales: amilosa, celulosa, pectinas
- ramificados:
 - cadenas cortas: goma xántica, xilano, galactomanano
 - cadenas largas: amilopectina, goma arábica, tragacanto

Según las unidades monoméricas:

- homoglicanos: amilosa, arabinanos, celulosa
- heteroglicanos: alginato, carragenato, galactomananos
- tri-heteroglicanos: “gellan”, goma xántica
- tetra-heteroglicanos: goma arábica, *psyllium*
- penta-heteroglicanos: goma ghatti, goma tragacanto

La ingesta de mucílago de chía, sólo o en combinación con la semilla, ha demostrado tener influencia en el metabolismo de lípidos, mediante la disminución de la absorción intestinal de ácidos grasos, colesterol y el arrastre de sales biliares, aumentando la pérdida de colesterol a través de las heces, además de inhibir la síntesis endógena de colesterol y la desaceleración de la digestión y la absorción de nutrientes. Además, al formar parte de la fibra dietética soluble, forma geles de alta viscosidad que producen la distensión gástrica, el enlentecimiento del vaciado gástrico y brinda sensación de saciedad, convirtiéndose en un alimento nutritivo (Hentry y col., 1990).

El proceso de obtención del mucílago de la semilla de chía parece ser sencillo, por tratarse de un hidrocoloide soluble en agua. Sin embargo, presenta etapas críticas de operación tales como la de llevar a cabo la separación de las semillas del líquido gelatinoso donde se encuentra el mucílago, producto de interés. Debido a que el mucílago retiene en su estructura una elevada proporción de líquido, se dificultan los procesos de escurrido y de deshidratación, por lo que se requiere el uso de alcohol como solvente para precipitar el mucílago o bien la separación por centrifugación (Reynoso-Cortes, 2002).

En 1996, la FAO describió al mucílago de chía como una fuente potencial de polisacárido debido a sus propiedades mucilaginosas a bajas concentraciones en soluciones acuosas (Hulse, 1996). Sin embargo, existe poca información acerca de sus características y potenciales aplicaciones como agente estabilizante y emulsificante en la industria alimentaria.

El objetivo del presente capítulo fue obtener el mucílago de chía (*Salvia hispanica* L.) mediante distintas metodologías y caracterizar sus propiedades fisicoquímicas y funcionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materia vegetal

Las semillas de chía utilizadas se obtuvieron de la firma comercial Nutracéutica STURLA SRL., Argentina (20 kg), provenientes de cultivos realizados en la provincia de Salta (25° S y 65,5° O). Las mismas se conservaron en envases plásticos cerrados herméticamente a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de la realización de las experiencias.

2. Obtención del mucílago de chía

2.1. Mucílago obtenido mediante Método I (Argentina) (MOA)

El mucílago se obtuvo siguiendo la metodología descrita en el Capítulo 2 sección **2.3.1**. Cabe destacar que con esta metodología se obtuvieron dos muestras de mucílago, habiéndose utilizado dos equipos de liofilización (RIFICOR, Argentina y Heto FD4, Dinamarca).

2.2. Mucílago obtenido mediante Método II (México) (MOM)

El mucílago se obtuvo siguiendo la técnica propuesta por Marin Flores y col. (2008) modificada y adaptada a las condiciones del laboratorio. Semillas enteras de chía se remojaron en agua (1:20 p/v), durante 1 h, a temperatura ambiente y con agitación manual durante los primeros 15 min para lograr la completa hidratación de las semillas y evitar su aglomeración. El mucílago extraído se separó de las semillas por filtración a través de una malla comercial utilizando vacío de 220 mbar mediante una bomba (Fisher Scientific, USA). Posteriormente, la solución de mucílago se concentró en un rotavapor Büchi (R-215, Suiza), con vacío a 55°C . Luego se congeló a -20°C durante 96 h y se liofilizó (-45°C , 0,060 mbar (45 μm de Hg), 5 d) (Liofilizador LABCONCO, Freezone 18, USA). El mucílago seco fue molido utilizando una multiprocesadora (Moulinex modelo 1736249, España) hasta obtener un polvo fino.

Los dos tipos de mucílago se guardaron en frascos de plástico cerrados herméticamente y se almacenaron en desecador para protegerlos de la humedad.

3. Observaciones microscópicas

El proceso de exudación del mucílago consistente en el remojo de semillas enteras de chíá en agua a diferentes tiempos (5, 10, 30 y 60 min), el mucílago liofilizado, semillas (enteras y fracturadas) después de la extracción del mucílago y dispersiones de mucílago en agua (0,25; 0,50; 0,75 y 1,00% p/v), fueron caracterizados por microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando un microscopio LEO model EVO 40, UK. Las distintas muestras se fijaron en un cubreobjetos con esmalte traslúcido y se metalizaron con una capa delgada de oro (600 Å) en un “sputter coater” marca Pelco (91000), a fin de permitir un flujo de carga electrónico producido por un evaporador catódico. Se utilizó un voltaje acelerador de 5kV y aumentos de 80 a 5000x.

4. Propiedades fisicoquímicas

4.1. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó según la técnica de Nielsen (2003). Para ello, 0,25 g de mucílago se distribuyeron uniformemente en crisoles de porcelana (previamente tarados después de llevarlos a peso constante 130°C, 2 h) y se secaron en estufa de convección de aire (Fisher Scientific, USA) durante 2 h a 100-110°C. Posteriormente se retiraron de la estufa, se taparon, se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron. El proceso se repitió hasta obtener peso constante, realizando el procedimiento por triplicado. El porcentaje de humedad en base seca se calculó según la ecuación:

$$H^0(\text{b.s.}) = \frac{P_h - P_s}{P_s} \times 100 \quad \text{Ec. 3.1}$$

donde:

P_h : peso del mucílago antes del calentamiento (g)

P_s : peso del mucílago después del calentamiento (g)

4.2. Composición proximal

La determinación del contenido de proteínas, materia grasa, cenizas y fibra cruda se realizó empleando las técnicas descriptas en el Capítulo 2, secciones 5.1.3 a 5.1.6, respectivamente.

5. Propiedades funcionales

5.1. Determinación de la solubilidad

La solubilidad se determinó siguiendo la técnica propuesta por Betancur-Ancona y col. (2003). Se prepararon 30 mL de una solución de mucílago al 1% (p/v) en erlenmeyers de 50 mL de capacidad. Los mismos se colocaron en un baño de agua a determinadas temperaturas (30, 60 y 80°C), con agitación constante durante 30 min. Asimismo, siguiendo el mismo procedimiento se evaluó la solubilidad en medio ácido y alcalino (pH 4 y 9, respectivamente). Posteriormente, se trasvasó el contenido a tubos de centrífuga de 50 mL de capacidad y se centrifugaron a 2750 rpm durante 15 min. Alícuotas de 10 mL del sobrenadante se colocaron en crisoles de porcelana previamente pesados y se secaron en estufa a 120°C durante 4 h. Se retiraron de la estufa, se dejaron enfriar en desecador y se pesaron. El porcentaje de solubilidad se calculó según la ecuación:

$$\% \text{solubilidad} = \frac{\text{peso seco} \times 300}{\text{peso muestra inicial}} \quad \text{Ec. 3.2}$$

5.2. Capacidad de retención de agua (CRA)

Se empleó la técnica descrita en el Capítulo 2, sección 5.2.1. La cantidad de mucílago utilizado en el análisis fue de 0,1g.

5.3. Capacidad de retención de aceite (CRa)

Se empleó la técnica descrita en el Capítulo 2, sección 5.2.2. La cantidad de mucílago utilizado en el análisis fue de 0,1g.

5.4. Capacidad de absorción de agua (CAb)

Se empleó la técnica descrita en el Capítulo 2, sección 5.2.3. La cantidad de mucílago utilizado en el análisis fue de 0,1g.

5.5. Capacidad de adsorción de agua (CAd)

Se empleó la técnica descrita en el Capítulo 2, sección 5.2.4. La cantidad de mucílago utilizado en el análisis fue de 0,1g.

5.6. Capacidad de absorción de moléculas orgánicas (CAMO)

Se empleó la técnica descrita en el Capítulo 2, sección 5.2.5. La cantidad de mucílago utilizado en el análisis fue de 0,3 g.

5.7. Propiedades reológicas

La determinación de las propiedades reológicas se realizaron en un reómetro AR-2000 (TA Instruments, UK) utilizando una geometría de cono y plato de 40 mm de diámetro y un ángulo de 2°, a una temperatura constante de 25±1°C.

5.7.1. Determinación del comportamiento de flujo

Se prepararon dispersiones de mucílago de chíá en agua con las siguientes concentraciones: 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00% (p/v) siguiendo el método de Betancur-Ancona y col., (2003). Las mismas se agitaron a una temperatura constante de 60°C durante 30 min, luego fueron enfriadas a temperatura ambiente y mantenidas toda una noche a 4±1°C a fin de lograr su completa hidratación. Una alícuota de 6 mL de cada dispersión se sometió a un incremento de la velocidad de deformación de 1 a 500 s⁻¹ durante 120 s, se mantuvo constante a 500 s⁻¹ durante 60 s y seguidamente, se disminuyó la velocidad de 500 a 1 s⁻¹ durante 120 s. Las determinaciones se realizaron por triplicado. Cabe destacar que previamente al ensayo las dispersiones se dejaron en reposo 3 min para alcanzar el equilibrio de la temperatura de trabajo. Los datos experimentales fueron ajustados mediante el modelo de la Ley de la Potencia de Ostwald-de Waele según la siguiente ecuación:

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad \text{Ec. 3.3}$$

donde: τ = esfuerzo de corte o de deformación; $\dot{\gamma}$ = velocidad de deformación y los parámetros k y n , se refieren al índice de consistencia e índice de comportamiento de flujo, respectivamente.

Los resultados obtenidos correspondientes de las secciones 4 a 5.7.1 fueron analizados mediante el análisis de varianza ANOVA seguido por el test de Tukey ($p < 0,05$), usando el software InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, 2004).

5.7.2. Determinación del comportamiento viscoelástico

Se realizaron ensayos de deformación en el rango de 0,01 a 10% a una frecuencia constante de 1 Hz, para determinar el intervalo de deformación correspondiente al comportamiento viscoelástico lineal, zona donde el esfuerzo cortante varía linealmente con la deformación aplicada. Luego se realizaron los ensayos de barrido de frecuencia a una deformación del 5% (valor de deformación dentro del intervalo viscoelástico lineal previamente determinado) y variando la frecuencia de 1 a 10 Hz. Así se determinaron los módulos de almacenamiento (G' , Pa) y de pérdida (G'' , Pa) y la tangente del ángulo de fase ($\tan \delta$).

5.7.3. Determinación del efecto de un conjunto de variables sobre el comportamiento de flujo

El efecto de diferentes variables sobre el comportamiento reológico de dispersiones de mucílago de chía, se llevó a cabo en un reómetro AR-2000 (TA Instruments, UK) utilizando una geometría de cono y plato de 40 mm de diámetro y un ángulo de 2°. Las determinaciones se llevaron a cabo de acuerdo a un diseño factorial 2^5 fraccionado a la $\frac{1}{4}$, analizando las variables en 4 bloques, teniendo en cuenta el efecto del método de obtención del mucílago y del agregado de una sal monovalente y de una sal divalente (**Tabla 3.1**). Las variables independientes estudiadas fueron: concentración de mucílago, temperatura, pH, fuerza iónica y concentración de sacarosa y las respuestas (variables dependientes) fueron el índice de consistencia (k) y de comportamiento de flujo (n), la tixotropía y la $\tan \delta$ (G''/G'). En la **Tabla 3.2** se presentan las variables de estudio con sus niveles estudiados (mínimos y máximos). Para cada ensayo se realizó un ANOVA con un nivel de confianza del 95%. El análisis se realizó mediante el uso del programa estadístico Statgraphics Plus versión 5.1 (2005).

Tabla 3.1. Bloques del diseño factorial fraccionado

Bloque	Método de obtención del mucílago	tipo de sal
1	I	NaCl
2	I	CaCl ₂
3	II	NaCl
4	II	CaCl ₂

Tabla 3.2. Niveles estudiados de las variables independientes

Nivel de la variable	concentración de mucílago	Temperatura	pH	fuerza iónica	concentración de sacarosa
-	0,50% (p/v)	5°C	3	0 M	0%
+	1,00% (p/v)	45°C	9	[0,05 M]	40%

donde: “-“ = nivel mínimo y “+” = nivel máximo

A partir de los resultados obtenidos del diseño factorial fraccionado, considerando las variables significativas para k , con igual significancia tanto para las curvas de ida como de vuelta -sin interacciones significativas entre ellas-, se prepararon dispersiones con 1% de mucílago, 0,05 M de sal, pH 9 y sin agregado de sacarosa, determinando las propiedades a $5\pm 1^\circ\text{C}$. De esta manera, se evaluó el efecto del método de obtención del mucílago (Métodos I y II) así como el del tipo de sal agregada (NaCl y CaCl_2) de acuerdo a un diseño factorial completo 2^2 , con dos repeticiones.

Cabe destacar que según los resultados del diseño factorial fraccionado, el nivel óptimo de la fuerza iónica sobre k , fue el menor nivel (sin sal). No obstante, se incorporó 0,05 M de sal debido a que el objetivo de este estudio fue analizar el efecto del agregado de una sal monovalente y de una sal divalente.

5.8. Determinación de la fuerza del gel

La fuerza del gel (FG) se determinó mediante el análisis de resistencia mecánica a la compresión según el método de Burkus y Temelli (1999). Se prepararon dispersiones de mucílago de chíá en agua a 1,5 y 3% (p/v), las mismas se calentaron a 80°C durante 1 h, se vertieron en moldes cilíndricos de vidrio Pyrex de 20 x 40 mm lubricados con aceite mineral y se dejaron enfriar a 4°C durante 24h. Los geles formados fueron comprimidos dentro de los moldes por una máquina universal de pruebas Instron® (modelo 4411, EE.UU) con una probeta de penetración de 5 mm a una fuerza de carga de 5 kgf y una velocidad de 5 mm/min, calculando la resistencia del material. Los datos fueron procesados mediante el empleo del software del equipo (Series IX, versión 11061).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Caracterización del mucílago de chía

Las metodologías aplicadas para la extracción del mucílago de chía, permitieron obtener tres muestras diferenciadas en su contenido de proteínas, correspondiendo dos a MOA y la restante a MOM. A continuación, se presenta la nomenclatura asignada a las diferentes muestras de mucílago.

- MOA₁₁: mucílago obtenido mediante Método I (Argentina) con 11% de proteínas
- MOA₁₉: mucílago obtenido mediante Método I (Argentina) con 19% de proteínas
- MOM₇: mucílago obtenido mediante Método II (México) con 7% de proteínas

Las dos metodologías estudiadas arrojaron un rendimiento de extracción similar ($3,8\pm 0,1$ y $3,7\pm 0,1\%$ (b.s.) MOA y MOM, respectivamente). Estos valores fueron mayores al obtenido por Reynoso-Cortés (2002) en la extracción de mucílago de semillas de chía (1,3% b.s.) y similares al obtenido por Abbott y col. (1995) en la extracción de mucílago de semillas de *Lesquerella fendleri* (4,4%). Por otra parte, Muñoz y col. (2012) estudiaron diferentes condiciones de extracción de mucílago de chía, alcanzando el mejor rendimiento (6,9%) después de 2 h de hidratación a 80°C y una relación semilla:agua (1:40 p/v). Asimismo, Marin Flores y col. (2008) evaluaron diferentes procedimientos para la extracción de mucílago de semillas desgrasadas de chía, obteniendo el rendimiento óptimo (15,1% b.s.) al emplear agitación mecánica y ultrasonido como variables asociadas a la etapa de solubilización. Cabe señalar que el rendimiento de extracción puede ser afectado por la relación soluto: solvente, temperatura y tiempo de extracción empleados. Estos parámetros son importantes y deberían ser considerados al aplicar el proceso a nivel industrial, dado que un incremento en el rendimiento puede verse reflejado en los costos del procesamiento (Sepúlveda y col., 2007).

1.2. Composición proximal

En la **Tabla 3.3** se presenta la composición proximal del mucílago de chía obtenido mediante ambas metodologías. Puede observarse que los tres tipos de mucílago exhibieron una diferente composición proximal. Así, el contenido de proteínas y de lípidos residuales fueron estadísticamente superiores ($p < 0,05$) en

MOA₁₁ y MOA₁₉, mientras que el contenido de fibra cruda fue significativamente superior en MOM₇ a expensas de una disminución del 64% en su contenido de proteínas. Además, los mucílagos correspondientes al Método I presentaron diferencias significativas entre sí, en cuanto a su contenido de proteínas, cenizas y ELN. Las diferencias encontradas en la composición de los distintos tipos de mucílago (MOA y MOM), pueden deberse a las distintas metodologías llevadas a cabo para la separación de las semillas del líquido mucilaginoso. Cabe destacar que mediante el Método I, antes de separar por tamizado el mucílago de las semillas, se realiza la ruptura manual de la mezcla liofilizada. Esta fricción podría ocasionar la fractura de las semillas, las que atravesarían junto con el mucílago la malla del tamiz, pudiendo afectar de esta manera el tenor de proteínas residuales. Asimismo, estas diferencias podrían deberse a un incremento en los tiempos de extracción de 1 a 4 h (MOM y MOA, respectivamente). En cuanto a las diferencias registradas en el contenido de proteínas en el mucílago obtenido a través de una misma metodología (MOA₁₁ y MOA₁₉, respectivamente), éstas podrían estar relacionadas con las diferencias en las condiciones operativas del proceso de liofilización. Cabe señalar que el contenido de proteínas en una goma o mucílago se debe a la presencia natural de proteínas estructurales y enzimas, así como también a una posible contaminación de los mismos con parte de la semilla. Por lo tanto, un bajo tenor de proteínas está relacionado con la pureza del hidrocoloide a menos que éstas se encuentren asociadas al mismo, como por ejemplo en la goma arábiga (da Silva y Gonçalves, 1990; Karazhiyan y col., 2011). Un comportamiento similar fue observado por Koocheki y col. (2009a) al estudiar el efecto de diferentes factores (tiempo, temperatura, pH, relación semilla: agua) sobre el rendimiento de extracción, contenido de proteínas, color y viscosidad del mucílago de semillas de *Lepidium perfoliatum* K.

En cuanto a la diferencia del mucílago de chíá con gomas comerciales, tanto MOA₁₁ como MOA₁₉ presentaron un mayor contenido de cenizas, lípidos residuales y proteínas y un menor nivel de carbohidratos que el registrado en goma guar y goma garrofín (Mazza y Biliaderis, 1989) (**Tabla 3.3**). Asimismo, el contenido de proteínas fue similar al presente en mucílago de okra (19,9%) y de semillas de membrillo (20,9%) (El-Mahdy y El-Sebay, 1984; Fekri y col., 2008, respectivamente). Por otra parte, MOM₇ exhibió un contenido de lípidos residuales y proteínas similar al

de la goma garrofín (Mazza y Biliaderis, 1989), además su contenido de proteínas fue semejante al registrado por Sepúlveda y col. (2007) en mucílago de *Opuntia ficus indica* (7,3%).

Tabla 3.3. Composición proximal (% b.s.) del mucílago de chía obtenidos mediante distintas metodologías

Componente	MOA ₁₁	MOA ₁₉	MOM ₇	GG ^a	LBG ^a
Humedad	11,4 ± 0,3 ^b	9,4 ± 0,4 ^a	11,1 ± 0,5 ^b	8,8	8,9
Proteínas^c	11,2 ± 0,3 ^b	18,8 ± 0,1 ^c	6,8 ± 0,0 ^a	4,5	7,4
Fibra cruda	13,5 ± 0,6 ^a	11,4 ± 0,2 ^a	18,0 ± 1,0 ^b	-	-
Lípidos	3,1 ± 0,2 ^b	3,2 ± 0,7 ^b	0,9 ± 0,3 ^a	0,7	1,2
Cenizas	8,4 ± 0,1 ^a	10,3 ± 0,1 ^b	9,8 ± 0,2 ^b	0,7	0,9
ELN	63,8 ± 0,5 ^b	56,2 ± 0,9 ^a	64,6 ± 0,5 ^b	94,2	90,5

GG: goma guar; LBG: "locus bean gum" - goma garrofín; ^a Mazza y Biliaderis (1989); ^c N x 6,25
Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras (p<0,05)

1.3. Observaciones microscópicas

1.3.1. Morfología y caracterización anatómica de las núculas de chía

El fruto de la chía está constituido por cuatro pequeñas núculas, similares a un aquenio indehisciente, cada una de las cuales contiene una única semilla. Las núculas de *Salvia hispanica* presentaron un tamaño -determinado por SEM- de 2,01±0,10 mm de longitud, 1,24±0,08 mm de ancho y 0,83±0,03 mm de espesor. Estas dimensiones fueron similares a las obtenidas por Ixtaina y col. (2008) y Muñoz y col. (2012). Las núculas son glabras (sin tricomas), elípticas (**Figura 3.4 a, b**) con ápice redondeado. Las cicatrices de abscisión (hilo) son casi esféricas y su diámetro de aproximadamente 0,52 mm (**Figura 3.4 c**). La superficie es lisa y Tipo I (foveal: superficie con pequeños hoyos) según la clasificación de Özkan y col. (2009) para otras especies de *Salvia* (**Figura 3.4 d**). El tamaño de la semilla, la forma y las características de ornamentación tienen un valor taxonómico importante para distinguir las diferentes especies de *Salvia* (Kahraman y Doghan, 2010).

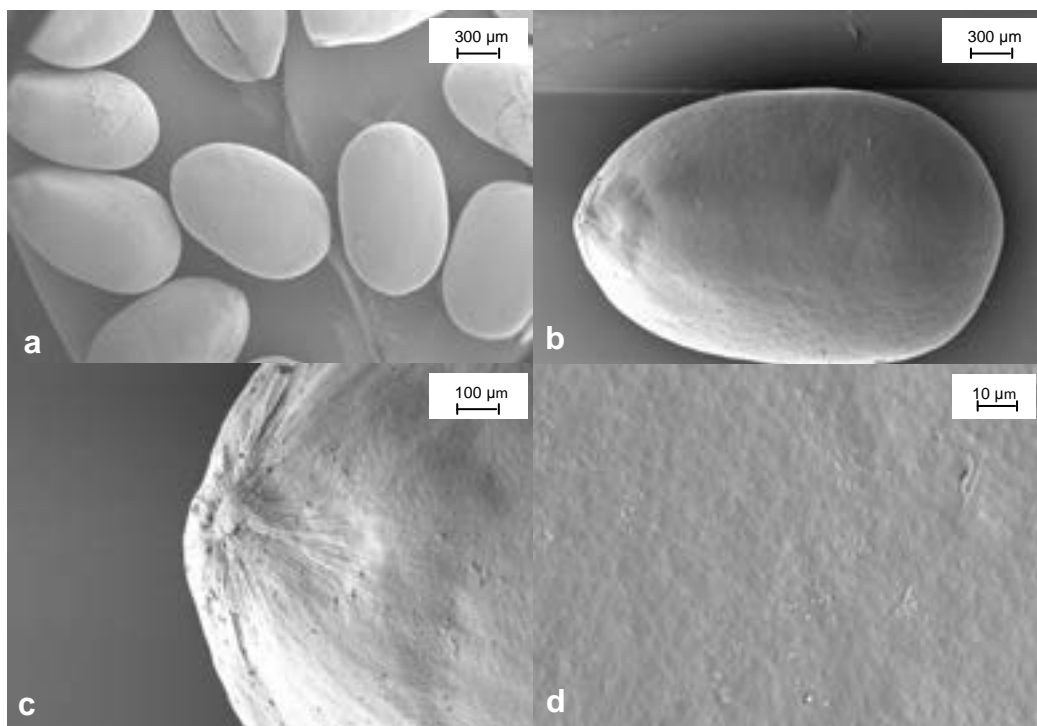


Figura 3.4. Micrografías de núculas de *Salvia hispanica* L. obtenidas por SEM. (a) núculas (x55); (b) vista lateral (x133); (c) detalle micropile (x511); (d) superficie del pericarpio (x1000)

La núcula de *Salvia hispanica* está formada por una semilla verdadera y un pericarpio que rodea a la misma. La verdadera semilla se compone de una cubierta (testa), el endosperma y el embrión compuesto principalmente por dos cotiledones (**Figura 3.5 a**). Básicamente, el pericarpio fue similar al de otra *Nepetoidea*, por presentar cutícula, exocarpio, mesocarpio, capas de esclereidas y endocarpio (interior de la epidermis) (**Figura 3.5 b**). Las células del mesocarpio y exocarpio son parenquimáticas. En el exocarpio, a menudo hay células que producen mucílago cuando las núculas se humedecen. Hedge (1970) estudió muchas especies de *Salvia* encontrando que las mismas tienen una estructura básica similar, aunque muestran diferencias en el espesor del pericarpio, las proporciones de las capas individuales y el color. En las núculas estudiadas, el grosor del pericarpio varió entre 66,7 y 68,6 μm , siendo las capas de esclereidas (32,0 a 37,0 μm) la parte más gruesa del pericarpio. Las capas más internas del mesocarpio se diferencian de las demás capas por presentar cristales prismáticos.

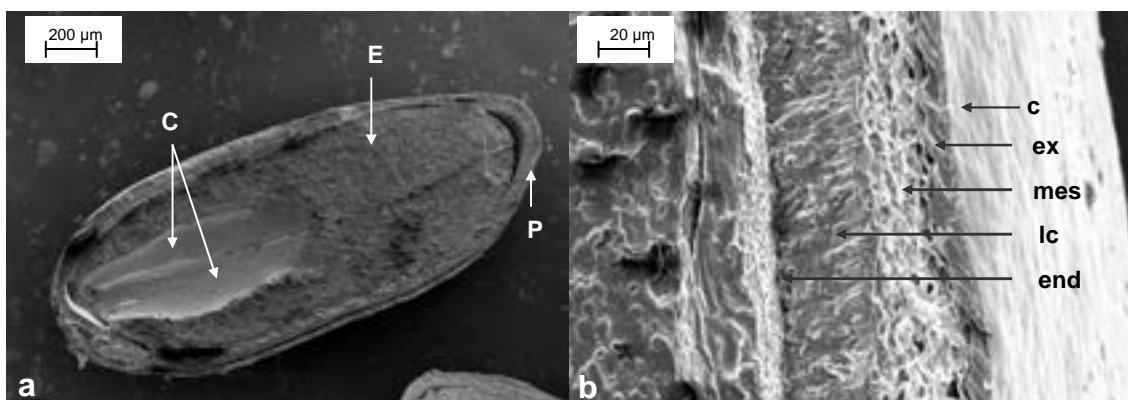


Figura 3.5. Micrografías de núculas de *Salvia hispanica* L. (a) Sección longitudinal mostrando la estructura interna (x143); (b) sección transversal del pericarpio (x1500). P: pericarpio; T: testa; E: endospermo; C: cotiledones; c: cutícula; exo: exocarpio; meso: mesocarpio; lc: capa de esclereidas; endo: endocarpio

1.3.2. Exudación del mucílago

Cuando las núculas de chía están en contacto con agua, el exocarpio se hincha, la cutícula se rompe al agotar su elasticidad y el contenido de las células epicárpicas se derrama como mucílago rodeando toda la superficie del fruto, permaneciendo adherido a la misma con una notable tenacidad. El mucílago está formado por células de la pared vegetal, que consisten en fibrillas celulósicas higroscópicas con aberturas espiraladas (Ryding, 1992b). En muchos casos, el hinchamiento de las células mucilaginosas sobresale de la superficie del pericarpio. Según Ryding (1992a) quien estudió la presencia o ausencia de mixocarpio en muchos géneros de *Lamiaceae*, el fenómeno sólo ha sido registrado en la subfamilia *Nepetoideae* y dentro de la subfamilia, aproximadamente el 70% de las especies son mucilaginosas. También Ryding (2001) ha informado que especies con núculas pequeñas son a menudo más mixodiaspóricas que las núculas grandes y también las núculas anuales más que las perennes. La **Figura 3.6** muestra el fenómeno de la mixocarpia cuando las núculas de *Salvia hispanica* se humedecen. Puede visualizarse que después de 5 min de hidratación, la cutícula se rompe (**Figura 3.6 a**) y el contenido de las células del exocarpio rodea gradualmente el resto del fruto (**Figura 3.6 a-d**). Tal como se muestra en las micrografías SEM, la velocidad de liberación del mucílago después de un remojo inicial es muy alta (pocos minutos). Un comportamiento similar ha sido observado en semillas de *Arabidopsis* (Western y col., 2000). Este fenómeno puede deberse a que durante los primeros

minutos de la hidratación de las semillas, las partículas se hinchan permitiendo la difusión de las moléculas de agua y generan la destrucción de los enlaces débiles entre las macromoléculas. Así, los polisacáridos solubles y las proteínas difunden a la fase acuosa formando agregados globulares y estructuras celulares con formas poliédricas y de apariencia compacta (Ivanov y col., 2011).

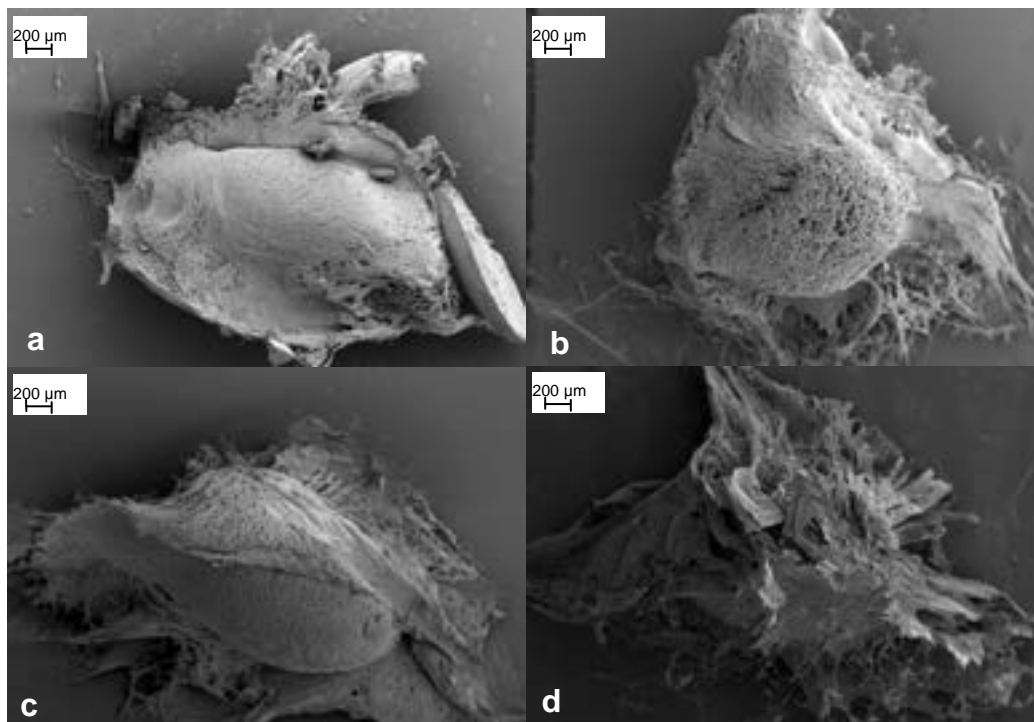


Figura 3.6. Micrografías que ilustran el fenómeno de mixocarpia de núculas de chía (*Salvia hispanica* L.) en función del tiempo de hidratación (x80). (a) 5 min; (b) 10 min; (c) 30 min; (d) 60 min

1.3.3. Caracterización de las núculas de chía después de la extracción del mucílago

En la **Figura 3.7** se muestran las micrografías obtenidas por SEM correspondientes a núculas de chía después de la extracción del mucílago. Se puede observar que el fenómeno de mixocarpia ocurre en las capas externas (cutícula y exocarpio). Después de la remoción del mucílago, la superficie de la núcula presenta pequeñas eminencias espaciadas que cubren toda la superficie, correspondiendo a las células del mesocarpio (**Figuras 3.7 b, d y e**).

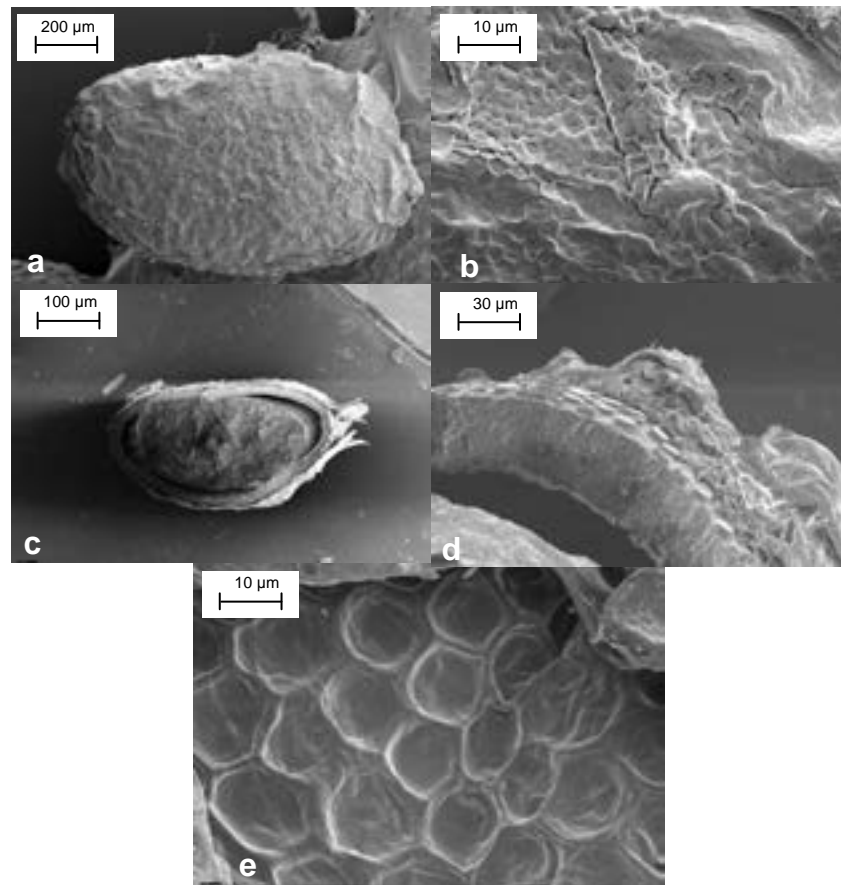


Figura 3.7. Micrografías obtenidas por SEM correspondientes a núculas de *Salvia hispanica* L. después de la extracción del mucílago. (a) núcula entera (x133); (b) superficie de la núcula (x1500); (c) núcula fracturada (x150); (d) núcula fracturada (x1500); (e) superficie de la núcula (x5000)

Estas semillas exhibieron una estructura similar a la de dos especies de semillas mucilaginosas (*Carrichtera annua* y *Anastatica lierochuntica*) que presentan agregados concéntricos de ácido glucurónico dispuestos en forma separada sobre su superficie (Gutterman y Shem-Tov, 1997). La retención del mucílago cerca de la semilla puede deberse a la asociación del mucílago con la columela (pared celular secundaria producida con posterioridad a la secreción de mucílago) y restos de la pared celular (Western y col., 2000).

En la **Figura 3.8** se presentan las micrografías del mucílago fresco y deshidratado por liofilización. La asociación entre los diferentes componentes que conforman el mucílago representa una estructura de red de poros abiertos (**Figura 3.8 a**), la cual proporciona interesantes propiedades reológicas (formación

de gel). Ahora bien, cuando el mucílago fue liofilizado (**Figura 3.8 b**), adquirió un aspecto de hojas superpuestas.

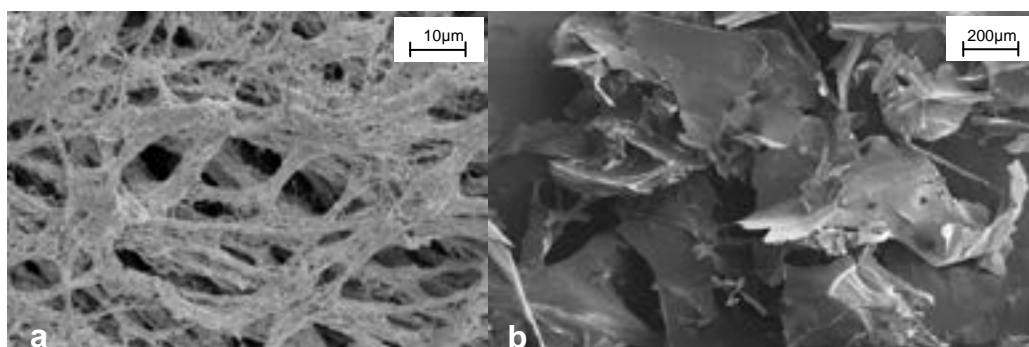


Figura 3.8. Micrografías obtenidas por SEM del mucílago de *Salvia hispanica* L. (a) mucílago fresco (x3000); (b) mucílago liofilizado (x200)

En la **Figura 3.9** se muestran las micrografías de diferentes dispersiones de mucílago de chía en agua. Las imágenes muestran hebras de polisacáridos claras, las que se hicieron más densas en función del incremento de la concentración de mucílago.

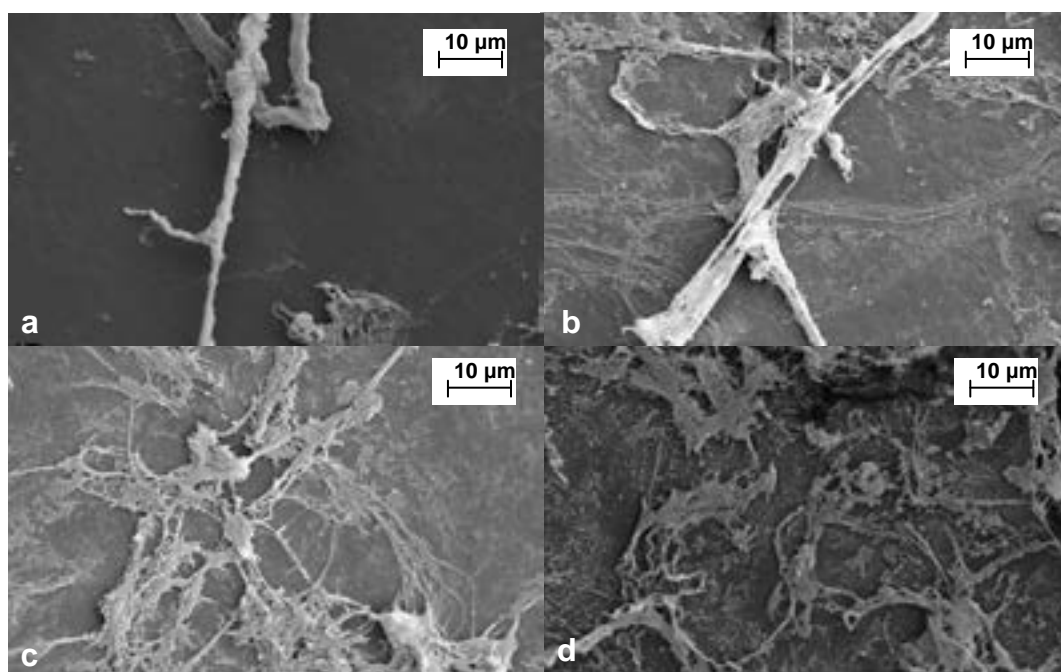


Figura 3.9. Micrografías obtenidas por SEM de diferentes dispersiones de mucílago en agua (x3000). (a) 0,25; (b) 0,50; (c) 0,75; (d) 1,00 % p/v

1.4. Propiedades funcionales

1.4.1. Solubilidad

En la **Figura 3.10** se presenta la solubilidad en agua de dispersiones al 1% p/v de mucílago de chía con diferentes niveles de pH. Puede observarse que independientemente del nivel de proteínas, los tres tipos de mucílago exhibieron una alta solubilidad. La misma varió entre 77 y 95% en el rango de temperaturas estudiadas (30-80°C), siendo las dispersiones formuladas con MOM₇ las que presentaron mayor solubilidad. Asimismo, la solubilidad de las dispersiones aumentó con el incremento de la temperatura, siendo este efecto estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en MOA₁₁ y MOM₇. Cabe señalar que MOA₁₁ (pH 6,5) y MOM₇ (pH 9) presentaron un máximo de solubilidad a 60°C y luego una disminución, aunque ésta no fue significativa ($p > 0,05$). La elevada solubilidad del mucílago de chía podría asociarse con la estructura del mismo, la cual es ligeramente ramificada, considerando que la dispersión en agua de las gomas y mucílago depende principalmente de su estructura química. El aumento de la solubilidad del mucílago con el incremento de la temperatura puede atribuirse a una mejor disolución de algunas moléculas, por ejemplo componentes de alto peso molecular (García-Ochoa y Casas, 1992). Por otra parte, la disminución de la solubilidad a elevadas temperaturas podría atribuirse a un efecto gelificante (Sciarini y col., 2009).

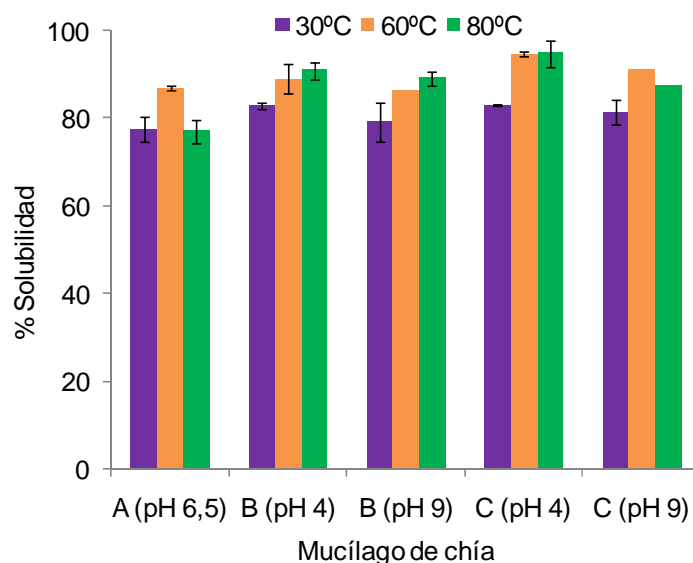


Figura 3.10. Solubilidad (%) de dispersiones de mucílago de chía en función de la temperatura y el pH. (A): MOA₁₁; (B): MOA₁₉; (C): MOM₇

Por otra parte, si bien MOA₁₉ y MOM₇ presentaron un aumento de solubilidad en medio ácido para cada una de las temperaturas estudiadas, el mismo no fue estadísticamente significativo ($p > 0,05$). Las diferencias en la solubilidad a distintos pH podrían estar indicando que el mucílago de chía se comporta como un polielectrolito.

Cabe destacar que la solubilidad del mucílago de chía fue mayor que la exhibida por dispersiones con igual concentración de gomas guar y xántica (Sciarini y col., 2009), *Lepidium perfoliatum* y goma garrofín (Koocheki y col., 2013) y similar a la solubilidad de una suspensión acuosa de mucílago de lino al 0,5% p/v (70-90%) (Mazza y Biliaderis, 1989).

1.4.2. CRA, CAb, CAd, CRa y CAMO

En la **Tabla 3.4** se presentan las propiedades funcionales de los diferentes mucílagos de chía. Puede observarse que todas las propiedades fueron significativamente superiores ($p < 0,05$) en MOM₇. Este comportamiento puede relacionarse con la mayor pureza del mucílago obtenido por el Método II. Así, la mayor capacidad para retener y absorber agua de MOM₇, puede atribuirse a su menor contenido de lípidos residuales (ver **Tabla 3.3**). Un comportamiento similar se observó en mucílago de chía con y sin aceite, obtenido a partir de semillas de origen mexicano (Ciau Solís, 2007). No obstante, tanto MOA₁₉ como MOM₇ exhibieron valores de CRA superiores a los de la cáscara de maracuyá (8,7 g/g), desechos de naranja (rango de 7,65 a 8,23 g/g), níspero (3,8 g/g) y una fracción rica en fibra de semillas mexicanas (15,41 g/g) (Baquero y Bermúdez, 1998; Tamayo y Bermúdez, 1998; Sánchez, 2005 y Vázquez-Ovando y col., 2009, respectivamente). Estas diferencias pueden deberse a que el mucílago de chía constituye la fracción soluble de la fibra de la semilla, siendo este tipo de fibra la que mayor influencia tiene sobre estas propiedades. Además, MOA₁₉ presentó una CAb similar a la registrada por Koocheki y col. (2013) en gomas de semillas de *Lepidium perfoliatum* y goma garrofín (21 y 29 g/g, respectivamente). En tanto, la mayor CAd de MOM₇ puede relacionarse con la mayor cantidad de carbohidratos presentes en esta muestra (ver **Tabla 3.3**) ya que los azúcares libres tienden a solubilizarse con mayor facilidad (Sánchez, 2005).

Por otra parte, los dos tipos de mucílago tuvieron una alta CRa, siendo esta propiedad superior a la de las gomas guar, xántica (4 a 6 g aceite/g de fibra) y

arábiga (8 a 9 g aceite/g de fibra) (Altunakar y col., 2006) y semejante a la de mucílago de chía con aceite obtenido de semillas mexicanas (25,79 g aceite/g de fibra) (Ciau Solís, 2007). Si bien las fibras insolubles presentan una mejor capacidad para retener aceite que las fibras solubles (Cruz, 2002), en base a los resultados obtenidos puede observarse que el mucílago de chía presenta una mayor CRA que la fracción rica en fibra de chía obtenida a partir de ambos métodos de extracción de aceite (FRFs y FRFp) (predominantemente insoluble) (ver **Tabla 2.13**) y que una fracción rica en fibra de chía mexicana (Vázquez-Ovando y col., (2009). Este comportamiento podría atribuirse al efecto del tamaño de partículas y al contenido de celulosa. Así, las partículas de menor tamaño, por exponer una mayor área de contacto, así como la ausencia de celulosa, por su comportamiento predominantemente hidrofílico, contribuyen a aumentar la CRA en las fibras (López y col., 1996; Vázquez- Ovando y col., 2009).

Tabla 3.4. Propiedades funcionales del mucílago de chía (g/g)

Mucílago	CRA	CAb	CAd	CRa	CAMO
MOA ₁₉	88,44±0,67 ^a	24,30±0,92 ^a	1,57±0,05 ^a	20,11±0,31 ^a	17,23±0,84 ^a
MOM ₇	158,25±0,97 ^b	140,80±0,89 ^b	1,73±0,01 ^b	39,91±0,99 ^b	42,88±0,43 ^b

Valores seguidos por letras distintas indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0,05$)

1.4.3. Propiedades reológicas

Cabe señalar que las dispersiones formuladas con MOA₁₉ y MOM₇ presentaron niveles de pH de 6,5 y 6,7, respectivamente.

1.4.3.1. Comportamiento de flujo

En la **Figura 3.11 a y b** se muestra la variación de la viscosidad aparente en función de la velocidad de deformación, a 25°C, para diferentes concentraciones de mucílago de chía obtenidos mediante los Métodos I y II, respectivamente. Se puede observar que la viscosidad de todas las dispersiones disminuyó al aumentar la velocidad de deformación. Este hecho indica que las muestras presentaron un comportamiento pseudoplástico, debido a que a medida que la velocidad de deformación se incrementa, las cadenas de las moléculas de polímeros entrelazadas dispuestas en forma aleatoria se alinean en la dirección del flujo, generando soluciones de menor viscosidad, ocasionando una menor interacción entre las

cadena de polímeros adyacentes (Koocheki y col., 2013). Un comportamiento similar ha sido observado para diferentes soluciones de hidrocoloides (Mazza y Biliaderis, 1989; Medina-Torres y col., 2000; Karazhiyan y col., 2009; Koocheki y col., 2009b; Chenlo y col., 2010; Nep y Conway, 2011 y Koocheki y col., 2013). Cabe destacar que los valores altos de viscosidad a bajas velocidades de deformación se relacionan con la percepción de la consistencia del producto en la boca, mientras que los bajos valores de este parámetro a altas velocidades de deformación, simulan la viscosidad del producto durante ciertos procesos tales como el bombeo, secado por “spray” y rellenado (Morris y Taylor, 1982; Tada y col., 1998). Así, la eficiencia en una operación de bombeo aumenta a medida que se incrementa el flujo del caudal de la bomba (Race, 1991).

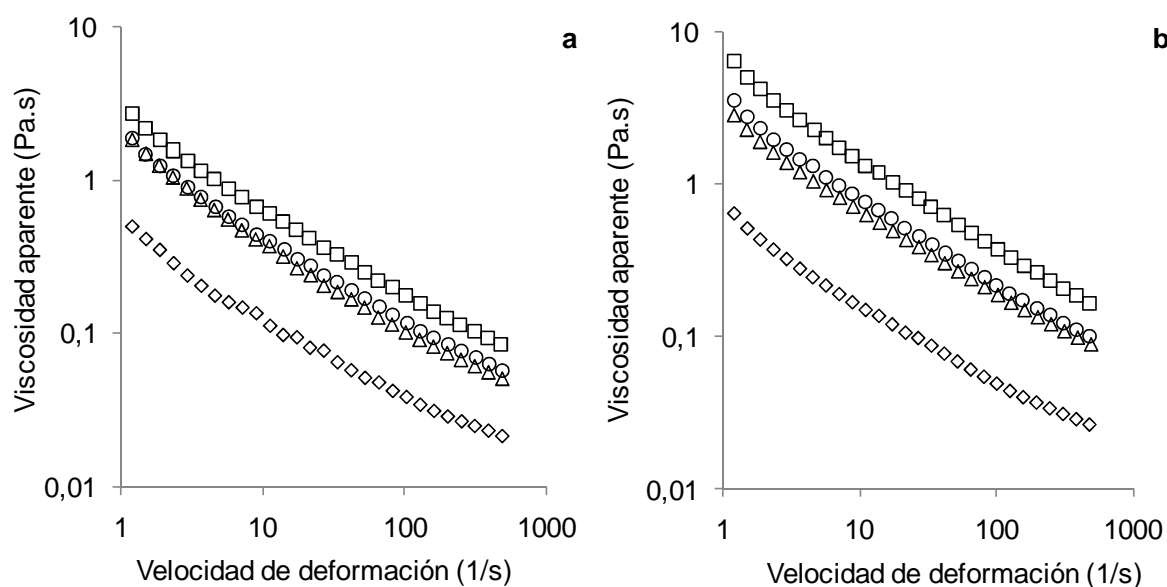


Figura 3.11. Efecto de la velocidad de deformación sobre la viscosidad aparente a 25°C de dispersiones de mucílago de chíá: (\diamond): 0,25%; (Δ): 0,50%; (\circ): 0,75%; (\square): 1,00% (p/v). (a) MOA₁₉, (b) MOM₇

Por otra parte, se puede observar que la viscosidad aparente de las dispersiones aumentó en función del incremento de la concentración de mucílago desde 0,25 a 1,00% (p/v). Este comportamiento puede atribuirse al mayor contenido de sólidos totales en la dispersión, los cuales generan un incremento de la viscosidad debido principalmente a los movimientos intermoleculares producidos por las fuerzas hidrodinámicas y la formación de un film interfacial (Maskan y Gogus,

2000). Este fenómeno ha sido observado en dispersiones de goma xántica, mucílago de lino, *Opuntia ficus indica*, goma tragacanto y guar y *Lepidium perfoliatum* (Speers y Tung, 1986; Mazza y Biliaderis, 1989; Medina-Torres y col., 2000; Chenlo y col., 2010 y Koocheki y col., 2013, respectivamente).

En la **Tabla 3.5** se presentan los valores del índice de consistencia (k) y de comportamiento de flujo (n) de las dispersiones de mucílago de chía en función de la concentración del polisacárido, para las curvas de ida y de regreso, respectivamente. Los valores de n de todas las muestras fueron menores que 1, confirmando la naturaleza pseudoplástica de las dispersiones para las condiciones ensayadas. Asimismo, estos valores fueron menores que 0,6 -límite considerado para una buena percepción del alimento en la boca- (Chhinnan y col., 1985; Muller y col., 1994). Los coeficientes de correlación (R^2) fueron muy cercanos a 1, demostrando que el modelo de la Ley de la Potencia fue adecuado para determinar el comportamiento de flujo de las dispersiones de mucílago de chía. Los valores de k de las dispersiones formuladas con MOM₇, para cada concentración, fueron significativamente superiores ($p < 0,05$) que los correspondientes a las dispersiones formuladas con MOA₁₉, indicando que el Método II aplicado para la extracción de mucílago permite obtener un producto más puro, favoreciendo una mejor interacción entre las moléculas del polisacárido. Asimismo, con el incremento de la concentración de mucílago, los valores de k aumentaron mientras que los valores de n disminuyeron significativamente ($p < 0,05$). Este hecho confirma que con el incremento de la concentración del polisacárido produce el aumento de la viscosidad y el grado de pseudoplasticidad de las dispersiones.

Por otra parte, las diferencias encontradas en los valores de los parámetros entre las curvas de ida y de regreso indican que el comportamiento de flujo de las dispersiones de mucílago de chía exhibió una dependencia con el tiempo de deformación. Así, al graficar la variación del esfuerzo cortante en función de la velocidad de deformación (**Figura 3.12 a y b**), puede observarse entre las curvas de ida y de regreso la presencia de un bucle conocido como histéresis y su área es una medida del grado de tixotropía (Steffe, 1996). De esta manera, podemos decir que la viscosidad de las dispersiones no depende sólo de la velocidad de deformación sino también de la duración de la deformación, ya que al mantener constante la velocidad de deformación, la viscosidad desciende con el tiempo (Nuñez-Santiago, 2001).

Tabla 3.5. Parámetros de la Ley de la Potencia para dispersiones de mucílago de chía a diferentes concentraciones

Mucílago	Concentración (% p/v)	Curva de ida			Curva de regreso			Área del bucle (Pa/s)
		k (Pa.s ⁿ)	n (-)	R ²	k (Pa.s ⁿ)	n (-)	R ²	
MOA₁₉	0,25	0,42 ± 0,03 ^a	0,49 ± 0,01 ^b	0,99	0,23 ± 0,01 ^a	0,56 ± 0,01 ^b	0,99	1214 ^a
	0,50	1,61 ± 0,15 ^b	0,41 ± 0,04 ^a	0,98	0,80 ± 0,03 ^b	0,53 ± 0,01 ^a	1,00	2505 ^b
	0,75	1,62 ± 0,02 ^b	0,44 ± 0,00 ^a	0,99	0,93 ± 0,02 ^c	0,52 ± 0,01 ^a	1,00	2727 ^b
	1,00	2,43 ± 0,04 ^c	0,44 ± 0,00 ^a	0,99	1,44 ± 0,03 ^d	0,52 ± 0,00 ^a	1,00	3488 ^c
MOM₇	0,25	0,56 ± 0,02 ^a	0,48 ± 0,01 ^b	0,99	0,30 ± 0,00 ^a	0,56 ± 0,01 ^c	1,00	1499 ^a
	0,50	2,55 ± 0,05 ^b	0,44 ± 0,00 ^a	0,99	1,41 ± 0,00 ^b	0,54 ± 0,00 ^b	1,00	4087 ^b
	0,75	3,18 ± 0,02 ^c	0,42 ± 0,00 ^a	0,99	1,82 ± 0,03 ^c	0,52 ± 0,00 ^b	1,00	4427 ^b
	1,00	5,80 ± 0,09 ^d	0,41 ± 0,00 ^a	0,99	3,50 ± 0,03 ^d	0,50 ± 0,00 ^a	1,00	6675 ^c

Valores seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas, entre concentraciones, para cada tipo de mucílago (Tukey, $p < 0,05$)

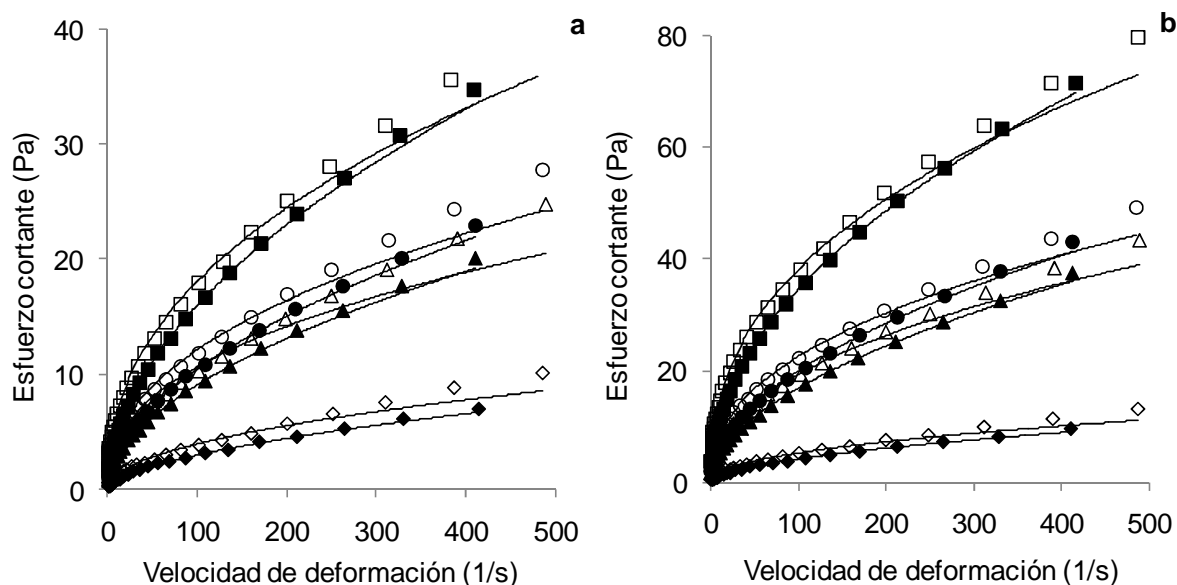


Figura 3.12. Curvas de flujo de dispersiones de mucílago de chía con diferentes concentraciones (% p/v) a 25°C: (\diamond): 0,25; (Δ): 0,50; (\circ): 0,75; (\square): 1,00. (—): Modelo de la Ley de la Potencia. Símbolos vacíos: curva de ida, símbolos llenos: curva de regreso. (a) MOA₁₉, (b) MOM₇

En ambos tipos de mucílago, el área del bucle aumentó significativamente con el incremento de la concentración ($p < 0,05$), siendo este efecto más pronunciado en las dispersiones formuladas con MOM₇ (Tabla 3.5). Este comportamiento puede atribuirse al mayor grado de estructuración de las soluciones más concentradas (Altan y col., 2005; Karazhiyan y col., 2009). Asimismo, en la Figura 3.12 a y b puede observarse que las dispersiones formuladas con MOM₇ opusieron un mayor esfuerzo a la deformación, siendo este efecto más pronunciado al incrementarse la velocidad de deformación.

1.4.3.2. Comportamiento viscoelástico

En la Figura 3.13 a y b se presenta el comportamiento viscoelástico -obtenido mediante el barrido de frecuencias- de las diferentes dispersiones de mucílago de chía. Puede observarse que para los dos mucílago de chía, tanto el módulo de almacenamiento o elástico (G') como el módulo de pérdida o viscoso (G'') presentaron una dependencia con la frecuencia, siendo este efecto más pronunciado en las dispersiones formuladas con MOM₇. En todas las dispersiones

$G' > G''$ indicando un comportamiento elástico de las muestras, similar al de soluciones de goma de *psyllium* (Farahnaky y col., 2010).

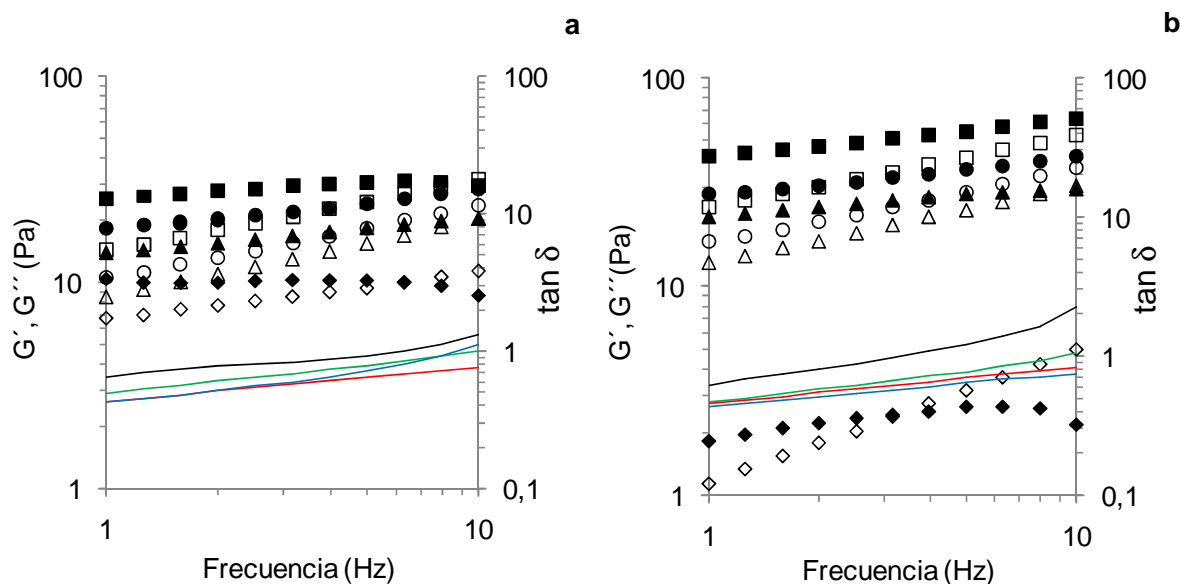


Figura 3.13. Barrido de frecuencias para las dispersiones de mucílago de chíá con diferentes concentraciones (% p/v): (♦): 0,25; (▲): 0,50; (●): 0,75; (■): 1,00. Símbolos llenos: G' , símbolos vacíos: G'' y líneas: $\tan \delta$ (negra): 0,25; (verde): 0,50; (roja): 0,75; (azul): 1,00. (a) MOA₁₉, (b) MOM₇

Por otra parte, puede observarse que a mayor concentración de mucílago, el grado de separación entre los dos módulos fue mayor y en las dispersiones de menor concentración (0,25 y 0,50%) se produjo un cruce entre las curvas de G' y G'' . Este comportamiento señala que a altas frecuencias de deformación y bajas concentraciones, la estructura del mucílago se rompe, transformándose en un material con un comportamiento ligeramente viscoso, similar al de dispersiones de mucílago de *Opuntia ficus indica* (Medina-Torres y col., 2000). Además, puede observarse que los valores de la componente elástica y viscosa fueron mayores al incrementarse la concentración de mucílago, siendo dichos valores superiores en las dispersiones formuladas con MOM₇. Esto estaría indicando que MOM₇ tiene la capacidad de formar estructuras más firmes.

La tendencia de una solución diluida o concentrada para exhibir un comportamiento más viscoso o elástico en función del incremento de la frecuencia, puede ser analizada con más detalle teniendo en cuenta la dependencia de la $\tan \delta$ con la frecuencia. La $\tan \delta$ indica la relación entre la energía disipada y la energía

almacenada por ciclo de un material (G''/G'). Así, los sistemas poliméricos pueden clasificarse según su valor de $\tan \delta$ en: soluciones diluidas (valores altos, usualmente mayores de 3), polímeros amorfos (valores cercanos a 1, aunque pueden fluctuar en el intervalo de 0,2 a 3), polímeros vítreos y cristalinos (valores próximos a 0,1) y polímeros con pocos enlaces cruzados a bajas frecuencias (valores del orden de 0,01) (Ferry, 1980). Asimismo, en la **Figura 3.13 a y b** puede observarse la variación de la $\tan \delta$ en función de la frecuencia para diferentes concentraciones de mucílago de chía. En todas las dispersiones, los valores de este parámetro exhibieron una tendencia de aumento con el incremento de la frecuencia, siendo este hecho más pronunciado en aquellas de menor concentración de mucílago (0,25%). Los valores de $\tan \delta$ fueron mayores en las dispersiones de 0,25% de mucílago (0,9 y 1,1, MOA₁₉ y MOM₇, respectivamente); mientras que en las formuladas con 0,50; 0,75 y 1,00% los valores promedio de $\tan \delta$ fueron de 0,7 y 0,6 en MOA₁₉ y MOM₇, respectivamente. Según la clasificación mencionada anteriormente, estos resultados sugieren que el mucílago de chía se comportaría como un polímero amorfo, con la propiedad de formar geles débiles en el rango de concentraciones estudiadas.

1.4.3.3. Efecto de un conjunto de variables sobre las propiedades reológicas del mucílago de chía

En la **Tabla 3.6** se muestra el diseño de experimentos y las respuestas obtenidas de los índices de consistencia (k) y de comportamiento de flujo (n) correspondientes a las curvas de ida y de regreso, mediante el ajuste experimental de los datos con la Ley de la Potencia, así como de la tixotropía. Todas las dispersiones se comportaron como fluidos no newtonianos, siendo su naturaleza pseudoplástica debido a que los valores de n fueron menores que 1 para todas las condiciones ensayadas. Asimismo, al comparar los parámetros k y n de todos los experimentos entre las curvas de ida y de regreso, puede observarse que los valores de k disminuyeron, mientras que los de n aumentaron. Estas diferencias demuestran que las dispersiones exhibieron un comportamiento tixotrópico. Así, a una velocidad de deformación constante, la viscosidad aparente disminuye en función del tiempo de deformación, pudiendo atribuirse este hecho a la ruptura progresiva de la estructura de este tipo de muestras (Abu-Jdayil y Mohameed 2004). Un

comportamiento similar fue observado para soluciones de hidrocoloides provenientes de extracto de semilla de *Lepidium sativum* y de tubérculo Salep y semillas de Balangu (Karazhiyan y col., 2009, Razavi y Karazhiyan 2009).

Tabla 3.6. Diseño experimental, parámetros de la Ley de la Potencia -curvas de ida y de regreso- y tixotropía de diferentes dispersiones de mucílago de chíá

Ensayo	Bloque	A	B	C	D	E	Curva de ida		Curva de regreso		Área del bucle (Pa/s)
							k (Pa.s ⁿ)	n (-)	k (Pa.s ⁿ)	n (-)	
1	1	-1	-1	-1	-1	-1	0,63	0,47	0,27	0,60	1533
2	1	+1	+1	-1	-1	-1	1,44	0,40	0,61	0,51	2125
3	1	+1	-1	+1	+1	-1	2,22	0,44	1,06	0,55	3434
4	1	-1	+1	+1	+1	-1	0,40	0,47	0,19	0,55	1103
5	1	+1	-1	+1	-1	+1	2,88	0,50	1,60	0,60	6252
6	1	-1	+1	+1	-1	+1	0,68	0,52	0,36	0,61	1879
7	1	-1	-1	-1	+1	+1	0,50	0,61	0,27	0,70	2372
8	1	+1	+1	-1	+1	+1	1,00	0,51	0,67	0,56	2641
9	2	+1	-1	-1	-1	-1	2,53	0,42	1,21	0,54	3631
10	2	-1	+1	-1	-1	-1	0,39	0,47	0,19	0,54	1156
11	2	-1	-1	+1	+1	-1	0,32	0,40	0,20	0,38	831
12	2	+1	+1	+1	+1	-1	0,97	0,34	0,64	0,35	1378
13	2	-1	-1	+1	-1	+1	1,09	0,56	0,65	0,65	3353
14	2	+1	+1	+1	-1	+1	2,49	0,46	1,40	0,55	4178
15	2	+1	-1	-1	+1	+1	1,59	0,51	0,75	0,63	2779
16	2	-1	+1	-1	+1	+1	0,20	0,57	0,10	0,65	1035
17	3	+1	-1	+1	-1	-1	7,14	0,43	4,76	0,50	8911
18	3	-1	+1	+1	-1	-1	1,23	0,45	0,73	0,53	2228
19	3	-1	-1	-1	+1	-1	0,78	0,48	0,37	0,59	1830
20	3	+1	+1	-1	+1	-1	1,71	0,41	0,80	0,52	2658
21	3	-1	-1	-1	-1	+1	0,85	0,58	0,45	0,67	3027
22	3	+1	+1	-1	-1	+1	3,11	0,39	1,35	0,53	3873
23	3	+1	-1	+1	+1	+1	3,83	0,50	2,22	0,59	7450
24	3	-1	+1	+1	+1	+1	1,08	0,42	0,41	0,57	1839
25	4	-1	-1	+1	-1	-1	1,55	0,48	0,90	0,57	3033
26	4	+1	+1	+1	-1	-1	4,75	0,40	2,75	0,48	5340
27	4	+1	-1	-1	+1	-1	2,57	0,45	1,25	0,57	3979
28	4	-1	+1	-1	+1	-1	0,30	0,49	0,15	0,54	1007
29	4	+1	-1	-1	-1	+1	4,49	0,48	2,32	0,58	8031
30	4	-1	+1	-1	-1	+1	0,98	0,45	0,39	0,60	2035
31	4	-1	-1	+1	+1	+1	0,27	0,69	0,26	0,66	1809
32	4	+1	+1	+1	+1	+1	2,97	0,36	1,01	0,53	3343

A: concentración de mucílago; **B:** temperatura; **C:** pH; **D:** fuerza iónica; **E:** concentración de sacarosa

En la **Figura 3.14** se muestra el efecto de las variables y sus interacciones sobre el índice de consistencia (k) de la curva de flujo de ida. Puede observarse que k fue afectada significativamente por la concentración de mucílago, fuerza iónica, pH y temperatura, siendo la concentración de mucílago la variable con un mayor efecto significativo. Así, este parámetro se incrementa con el aumento de la concentración de mucílago a pH alcalino, mientras que disminuye en un medio con presencia de fuerza iónica al aumentar la temperatura. Además, se detectaron diferencias significativas entre bloques ($p < 0,05$), no pudiendo inferirse si la causa de dicha diferencia es debida al tipo de sal (mono o divalente) o al Método de extracción del mucílago (I y II). Asimismo, las interacciones entre factores no fueron significativas ($p > 0,05$). Estos resultados coinciden con estudios realizados por Marcotte y col. (2001), Vardhanabhuti e Ikeda (2006), Farhoosh y Riazi (2007) y Koocheki y col. (2009b) quienes señalan que el índice de consistencia de diferentes soluciones de hidrocoloides aumenta con el incremento de la concentración del polisacárido, debido a que las interacciones hidrodinámicas entre las moléculas del polisacárido son mayores. Por otra parte, k disminuye con el incremento de la temperatura porque aumenta la energía de disipación entre las moléculas del polisacárido. De este modo, disminuyen las interacciones intermoleculares y por lo tanto las soluciones poliméricas muestran una menor resistencia a fluir.

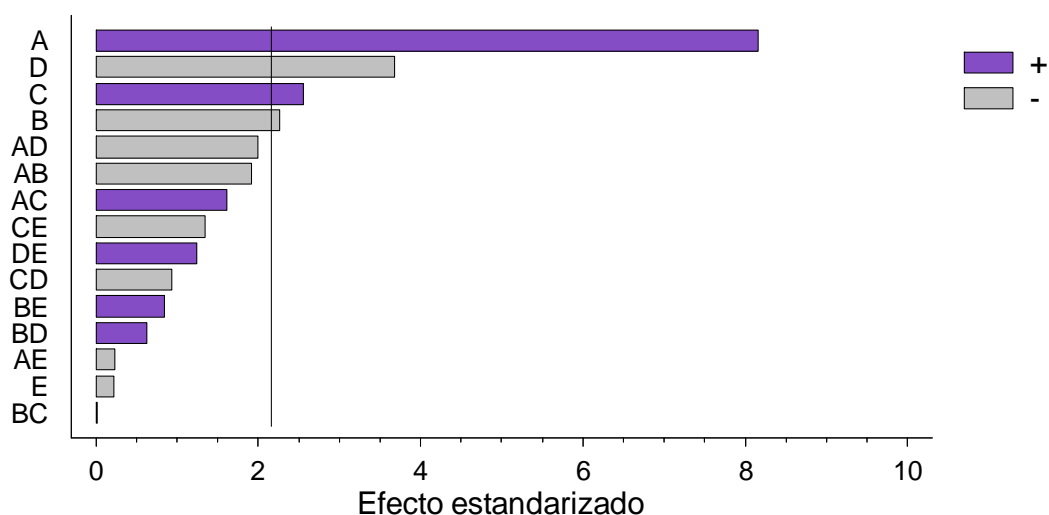


Figura 3.14. Diagrama de Pareto correspondiente al índice de consistencia (k) de la curva de flujo de ida. La línea negra indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo ($p \leq 0,05$). A: concentración de mucílago; B: temperatura; C: pH; D: fuerza iónica; E: concentración de sacarosa

La disminución del índice de consistencia de soluciones de polisacáridos en un medio con presencia de sales, puede estar asociada a la presencia de grupos sulfato y/o ácidos urónicos en su estructura. Este tipo de polisacáridos son polímeros ácidos y se comportan como polielectrolitos aniónicos, por lo tanto la presencia de sales aumenta el efecto de pantalla sobre las cargas de los grupos sulfato o carboxilo, provocando la contracción de las moléculas del polisacárido y de esta manera, disminuye su viscosidad. Asimismo, el aumento del índice de consistencia con el incremento del pH se asocia a la presencia de estos grupos en las moléculas del polisacárido, por un aumento en la densidad de cargas (Huei Chen y Yuu Chen, 2001). Este fenómeno se ha registrado en dispersiones de legumbres tropicales, *Opuntia ficus indica*, algas verdes y *Alyssum homolocarpum* (Onweluzo y col., 1994; Medina-Torres y col., 2000; Huei Chen y Yuu Chen, 2001 y Koocheki y col., 2009b, respectivamente).

En el diagrama de Pareto de la **Figura 3.15** puede observarse que n fue afectado significativamente ($p < 0,05$) por la presencia de sacarosa, la concentración de mucílago y la temperatura, existiendo una interacción significativa entre la presencia de sacarosa y la temperatura. Así, a una mayor concentración de mucílago, el valor de n disminuye presentando las dispersiones una mayor pseudoplasticidad, mientras que el agregado de sacarosa origina dispersiones menos pseudoplásticas, presentando una interacción con la temperatura. Si bien, generalmente las soluciones de hidrocoloides tienden a comportarse como fluidos newtonianos a mayores temperaturas, la respuesta de n observada en el presente trabajo con respecto a este parámetro pudo haber estado influenciada por la presencia de sacarosa, la cual tuvo un efecto más pronunciado sobre esta propiedad.

Cabe señalar que no hubo un efecto significativo entre bloques ($p > 0,05$), por lo tanto para las condiciones experimentales analizadas, n no fue afectada por el tipo de sal ni por el método de obtención del mucílago.

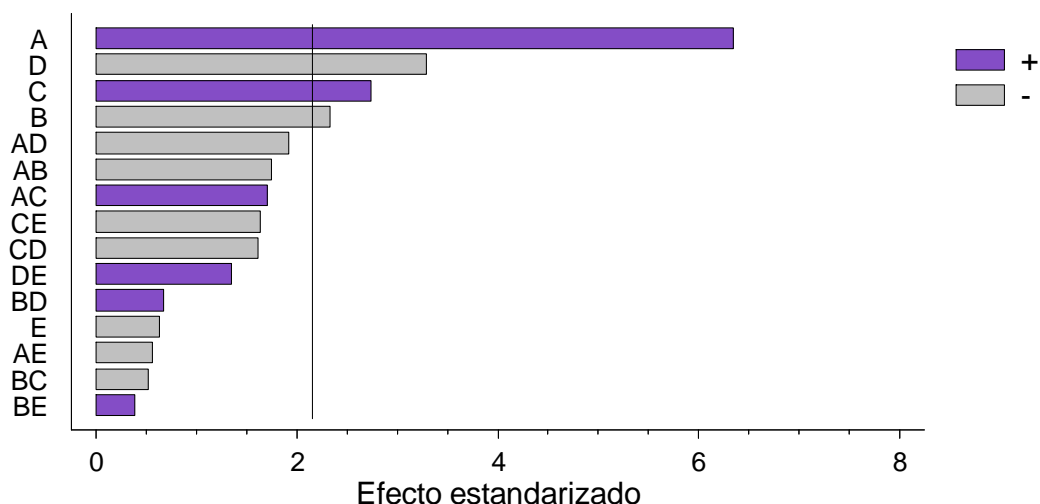


Figura 3.16. Diagrama de Pareto correspondiente al índice de consistencia (*k*) de la curva de flujo de regreso. La línea negra indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo ($p \leq 0,05$). A: concentración de mucílago; B: temperatura; C: pH; D: fuerza iónica; E: concentración de sacarosa

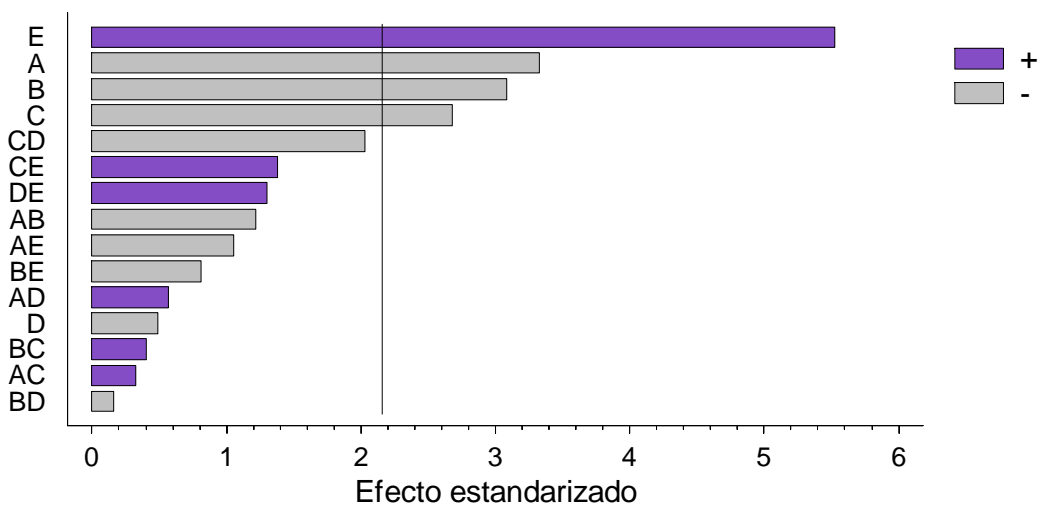


Figura 3.17. Diagrama de Pareto correspondiente al índice de comportamiento de flujo (*n*) de la curva de flujo de regreso. La línea negra indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo ($p \leq 0,05$). A: concentración de mucílago; B: temperatura; C: pH; D: fuerza iónica; E: concentración de sacarosa

Todas las variables estudiadas (concentración de mucílago, temperatura, fuerza iónica, pH y presencia de sacarosa) afectaron significativamente a la tixotropía, siendo la concentración de mucílago la que mayor efecto provocó sobre

esta propiedad (**Figura 3.18**). Así, la misma aumentó con el incremento de la concentración de mucílago y en menor proporción con el incremento del pH de la solución y la presencia de sacarosa, mientras que disminuyó con el aumento de la temperatura y la presencia de sales, observándose una interacción significativa entre las variables concentración de mucílago y temperatura. Análogamente a lo observado en el índice de consistencia de las curvas de ida y regreso, el efecto de los bloques fue significativo ($p < 0,05$) existiendo un efecto del tipo de sal adicionada y/o del método de obtención del mucílago.

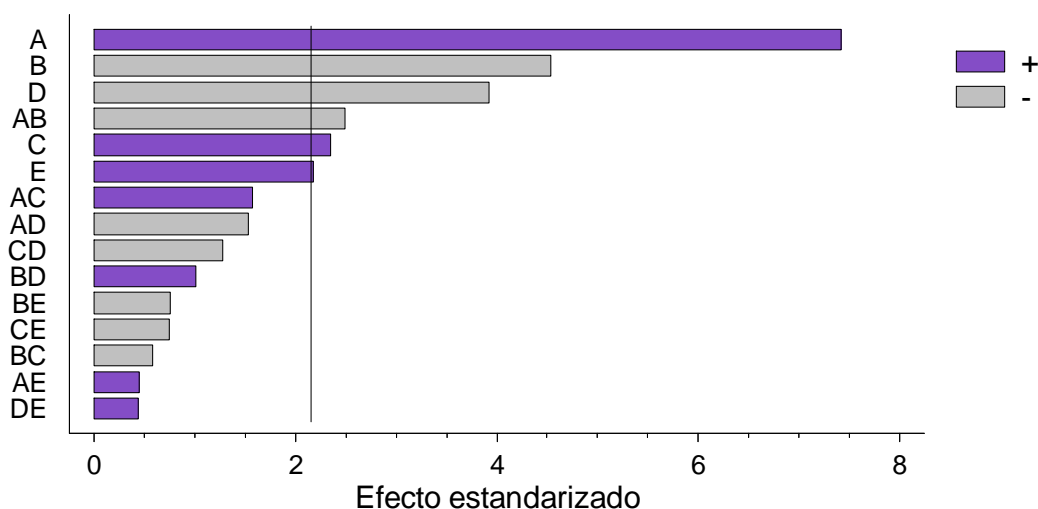


Figura 3.18. Diagrama de Pareto correspondiente a la tixotropía. La línea negra indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo ($p \leq 0,05$). A: concentración de mucílago; B: temperatura; C: pH; D: fuerza iónica; E: concentración de sacarosa

Con respecto a la relación entre la componente viscosa (G'') y elástica (G'), en la **Figura 3.19** puede observarse que a excepción de la fuerza iónica, las demás variables estudiadas influyeron significativamente sobre esta propiedad ($\tan \delta$), siendo la presencia de sacarosa, la que causó el mayor efecto. Así, la $\tan \delta$ aumenta en soluciones con presencia de sacarosa, mientras que disminuye con el incremento de la temperatura, la concentración de mucílago y en medio alcalino. Asimismo, se detectan interacciones significativas entre el pH y la fuerza iónica, entre la concentración de mucílago y la presencia de sacarosa y entre el pH y la presencia de sacarosa. De forma similar a lo observado para los índices de consistencia (k), se detectaron diferencias significativas entre bloques ($p < 0,05$), lo que estaría indicando

que este parámetro se comporta de manera diferente en un medio con el agregado de una sal monovalente o divalente y/o para dispersiones formuladas con MOA₁₉ o MOM₇.

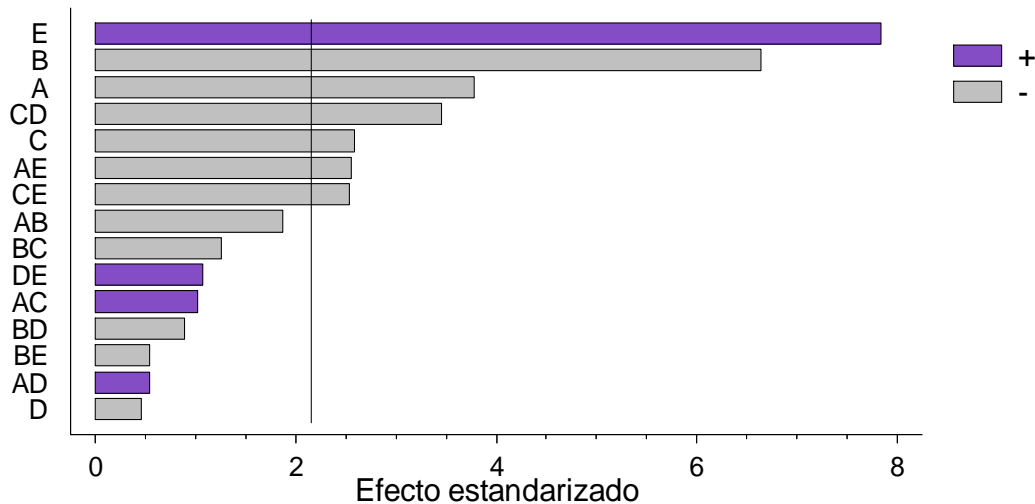


Figura 3.19. Diagrama de Pareto correspondiente a la $\tan \delta$. La línea negra indica el nivel crítico a partir del cual las variables presentaron un efecto significativo ($p \leq 0,05$). A: concentración de mucílago; B: temperatura; C: pH; D: fuerza iónica; E: concentración de sacarosa

1.4.3.3.1. Efecto del método de obtención del mucílago (I y II) y del tipo de sal agregada (NaCl y CaCl₂) sobre las propiedades reológicas de dispersiones de mucílago de chía

En la **Tabla 3.7** se presentan los parámetros de la Ley de la Potencia de las curvas de flujo de ida y de regreso y la tixotropía de dispersiones de mucílago de chía obtenidos por los Métodos diferentes (I y II) y con el agregado de sal mono o divalente. Puede observarse que las dispersiones formuladas con el mucílago obtenido por el Método II (MOM₇) presentaron un mayor índice de consistencia (k) que las dispersiones formuladas con el mucílago obtenido por el Método I (MOA₁₉). Asimismo, los valores de k fueron menores al agregar una sal divalente (CaCl₂) con respecto al agregado de una sal monovalente (NaCl), tanto en las dispersiones formuladas con MOA₁₉ como con MOM₇. Este efecto podría estar indicando que la estructura molecular del mucílago de chía está cargada negativamente, comportándose como un polielectrolito, de modo que la adición de iones positivos reduce las fuerzas de repulsión y la expansión de la molécula, produciendo una

reducción significativa de la viscosidad, siendo este efecto más pronunciado al adicionar iones divalentes (Medina-Torres y col., 2000). Un comportamiento similar fue observado por Lai y col. (2000), Cowman y Matsuoka (2005), Higiro y col. (2007), Viturawong y col. (2008), Mohammad y Razavi (2012) y Koocheki y col. (2013) en dispersiones de diferentes hidrocoloides.

Con respecto a la tixotropía, la misma fue mayor en las dispersiones formuladas con MOM₇ y con el agregado de una sal monovalente.

Tabla 3.7. Parámetros de la Ley de la Potencia -curvas de ida y de regreso- y tixotropía de dispersiones de mucílago de chía con el agregado de 0,05 M de una sal monovalente o divalente

Ensayo	Repetición	Método de obtención	Tipo de sal	Curva de ida		Curva de regreso		Área del bucle (Pa/s)
				k (Pa.s ^{n})	n (-)	k (Pa.s ^{n})	n (-)	
1	1	I	NaCl	1,81	0,45	0,96	0,55	3017
2	2	I	NaCl	1,87	0,43	0,90	0,55	2766
3	1	I	CaCl ₂	0,72	0,46	0,44	0,51	1825
4	2	I	CaCl ₂	0,73	0,44	0,35	0,52	1683
5	1	II	NaCl	3,82	0,44	2,12	0,54	5350
6	2	II	NaCl	4,20	0,43	2,46	0,52	5808
7	1	II	CaCl ₂	2,38	0,46	1,32	0,55	4189
8	2	II	CaCl ₂	1,88	0,44	0,93	0,57	3533

La interacción entre el método de obtención del mucílago y el tipo de sal no fue significativa para los valores de k , tanto para la curva de flujo de ida como de regreso (**Figuras 3.20 y 3.21**). Los índices de comportamiento de flujo (n) de las curvas de flujo de ida y de regreso no fueron afectados significativamente ($p < 0,05$) por el tipo de sal aplicada (monovalente o divalente) y el tipo de mucílago (MOM₇, MOA₁₉), en total concordancia con lo detectado en el diseño experimental factorial fraccionado. No obstante, la interacción entre ambos factores (mucílago de chía y sal) fue significativa para n en la curva de flujo de regreso (**Figura 3.22**).

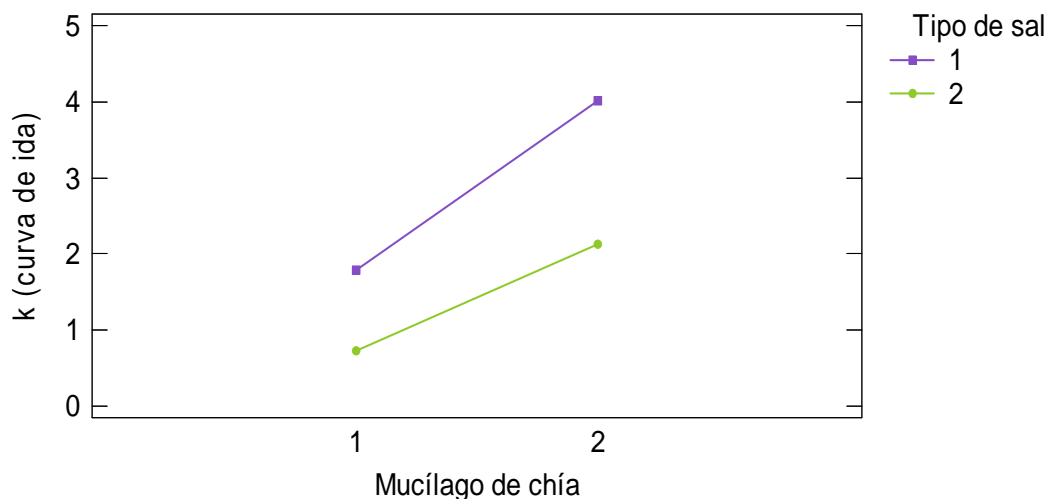


Figura 3.20. Interacción Método de obtención de mucílago x tipo de sal para el índice de consistencia (k) correspondientes a la curva de flujo de ida. Mucílago de chía (1): MOA₁₉; (2): MOM₇. Tipo de sal (1): NaCl; (2): CaCl₂

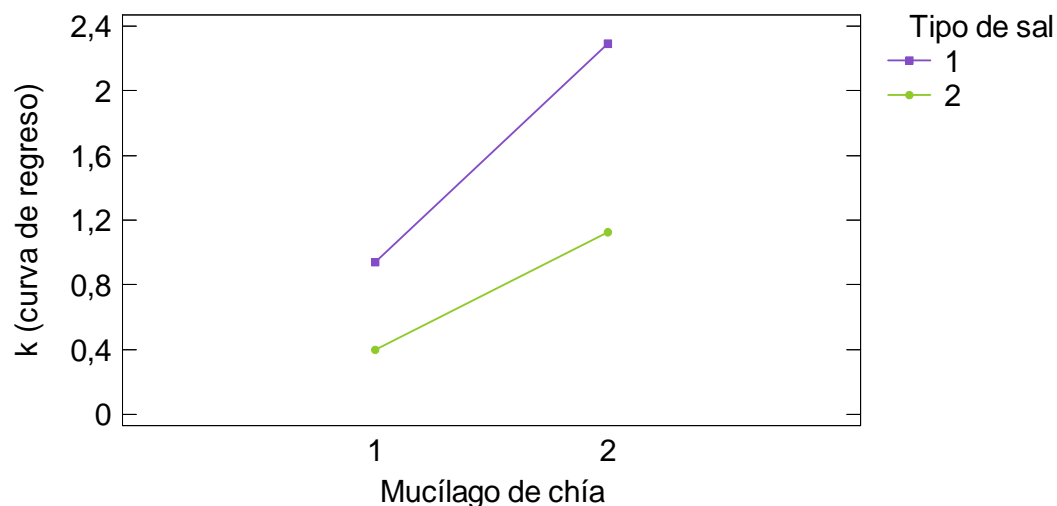


Figura 3.21. Interacción Método de obtención de mucílago x tipo de sal para el índice de consistencia (k) correspondientes a la curva de flujo de regreso. Mucílago de chía (1): MOA₁₉; (2): MOM₇. Tipo de sal (1): NaCl; (2): CaCl₂

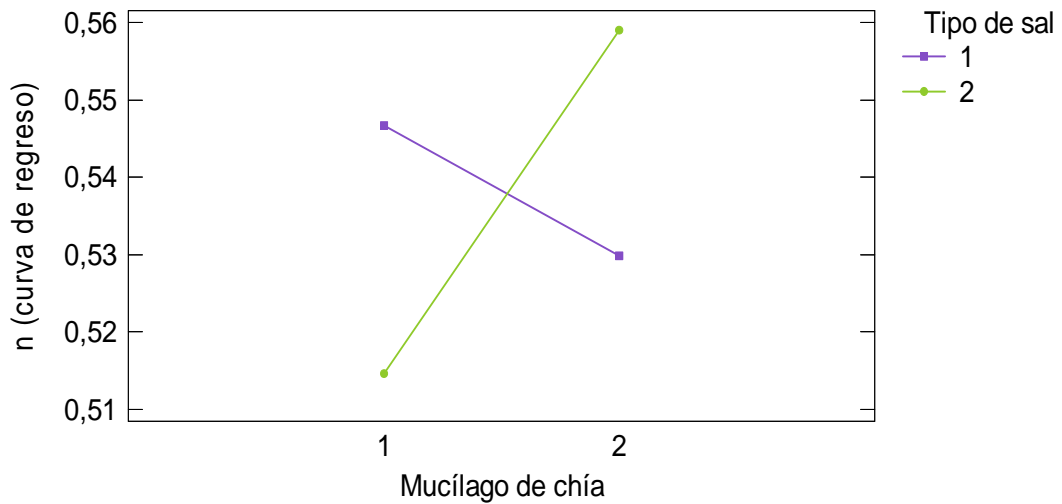


Figura 3.22. Interacción mucílago x sal para n correspondiente a la curva de flujo de regreso. Mucílago de chía (1): MOA₁₉; (2): MOM₇. Tipo de sal (1): NaCl; (2): CaCl₂

Por otra parte, en la **Figura 3.23** puede observarse que la interacción entre el método de obtención del mucílago y el tipo de sal no fue significativa para la tixotropía.

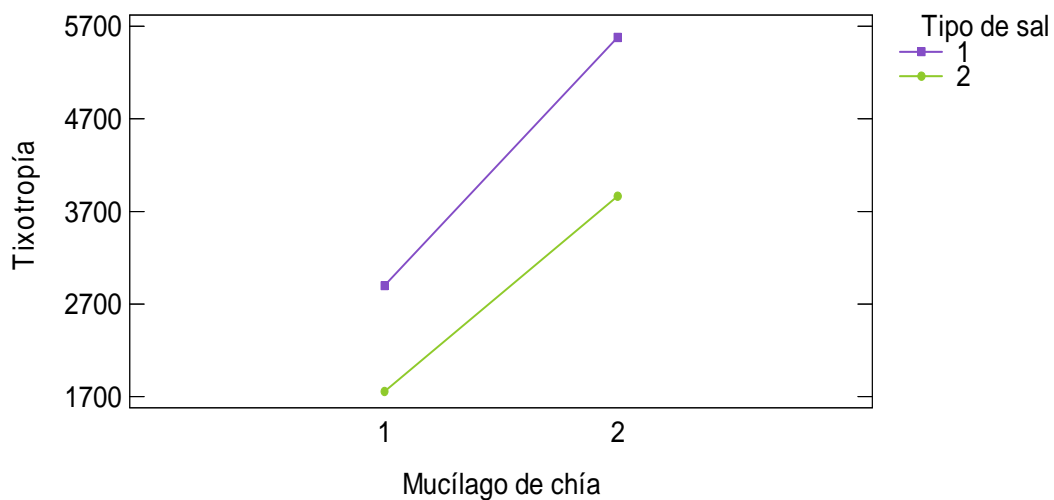


Figura 3.23. Interacción mucílago x sal para tixotropía. Mucílago de chía (1): MOA₁₉; (2): MOM₇. Tipo de sal (1): NaCl; (2): CaCl₂

En la **Tabla 3.8** se muestran los valores de $\tan \delta$ para cada uno de los ensayos del diseño experimental factorial completo. El análisis de la varianza permitió detectar un efecto significativo del tipo de sal sobre el valor de la $\tan \delta$, no siendo el mismo influenciado por el tipo de mucílago. Asimismo, se detectó una

interacción significativa entre ambos factores (mucílago x sal), lo cual es indicativo de un cambio de jerarquía o rango de variación. En la **Figura 3.24** puede observarse un efecto mayor del tipo de sal en el mucílago MOA₁₉, lo cual es confirmado estadísticamente a través del análisis de diferencia de medias de Tukey ($p \leq 0,05$), no detectándose diferencias significativas entre el agregado de diferentes sales (mono o divalente) para el mucílago MOM₇.

Tabla 3.8. Valores de la $\tan \delta$ (G''/G') correspondiente a las diferentes dispersiones de mucílago de chía, de acuerdo al diseño factorial completo

Ensayo	Repetición	Método de obtención	Tipo de sal	$\tan \delta$
1	1	I	NaCl	0,792
2	2	I	NaCl	0,820
3	1	I	CaCl ₂	0,523
4	2	I	CaCl ₂	0,484
5	1	II	NaCl	0,707
6	2	II	NaCl	0,722
7	1	II	CaCl ₂	0,648
8	2	II	CaCl ₂	0,792

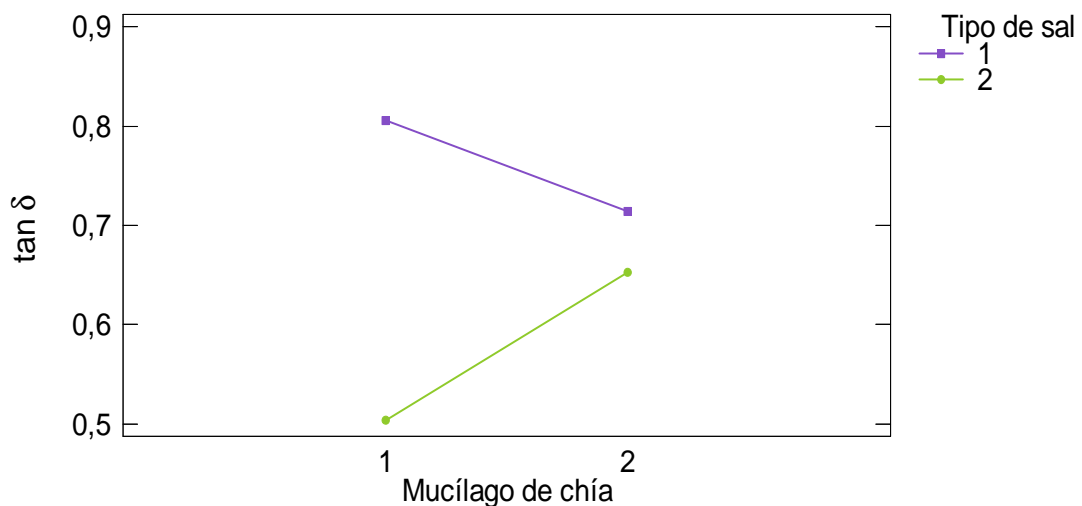


Figura 3.24. Interacción mucílago x sal para la $\tan \delta$. Mucílago de chía (1): MOA₁₉; (2): MOM₇. Tipo de sal (1): NaCl; (2): CaCl₂

1.4.4. Fuerza del gel del mucílago de chíá

En la **Figura 3.25** se muestran los patrones de resistencia mecánica a la compresión del gel de los dos tipos de mucílago de chíá (MOA_{19} y MOM_7) para las dos concentraciones estudiadas (1,5 y 3,0%, respectivamente). Puede observarse que ambos tipos de mucílago exhibieron una textura de consistencia débil, similar a la de un fluido viscoelástico, sin presentar una ruptura del gel a la compresión mecánica aplicada. Esta característica podría atribuirse a la estructura ligeramente ramificada del mucílago de chíá (Marin Flores y col., 2008), debido a que en este tipo de estructura, las cadenas del polisacárido se encuentran dispuestas en forma aleatoria, a diferencia de estructura de tipo lineal -por ejemplo en gomas de β -glucanos de cebada- donde las cadenas presentan un mejor ordenamiento, favoreciendo la formación de geles más firmes (Srivastava y Kapoor, 2005).

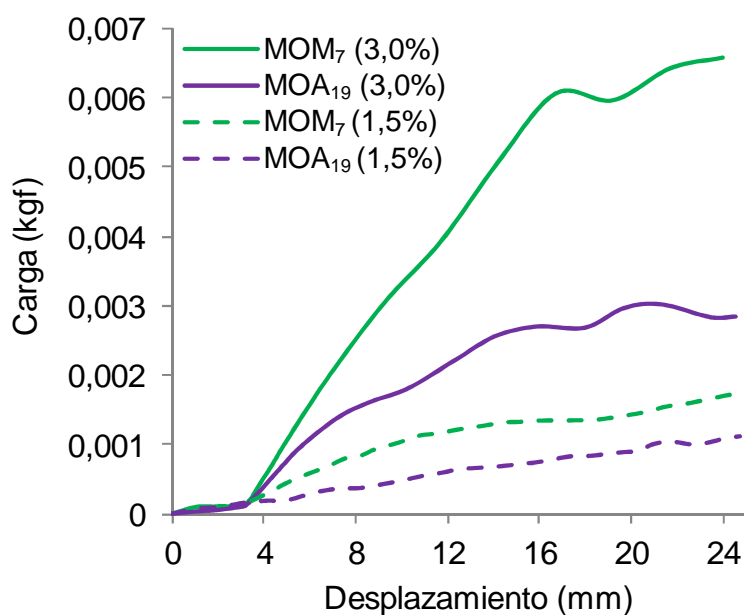


Figura 3.25. Comportamiento de carga frente al desplazamiento de los geles de mucílago de chíá (MOA_{19} y MOM_7)

Por otra parte, puede observarse que la fuerza de compresión del gel aumentó con el incremento de la concentración de mucílago. Asimismo, para una misma concentración de mucílago, MOM_7 requirió mayores valores de fuerza de compresión del gel que MOA_{19} . Este hecho puede asociarse a la mayor pureza del

mucílago obtenido mediante el Método II, lo que pudo haber ocasionado un mejor ordenamiento de sus cadenas, generando una mejor red tridimensional en su interacción con el agua. Así, para una concentración de 1,5% las fuerzas de compresión de gel fueron 0,0011 y 0,0017 kgf y al aumentar la concentración al 3%, los valores de carga máxima fueron 0,0028 y 0,0066 kgf (MOA₁₉ y MOM₇, respectivamente). Los valores relativamente bajos de carga máxima pueden asociarse a la estructura del mucílago de chía, lo que estaría indicando la posible presencia de grupos cargados en su molécula, dando como resultado la formación de un fluido viscoso de tipo no estructural. Un comportamiento similar fue observado en goma de flamboyán modificada químicamente, la cual se comportó como un fluido viscoso a una concentración del 5%, con valores de carga máxima de 0,013 kgf debido a los puentes hidrógeno expuestos por los grupos cargados introducidos en su estructura (Lim y col., 2006; Pacheco-Aguirre, 2010).

Estos resultados pueden relacionarse con los correspondientes a los obtenidos en los ensayos viscoelásticos (sección **1.4.3.2**), donde las dispersiones se comportaron como geles elásticos débiles, siendo las formuladas con MOM₇ más elásticas que las de MOM₁₉ e incrementándose este efecto con el aumento de la concentración de mucílago.

CONCLUSIONES PARCIALES

- Los métodos aplicados para la extracción de mucílago de chía (*Salvia hispanica* L.) afectaron la composición proximal de los mismos. La aplicación del Método II, permitió obtener un mucílago con un menor contenido de proteínas (7%).
- El mucílago de chía exuda rápidamente al remojar las semillas en agua y se solubiliza fácilmente aún a bajas temperaturas, no habiéndose observado diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de pH estudiados.
- MOA₁₉ y MOM₇ presentaron elevados niveles en sus propiedades funcionales, siendo superiores los correspondientes a MOM₇, lo cual podría estar asociado a su menor contenido de proteínas.
- Los mucílagos de chía (MOA₁₉ y MOM₇) se comportaron como fluidos no newtonianos, siendo pseudoplásticos en el rango de las concentraciones estudiadas (0,25 a 1,00%) a 25°C.
- Un incremento en la concentración de mucílago (MOA₁₉ y MOM₇) produjo un aumento de la viscosidad aparente y del grado de pseudoplasticidad de las dispersiones, siendo estas características mayores en MOM₇.
- Todas las dispersiones de mucílago de chía correspondientes al análisis del efecto del conjunto de las variables estudiadas (concentración de mucílago, temperatura, pH, fuerza iónica, presencia de sacarosa) sobre las propiedades reológicas del mismo, presentaron un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$). La concentración de mucílago fue la variable con un mayor efecto significativo sobre el índice de consistencia (k) y la tixotropía, mientras que el índice de comportamiento de flujo (n) y la $\tan \delta$ fueron principalmente afectados por la presencia de sacarosa, observándose un aumento de las propiedades reológicas al incrementarse las respectivas variables.
- El tipo de sal y la metodología de extracción del mucílago afectaron significativamente a k y la tixotropía, si bien no influyeron sobre el valor de n . El

Método de extracción II y la adición de NaCl proporcionaron una mayor consistencia a las dispersiones de mucílago de chía.

- El análisis del comportamiento viscoelástico correspondiente a dispersiones con diferentes concentraciones de mucílago de chía, así como el estudio del efecto de un conjunto de variables (concentración de mucílago, temperatura, pH, fuerza iónica, presencia de sacarosa) sobre las propiedades reológicas del mismo, permitió clasificar a ambos tipos de mucílago (MOA₁₉ y MOM₇) como polímeros amorfos, con la propiedad de formar geles débiles debido a que el módulo de almacenamiento (G') fue mayor que el módulo de pérdida (G'') en el rango de frecuencia ensayadas y la relación entre los dos módulos ($\tan \delta = G''/G'$) varió en un rango de 0,5 a 1,1. Un comportamiento análogo fue observado en el estudio correspondiente a la fuerza gel del mucílago de chía.

DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Publicaciones en Revistas Científicas

- Microstructure and mucilage exudation of chia (*Salvia hispanica* L.) nutlets from Argentina. Marianela I. Capitani, Vanesa Y. Ixtaina, Susana M. Nolasco, Mabel C. Tomás, enviado a *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Nº de Ref: JSFA-12-1240.

Presentaciones en Congresos

- Caracterización microestructural de la semilla y el mucílago de chía (*Salvia hispanica* L.). Vanesa Y. Ixtaina, Marianela I. Capitani, Susana M. Nolasco, Mabel C. Tomás. XXVIII Congreso Argentino de Química, Lanús, Buenos Aires, Argentina, 13 al 16 de septiembre de 2010.

- Caracterización reológica de dispersiones de mucílago de chía (*Salvia hispanica* L.). Marianela I. Capitani, Luis J. Corzo, Luis A. Chel-Guerrero, David A. Betancur-Ancona, Susana M. Nolasco, Mabel C. Tomás. XXIX Congreso Argentino de Química, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina, 3 al 5 de octubre de 2012.

- Influencia de diversas variables sobre las propiedades reológicas del mucílago de chía (*Salvia hispanica* L.). Marianela I. Capitani, Luis J. Corzo-Ríos, Luis A. Chel-Guerrero, David A. Betancur-Ancona, Susana M. Nolasco y Mabel Tomás. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Córdoba, Argentina, 14 al 16 de noviembre de 2012.

Aplicación del mucílago de chía en emulsiones O/W

INTRODUCCIÓN

Muchos productos alimenticios, naturales o manufacturados, están constituidos total o parcialmente por emulsiones (ej. la leche). A lo largo del tiempo, se han desarrollado y elaborado alimentos que en la actualidad son de consumo cotidiano tales como la crema de leche, manteca, yogures, quesos, mayonesa, margarina y emulsiones cárnicas (McClements, 1999). A su vez, durante muchos años, la industria alimentaria se ha basado en la tradición para la formulación, el procesamiento y el almacenamiento de diversos productos emulsionados. Sin embargo, en los últimos años la industria alimentaria moderna ha tenido que 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 menor costo. Así, se ha registrado una notable diversificación de alimentos emulsionados.

Dado que las emulsiones son sistemas inestables, su estructura inicial evoluciona con el tiempo durante el almacenamiento o el transporte de las mismas, debido a los tratamientos térmicos y a los esfuerzos mecánicos a los que sean sometidos. Resulta entonces un importante desafío comprender y controlar las interacciones coloidales, la microestructura y las propiedades reológicas durante el procesamiento y el almacenamiento de las emulsiones alimentarias (Lorenzo, 2010).

La estabilidad de una emulsión, generalmente se obtiene por la presencia de dos tipos de ingredientes: el “agente emulsificante” y el “agente estabilizante”. Un emulsificante es un componente anfifílico, de bajo o alto peso molecular, el cual tiende a migrar y adsorberse rápidamente en la interfase aceite-agua, favoreciendo la formación de la emulsión, al reducir la tensión interfacial, y la estabilidad física durante un corto periodo de tiempo. Por otra parte, un agente estabilizante -principalmente polisacáridos- le confiere a la emulsión estabilidad física durante un tiempo prolongado, mediante la inmovilización de las gotas de la fase dispersa, debido al aumento de la viscosidad de la fase acuosa de la misma. La función estabilizante se alcanza a una concentración superior a la crítica (C^*) para poder pasar de un comportamiento típico de una solución diluida a una solución concentrada. A concentraciones superiores a C^* , las interacciones entre polímeros son mucho más importantes que las polímero-solvente. Es decir, existe una fuerte competencia por el agua entre las macromoléculas de polímeros cercanas que por lo

tanto, tienden a moverse como una unidad estructural. A concentraciones mucho más altas se produce una estructura basada en entrelazamientos físicos temporales entre las macromoléculas, en estas ocasiones se consigue gelificar la fase continua de la emulsión. Es decir, en estas condiciones no sólo aumenta la viscosidad de la fase continua sino que además el agente estabilizante es responsable de la manifestación de las propiedades viscoelásticas. Cabe señalar que a concentraciones inferiores a C^* , los polímeros pueden estabilizar las emulsiones cuando son de naturaleza aniónica, catiónica o anfótera, mediante interacciones electrostáticas (Muñoz y col., 2007).

Si bien la mayoría de los polisacáridos presentan una acción estabilizante, algunos también pueden tener una acción emulsificante. A fin de cumplir con su rol como agentes emulsificantes, los polisacáridos deben tener la capacidad de actuar en la interfase aceite-agua y así facilitar la formación y estabilización de pequeñas gotas durante y luego del proceso de emulsificación. Además, esta actividad se relaciona con la estructura a nivel molecular, ya sea por el carácter no polar de los grupos químicos unidos al esqueleto del polisacárido hidrofílico o bien por la presencia de un componente proteico ligado covalente o físicamente al polisacárido. Asimismo, los polisacáridos con acción emulsificante pueden asociarse a las proteínas adsorbidas en la interfase favoreciendo la estabilidad de la emulsión (Hayati y col., 2009). Varios polisacáridos tales como la goma arábiga, el almidón modificado, derivados de la celulosa y algunos galactomananos como las goma guar, garrofín (“locust bean gum”) y “fenugreek”, presentan actividad emulsificante. Actualmente, la goma xántica y la goma guar, el almidón modificado y la carboximetilcelulosa son los polisacáridos más comúnmente utilizados en la elaboración de emulsiones concentradas, tales como la mayonesa y los aderezos para ensaladas. Estas sustancias imparten características importantes al producto tales como una sensación cremosa en la boca, un alto límite elástico, así como estabilidad a largo plazo (Dickinson, 2003).

Sin embargo, los polisacáridos deben agregarse con precaución ya que pueden afectar las interacciones coloidales presentes en la emulsión y favorecer la desestabilización de la misma a través de la floculación por formación de puentes (“bridging flocculation”) o por depleción o expulsión (“depletion flocculation”), lo que podría traducirse en un aumento de la velocidad de cremado (Tabilo-Munizaga y

Barbosa-Cánovas, 2005). Así, la floculación por formación de puentes ocurre por una interacción muy débil entre los polisacáridos y las proteínas, cuando la concentración del polisacárido no es lo suficientemente alta para cubrir toda la superficie de las gotitas de la fase dispersa de la emulsión. La concentración interfacial del hidrocoloide es el factor dominante que gobierna este mecanismo, además de las propiedades del polímero tales como el peso molecular, el grado de disociación, la flexibilidad molecular y la hidrofobicidad superficial (**Figura 4.1a**). Por otra parte, la floculación por expulsión ocurre cuando en la emulsión hay moléculas de polisacárido no absorbidas, debido a que el espacio entre las gotas es más pequeño que el volumen hidrodinámico termodinámicamente más estable de las moléculas del polisacárido. Por lo tanto, el polisacárido es excluido del espacio entre las gotas generándose una capa alrededor de las mismas donde la concentración de polímero es menor que en el seno de la solución (**Figura 4.1b**). De esta manera, se establece un gradiente de concentración local de agua y consecuentemente, un gradiente de presión osmótica que induce a la floculación (Dickinson, 2003).

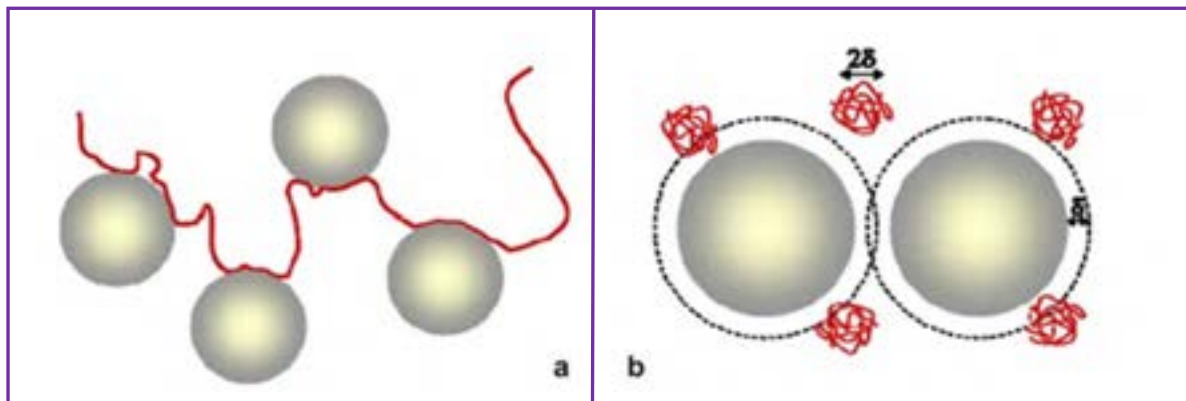


Figura 4.1. Esquema de los distintos mecanismos de floculación. (a) Floculación por formación de puentes; (b) Floculación por expulsión (Lorenzo, 2010)

En virtud de lo mencionado anteriormente, en el presente capítulo se estudió el efecto de la incorporación de distintos tipos y niveles de concentración de mucílago de chía sobre la estabilidad de emulsiones aceite en agua (O/W), en función del tiempo de almacenamiento refrigerado.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Muestras

Se utilizaron dos tipos de mucílago de chía (MOA y MOM) con diferente contenido de proteínas (MOA₁₁, MOA₁₉ y MOM₇), obtenidos según las metodologías descritas en el Capítulo 3, secciones **2.1** y **2.2**.

2. Preparación de las dispersiones

Las dispersiones fueron preparadas según el método de Betancur-Ancona y col., (2003). Para ello, se pesaron 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00 g de mucílago de chía liofilizado, se adicionaron 80 g de agua destilada y se agitaron a 60°C durante 30 min. Las mismas se enfriaron a temperatura ambiente y se almacenaron durante 24 h a 4±1°C para lograr la completa hidratación del mucílago.

3. Preparación de las emulsiones O/W

Se prepararon emulsiones aceite en agua (O/W), utilizando como fase dispersa 20% de aceite refinado de maíz y 0,1% de Tween 80 como agente emulsificante. La fase continua se obtuvo -en cada caso- mediante la incorporación de diferentes dispersiones de mucílago de chía, de manera de tener en la emulsión final concentraciones de 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00% p/p de mucílago de chía. En todas las emulsiones se adicionó 0,01% (p/p) de azida sódica a fin de inhibir el crecimiento microbiano.

Las emulsiones se homogeneizaron mediante un equipo Ultraturrax T-25 (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik, Alemania), a 9500 rpm durante 1 min y seguidamente mediante un procesador ultrasónico (Sonics & Materials, INC, USA) a su máxima potencia (750 W) durante 3,5 min, empleando un baño de agua-hielo a fin de evitar el deterioro de los componentes de la emulsión por un posible aumento de la temperatura ambiente. Seguidamente, las emulsiones se almacenaron durante 120 días a 4±1°C, realizando periódicamente las determinaciones que se detallan a continuación.

4. Caracterización de las emulsiones O/W

4.1. Caracterización óptica mediante un analizador vertical de barrido (QuickScan)

La estabilidad global de las diferentes emulsiones estudiadas se determinó a través de medidas de dispersión de la luz mediante un analizador óptico vertical de barrido QuickScan (Beckman Coulter, USA) (**Figura 4.2**), de acuerdo a lo descrito en el Capítulo 2 (sección **5.2.7**).



Figura 4.2. Analizador óptico vertical de barrido QuickScan (Beckman Coulter, USA)

4.2. Distribución y tamaño de partículas

Se realizaron determinaciones de la distribución y el tamaño de partículas de las emulsiones mediante un equipo de dispersión estática de luz Mastersizer 2000E, con un sistema de dispersión Hydro 2000MU provisto de un laser He-Ne (633 nm) (Malvern Instruments Ltd., UK) (**Figura 4.3**). El rango de medición del equipo se encuentra entre 0,1 a 1000 μm . La técnica de difracción láser opera bajo la predicción del comportamiento de las partículas sobre la dispersión de la luz. Las partículas dispersan la luz en todas las direcciones con un patrón de intensidad, el cual es dependiente de su tamaño. Se tomaron alícuotas de cada emulsión y se colocaron en un recipiente con agua destilada y agitación a 2000 rpm, donde un haz de radiación láser incide sobre una celda interna transparente, donde recircula la emulsión diluida. La luz dispersada en distintos ángulos, por las gotas de diferente tamaño, pasa por un complejo sistema óptico e incide posteriormente sobre los detectores, obteniendo un patrón angular de luz dispersada. El software incorporado

en el equipo permite traducir este patrón con la correspondiente distribución de tamaño de partículas (McClements, 1999).

Se determinaron los diámetros promedio de gota de Brouker $D[4,3]$ y de Sauter $D[3,2]$, relacionados con las distribuciones en volumen y en superficie, respectivamente. Dichos resultados fueron analizados mediante el análisis de varianza ANOVA seguido por el test de Tukey ($p < 0,05$), usando el software InfoStat (Universidad Nacional de Córdoba, 2004).



Figura 4.3. Analizador de tamaño de partículas Malvern Mastersizer (Malvern Instruments Ltd., UK)

4.3. Observaciones microscópicas

En forma complementaria se realizaron observaciones microscópicas de todas las emulsiones mediante un microscopio óptico conectado a una cámara DC 100 (Leica Microscopy Systems Ltd., Suiza). Una pequeña gota de la emulsión se colocó directamente sobre un portaobjeto de vidrio, se cubrió y se observó a 63X.

4.4. Ensayos reológicos

Los ensayos reológicos se realizaron en las emulsiones formuladas con MOM_7 y MOA_{19} . Dichos ensayos se llevaron a cabo en un reómetro Haake RS600 de esfuerzo controlado (ThermoElectron, Alemania), realizándose las mediciones por duplicado.

Las emulsiones fueron evaluadas a una temperatura constante de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ estabilizada mediante un baño termostático. Una vez colocada la muestra en el

equipo se llevó el sensor hasta la posición de medida, esto es a 1,0 mm de espaciado entre platos. Las muestras se dejaron reposar durante 180 s antes de iniciar cada ensayo, a fin de garantizar la completa relajación de los esfuerzos normales a los que pudiera haber estado sometida durante la preparación previa.

4.4.1. Comportamiento de flujo en estado estacionario

El comportamiento de flujo en estado estacionario (viscosidad η versus esfuerzo de corte τ) 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 mediante una rampa de velocidad de corte de 1 a 500 s⁻¹. Los datos experimentales fueron ajustados mediante el modelo de la Ley de la Potencia según la ecuación explicada en el Capítulo 3, sección **5.7.1**.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las emulsiones presentaron un pH inicial promedio de $6,75 \pm 0,15$ sin registrarse cambios en el mismo según el tipo y la concentración de mucílago de chía utilizado.

1. Estabilidad de las emulsiones

La estabilidad global de todas las emulsiones O/W fue analizada mediante las curvas de flujo de luz dispersada (“Back-scattering”) en función de la longitud de la celda, mediante un analizador vertical de barrido (QuickScan). El análisis del perfil de las diferentes emulsiones O/W con mucílago de chía se realizó en dos zonas de la celda: Zona I (10-20 mm) donde puede visualizarse el proceso de desestabilización producido por la migración de las gotas desde la parte inferior hacia la parte superior del tubo (cremado o “creaming”) y la Zona II (45-55 mm) (parte superior del tubo) en la que puede registrarse la acumulación de las gotas de aceite luego del proceso de separación gravitacional (fase crema), según se ejemplifica en la **Figura 4.4**. En dicha Figura se muestra el perfil típico obtenido mediante QuickScan para una emulsión O/W (Φ_m 0,20) con 0,25% de mucílago de chía (MOA_{11}). Los demás mucílagos estudiados exhibieron un comportamiento similar para dicha concentración y 0,50% (datos no mostrados).

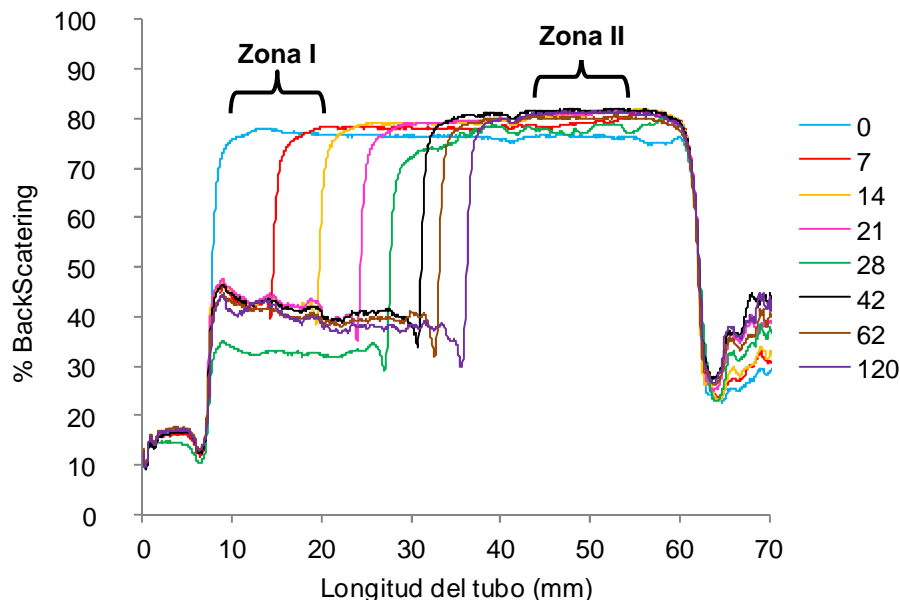


Figura 4.4. Perfiles diferenciales correspondientes a una emulsión O/W (Φ_m 0,20) formulada con el agregado de 0,25% de mucílago de chía (MOA_{11}). Cada línea de color representa un tiempo de almacenamiento diferente (días)

Asimismo, en la **Figura 4.4** puede visualizarse el desplazamiento de los perfiles de BS en función del tiempo de almacenamiento refrigerado debido a la disminución de la luz dispersada, por efecto de la menor concentración de partículas en esta Zona I del tubo. Por otra parte, los perfiles de BS correspondientes a las emulsiones O/W formuladas con 0,75% de mucílago de chía (MOA₁₁) se presentan en la **Figura 4.5**. En contraste, puede observarse que dichos perfiles permanecieron constantes, sin desplazarse en función de la longitud de la celda ni del tiempo de almacenamiento refrigerado. Un comportamiento análogo se obtuvo para emulsiones O/W con los otros tipos de mucílago así como para el mayor tenor de los mismos estudiado en este trabajo de Tesis. Dicho comportamiento indica una mayor estabilidad de las emulsiones mencionadas durante el periodo de almacenamiento analizado.

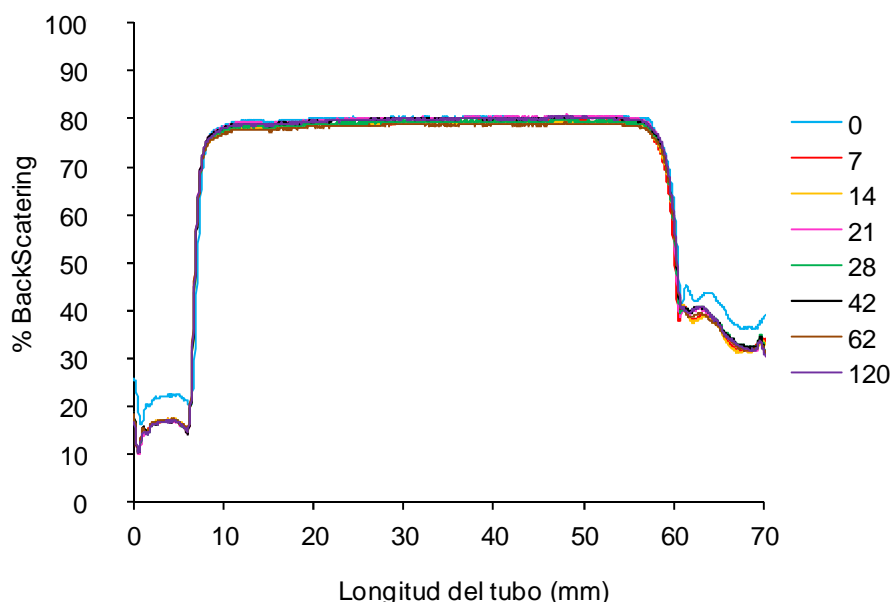


Figura 4.5. Perfiles diferenciales correspondientes a una emulsión O/W (Φ_m 0,20) formulada con el agregado de 0,75% de mucílago de chía (MOA₁₁). Cada línea de color representa un tiempo de almacenamiento diferente (días)

Todas las emulsiones estudiadas presentaron un alto porcentaje de BS₀ (Back-scattering inicial), valor promedio $78,20 \pm 0,55\%$. En la **Figura 4.6** se presenta la cinética de desestabilización de las emulsiones formuladas con diferentes tipos y concentraciones de mucílago de chía (MOM₇, MOA₁₁ y MOA₁₉) correspondientes a la Zona I de la celda de medida. Las emulsiones O/W con 0,75 y 1,00% de mucílago

de chía presentaron una alta estabilidad durante todo el periodo de almacenamiento estudiado. Este hecho puede atribuirse al incremento de la viscosidad de la fase continua debido al aporte de una alta concentración de mucílago, reduciendo de esta manera la movilidad de las gotas de la fase dispersa. Resultados similares fueron informados para emulsiones O/W formuladas con diferentes concentraciones de goma guar, metilcelulosa, goma de “fenugreek”, “locust bean”, lino, avena (Huang y col., 2001), goma xántica (Sun y col., 2007) y de *Alyssum homolocarpum* (Koocheki y col., 2009c).

Por otra parte, las emulsiones formuladas con una menor concentración de mucílago (0,25%) resultaron ser las más inestables, exhibiendo un notorio descenso del %BS a los 7 días de almacenamiento refrigerado. Simultáneamente a la disminución del %BS, estas emulsiones evidenciaron un aumento en los perfiles de transmitancia, debido a la clarificación de la emulsión en la parte inferior del tubo (datos no mostrados). Este comportamiento puede atribuirse a que la presencia de niveles bajos de concentración de gomas en una emulsión favorece la velocidad de los procesos de floculación, coalescencia y cremado (Ye y col., 2004). Un comportamiento similar fue observado en emulsiones O/W formuladas con 0,2% de goma de semillas de *Lepidium perfoliatum* (Soleimanpour y col., 2013). Cabe destacar que la disminución del BS fue menor en la emulsión con 0,25% de MOM₇. Así, en este caso la reducción fue del 29%, mientras que en aquellas formuladas con MOA₁₁ y MOA₁₉, el descenso del BS resultó del orden del 48%. Este hecho puede atribuirse a la composición de MOM₇, la cual tiene asociado un menor tenor de proteínas (ver **Tabla 3.3**). Estudios realizados por Garti y col., (1997) en goma de “fenugreek” y por Wang y col., (2011) en mucílago de lino han indicado que los polisacáridos que presentan un cierto contenido de proteínas pueden no afectar o bien contribuir a una mejor estabilidad física de emulsiones O/W. Sin embargo, este comportamiento puede variar según las interacciones presentes entre las proteínas y los polisacáridos, ya que si las interacciones son débiles o repulsivas, es frecuente que estos sistemas presenten una separación de fases a nivel macroscópico e incluso a nivel microscópico (Dickinson, 2003). En lo que se refiere al rol del mucílago de chía, objeto de estudio del presente trabajo de Tesis, pudo observarse que el mucílago con menor tenor de proteínas (MOM₇) contribuye a una mejor estabilidad física de emulsiones O/W. Futuros estudios son necesarios para obtener

información sobre las fracciones proteicas asociadas al mucílago de chía y sus propiedades emulsificantes, así como investigar las respectivas interacciones proteínas-mucílago.

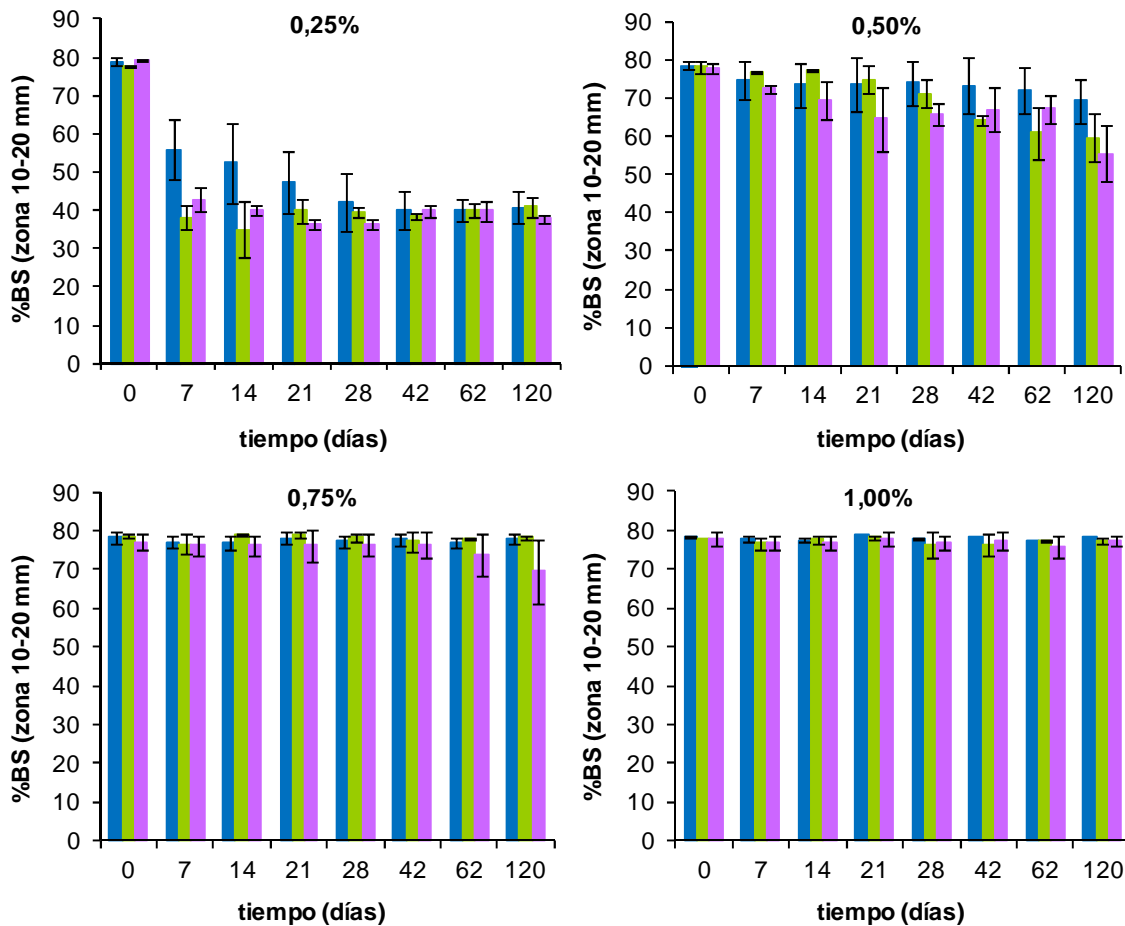


Figura 4.6. Cinética de desestabilización de emulsiones O/W (Φ_m 0,20), con diferentes concentraciones de mucílago de chía, correspondientes a la Zona I (10-20 mm). Valores promedio ($n=2$) \pm sd. (■): MOM₇; (■): MOA₁₁; (■): MOA₁₉

En la **Figura 4.7** puede visualizarse la cinética de desestabilización de las emulsiones O/W formuladas con diferentes tipos y concentraciones de mucílago de chía (MOM₇, MOA₁₁ y MOA₁₉), correspondientes a la Zona II del tubo. Las emulsiones con la menor concentración de mucílago de chía estudiada exhibieron un leve aumento en el valor del BS al cabo de la primera semana de almacenamiento refrigerado, permaneciendo luego dicho parámetro constante hasta la finalización del mismo. En tanto, las emulsiones formuladas con una concentración de mucílago $\geq 0,50\%$ registraron valores de BS constantes durante

todo el periodo ensayado. Los resultados obtenidos indican la formación de una fase crema estable en las emulsiones estudiadas. Dicho comportamiento fue observado por otros investigadores al emplear otras gomas, confirmando el efecto positivo de la incorporación de las mismas en la prevención del cremado de emulsiones O/W (Huang y col. 2001; Sun y col., 2007; Taherian y col., 2007; Koocheki y col., 2009c). Además, debido a las diferencias en la estructura molecular, la carga eléctrica neta, el grado de hidrofiliicidad y la fortaleza de la red tridimensional que conforma la goma en la fase acuosa, así como las condiciones de almacenamiento de las emulsiones, las gomas pueden exhibir una diferente protección frente al cremado (Djordjevic y col., 2008).

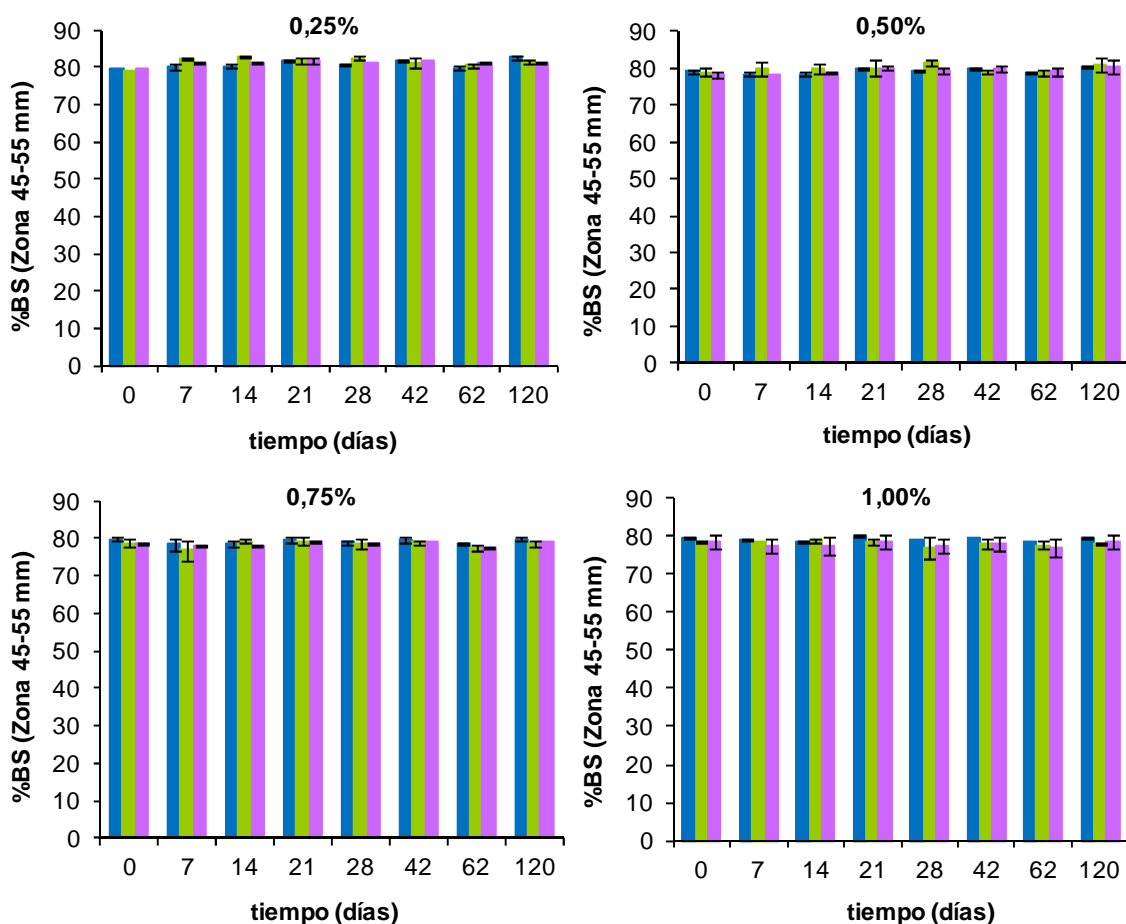


Figura 4.7. Cinética de desestabilización de emulsiones O/W (Φ_m 0,20), con diferentes concentraciones de mucílago de chía, correspondientes a la Zona II (45-55 mm). Valores promedio ($n=2$) \pm sd. (■): MOM₇; (■): MOA₁₁; (■): MOA₁₉

A modo de ejemplo en la **Figura 4.8** se muestra la apariencia general de las emulsiones O/W al cabo de 7 días de almacenamiento refrigerado, momento a partir del cual las emulsiones formuladas con las menores concentraciones de mucílago de chía (0,25 y 0,50%) evidenciaron su desestabilización. Así, puede observarse la formación de un sistema bifásico compuesto por una fase superior (crema) y una fase inferior producida por la migración de partículas hacia la parte superior del tubo, característico del fenómeno de separación gravitacional. Este efecto fue más pronunciado en las emulsiones con 0,25% de mucílago de chía, pudiendo atribuirse este comportamiento a la menor viscosidad de la fase acuosa, favoreciendo de esta manera la libre movilidad de las gotas con un mayor grado de interacción.

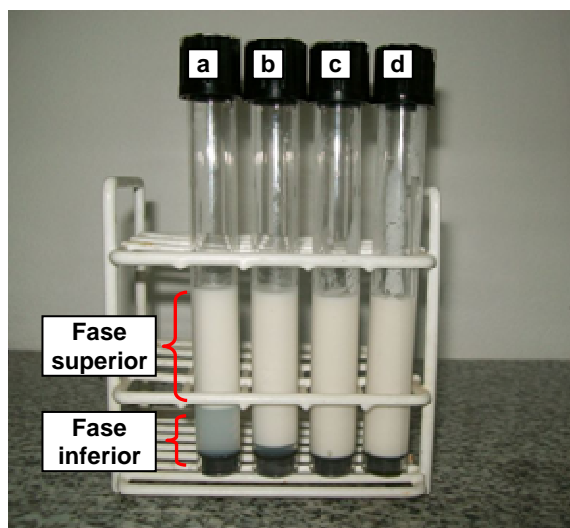


Figura 4.8. Emulsiones O/W (Φ_m 0,20) después de 7 días de almacenamiento refrigerado. (a) 0,25%; (b) 0,50%; (c) 0,75%; (d) 1,00% de mucílago de chía (MOA₁₉), respectivamente

2. Análisis de la distribución y el tamaño de partículas

El comportamiento de las emulsiones, en lo que respecta al cremado y a la coalescencia, está gobernado por la presencia de gotas más grandes, aún cuando éstas representan un pequeño porcentaje en número de la totalidad de las mismas (Palazolo, 2006). En las **Figuras 4.9**, **4.10** y **4.11** se muestra la distribución de tamaño de partículas en volumen correspondiente a las emulsiones O/W formuladas con MOM₇, MOA₁₁ y MOA₁₉, respectivamente. Puede observarse que al momento inicial de la preparación de las emulsiones ($t = 0$), en general la distribución de

tamaño de partículas de las mismas exhibió un carácter monomodal, con un tamaño comprendido entre 1 y 10 μm . Este comportamiento puede atribuirse a las características del tipo de homogeneizador empleado, el cual permite obtener tamaños de partícula pequeños (McClements, 1999). Sin embargo, en las emulsiones con 0,75 y 1,00% de mucílago de chía se detectó una segunda población de partículas más grandes (10 a 100 μm), pudiendo asociarse este hecho a un aumento de la viscosidad de la fase acuosa de la emulsión generada por una mayor concentración de mucílago. En este sentido, el proceso de homogeneización puede verse alterado sin que pueda lograrse una completa ruptura y distribución de las gotas de la emulsión. Resultados similares fueron observados por Koocheki y col., (2009c) al incorporar diferentes concentraciones de goma de *Alyssum homolocarpum* en emulsiones O/W, formuladas con el mismo tipo de homogeneizador que el empleado en este trabajo de Tesis.

Por otra parte, según el tiempo de almacenamiento refrigerado, en las emulsiones con las menores concentraciones de MOA₁₁ y MOA₁₉ (principalmente 0,25%), se evidenció la formación de una población de partículas más grandes (100 a 1000 μm), favoreciendo el proceso de separación gravitacional (cremado) tal como fue observado mediante el QuickScan. Este efecto fue más pronunciado en las emulsiones formuladas con MOA₁₉, alcanzando dicha población de partículas un pico máximo a los 28 días de almacenamiento, para luego disminuir a tiempos posteriores. Este último comportamiento podría relacionarse con las etapas del procedimiento de medición del tamaño de partículas, especialmente por la dilución y la fuerza externa aplicada, lo que podría generar la ruptura de los posibles flóculos agregados débilmente en la emulsión (Khalloufi y col., 2008; Álvarez Cerimedo y col., 2010). Resultados análogos fueron observados por Soleimanpour y col., (2013) en emulsiones O/W formuladas con 0,2% de goma de semillas de *Lepidium perfoliatum*.

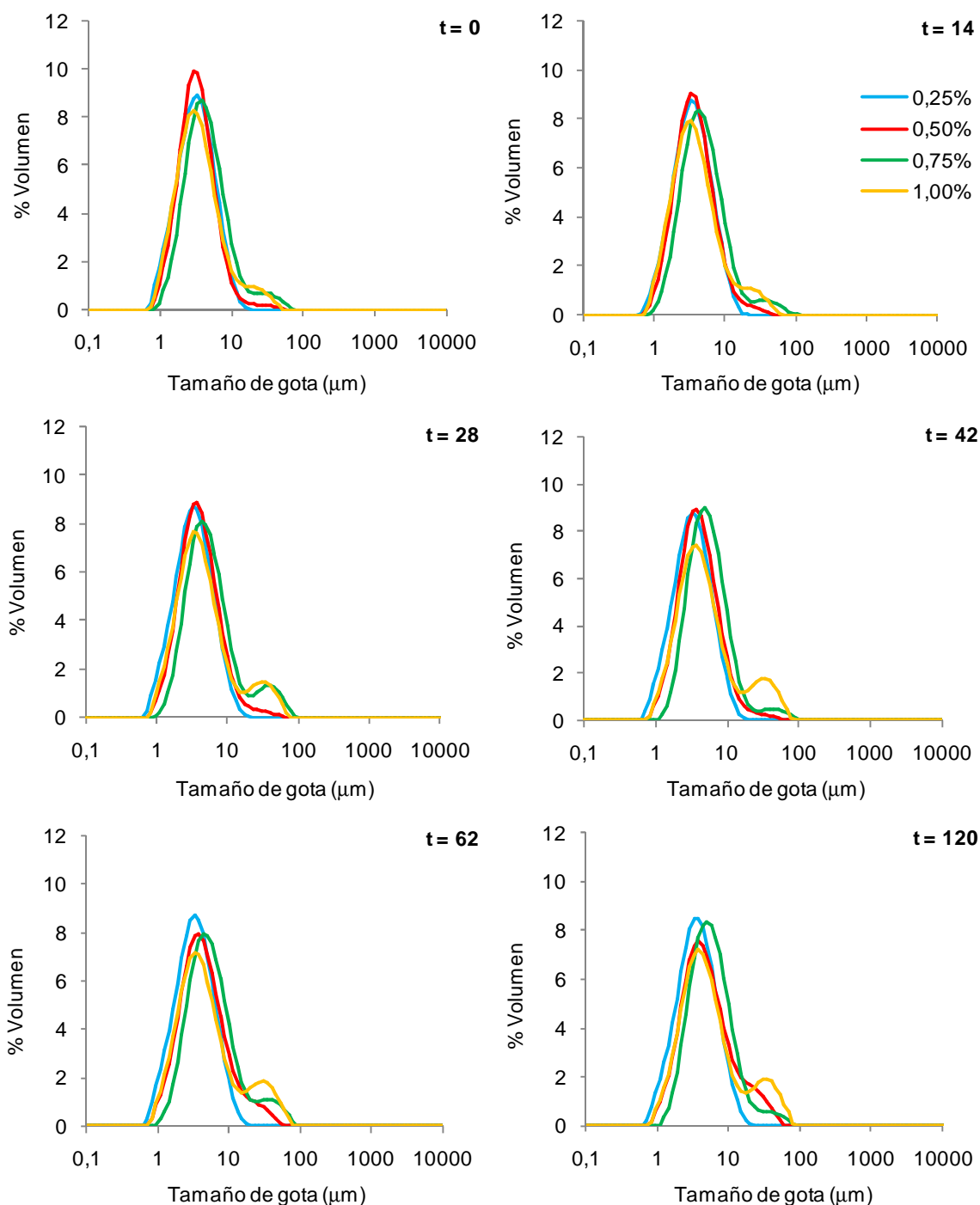


Figura 4.9. Distribución de tamaño de partículas en volumen en función del almacenamiento (días) a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ de emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de MOM₇. Valores promedio (n = 2)

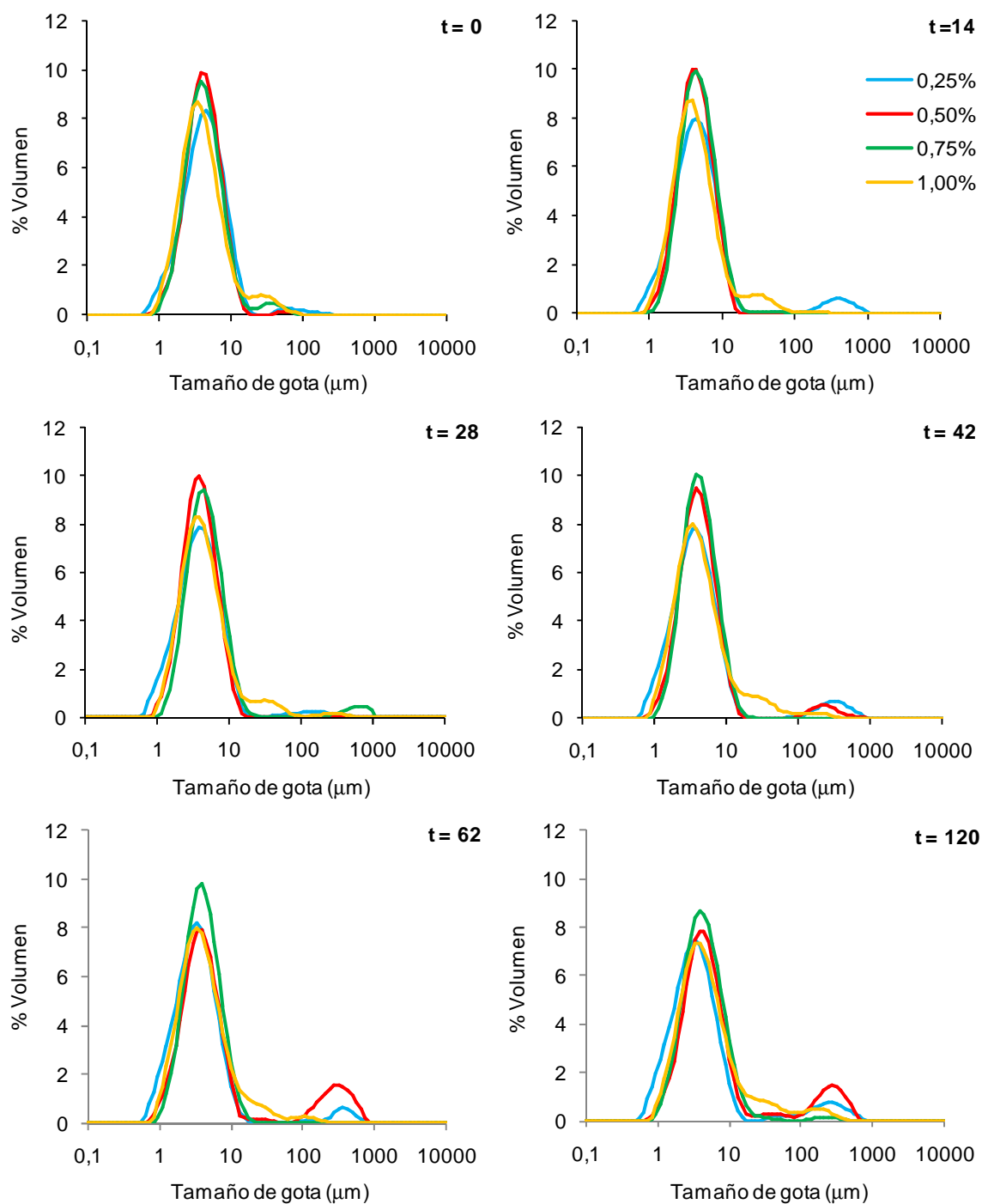


Figura 4.10. Distribución de tamaño de partículas en volumen en función del almacenamiento (días) a $4\pm 1^\circ\text{C}$ de emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de MOA₁₁. Valores promedio ($n = 2$)

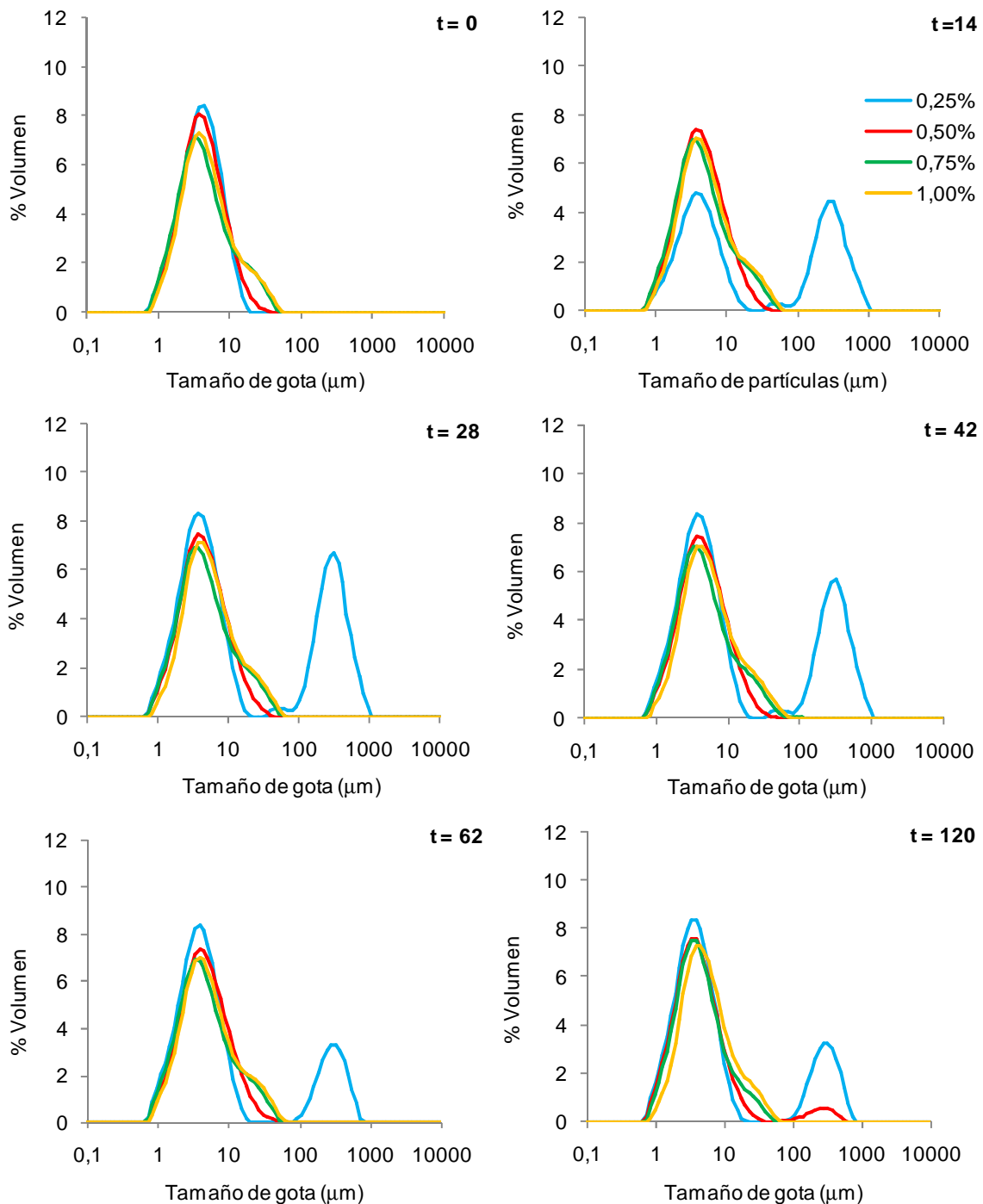


Figura 4.11. Distribución de tamaño de partículas en volumen en función del almacenamiento (días) a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ de emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de MOA₁₉. Valores promedio (n = 2)

A modo de ejemplo de la distribución de tamaño de partículas en superficie, en las **Figuras 4.12** y **4.13** se presentan los resultados obtenidos para las emulsiones con diferentes concentraciones de MOM₇, MOA₁₁ y MOA₁₉,

correspondientes al tiempo inicial y final, respectivamente. Puede observarse, que todas las emulsiones exhibieron un comportamiento similar independientemente del tipo de mucílago y concentración de mucílago en la emulsión, así como del tiempo de almacenamiento refrigerado. Este hecho estaría indicando que la población de partículas más grandes (100-1000 μm) -observada en la distribución de tamaño de partículas en volumen, a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento refrigerado-, especialmente en las emulsiones con 0,25% de MOA₁₉, no tuvo incidencia desde el punto de vista del análisis de distribución de tamaño de partículas en superficie.

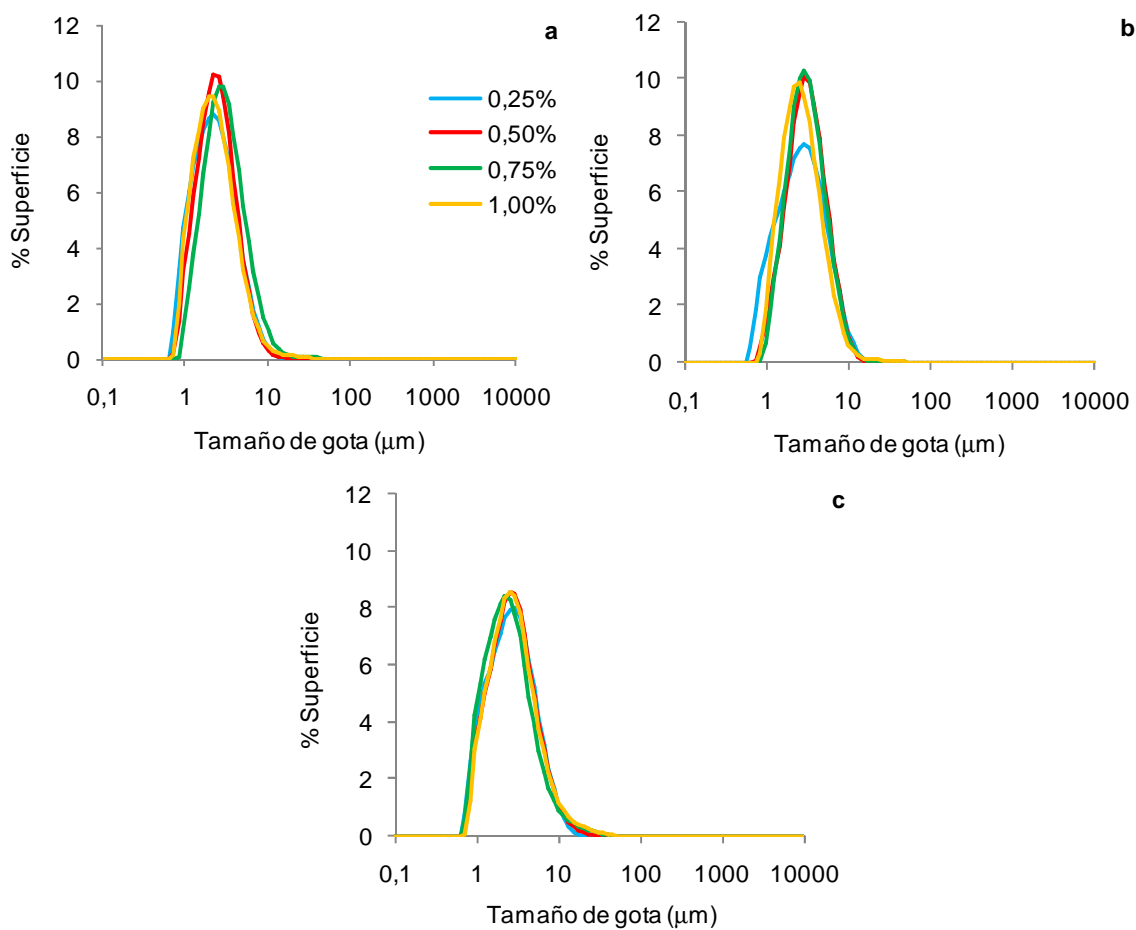


Figura 4.12. Distribución de tamaño de partículas en superficie correspondientes a emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de mucílago de chía ($t = 0$ d). (a) MOM₇; (b) MOA₁₁ y (c) MOA₁₉

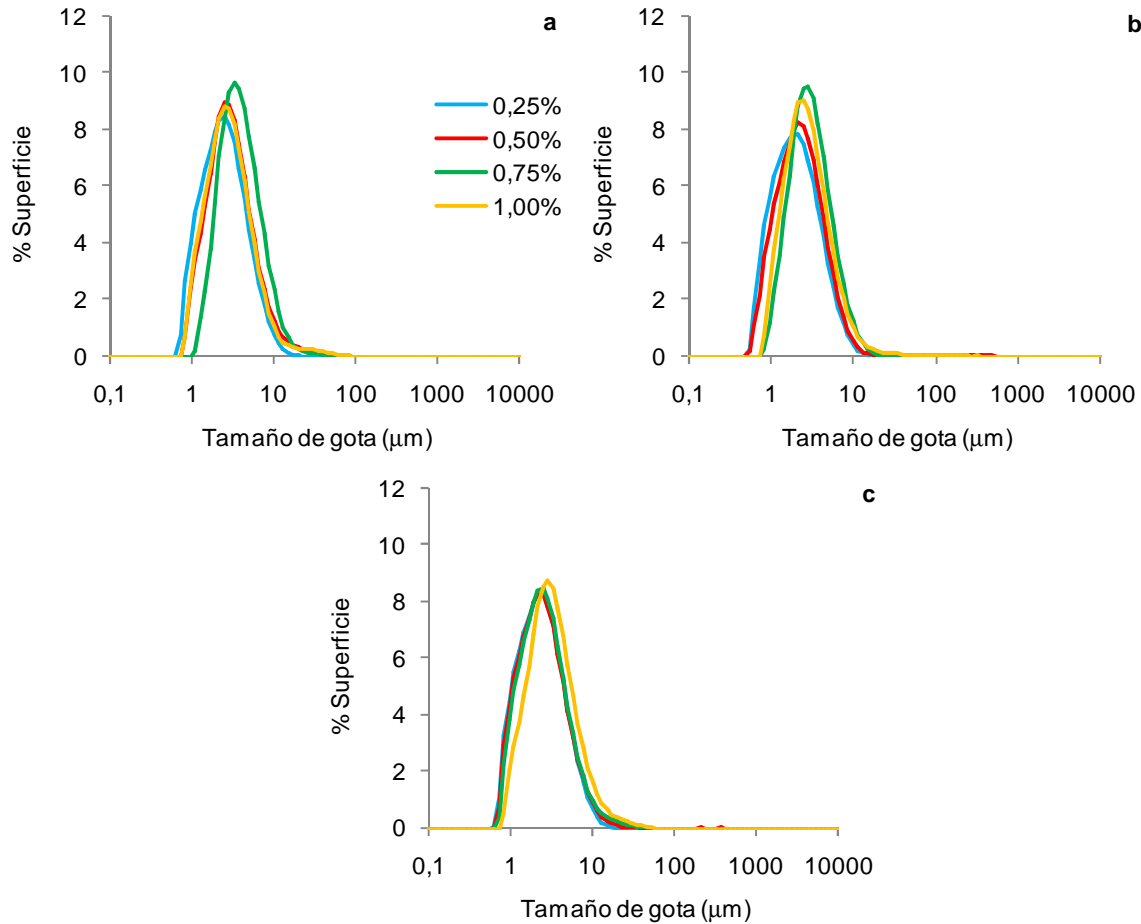


Figura 4.13. Distribución de tamaño de partículas en superficie correspondientes a emulsiones O/W (Φ_m 0,20) con diferentes concentraciones de mucílago de chía ($t = 120$ d). (a) MOM₇; (b) MOA₁₁ y (c) MOA₁₉

En su conjunto, a $t = 0$, las emulsiones formuladas con 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00% de mucílago de chía presentaron valores iniciales de los diámetros promedio de Brouker de 4,1; 4,4; 5,7 y 5,6 μm respectivamente, no existiendo diferencias significativas entre los distintos tipos y concentraciones de mucílago estudiados ($p < 0,05$). En la **Tabla 4.1** se muestran los diámetros promedios de Brouker ($D[4,3]$) en función del tiempo de almacenamiento refrigerado correspondientes a las emulsiones formuladas con 0,25% de los diferentes tipos mucílago. En la misma puede observarse que para todo el periodo de almacenamiento estudiado, los valores de $D[4,3]$ de las emulsiones con MOA₁₁ y MOA₁₉ fueron mayores a los de la emulsión con MOM₇, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) a los 28 y entre los 14 y 28 días de almacenamiento, para MOA₁₁ y MOA₁₉

respectivamente. Este comportamiento puede atribuirse a la mayor inestabilidad presentada por estas emulsiones, siendo estos resultados concordantes con los obtenidos mediante el analizador vertical de barrido (QuickScan). Asimismo, los valores de D[4,3] de dichas emulsiones tuvieron una tendencia de aumento en función del tiempo de almacenamiento, alcanzando su mayor valor a los 28 días para luego disminuir. Esta disminución podría asociarse a la ruptura de los posibles flóculos agregados débilmente mediante la fuerza externa aplicada durante la medición del tamaño de partículas (Álvarez Cerimedo y col., 2010). En contraste, los valores de D[4,3] de las emulsiones formuladas con 0,25% de MOM₇ permanecieron constantes durante todo el periodo de almacenamiento refrigerado.

Tabla 4.1. Diámetros promedio de Brouker (D[4,3]) correspondientes a emulsiones O/W (ϕ_m 0,20) formuladas con 0,25 % de mucílago en función del tiempo de almacenamiento refrigerado. Valores promedio (n=2) \pm sd.

Tiempo de almacenamiento (días)	MOM ₇	MOA ₁₁	MOA ₁₉
0	3,42 \pm 0,45 ^a	4,64 \pm 0,87 ^a	4,38 \pm 0,27 ^a
7	3,62 \pm 0,44 ^a	6,30 \pm 2,81 ^a	7,11 \pm 2,41 ^a
14	3,75 \pm 0,54 ^a	5,27 \pm 1,02 ^a	9,51 \pm 0,57 ^b
21	3,79 \pm 0,58 ^a	8,12 \pm 2,24 ^{ab}	9,74 \pm 0,55 ^b
28	3,70 \pm 0,64 ^a	13,49 \pm 2,24 ^b	14,18 \pm 1,33 ^b
42	3,64 \pm 0,53 ^a	5,57 \pm 2,17 ^a	8,58 \pm 0,62 ^a
62	3,64 \pm 0,59 ^a	5,48 \pm 2,50 ^a	4,06 \pm 0,05 ^a
120	4,01 \pm 0,68 ^a	5,12 \pm 1,67 ^a	3,91 \pm 0,03 ^a

Valores seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas entre tipos de mucílago, para cada tiempo de almacenamiento refrigerado (Tukey, $p < 0,05$)

Con respecto a las emulsiones con una concentración $\geq 0,50\%$ de mucílago, no se detectó una tendencia estadísticamente significativa en la modificación de los valores de D[4,3] en función del tiempo de almacenamiento ni entre los tipos de mucílago estudiados.

Por otra parte, los valores promedio de Sauter (D[3,2]) -relacionados con la distribución de partículas en superficie-, permanecieron constantes durante todo el periodo de almacenamiento, para cada concentración y tipo de mucílago de chía

estudiado, siendo dichos valores 2,8; 3,1; 3,5 y 3,3 μm para emulsiones formuladas con 0,25; 0,50; 0,75 y 1,00% de mucílago de chía, respectivamente.

3. Observaciones microscópicas

En las **Figuras 4.14, 4.15 y 4.16** se presentan las micrografías ópticas correspondientes a las emulsiones formuladas con diferentes concentraciones de MOM₇, MOA₁₁ y MOA₁₉, respectivamente, a tiempo inicial ($t = 0$). A través de las mismas es posible complementar la información obtenida mediante la distribución de tamaño de partículas y del analizador vertical de barrido (QuickScan). Las emulsiones de los tres tipos de mucílago de chía estudiados, presentaron un aspecto más compacto o estructurado al aumentar la concentración de los mismos, pudiendo asociarse este comportamiento al aumento de la viscosidad de la fase acuosa, manteniendo a las gotas en una estructura tridimensional más firme. Asimismo, este fenómeno fue más evidente en las emulsiones con MOM₇, pudiendo atribuirse este hecho a la mayor pureza asociada a este tipo de mucílago. Estructuras similares a las exhibidas por las emulsiones con $\geq 0,75\%$ de mucílago, fueron registradas por Huang y col. (2001) en emulsiones O/W con 0,50% de goma de “fenugreek”.

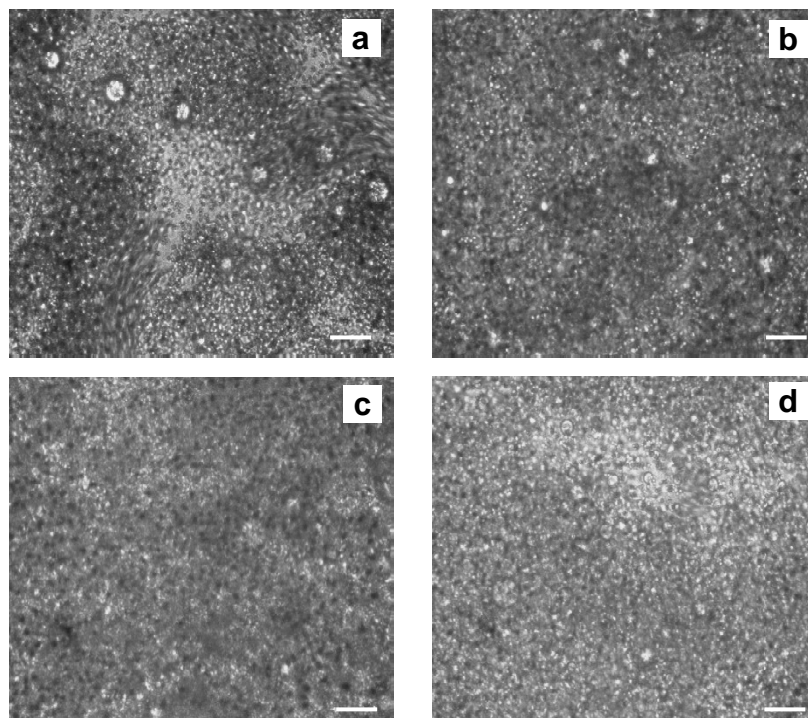


Figura 4.14. Micrografías de emulsiones O/W con diferentes concentraciones de MOM₇ ($t = 0$ d) (63X). (a) 0,25%; (b) 0,50%; (c) 0,75% y (d) 1,00%. Barras en blanco: 20 μm

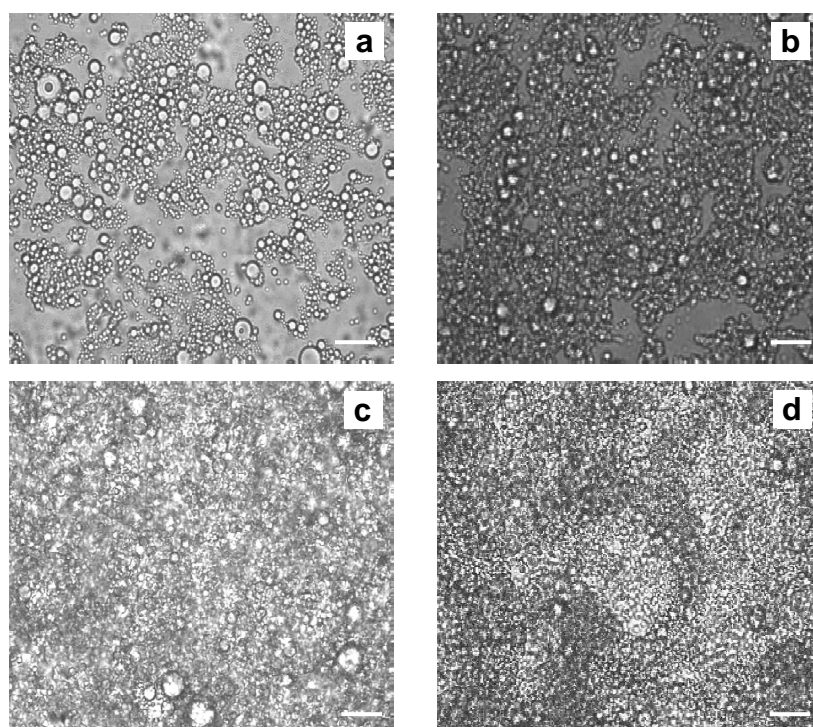


Figura 4.15. Micrografías de emulsiones O/W con diferentes concentraciones de MOA₁₁ (t = 0 d) (63X). (a) 0,25%; (b) 0,50%; (c) 0,75% y (d) 1,00%. Barras en blanco: 20 μm

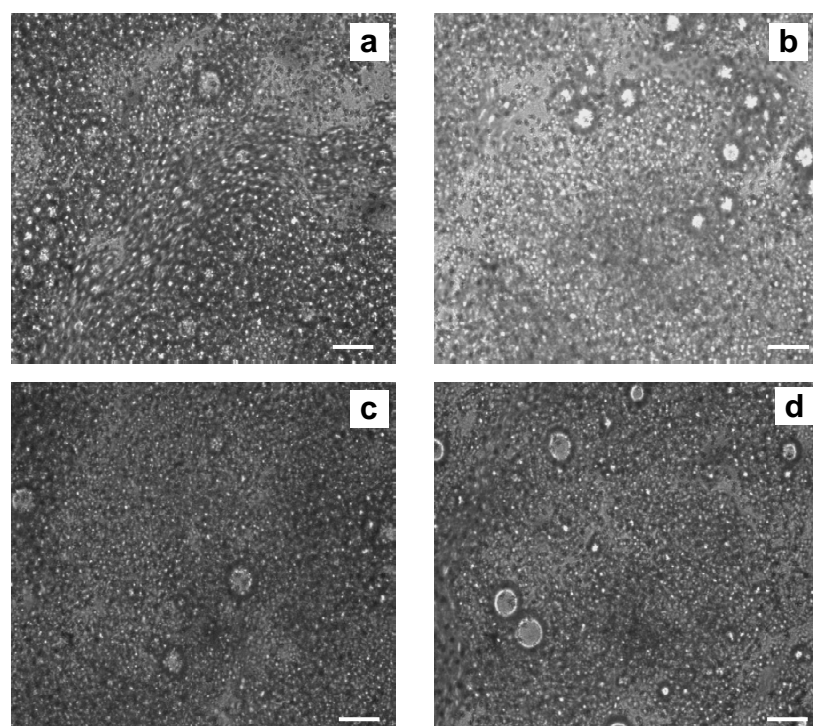


Figura 4.16. Micrografías de emulsiones O/W con diferentes concentraciones de MOA₁₉ (t = 0 d) (63X). (a) 0,25%; (b) 0,50%; (c) 0,75% y (d) 1,00%. Barras en blanco: 20 μm

Por otra parte en la **Figura 4.17** se muestran las micrografías de las emulsiones con 0,25% de MOM₇, MOA₁₁ y MOA₁₉ correspondientes a la etapa final del almacenamiento refrigerado estudiado (120 días). En este caso puede observarse un mayor tamaño de las gotas con respecto al tiempo inicial ($t = 0$), especialmente en las emulsiones formuladas con mucílago de mayor tenor proteico (MOA₁₉). Este comportamiento puede atribuirse a la menor viscosidad de la fase acuosa de dichas emulsiones, lo que permite una mayor libertad de movimiento de las gotas de aceite, favoreciendo la colisión entre las mismas, la formación de flóculos o de gotas más grandes (coalescencia). Asimismo, este comportamiento evidencia la inestabilidad de estas emulsiones al aumentar el tiempo de almacenamiento refrigerado. Resultados similares han sido informados para emulsiones O/W formuladas con diferentes concentraciones de goma de *Alyssum homolocarpum* (Koocheki y col., 2009c).

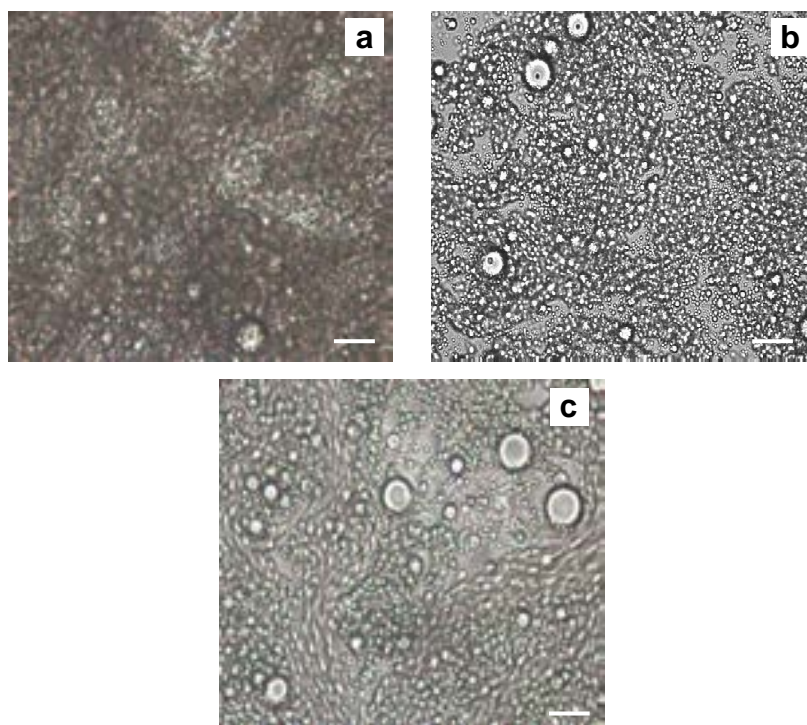


Figura 4.17. Micrografías de emulsiones O/W con 0,25% de mucílago de chía ($t = 120$ d) (63X). (a) MOM₇; (b) MOA₁₁; (c) MOA₁₉. Barras en blanco: 20 μ m

4. Comportamiento de flujo en estado estacionario

En las Figuras 4.18 y 4.19 se muestra la variación de la viscosidad aparente en función de la velocidad de deformación de emulsiones O/W formuladas con distintas concentraciones de mucílago de chía en función del tiempo de almacenamiento refrigerado (MOM₇ y MOA₁₉, respectivamente).

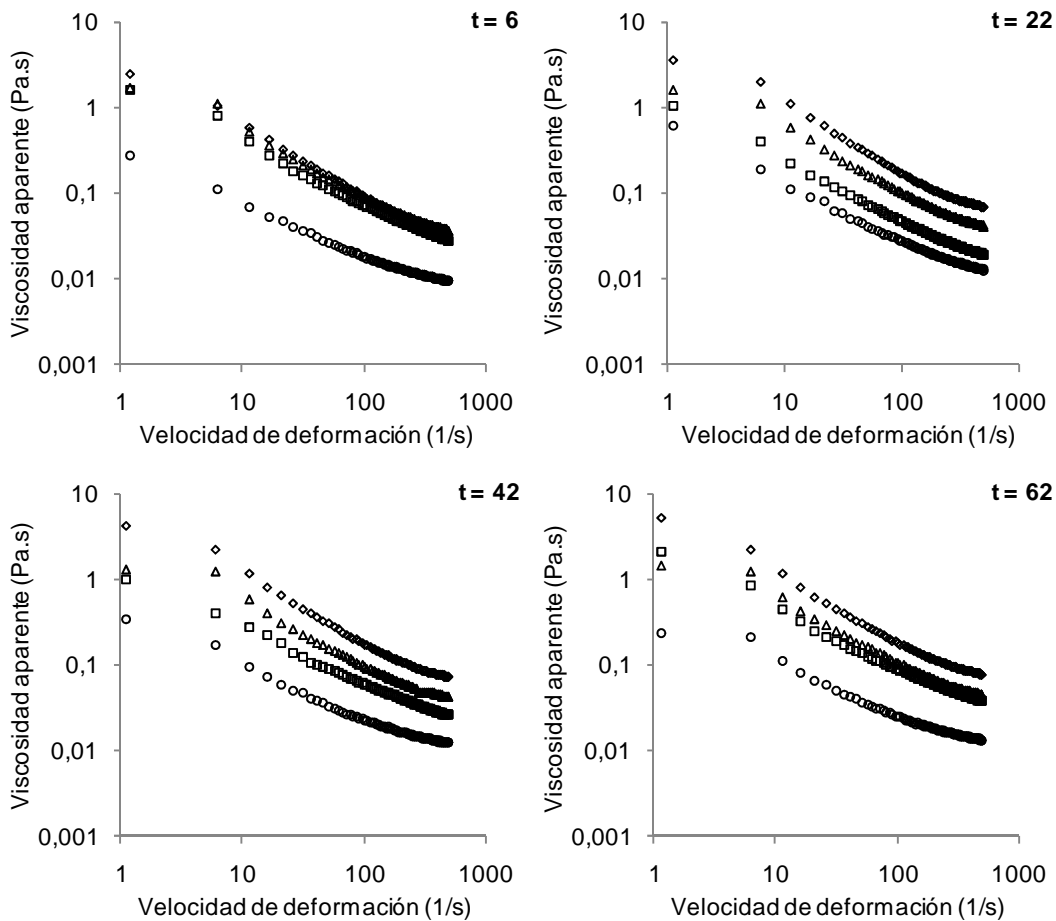


Figura 4.18. Efecto de la concentración de mucílago de chía (MOM₇) y del tiempo de almacenamiento (días) a $4 \pm 1^\circ\text{C}$ sobre la viscosidad de emulsiones O/W. Valores promedio ($n = 2$). (○): 0,25%; (□): 0,50%; (Δ): 0,75%; (◇): 1,00%

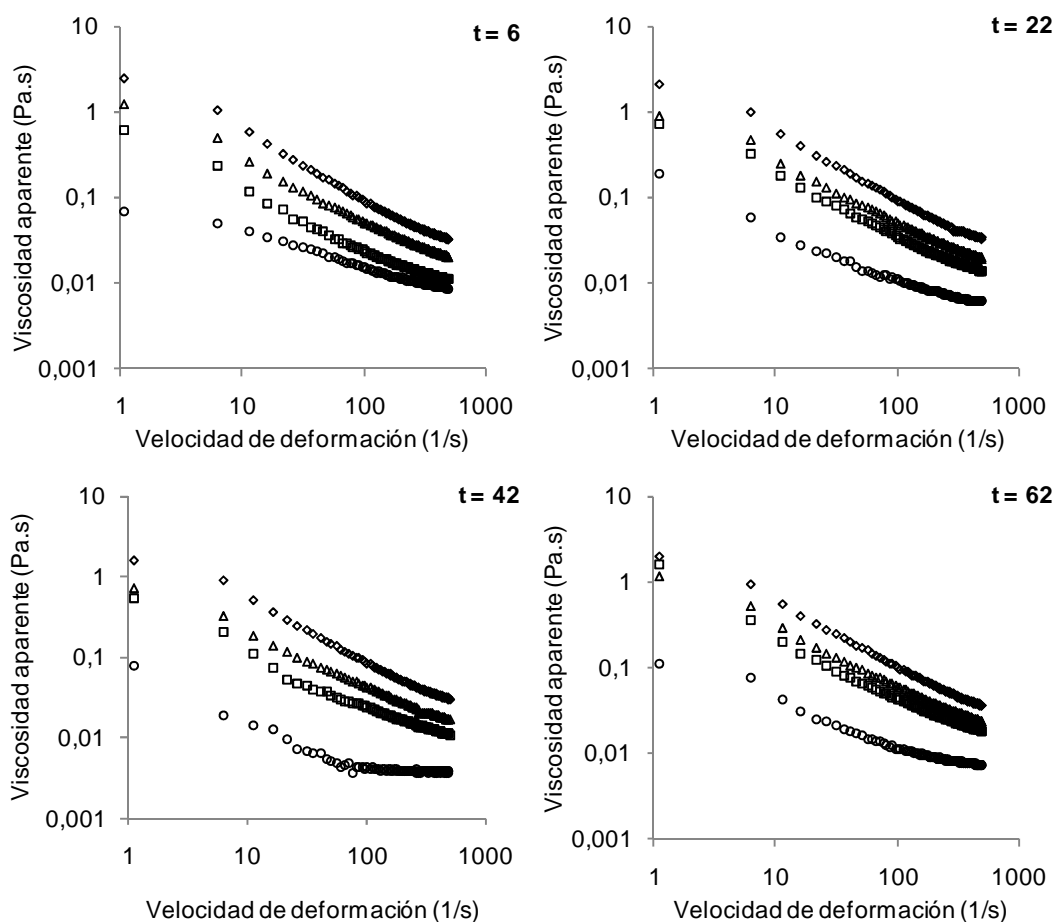


Figura 4.19. Efecto de la concentración de mucílago de chía (MOA_{19}) y del tiempo de almacenamiento (días) a $4\pm 1^\circ\text{C}$ sobre la viscosidad de emulsiones O/W. Valores promedio ($n = 2$). (○): 0,25%; (□): 0,50%;(Δ): 0,75%; (◇): 1,00%

En las **Figuras 4.18** y **4.19** puede observarse que la viscosidad de las emulsiones disminuyó al aumentar la velocidad de deformación, siendo este efecto más pronunciado al inicio de la deformación y al incrementarse la concentración de mucílago en la fase acuosa de la emulsión. Esto puede atribuirse a que a mayores velocidades de deformación y de número de moléculas de hidrocoloides, aumenta la alineación de las gotas de la emulsión en la dirección del flujo, ofreciendo una menor resistencia y por lo tanto, una menor viscosidad (McClements, 1999; Soleimanpour y col., 2013). Por otra parte, la viscosidad de las emulsiones aumentó al incrementarse la concentración mucílago. Este comportamiento puede deberse a que la existencia de una mayor proporción de moléculas de alto peso molecular en la fase continua de

la emulsión genera una mayor resistencia al flujo minimizando la movilidad de las gotas y la frecuencia de colisión, favoreciendo de esta manera la formación de una estructura tridimensional que previene el cremado de la emulsión (Nor Hayati y col., 2009). Un comportamiento similar al registrado en este estudio, ha sido observado en emulsiones O/W con diferentes concentraciones de goma extraída de semillas de *Alyssum homolocarpum* y *Lepidium perfoliatum* (Koocheki y col., 2009c; Soleimanpour y col., 2013). Cabe señalar que las emulsiones formuladas con MOM₇ exhibieron una mayor viscosidad que las correspondientes a MOA₁₉.

Por otra parte, en la **Tabla 4.2** se muestran los valores del índice de consistencia (k) y de comportamiento de flujo (n) de todas las emulsiones estudiadas para MOM₇ y MOA₁₉, correspondiente a los 6 días de almacenamiento. En todos los casos se observaron valores de n menores a 1, indicando un comportamiento de flujo pseudoplástico. Cabe destacar que las emulsiones formuladas con MOM₇ presentaron valores de k mayores que los correspondientes a las emulsiones formuladas con MOA₁₉ para todas las concentraciones ensayadas. Esto puede relacionarse con la mayor pureza de MOM₇, lo que contribuye al aumento de la viscosidad de las emulsiones estudiadas. Asimismo, puede observarse que tanto para las emulsiones formuladas con MOM₇ y con MOA₁₉, los valores de k aumentaron y los de n disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) con el aumento de la concentración de mucílago de 0,25 a 1,00% en la fase acuosa de la emulsión. Este comportamiento fue similar en todos los tiempos de almacenamiento estudiados. Además, para cada concentración y tipo de mucílago, no se detectaron diferencias significativas ($p > 0,05$) para los valores de k y n en función del tiempo, a partir de los 6 días de almacenamiento.

Tabla 4.2. Parámetros de la Ley de la Potencia de emulsiones O/W (ϕ_m 0,20) con distintas concentraciones de MOM₇ y MOA₁₉, correspondientes a los 6 días de almacenamiento refrigerado

Emulsión	k (Pa.s ⁿ)	n (-)	R ²
MOM₇ (%)			
0,25	0,24 ± 0,02 ^a	0,46 ± 0,02 ^b	0,96
0,50	1,17 ± 0,42 ^{ab}	0,36 ± 0,01 ^a	0,98
0,75	1,89 ± 0,22 ^b	0,35 ± 0,02 ^a	0,96
1,00	3,34 ± 0,03 ^c	0,34 ± 0,00 ^a	0,96
MOA₁₉ (%)			
0,25	0,13 ± 0,06 ^a	0,53 ± 0,05 ^c	0,96
0,50	0,39 ± 0,04 ^a	0,42 ± 0,03 ^{bc}	0,96
0,75	1,15 ± 0,02 ^b	0,33 ± 0,01 ^{ab}	0,98
1,00	2,76 ± 0,26 ^c	0,27 ± 0,01 ^a	0,95

Valores seguidos por letras diferentes indican diferencias significativas, entre concentraciones, para cada tipo de mucílago (Tukey, $p < 0,05$)

CONCLUSIONES PARCIALES

- La incorporación de mucílago de chía en concentraciones $\geq 0,75\%$ mejora la estabilidad física de emulsiones O/W frente a procesos de floculación, coalescencia y separación gravitacional de fases.
- La estabilidad de las emulsiones estudiadas fue afectada por el tipo de mucílago empleado, siendo mayor en aquellas formuladas con MOM₇, de menor contenido de proteínas.
- La viscosidad de las emulsiones fue influenciada por el tipo y la concentración de mucílago, siendo mayor al aumentar la concentración del mismo. Este parámetro presentó un mayor nivel en las emulsiones formuladas con MOM₇ respecto a las correspondientes a MOA₁₉. Las emulsiones O/W estudiadas tuvieron un comportamiento de flujo pseudoplástico.

DIFUSIÓN DE RESULTADOS

Presentaciones en Congresos

- Evaluación de las propiedades del mucílago de chía (*Salvia hispanica* L.) sobre la estabilidad de emulsiones O/W. M.I. Capitani, S.M. Nolasco y M.C. Tomás. VI Congreso Argentino de Ingeniería Química, Mar del Plata, Argentina, 26 al 29 de septiembre de 2010. ISSN N° 1850-3519

CONCLUSIONES GENERALES

Durante la realización del presente trabajo de Tesis se realizó la caracterización fisicoquímica y funcional de la harina de chía (*Salvia hispanica* L.) obtenida como subproducto de diferentes procesos de extracción del aceite de la semilla (prensado en frío y extracción sólido-líquido), así como de las fracciones ricas en fibra y en proteínas obtenidas mediante la tamización (fraccionamiento vía seca) de las harinas residuales (Hs y Hp, respectivamente). La fracción retenida sobre el tamiz fue considerada rica en fibra (FRF), mientras que la fracción que pasó por el tamiz, rica en proteínas (FRP). Además, se caracterizó la harina obtenida como subproducto del proceso de extracción del aceite (sólido-líquido), de semillas a las cuales previamente se les separó el mucílago. Asimismo, se realizó la caracterización fisicoquímica y funcional del mucílago de chía obtenido mediante distintos procedimientos, así como su aplicación en el desarrollo de emulsiones O/W. Esta información representa un aporte significativo a las características y posibles aplicaciones de productos derivados de la chía, en distintos sistemas alimentarios, de acuerdo a los requerimientos de la industria y las tendencias actuales de los consumidores con respecto a los efectos vinculados con la relación nutrición-salud.

En virtud de ello, a continuación se sintetizan las siguientes conclusiones generales:

Harinas y fracciones ricas en fibra y en proteínas

- La harina de extracción por prensado (Hp) presentó alrededor de un 95% más de aceite que la harina de extracción con solvente proveniente de semillas con y sin mucílago (Hs y Hsm), exhibiendo estas harinas un contenido significativamente superior de proteínas y de fibra.
- Las propiedades funcionales relacionadas con la afinidad por el agua fueron mayores en Hs y Hp con respecto a Hsm, debido a la incidencia asociada a la extracción previa del mucílago (fibra dietética soluble) en Hsm, sustancia que se caracteriza por retener agua en su matriz. Además, Hs y Hsm exhibieron propiedades funcionales relacionadas con la afinidad por el aceite significativamente superiores a la Hp, debido al contenido de lípidos residuales significativamente inferior en las harinas provenientes del proceso de extracción con solvente.

- El proceso de tamizado de las harinas (Hs y Hp) permitió obtener fracciones fibrosas (FRFs y FRFp) con un aumento del 14% de fibra dietética total con respecto a las harinas, especialmente con un mayor contenido de fibra dietética insoluble. Asimismo, las fracciones que atravesaron la malla del tamiz exhibieron un contenido de proteínas significativamente mayor al de las harinas, incrementándose en un 53,4 y 30,3% en FRPs y FRPp, respectivamente.
- En todos los subproductos se detectó la presencia de fósforo, calcio, magnesio, hierro, zinc y cobre, siendo los tres primeros los minerales presentes en mayor proporción. Las fracciones ricas en proteínas exhibieron una mayor concentración de minerales a excepción del Ca, el cual estuvo presente en una menor proporción.
- Todos los subproductos de chía exhibieron una alta actividad antioxidante. La misma puede asociarse a la presencia de componentes polifenólicos y en el caso particular de Hp, FRFp y FRPp al contenido de tocoferoles. Los principales antioxidantes polifenólicos encontrados fueron los ácidos clorogénico y cafeico, quercetina, seguidos de trazas de miricetina y kaempferol. El contenido total de tocoferoles varió en un rango entre 470 a 614 $\mu\text{g}/\text{kg}$, siendo el principal compuesto el γ -tocoferol, seguido de α - y δ -tocoferol, en menores concentraciones.
- La información obtenida a partir de la determinación de las propiedades fisicoquímicas y funcionales estudiadas, sugiere que los subproductos de chía podrían tener una potencial aplicación como ingredientes funcionales en diversos productos.

Mucílago

Se obtuvo el mucílago a partir de semillas enteras de chía mediante dos metodologías. El Método I (Argentina) comprende principalmente las operaciones de remojo, congelación, liofilización y tamización. Mientras que el Método II (México) incluye remojo, filtración, concentración, congelación y liofilización.

- La metodología de extracción aplicada afectó el contenido de proteínas del mucílago obtenido, generando el Método II un producto con un menor contenido de proteínas.
- El fenómeno de mixocarpia del mucílago de chía fue investigado mediante SEM, observándose una rápida exudación del mismo al remojar las semillas en agua.
- Los distintos tipos de mucílago de chía exhibieron elevados niveles en sus propiedades funcionales siendo superiores las correspondientes al mucílago obtenido por el Método II.
- El mucílago de chía presentó un comportamiento de flujo pseudoplástico en el rango de concentraciones estudiadas (0,25 a 1,00%) a $25\pm 1^\circ\text{C}$. La viscosidad aparente y el grado de pseudoplasticidad de las dispersiones aumentó con el incremento de la concentración de mucílago, siendo estas características más pronunciadas en el mucílago obtenido mediante el Método II.
- La información obtenida acerca del estudio correspondiente al efecto de las variables concentración de mucílago, temperatura, pH, fuerza iónica y presencia de sacarosa, sobre las propiedades reológicas del mucílago de chía (índice de consistencia $-k-$, índice de comportamiento de flujo $-n-$, tixotropía y $\tan \delta$) evidenció un efecto significativo mayor de la concentración de mucílago sobre k y la tixotropía, mientras que n y la $\tan \delta$ fueron principalmente afectados por la presencia de sacarosa.
- El estudio del efecto del agregado de una sal monovalente (NaCl) o divalente (CaCl_2) y del método de obtención del mucílago sobre las propiedades reológicas del mismo, mostró que tanto el tipo de sal adicionada como el método de obtención del mucílago tienen una incidencia significativa sobre el valor de k y de la tixotropía. El mucílago de chía obtenido por el Método II y la adición de NaCl originan dispersiones con una mayor consistencia.

- El análisis del comportamiento viscoelástico correspondiente a dispersiones con diferentes concentraciones de mucílago de chía, así como el estudio del efecto de las variables concentración de mucílago, temperatura, pH, fuerza iónica y presencia de sacarosa, sobre las propiedades reológicas del mismo, permitieron clasificar al mucílago de chía como un polímero amorfo. Dicho mucílago tiene la propiedad de formar geles débiles porque el módulo de almacenamiento (G') fue mayor que el módulo de pérdida (G'') en el rango de frecuencias ensayadas y la separación de los dos módulos ($\tan \delta = G''/G'$) varió en un rango de 0,5 a 1,1. Un comportamiento similar fue observado en el estudio correspondiente a la fuerza gel del mucílago de chía.
- La información obtenida sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de ambos tipos de mucílago de chía sugiere que este tipo de hidrocoloide podría incorporarse en la elaboración de alimentos que requieran determinadas condiciones de comportamiento, por ejemplo como agente estabilizante y espesante de productos tales como yogur batido, aderezos, entre otros.

Aplicación del mucílago de chía en emulsiones O/W

- La incorporación de mucílago de chía en emulsiones O/W mejora la estabilidad física de las mismas frente a los mecanismos de floculación, coalescencia y separación gravitacional de fases debido a su rol como agente espesante.
- La estabilidad de las emulsiones fue influenciada por el tipo y la concentración de mucílago así como por el tiempo de almacenamiento refrigerado, siendo mayor en aquellas formuladas con el mucílago obtenido mediante el Método II, a niveles de $\geq 0,75\%$. Asimismo, la viscosidad de las emulsiones fue afectada por la concentración y el tipo de mucílago, siendo mayor al incrementarse la concentración del mismo. Las emulsiones formuladas con el mucílago obtenido mediante el Método II exhibieron el mayor nivel de viscosidad.

- De forma similar a las dispersiones de mucílago de chía, las emulsiones O/W formuladas con las mismas presentaron un comportamiento de flujo pseudoplástico en el rango de concentraciones analizadas (0,25 a 1,00%) a $25\pm 1^\circ\text{C}$.
- El mucílago de chía -en su rol de agente espesante- incrementa la viscosidad de la fase acuosa de la emulsión, reduciendo la movilidad de las gotas y favoreciendo la acción del agente emulsificante, contribuyendo a la estabilidad de la emulsión. Cabe considerar que este efecto está asociado a la concentración de hidrocoloide.

PERSPECTIVAS FUTURAS

En función de los resultados obtenidos en el presente trabajo de Tesis, se propone continuar con el estudio de los productos derivados de la semilla de chía (harina, fracción rica en fibra dietética y mucílago), en cuanto a su aplicación en diversas matrices alimentarias (películas biodegradables y harinas de premezcla). Cabe destacar que la ausencia de gluten en la harina de chía, determina la posibilidad de obtener productos aptos para el consumo de personas con celiaquía.

Asimismo, se propone optimizar el método de obtención del mucílago de chía, variando las condiciones operativas (temperatura de extracción, pH, tiempo y relación semilla: agua), a fin de analizar el efecto de dichas variables sobre el rendimiento, la composición -físicoquímica y estructural- y las propiedades funcionales del mismo.

Por otra parte, se desarrollará una metodología que permita separar la fracción proteica presente en el mucílago de chía, a fin de obtener un producto de mayor pureza. De esta manera se procederá a realizar la caracterización molecular de los constituyentes (monosacáridos) y así se establecerá la relación estructura-funcionalidad. Asimismo, se propone obtener información sobre las fracciones proteicas asociadas al mucílago de chía y sus propiedades emulsificantes, así como investigar las interacciones proteínas-mucílago.

Teniendo en cuenta que la harina de chía es una fuente rica en proteínas, en este sentido se continuará con el aislamiento, caracterización y determinación del perfil de aminoácidos de las proteínas, así como se evaluará su solubilidad en función de las condiciones del entorno químico (pH, fuerza iónica).

Seguidamente, se propone continuar con las actividades de investigación correspondientes al estudio de la incorporación del mucílago de chía en el desarrollo de alimentos funcionales. En este sentido se formularán productos (postres) con la incorporación de mucílago de chía en distintas proporciones (0,5 a 2%), evaluando el perfil de textura y el comportamiento reológico en cada caso. Por otra parte, se plantea formular emulsiones O/W con aceite (fase oleosa) y mucílago de chía (fase acuosa). Así, se estudiarán los factores que determinan su formación y estabilización mediante el empleo de agentes emulsionantes proteicos (caseinato de sodio) y presencia de lactosa (fase acuosa) evaluando diversas alternativas que permitan mejorar su estabilidad física y deterioro oxidativo (adición de antioxidantes naturales, almacenamiento refrigerado) a fin de resguardar los atributos de calidad y

aceptabilidad por parte del consumidor. Posteriormente, se realizarán ensayos sensoriales a fin de obtener información acerca de la aceptabilidad de estos productos por parte del consumidor.

Por otra parte, considerando que la microencapsulación es una técnica empleada para proteger y aislar sustancias con actividad biológica (aceites esenciales, compuestos lipídicos) de factores adversos del medio ambiente tales como pH, temperatura, sales, agentes oxidantes, entre otros y que las gomas o mucílagos son los materiales más empleados como matriz encapsulante, se evaluará la capacidad de encapsulamiento del mucílago de chía. Cabe señalar, que en el grupo de investigación se están llevando a cabo estudios de microencapsulación del aceite de chía mediante secado por spray de emulsiones O/W, investigando la influencia de las condiciones operativas sobre la eficiencia del proceso, la calidad del material encapsulado (aceite de chía) y su potencial incorporación en diversos alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- AACC (1984). *Official Methods of Analysis* (12th ed.). St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists
- AACC (2001). American Association of Cereal Chemists. The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World* 46 (3), 112-126
- Abbott TP, Nelsen TC, Kleiman R (1995). Seed surface gums content using the Dubois carbohydrate analysis. *Ind Crop Prod* 4,185-192
- Abu-Jdayil B, Mohameed HA (2004). Time-dependent flow properties of starch-milk-sugar pastes. *Eur Food Res Tech* 218, 123-127
- Aello S, Di Marco N (1997). Curso de nutrición animal. Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Mar del Plata
- Altan A, Kus S, Kaya A (2005). Rheological behavior and time dependent characterization of Gilaboru juice (*Viburnum opulis* L.). *Food Sci Tech Int* 11(2), 129-137
- Altunakar B, Sahin S, Sumnu G (2006). Effects of hydrocolloids on apparent viscosity of batters and quality of chicken nuggets. *Chem Eng Comun* 193 (6), 675-682
- Aller R, De Luis D, Izaola O, La Calle F, Del Olmo L, Fernández L, Arranz T, Hernández J (2004). Effect of soluble fiber intake in lipid and glucose levels in healthy subjects: A randomized clinical trial. *Diab Res Clin Pract* 65, 7–11
- Álvarez Cerimedo MS, Huck Iriart C, Candal R, Herrera ML (2010). Stability of emulsions formulated with high concentration of sodium caseinate and trehalose. *Food Res Int* 43, 1482-1493
- American Heart Association (1999). Functional foods: position of ADA. *J Am Diet Assoc* 99, 1278-12850
- Antruejo A, Azcona JO, García PT (2011). Omega-3 enriched egg production: the effect of α -linolenic ω -3 fatty acid sources on laying hen performance and yolk lipid content and fatty acid composition. *Brit Poultry Sci* 52 (6) 750-760

-
- AOAC (1990). Official methods of analysis, 15th edn. AOAC International, Gaithersburg, USA, 1067 p
- AOCS (1998). Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS Press, Champaign, USA
- Awika J, Rooney L, Wu X, Prior R, Cisneros-Zevallos L (2003). Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *J Agr Food Chem* 51, 6657-6662
- Ayerza R (Jr) (1995). Oil Content and Fatty Acid Composition of Chia (*Salvia hispanica* L.) from Five Northwestern Locations in Argentina. *J Am Oil Chem Soc* 72, 1079-1081
- Ayerza R (Jr), Coates W (2004). Protein and oil content, peroxide index and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *Trop Sci* 44, 131-135
- Ayerza R, Coates W (2005). Chia. Rediscovering a Forgotten Crop of the Aztecs (1st ed.). The University of Arizona Press, Tucson, USA, 197 p
- Ayerza R, Coates W (2011). Protein content, oil content and fatty acid profiles as potential criteria to determine the origin of commercially grown chia (*Salvia hispanica* L.). *Ind Crops Prod* 34, 1366-1371
- Bai HM, Ahn JK, Yoon YH, Kim HU (1978). A study of the development of the mixed stabilizer for ice cream manufacture. *Korean J Anim Sci* 20, 436-445
- Baquero J, Bermúdez A (1998). Los residuos vegetales de la industria del jugo de maracuyá, como fuente de fibra dietética. CYTED, Temas en Tecnología de Alimentos, Bogotá, Colombia. pp 207-213
- Barnes HA, Hutton JF, Walters K (1993). An introduction to rheology. Amsterdam: Elsevier

- Bergthaller W, Dijkink B, Langelaan H, Vereijken J (2001). Protein from pea mutants as a co-product in starch separation. Isolates from wet and dry separation: Yield, composition and solubility. *Nahrung-Food* 45, 390-392
- Betancur-Ancona D, López-Luna J, Chel-Guerrero L (2003). Comparison of the chemical composition and functional properties of *Phaseolus lunatus* prime and tailing starches. *Food Chem* 82(2), 217-225
- Betancur-Ancona D, Peraza-Mercado G, Moguer-Ordoñez Y, Fuertes-Blanco S (2004). Physicochemical characterization of lima bean (*Phaseolus lunatus*) and jack bean (*Canavalia ensiformis*) fibrous residues. *J Food Chem* 84, 287-295
- Borderías AJ, Sánchez-Alonso M, Pérez-Mateos M (2005). New applications of fibres in foods: Addition to fishery products. *Food Sci Techn* 16, 458-465
- Borneo R, Aguirre A, León AE (2010). Chia (*Salvia hispanica* L.) gel can be used as egg or oil replacer in cake formulations. *J Am Diet Assoc* 110 (6) 946-949
- Borroto B, Larrauri JA, Cribeiro A (1995). Particle size influence on water holding capacity of citrus and pineapple dietary fiber. *Alimentaria* 268, 89-90
- Borwankar PR, Shoemaker FC (1992). *Rheology of Foods*. Elsevier Science Publishers, LTD. Londres
- Bozan B, Temelli F (2008). Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. *Bio Tech* 99, 6354-6359
- Brown J (2003). Chia seed and meal data. International Flora Technologies, Inc., Gilbert, Ariz, 1 p
- Burkus Z, Temelli F (1999). Gelation of Barley β -Glucan Concentrate. *J Food Sci* 64 (2), 198-201
- Bushway AA, Belyea PR, Bushway RJ (1981). Chia seed as a source of oil, polysaccharide, and protein. *J Food Sci* 46, 1349-1350

-
- Cadden AM (1988). Moisture sorption characteristics of several food fibers. *J Food Sci* 53 (4), 1150-1155
- Campbell I, Norton I, Morley W (1996). Factors controlling the phase inversion of oil-in-water emulsions. *Neth Milk Dairy J* 50, 167-182
- Chaplin MF, Kennedy JF (1994). Carbohydrate Analysis. A Practical Approach 2nd Edition. Oxford, Oxford University Press
- Charalambous G, Doxastakis G (1989). Food Emulsifiers: Chemistry, Technology. Functional properties and Applications, Amsterdam Elsevier
- Chau C, Cheung K, Wong Y (1997). Functional properties of protein concentrate from three Chinese indigenous legume seeds. *J Agr Food Chem* 45, 2500-2503
- Chau C, Huang Y (2003). Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. Cv Liucheng. *J Agr Food Chem* 51, 2615-2618
- Chen J, Piva M, Labuza TP (1984). Evaluation of water binding capacity (WBC) of food fiber sources. *J Food Sci* 49 (1), 59-63
- Cheng DCH (1987). Thixotropy. *Int J Cosmetic Sci* 9:151-191
- Chenlo F, Moreira R, Silva C (2010). Rheological properties of aqueous dispersions of tragacanth and guar gums at different concentrations. *J Tex Stud* 41, 396-415
- Chhinnan MS, McWaters KH, Rao VNM (1985). Rheological characterization of grain legume pastes and effect of hydration time and water level on apparent viscosity. *J Food Sci* 50, 1167-1171
- Ciau Solís NA (2007). Caracterización fisicoquímica del aceite y la goma obtenida de las semillas de chía (*Salvia hispanica* L.). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, México

- Coates W, Ayerza R (Jr) (1996). Production Potential of Chia in Northwestern Argentina. *Ind Crops Prod* 5, 229-233
- Coates W, Ayerza R (Jr) (1997). New crop trials in the Patagonian region of Argentina. Abstracts of an International Conference of the Association for the Advancement of Industrial Crops, 23, Saltillo, México
- Coates W, Ayerza R (Jr) (1998). Commercial production of chia in Northwestern Argentina. *J Am Oil Chem Soc* 75: 1417-1420
- Codex Mendoza (1542). Ed. Francisco del Paso y Troncoso (1925). Museo Nacional de Arqueología, Historia y Etnografía, México DF, México
- Código Alimentario Argentino (2008). Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos y Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. www.anmat.gov.ar/codigoa/Capitulo_XI.pdf (acceso 20/07/2010)
- Comisión de las Comunidades Europeas (2009). Diario Oficial de la Unión Europea L 294/14
- Cowman MK, Matsuoka S (2005). Experimental approaches to hyaluronan structure. *Carbohydrate Res* 340, 791-809
- Cruz SM (2002). Caracterización del residuo fibroso obtenido de la cáscara de maracuyá (*Passiflora edulis*). Tesis de Maestría. Facultad de Ingeniería Química, UADY
- Dalgleish DG (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
- Danisco. Sweeteners. (2003). Efecto de la ingestión de povidexrosa sobre las funciones fisiológicas. Technical memo www.daniscosweeteners.com

- da Silva JAL, Gonçalves MP (1990). Studies on a purification for locust vean gum by precipitation with isopropanol. *Food Hyd* 4, 277-289
- Dello Staffolo M (2003). Desarrollo de un alimento funcional. Estudio de la propiedades fisicoquímicas y aceptabilidad microbiológica y sensorial en yogures adicionados con fibra dietética alimentaria. Tesis de Maestría. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP)
- de Rijke E, Out P, Niessen WMA, Ariese F, Gooijer C, Brinkman UAT (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J Chrom A* 1112, 31–63
- Diario Oficial de la Unión Europea (2009). Autorización de la comercialización de semillas de chía (*Salvia hispanica* L.) como nuevo ingrediente alimentario con arreglo al Reglamento (CE) N°258/97 del Parlamento Europeo y del Consejo
- Dickinson E (1988). Gums and stabilizers for the food industry. En: GO Phillips, JD Wedlock y AP Williams (Eds), Oxford, Vol 4, pp 249-259
- Dickinson E (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hyd* 17 (1), 25-39
- Dickinson E (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hyd* 23, 1473-1482
- Dickinson E, Euston SR (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, Ma J, Povey MJW (1994). Creaming of concentrated oil-in-water emulsions containing xanthan. *Food Hyd* 8 (5), 481-497
- Djordjevic D, Cercaci L, Alamed J, McClements DJ, Decker EA (2008). Chemical and physical stability of protein and gum Arabic stabilized oil-in-water emulsions containing limonene. *J Food Sci* 73, 167-172

- Duque RL, Gallardo NY, Santoyo MA, Sánchez PME (1998). Efecto fisiológico de seis tipos de fibras dietéticas sobre el volumen fecal en ratas wistar. En: fibra dietaria. CYTED. Editora IPN. México, 282 p
- Egbekun MK, Ehieze MU (1997). Proximate composition and functional properties of full fat and defatted beniseed (*Sesamun indicum* L.) flour. *Plant Food Hum Nutr* 51, 35-41
- El-Mahdy AR, El-Sebay LA (1984). Preliminary studies on the mucilages extracted from Okra fruits, Taro tubers, Jew's Mellow Leaves and Fenugreek seeds. *Food Chem* 14, 237-249
- Elleuch M, Besbes S, Roiseux O, Blecker C, Attia H (2007). Quality characteristics of sesame seeds and by-products. *Food Chem* 103, 641-650
- Endres JG (1989). Soy protein products characteristics, nutritional aspects, and utilization. Chapter 3. By AOCS Press and the Soy Protein Council. Champaign, Illinois. *Protein Quality and Human Nutrition*, 10-18
- Engel FA (1987). De las begonias al maíz: vida y producción en el Perú antiguo. Centro de Investigaciones de Zonas Áridas. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú
- Escudero Álvarez E, González Sánchez P (2006). La fibra dietética. *Nutr Hosp* 21 (Supl. 2), 61-72
- Evans WC (2004). Trease and Evans – Pharmacognosy. New York: WB Saunders
- Farahnaky A, Askari H, Majzoobi M, Mesbahi G (2010). The impact of concentration, temperature and pH on dynamic rheology of psyllium gels. *J Food Eng* 100, 294-301
- Farhoosh R, Riazi A (2007). A compositional study on two current types of salep in Iran and their rheological properties as a function of concentration and temperature. *Food Hyd* 21, 660-666

- Fekri N, Khayami R, Heidari R, Jamee R (2008). Chemical analysis of flaxseed, sweet basil, dragon head and quince seed mucilages. *Res J Biol Sci* 3 (2), 166-170
- Ferry JD (1980). Viscoelastic properties of polymers, 3rd edition. John Wiley & Sons. New York
- Fleury N, Lahaye M (1991). Chemical and physico-chemical characterization of fibres from *laminaria digitata* (kombu breton): a physiological approach. *J Sci Food Agr* 33, 389-400
- Ford L, Borwankar R, Martin Jr RW, Holcomb DN (1997). Dressing and sauces. En Food Emulsions, Third edition, revised and expanded. Ed. Friberg SE y Larsson K, Marcel Dekker INC., New York (USA), pp 361-412
- Freese R, Mutanen M (1997). α -Linolenic acid and marine long-chain n-3 fatty acids differ only slightly in their effects on hemostatic factors in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 66, 591-598
- Gaonkar AG (1991). Surface and interfacial activities and emulsion characteristics of some food hydrocolloids. *Food Hyd* 5 (4), 329-337
- García-Ochoa F, Casas JA (1992). Viscosity of locus bean (*Ceratonia siliqua*) gum solutions. *J Sci Food Agr* 59 (1), 97-100
- Garti N (1997). Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications. *LWT - Food Sci Techn* 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
- Garti N, Madar Z, Aserin A, Sternheim B (1997). Fenugreek galactomannans as food emulsifiers. *LWT - Food Sci Techn* 30, 305-311
- Goff HD (1997). Ice cream. En: Gunstone FD, Padley FB (Eds.), *Lipid Technologies and Applications*. New York: Marcel Dekker, pp 329-354

- Grigelmo-Miguel N, Martín-Belloso O (1999). Comparison of dietary fibre from by-products of processing fruits and greens and from cereals. *LWT - Food Sci Techn* 32, 503-508
- Guiotto EN, Ixtaina VY, Tomás MC, Nolasco SM (2011). Moisture-dependent physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. *Trans ASABE* 54 (2), 1-7
- Guiragossian VY, Van Scoyoc SW, Auxtell JD (1977). Chemical and Biological Methods for Grain and Forage Sorghum. Department of Agronomy International Programs in Agriculture, Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA
- Gutterman Y, Shem-Tov S (1997). Mucilaginous seed coat structure of *Carrichtera annua* and *Anastatica lierochuntica* from the Negev Desert highlands of Israel, and its adhesion to the soil crust. *J Arid Environ* 35, 695-705
- Hayati IN, Man YBC, Tan CP, Aini IN (2009). Droplet characterization and stability of soybean oil/palm kernel olein O/W emulsions with the presence of selected polysaccharides. *Food Hyd* 23, 233-243
- Hedge IC (1970). Observations on the mucilage of *Salvia* fruits. *Notes Roy. Bot. Gard. Edinburgh* 30, 79-95
- Hegenbart S (1993). Bind for Glory. Food Product Design. January, 1-11
- Hentry HS, Mittleman M, McCrohan PR (1990). Introducción de la chía y la goma de tragacanto en los Estados Unidos. En *Avances en Cosechas Nuevas*. Editado por Janick J, y Simon JE. Prensa de la Madera, Pórtland, O. 252-256
- Hicks S (1966). Desert plants and people. Naylor Company, San Antonio, USA
- Higiro J, Herald TJ, Alavi S, Bean S (2007). Rheological study of xanthan and locust bean gum interaction in dilute solution: effect of salt. *Food Res Int* 40, 435-447
- Hoefler A (2001). Introduction to Food Gums: Chemistry, Functionality, and Applications. Wilmington DE

- Houska M, Valentova, H, Novotna P, Strohmalm J, Sestak J, Pokorny J (1998). Shear rates during oral and nonoral perception of viscosity of fluid foods. *J Text Stud* 29, 603-615
- Howell RW, Collins FI (1957). Factors affecting linolenic and linoleic acid content of soybean. *Agron J* 49: 593-597
- Huang X, Kakuda Y, Cui W (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hyd* 15, 533-542
- Huang D, Ou B, Prior R (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agr Food Chem* 53, 1841-1856
- Huei Chen R, Yu Chen W (2001). Rheological properties of the water-soluble mucilage of a green laver, *Monostroma nitidum*. *J Appl Phyc* 13, 481-488
- Hulse J (1996). Flavor, spices and edible gums: opportunities for integrated agroforestry systems. In: International Conference on Domestication and Commercialization of Non-timber Forest Products in Agroforestry Systems. FAO, Uganda, p. 298
- Infostat Group, Infostat version 2004, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina 2004
- Instituto Nacional de Alimentos (2003). Análisis fisicoquímico de semillas de chía. Buenos Aires, pp. 1
- Iqbal S, Bhanger M, Anwar F (2005). Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chem* 93, 265-272
- Ishii T (1997). Structure and functions of feruloylated polysaccharides. *Plant Sci* 127, 111-127
- IUPAC (1992). Standard Methods for the Analysis of oils, Fats and Derivates. (7th ed.) Eds. Paquot C, Hautffenne A. International Union of Pure and Applied Chemistry, Blackwell Scientific Publications Inc., Oxford, UK

- Ivanov S, Rashevskaya T, Makhonina M (2011). Flaxseed additive application in dairy products production. *Proc Food Scien* 1, 275-280
- Ixtaina VY (2010). Caracterización de la semilla y el aceite de chía (*Salvia hispanica* L.) obtenido mediante distintos procesos. Aplicación en tecnología de alimentos. Tesis Doctoral. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP)
- Ixtaina VY, Nolasco SM, Tomás MC (2008). Physical properties of chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Ind Crop Prod* 28, 286-293
- Ixtaina VY, Martínez M, Spotorino V, Mateo CM, Maestri D, Diehl BW, Nolasco SM, Tomás MC (2011). Characterization of chia seed oils obtained by pressing and solvent extraction. *J Food Comp Anal* 24 166-174
- Jamboonsri W, Phillips TD, Geneve RL, Cahill JP, Hildebrand DF (2012). Extending the range of an ancient crop, *Salvia hispanica* L. – a new ω 3 source. *Gen Res Crop Evol* 59 (2) 171-178
- Jani GK, Shah DP, Prajapati VD, Jain VC (2009). Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. *Asian J Pharm Sci* 4 (5), 309-323
- Jiménez-Escrig A, Rincon M, Pulido R, Saura-Calixto F (2001). Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fibre. *J Agr Food Chem* 49, 5489-5493
- Kahraman A, Doğan M (2010). Comparative study of *Salvia limbata* C.A. and *S. palaestina* Bentham (sect. *Aethiopsis* Bentham, *Labiatae*) from East Anatolia, Turkey. *Acta Bot. Croat.* 69, 47-64
- Kamel BS (1991). Emulsifiers. En: Smith J (Ed.), *Food Additive User's Handbook*. Glasgow: Blackie 169-201
- Karazhiyan H, Razavi SMA, Phillips GO, Fang Y, Al-Assaf S, Nishinari K, Farhoosh R (2009). Rheological properties of *Lepidium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. *Food Hyd* 23, 2062-2068

- Karazhiyan H, Razavi SMA, Phillips GO (2011). Extraction optimization of a hydrocolloid extract from cress seed (*Lepidium sativum*) using response surface methodology. *Food Hyd* 25, 915-920
- Kernefick S, Cashman KD (2000). Investigation of an in vitro model for predicting the effect of food components on calcium availability from meals. *Int J Food Sci Nutr* 51, 45-54
- Khalloufi S, Alexander M, Douglas Goff H, Correding M (2008). Physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions when mixed with flaxseed gum at neutral pH. *Food Res Int* 41, 964-972
- Khattab RY, Arntfield SD (2009). Functional properties of raw and processed canola meal. *LWT – Food Sci Tech* 42, 1119-1124
- Kirwan WO, Smith AN, McConnell AA, Mitchell WD, Eastwood MA (1974). Action of different bran preparations on colonic function. *Brit Med J* 4, 187-189
- Kobayashi K, Huang C, Lodge TP (1999). Termoreversible gelation of aqueous methylcellulose solutions. *Macrom* 32 (21), 7070-7077
- Kokini JL (1992). Rheological properties of foods. In Heldman DR and Lund DB (eds.), *Hanbook of Food Engineering*. New York: Marcel Dekker, 1-39
- Kokini JL, Wang CF, Huang H, Shrimanker S (1995). Constitutive models of foods. *J Tex Stud* 26: 421-455
- Koocheki A, Reza Taherian A, Razavi SMA, Bostan A (2009a). Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfolatium* seeds. *Food Hyd* 23, 2369-2379
- Koocheki A, Mortazavi SA, Shahidi F, Razavi SMA, Taherian AR (2009b). Rheological properties of mucilage extracted from *Alyssum homolocarpum* seed as a new source of thickening agent. *J Food Eng* 91, 490-496

- Koocheki A, Kadkhodae R, Mortazavi S, Shahidi F, Taherian A (2009c). Influence of *Alyssum homolocarpum* seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hyd* 23, 2416-2424
- Koocheki A, Reza Taherian A, Bostan A (2013). Studies on the steady shear flow behavior and functional properties of *Lepidium perfoliatum* seed gum. *Food Res Int* 50, 446-456
- Kuntz L (1999). Special effects with gums. *Food Product Design*. December: 1-10
- Lai LS, Tung J, Lin PS (2000). Solution properties of hsian-tsao (*Mesona procumbens Hemsf*) leaf gum. *Food Hyd* 14, 287-294
- Langman L, Carduza FJ, Irurueta M, Grigioni G, Gallinger CI (2006). Efecto de la incorporación de semilla de chía (*Salvia hispanica*) en la dieta de pollos sobre el perfil de aroma de la carne. Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Córdoba, Argentina, 345-346
- Lecumberri E, Mateos R, Izquierdo-Pulido M, Rupérez P, Goya L, Bravo L (2007). Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chem* 104, 948-954
- Lee S, Prosky L, De Vries J (1992). Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods- enzymatic- gravimetric methods, MES-TRIS buffer: collaborative Study. *J AOAC Int* 75(3), 395-416
- Lim HS, Han JA, Bemiller JN, Lim ST (2006). Physical Modification of Waxy Maize Starch by Dry Heating with Ionic Gums. *J Appl Glycosci* 53(4), 281-286
- Lin KY, Daniel JD, Whistler RL (1994). Structure of chia seed polysaccharide exudate. *Carb Polym* 23, 13-18
- López G, Ros G, Rincón F, Periago M, Martínez M, Ortuño J (1996). Relationship between physical and hydration properties of soluble and insoluble fiber of artichoke. *J Agric Food Chem* 44, 2773-2778

- Lorenzo G (2010). Aplicación de hidrocoloides en el desarrollo de emulsiones alimentarias saludables y masas no fermentadas para celíacos. Tesis Doctoral. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de La Plata (FIQ-UNLP)
- Loubes MA, Calzetta Resio AN, Tolaba MP, Suarez C (2012). Mechanical and thermal characteristics of amaranth starch isolated by acid wet-milling procedure. *LWT – Food Sci Tech* 46, 519-524
- Manrique GD, Lajolo FM (2001). Maduración, almacenamiento y procesamiento de frutas y vegetales: modificaciones en los componentes de la fibra soluble. En *Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos*. Editado por Lajolo MF, Saura-Calixto F, Witting E, y Wenzel E. Varela Editora Brasil, 195-209
- Marcotte M, Teherian Hoshahili AR, Ramaswamy HS (2001). Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. *Food Res Int* 34, 695-703
- Marin Flores FM, Acevedo MJ, Tamez RM, Nevero MJ, Garay AL (2008). WO/2008/0044908 Method for obtaining mucilage from *Salvia hispanica* L. Word Internacional Property Organization
- Márquez A (2009). Obtención y caracterización de cremas formuladas a base de leche de soja y fortificadas con calcio. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Quilmes (UNQ)
- Martínez-Tome M, Murcia MA, Frega L, Ruggirei S, Jimenez AM, Roses F (2004). Evaluation of antioxidant capacity of cereal brans. *J Agr Food Chem* 52, 4690-4699
- Maskan M, Gogus F (2000). Effect of sugar on the rheological properties of sunflower oil–water emulsions. *J Food Eng* 43, 173-177

-
- Mathews CK, Van Holde KE (1990). Biochemistry, Benjamin/ Cummings Pub. Co, (Redwood City, Calif.) 1129 p
- Matt B (2008). Chia: The Ord Valley's new super crop. ABC Rural. <http://www.abc.net.au/rural/content/2008/s2367335.htm>. Acceso en Julio de 2010
- Mazza G, Biliaderis C (1989). Functional properties of flax seed mucilage. *J Food Sci* 54 (5), 1302-1305
- McClements DJ (1999). Food Emulsions: principles, practice and techniques. Ed. CRC Press, New York (USA)
- McKenna BM, Lyng JG (2003). Introduction to food rheology and its measurement. En: McKenna BM (ed) Texture in food. Volume 1: Semi-solid foods. Boca Raton Woodhead Publishing Ltd
- Medina-Torres L, Brito-De La Fuente E, Torrestiana- Sanchez B, Katthain R (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). *Food Hyd* 14, 417-424
- Mewis J (1979). Thixotropy a general review. *J Non- Newtonian Fluid Mech* 6, 1-20
- Mhinzi GS, Mrosso HDJ (1995). Studies on Tanzania Acacia gum exudates from the series Vulgares and Gummiferae. *Food Chem* 54, 261-264
- Miner PE (1993). Emulsion Rheology: Creams and Lotions. En: Laba D (Ed.), Rheological Properties of Cosmetics and Toiletries. New York: Marcel Dekker, pp 313-370
- Mohammand AA, Razavi SMA (2012). Dilute solution properties of Balangu (*Lallemantia royleana*) seed gum: effect of temperature, salt, and sugar. *Int J Biol Macrom* 51, 235-243
- Mongeau R, Brassard R (1982). Insoluble dietary fibre from breakfast cereals and brands, bile salt binding and water holding capacity in relation to particle size. *Cereal Chem* 59 (5), 413-415

- Morley RG (1983). Utilization of hydrocolloids in formulated foods. In: Gums and stabilizer for the food industry, 2: 211-240. Pergamon Press, Oxford, UK
- Morris ER, Taylor LJ (1982). Oral perception of fluid viscosity. *Prog Food Nutr Scie* 6, 285–296
- Mota-Blancas E, Perales-Caldera E (1999). Los mecanismos de absorción de calcio y los modificadores de absorción como base para la elaboración de una dieta de bajo costo para pacientes osteoporóticas. *Gac Méd Méx* 135 (3), 291-304
- Mueller K, Eisner P, Yoshie-Stark Y, Nakada R, Kirchhoff E (2010). Functional properties and chemical composition of fractionated brown and yellow linseed meal (*Linum usitatissimum* L.). *J Food Eng* 98, 453-460
- Muller HG (1973). Introducción a la Reología de los Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, España
- Muller FL, Pain JP, Villon P (1994). On the behavior of non-newtonian liquids in collinear ohmic heaters. En: Proceedings of the 10th International Heat Transfer Conference. Freezing, Melting, Internal Forces Convection and Heat Exchangers, vol 4. Brighton, UK, pp 285-290
- Muñoz J, Alfaro MC, Zapata I (2007). Avances en la formulación de emulsiones. *Grasas y Aceites* 58 (1), 64-73
- Muñoz LA, Cobos A, Díaz O, Aguilera JM (2012). Chia seeds: Microestructure, mucilage extraction and hydration. *J Food Eng* 108, 216-224
- Nep EI, Conway BR (2011). Physicochemical characterization of grewia polysaccharide gum: effect of drying method. *Carb Polym* 84, 446-453
- Nielsen S (2003). Food Analysis Laboratory Manual; Kluwer Academic/Plenum
- Nor Hayati I, Bin Che Man Y, Ping Tan C, Nor Aini I (2009). Droplet characterization and stability of soybean oil/palm kernel olein O/W emulsions with the presence of selected polysaccharides. *Food Hyd* 23, 233-243

- Núñez-Santiago MC (2001). Sólidos y Líquidos. Modelo en fluidos no-newtonianos. En *Introducción a la Reología*. Editado por Méndez-Montealvo MGC, Núñez-Santiago MC, Solorza-Feria J (Eds), DR, Instituto Politécnico Nacional, México, 15-58
- Olds Schneeman B (1986). Dietary Fiber: Physical and Chemical Properties, Methods of Analysis and Physiological Effects, *Food Tech* 104-110
- Onweluzo JC, Obanu ZA, Onuoha KC (1994). Viscosity studies on the flour of some lesser know tropical legumes. *Nig Food J* 12, 1-10
- Oomah BD, Kenasehuk EO (1995). Cultivars and agronomic aspects. En *Flaxseed in Human Nutrition*. Eds. SC Cunnane and LU Thompson. AOCS Press, Champaign, USA, pp 43-45
- Ortiz de Montellano BR (1978). Aztec cannibalism: An ecological necessity?. *Science* 200 (4342), 611-617
- Osman EM (1975). Interaction of starch with others components of food systems. *Food Techn* 29 (4), 30-35
- Otto T, Baik B, Czuchajowska Z (1997). Wet fractionation of garbanzo bean and pea flours. *Cereal Chem* 74,141-146
- Özkan M, Aktaş K, Özdemir C, Guerin G (2009). Nutlet morphology and its taxonomic utility in *Salvia (Lamiaceae: Menthae)* from Turkey. *Acta Bot Croat* 68, 105-115
- Pacheco-Aguirre J (2010). Evaluación de una matriz hidrocoloide obtenida a partir de flamboyán (*Delonix regia*) para encapsular sustancias nutraceuticas. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Yucatán (UADY)
- Pacheco de Delahaye E, Sánchez MA, Girlando R, Sánchez E (1994). Obtención de aislados proteínicos de girasol por hidrólisis con bromelina y papaína, composición química y propiedades funcionales. *Agronomía Trop* 44 (2), 299-315

- Pak N (1996). Fibra dietética. En: Nutrición y salud. Departamento de Nutrición. Facultad de Medicina Universidad de Chile. Primera edición. 119-128
- Palazolo GG (2006). Formación y estabilidad de emulsiones O/W preparadas con proteínas nativas y desnaturalizadas de soja. Tesis Doctoral. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata (FCE-UNLP)
- Pan LG, Tomás MC, Añón MC (2002). Effect of sunflower lecithins on the stability of water in oil (W/O) and oil in water (O/W) emulsions. *J Surfact Deterg* 5 (2), 135-143
- Parker A, Gunning PA, Ng K, Robins MM (1995). How does xanthan stabilize salad dressing?. *Food Hydrocolloids* 9 (4), 333-342
- Peiretti PG, Gai F (2009). Fatty acid and nutritive quality of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds and plant during growth. *Anim Feed Sci Tech* 148 (2-4) 267-275
- Pérez EE (2001). Obtención y caracterización de aceites y harinas de girasol silvestre: *Helianthus petiolaris*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur (UNS)
- Pérez EE, Carelli AA, Crapiste GH (2004). Chemical characterization of oils and meals from wild sunflower (*Helianthus petiolaris* Nutt). *J Am Oil Chem Soc* 81, 1-5
- Plants for a Future (2002). Acceso en Julio de 2010. <http://www.pfaf.org/database/>
- Pomare EW, Branch WJ, Cummings JH (1985). Carbohydrate fermentation in the human colon and its relation to acetate concentrations in venous blood. *J Clin Invest* 75, 1448
- Prosky L, Asp N, Schweizer T, De Vries J, Fruda I (1988). Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products: Interlaboratory study. *JAOAC* 71, 1017-1023

-
- Race SW (1991). Improved product quality through viscosity measurement. *Food Techn* 45, 86–88
- Ragae S, Abdel-Aal M, Norman M (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. *Food Chem* 98, 32-38
- Ramírez VML (2009). Composición de semillas de chía (*Salvia hispánica*) y efecto de la incorporación de su aceite en un producto cárnico. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana
- Rao MA, Anantheswaran RC (1982). Reology of fluids in food processing. *Food Tech* 36, 116-126
- Razavi SMA, Karazhiyan H (2009). Flow properties and thixotropy of selected hydrocolloids: experimental and modeling studies. *Food Hyd* 23, 908-912
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26 (9/10) 1231-1237
- Rehinan Z, Rashid M, Shah W (2004). Insoluble dietary fibre components of food legumes as affected by soaking and cooking processes. *Food Chem* 85, 245-249
- Reynoso-Cortés LB (2002). Extracción, separación y caracterización reológica del mucilage de la semilla de chía (*Salvia spp.*). Tesis de grado. Universidad Simón Bolívar (México)
- Robertson JA, Eastwood MA, Yeoman MM (1981). Investigation into the physical properties of prepared from several carrot varieties and different stages of development. *J Sci Food Agric* 31 (6), 633-638
- Rodríguez Vallejo J (1992). Historia de la agricultura y de la fitopatología, con referencia especial a México. Colegio de Post-graduados en Ciencias Agrícolas, Ciudad de México, México

- Rohn CL (1995). Analytical polymer rheology: structure-processing-property relationships. Hanser Publishers
- Rojas Hidalgo E (1976). La fibra dietética. En Los Carbohidratos en la nutrición humana. Editado por Rojas Hidalgo E. Madrid. Aula Médica, 121-137
- Ruales J, Nair B (1992). Nutritional quality of protein in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds. *Plant Foods Hum Nutr* 42, 1-11
- Ruiz-Roso B, Pérez-Olleros L, García-Cuevas M (2001). Influencia de la fibra dietaria (FD) en la biodisponibilidad de los nutrientes. En Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. Editado por Lajolo MF, Saura-Calixto F, Witting E, y Wenzel E (Eds.), Varela Editora Brasil, 345-370
- Ryding O (1992a). The distribution and evolution of myxocarpy in *Lamiaceae*, in: Harley, R.M., Reynolds, T. (Eds.), *Advances in Labiate science*. Royal Botanic Garden, Kew, pp 85-96
- Ryding O (1992b). Pericarp structure and phylogeny within *Lamiaceae* subfamily *Nepetoideae* tribe *Ocimeae*. *Nordic Jour Bot* 12, 273-298
- Ryding O (2001). Myxocarpy in the *Nepetoideae* (*Lamiaceae*) with notes on myxodiaspory in general. *Syst Evol* 285, 165-175
- Sáenz C, Gasque F (1999). Jugos y néctares. Legislación y calidad en Chile. *Ind Alim* 17 (3), 57-61
- Sáenz C, Sepúlveda E, Matsuhira B (2004). *Opuntia* spp mucilage`s: a functional component with industrial perspectives. *J Arid Env* 57, 275-290
- Sahagún B (1579). Historia general de las cosas de Nueva España (Codex Florentino). Eds. A.M. Garibay, 1989. Editorial Porrúa, DF, México
- Salazar-Vega MI, Rosado-Rubio JG, Chel-Guerrero LA, Betancur-Ancona DA, Castellanos-Ruelas AF (2009). Composición en ácido graso alfa linolénico (ω -

- 3) en huevo y carne de aves empleando chía (*Salvia hispanica* L.) en el alimento. *Interciencia*. 34(3), 209-213
- Salvador-Vega L, Gutierrez-Tolentino R, Coronado-Herrera MN, Pérez-González JJ, Ramírez-Vega ML (2010). Adición de aceite de chía (*Salvia hispanica*) como fuentes de ácidos grasos omega 3 en chorizo. En: Avances en la Investigación de la Alimentación Funcional. Editado por. Fontecha-Alonso JF. México, 101-108
- Sánchez GBS (2005). Caracterización fisicoquímica y funcional de la fibra dietética del fruto del Níspero (*Eriobotrya japonica*) y de la cáscara del mango Obo (*Mangifera indica* L.). Tesis de Licenciatura. Universidad Tecnológica de la Mixteca. Instituto de Agroindustrias. Huajuapán de León, Oaxaca, México
- Sánchez MC, Valencia C, Rranco JM, Gallegos C (2001). Wall slip phenomena in oil-in-water emulsions: effect of some structural parameters. *J Colloid Int Sci* 241, 226-232
- Sangnark A, Noomhorm A (2003). Effect of particle size on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse. *Food Chem* 80, 221-229
- Sarkar N, Walker LC (1995). Hydration-dehydration properties of methylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose. *Carb Polym* 27 (3), 177-185
- Saura-Calixto F (1998). Antioxidant dietary fibre product: a new concept and a potential food ingredient. *J Agr Food Chem* 46, 4303-4306
- Saura-Calixto F, Jiménez-Escrig A (2001). Compuestos bioactivos asociados a la fibra dietética. En *Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud*. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos. Editado por Lajolo MF, Saura-Calixto F, Witting E, y Wenzel E. Varela Editora Brasil, 195-209
- Saura-Calixto F, Goñi I (2006). Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chem* 94, 442-447

- Saura-Calixto F, Díaz-Rubio E (2007). Polyphenols associated with dietary fibre in wine. A wine polyphenols gap? *Food Res Inter* 40, 613-619
- Schramm LL (2005). Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications. Weinheim: John Wiley and Sons
- Scheneeman BO (1987). Soluble vs insoluble fibre-different physiological responses. *Food Techn* 41, 81-82
- Scheneeman BO (1989). Dietary fiber. *Food Tech* 38(10): 133-139
- Sciarini LS, Maldonado F, Ribotta PD, Pérez GT, León AE (2009). Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum. *Food Hyd* 23, 306-313
- Seal CJ (2006). Whole grains and CVD risk. *Proc Nutr Soc* 65, 24-34
- Sepúlveda E, Sáenz C, Aliaga E, Aceituno C (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *J Arid Environ* 68, 534-545
- Sikora M, Kowalski S (2007). Polysaccharide-Polisaccharide hydrocolloids interactions. En: Yuryev V, Tomasik P, Bertoft E (Eds.), Starch: Achievements in Understanding of Structure and Functionality. New York: Nova Science Publisher
- Singh N, Makharia G, Joshi K (2008). Dietary survey and total dietary fiber intake in patients with irritable bowel syndrome attending a tertiary referral hospital. *Indian J Gastr* 27, 66–70
- Singh J, Bargale PC (2000). Development of a small capacity double stage compression screw press for oil expression. *J Food Eng* 43, 75-82
- Soleimanpour M, Koocheki A, Kadkhodae R (2013). Effect of *Lepidium perfoliatum* seed gum addition on whey protein concentrate stabilized emulsions stored at cold and ambient temperature. *Food Hyd* 30, 292-301

-
- Song JH, Fujimoto K, Miyazawa T (2000). Polyunsaturated (ω -3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid-containing oils. *J Nutr* 130, 3028-3033
- Soustelle J (1955). La vie quotidienne des aztèques à la veille de la conquête espagnole. Ed. Hachette, Paris, Francia
- Speers RA, Tung MA (1986). Concentration and temperature dependence of flow behavior of xanthan gum dispersions. *J Food Sci* 51, 96-98
- Srivastava M, Kapoor V (2005). Seed Galactomannans: An Overview. *Chem Biod* 2, 295-317
- St. Angelo AJ (1989). A brief introduction to food emulsifiers. En: Charalambous G, Doxastakis G (Eds.), *Food Emulsifiers: Chemistry, Technology, Functional Properties and Applications*. Amsterdam: Elsevier, pp 1-8
- Statgraphics Plus Version 5.2 (2005). Statistical Graphic Corporation. Manugistics Inc., Rockville, USA
- Steffe JF (1996). *Rheological Methods in Food Process Engineering*. Freeman Press, East Lansing, MI. pp 17-23
- Stephen AM, Phillips GO, Williams PA (2006). *Food Polysaccharides and Their Application* (2^o ed.). Boca Raton: Marcel Dekker
- Studio Balance (2010). <http://www.chiasund.dk/plant.html>. Acceso 25/07/2010
- Sugihara N, Tsuruta Y, Date Y, Furuno K, Kohashi K (1994). High peroxidative susceptibility of fish oil polyunsaturated fatty acid in cultured rat hepatocytes. *Tox Appl Pharm* 126, 124-128
- Sun C, Gunasekaran S, Richrads M (2007). Effects of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hyd* 21, 555-564

- Sun M, Xu L, Saldaña DA (2008). Comparison of canola meals obtained with conventional methods and supercritical CO₂ with and without ethanol. *J Am Oil Chem Soc* 85, 667-675
- Tabilo-Munizaga G, Barbosa-Cánovas GV (2005). Rheology for the Food Industry. *J Food Eng* 67 (2), 147-156
- Tada T, Matsumoto T, Masuda T (1998). Structure of molecular association of curdian at dilute regime in alkaline aqueous systems. *Chem Phys* 228, 157-166
- Taga MS, Miller EE, Pratt DE (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *J Am Oil Chem Soc* 61, 928-931
- Taherian AR, Fustier P, Ramaswamy HS (2007). Effects of added weighting agent and xanthan gum on stability and rheological properties of beverage cloud emulsions formulated using modified starch. *J Food Proc Eng* 30, 204-224
- Tamayo Y, Bermúdez A (1998). Los residuos vegetales de la industria de jugo de naranja como fuente de fibra dietética. CYTED. Temas en Tecnología de Alimentos. Bogotá, Colombia, pp 181-189
- Tecante A (2010). Comunicación personal
- Thibaut JF, Lahaye M, Guillon F (1992). Physico-chemical properties of food plant cell calls. En *Dietary Fibre a Component of Food Nutritional Function in Health and Disease*, eds. Sheweize & Edwards. la Macdonal, London
- Ting IP, Brown JH, Naqvi J, Kumamoto J, Matsumura M (1990). Chia: a potential oil crop for arid zones. Proceedings of the First International Conference on New Industrial Crops and Products. Eds. HH Naqvi, A Estilai and IP Ting. Association for the Advancement of Industrial Crops, Riverside, USA, pp 197-202
- Tiway CM, Ward JA, Jackson BA (1997). Effect of pectin on satiety in healthy US Army adults. *J Am Coll Nutr* 116, 423-428

- Trowell H (1972). Ischemic heart disease and dietary fibre. *American J Clin Nutr* 25, 926-932
- Trowell H, Southgate DA, Wolever TMS, Lead SAR, Gassul MA, Jenkins DJA (1976). En Dietary fibre redefined. *Lanceti*: 967 (letter)
- United States Department of Agriculture - USDA (2002). Nutrient Database for Standard Reference. Release 15, Nutrient. Data Laboratory, Beltsville Research Center, US Department of Agriculture, Pennsylvania, USA
- Valenzuela A, Maiz A (2006). El rol de la fibra dietética en la nutrición enteral. *Rev Chil Nutr* 33 (2), 342-351
- Vardhanabhuti B, Ikeda S (2006). Isolation and characterization of hydrocolloids from monoi (*Cissampelos pareira*) leaves. *Food Hyd* 20, 885-891
- Vázquez-Ovando J, Rosado-Rubio G, Chel-Guerrero L, Betancur-Ancona D (2009). Physicochemical properties of a fibrous fraction from chia (*Salvia hispanica* L.). *LWT - J Food Sci Techn* 42, 168-173
- Vázquez-Ovando JA, Rosado-Rubio JG, Chel-Guerrero LA, Betancur-Ancona DA (2010). Procesamiento en seco de harina de chía (*Salvia hispanica* L.): caracterización química de fibra y proteína. *CyTA- J Food* 8 (2), 117-127
- Villela C, Maldonado H, Coelho J (1999). Composicao químico-bromatológica e degradabilidades *in situ* da materia seca, proteína bruta e fibra bruta em detergente neutro da casca do fruto de tres variedades de maracujá (*Passiflora spp*). *Rev Bras de Zoot* 28, 1148-1158
- Vitaglione P, Napolitano A, Fogliano V (2008). Cereal dietary fibre: a natural functional ingredient to deliver phenolic compounds into the gut. *Food Sci Tech* 19, 451-463
- Viturawong Y, Achayuthakan P, Supphantharika M (2008). Gelatinization and rheological properties of rice starch/xanthan mixtures: effects of molecular weight of xanthan and different salts. *Food Chem* 111, 106-114

- Walker B (1983). Gums and stabilizers in food formulations. In: Gums and stabilisers for the food industry, 2, pp 137-161. Pergamon Press, Oxford, UK
- Walker RB, Everette JD (2009). Comparative reaction rates of various antioxidants with ABTS radical cation. *J Agr Food Chem* 57, 1156-1161
- Wallingford L, Labuza TP (1983). Evaluation of the water binding properties of food hydrocolloids by physical/chemical methods and in a low fat emulsion. *J Food Sci* 48 (1), 1-5
- Walstra P (1983). Formation of emulsion. En: Encyclopedia of Emulsion Technology: Basic Theory. Ed. Becher P, Marcel Dekker Inc., New York (USA), pp 57-127
- Wang Y, Li D, Wang LJ, Adhikari B (2011). The effect of addition of flaxseed gum on the emulsion properties of soybean protein isolate (SPI). *J Food Eng* 104, 56-62
- Western T, Skinner D, Haughn G (2000). Differentiation of mucilage secretory cells of the Arabidopsis seed coat. *Plant Physiol* 122, 345-355
- Whistler RL (1993). Introduction to industrial gums. En: Whistler RL, BeMiller J, Paschall E (Eds.), Industrial Gums: polysaccharides and their derivatives (3rd ed). New York: Academic Press
- Williams PA, Phillips GO (2000). Introduction to food hydrocolloids. En: Phillips GO, Williams PA (Eds.), Handbook of Hydrocolloids. CRC Press, New York, 1-19
- Yassen EI, Herald TJ, Aramouni FM, Alavi S (2005). Rheological properties of selected gum solutions. *Food Res Int* 38, 11-119
- Ye A, Hemar Y, Singh H (2004). Enhancement of coalescence by xanthan addition to oil-in-water emulsions formed with extensively hydrolysed whey proteins. *Food Hyd* 18, 737-746
- Yu L, Scott H, Perret J, Harris M, Wilson J, Qian M (2002). Free radical scavenging properties of wheat extract. *J Agr Food Chem* 50, 1619-1624

Zambrano ML, Meléndez R, Gallardo Y (2001). Propiedades funcionales y metodología para su evaluación en fibra dietética. En *Fibra Dietética en Iberoamérica: Tecnología y Salud. Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos*. Editado por Lajolo MF, Saura-Calixto F, Witting E, y Wenzel E (Eds.), Varela Editora Brasil, 195-209