

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN EN POLÍMEROS Y MATERIALES

**Estabilidad y Procesos de Gelificación en Emulsiones Aceite Esencial
de Naranja-en-Agua a Base de Goma de Mezquite**

TESIS

Que para obtener el Grado de:

MAESTRÍA EN POLÍMEROS Y MATERIALES

Presenta

Aarón de Jesús Rosas Durazo

Hermosillo, Sonora

Mayo de 2006



**EL SABER DE MI
HARA MI GRAN**

D.I.P.

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



“El saber de mis hijos
hará mi grandeza”



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMEN.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
ANTECEDENTES.....	5
<u>Generalidades de Coloides.....</u>	5
Tipos de Coloides.....	5
Estabilidad Coloidal.....	10
Emulsiones.....	15
Desestabilización de Emulsiones.....	16
Floculación.....	16
Coagulación.....	17
Coalescencia.....	19
Envejecimiento de Ostwald.....	21
Cremado.....	22
Adsorción.....	23
Emulsificantes y Estabilizantes.....	23
Geles.....	24
Tipos de Geles.....	24
Principales Fuerzas que Actúan en la Formación de Geles.....	25
Teoría de Percolación.....	28
<u>Generalidades de la Goma de Mezquite (<i>Prosopis spp.</i>).....</u>	32
Propiedades Estructurales.....	32
Similitudes Estructurales entre Goma de Mezquite y Goma Arábica.....	33
Propiedades Emulsificantes y de Superficie de la Goma de Mezquite: Estabilidad y Aplicaciones.....	35
<u>Generalidades de Aceites Esenciales Cítricos.....</u>	36
Química de Aceites Esenciales Cítricos.....	36
Procesos de Obtención.....	38
MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
<u>Materiales.....</u>	41
<u>Métodos Experimentales.....</u>	42
Caracterización Físicoquímica de la Goma de Mezquite.....	42
Humedad.....	42
Contenido de Nitrógeno Total.....	42
Contenido de Proteína.....	42
Cenizas.....	42
Caracterización Físicoquímica de los Aceites Esenciales.....	43
Determinación de pH de la Fracción Hidrosoluble.....	43
Gravedad Específica.....	43

Espectroscopia de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).....	43
Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS).....	44
Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear de Protón (¹H - RMN) y Carbono (¹³C - RMN).....	44
Preparación de Emulsiones.....	44
Emulsiones a Contenido de Aceite Variable.....	44
Emulsiones a Distinta Salinidad.....	45
Emulsiones a Distinta Temperatura.....	45
Caracterización de las Emulsiones.....	45
Determinación del volumen de fase (ϕ).....	46
Evolución del radio hidrodinámico con el tiempo.....	46
Determinaciones Reológicas.....	47
Determinaciones de microscopia electrónica de barrido (SEM).....	47
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	48
CONCLUSIONES.....	78
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	80
ANEXO 1.....	86
APÉNDICE 1.....	86
APÉNDICE 2.....	89
APÉNDICE 3.....	90
ANEXO 2.....	94

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Compuestos volátiles en diferentes aceites esenciales cítricos.....	37
Tabla 2. Principales constituyentes del aceite de la cáscara de cítricos.....	37
Tabla 3. Resultados de análisis proximal de goma de mezquite nativa.....	49
Tabla 4. Resultados de determinaciones de pH y gravedad específica en aceites esenciales.....	49
Tabla 5. Tiempos de retención y patrones de fragmentación de masas de los picos predominantes de los cromatogramas de GC-MS obtenidos para los aceites esenciales de naranja y R-(+)-limoneno.....	53
Tabla 6. Parámetros de regresión no-lineal del modelo cinético de gelificación de Ross-Murphy (Ec. 15) para emulsiones gelificadas de AEND 2000-en-agua estabilizadas con GM 15%, con variación de la concentración como una función de ϕ	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diversos tipos de entidades estructurales encontradas..... en coloides de alimentos.....	7
Figura 2. Micrografías electrónicas de materiales coloidales en tres, dos y una dimensión aparentemente en rangos coloidales.....	9
Figura 3. El potencial de energía de interacción, es una función de separación entre los centros de dos partículas, y esta variación del radio de tamaño de partícula de grosor a , corresponde a la doble capa eléctrica r_D	13
Figura 4. Representación del origen de <i>floculación por puenteo</i>	18
Figura 5. Representación esquemática de los procesos de <i>floculación</i> y <i>coalescencia</i> , que manifiestan la desestabilización y estabilización en la formación de una emulsión.....	20
Figura 6. Formación de una estructura abierta por producción de un floculo por partículas atractivas.....	26
Figura 7. Tipo de Estructura Micelar. Lamela.....	27
Figura 8. Gelificación de soluciones poliméricas.....	27
Figura 9. Estructuras Ramificadas por acoplamiento de los grupos A y B.....	29
Figura 10. Ramificación por polimerización de tres monómeros.....	30
Figura 11. Estructura primaria propuesta para el componente polisacárido de la goma de mezquite.....	34
Figura 12. Espectro GC-MS para AEND-2000.....	51
Figura 13. Espectro GC-MS para AEND-2004.....	51
Figura 14. Espectro GC-MS para AEND-2005.....	52
Figura 15. Espectro GC-MS para AENT-2004.....	55
Figura 16. Espectro GC-MS para R-(+)-limoneno.....	55
Figura 17. Evolución en función del tiempo, del radio hidrodinámico promedio en emulsiones diluidas aceite-en-agua por DLS, a) $\varphi = 0.040$ y b) $\varphi = 0.024$	60

Figura 18. Medición de distribución del radio hidrodinámico en DLS, para emulsiones AEND-2005 y R-(+)-limoneno, las cuales fueron estabilizadas con solución de GM 1%.....	61
Figura 19. Imagen de emulsiones de distintos aceites esenciales cítricos-en-solución GMN 15%.....	62
Figura 20. Emulsiones fabricadas en la misma concentración 18.0:2.0 mL, se observa una clara diferencia en estabilidad frente al cremado.....	62
Figura 21. Evolución en función del tiempo del modulo de almacenamiento, G' , modulo de pérdida, G'' , y $\tan \delta$, para emulsiones AEND-2000 + Solución 15% GM; donde se muestra, el t_c cuando ocurre el cruzamiento de G' y G'' , así como el índice de carácter líquido $\tan \delta = (G'/G'')$	64
Figura 22. Dependencia de la tensión con la frecuencia del modulo de almacenamiento, G' , y el modulo de pérdida, G'' , de una emulsión AEND 2000-en-agua estabilizada con GM 15% ($\varphi = 0.090$, $25\text{ }^\circ\text{C}$, $\gamma = 2.0$).....	66
Figura 23. Dependencia de la tensión del modulo de almacenamiento, G' y el modulo de pérdida, G'' , de una emulsión AEND 2000-en-agua estabilizada con GM 15% ($\varphi = 0.090$, $25\text{ }^\circ\text{C}$, $\omega = 5\text{ rad/s}$).....	66
Figura 24. Evolución en función del tiempo del modulo de almacenamiento, G' , modulo de pérdida, G'' , y $\tan \delta$, para una emulsión AEND-2000 + Solución 15% GA [$\varphi = 0.090$, $25\text{ }^\circ\text{C}$, $\gamma = 20$, $\omega = 5\text{ rad/s}$].....	67
Figura 25. Tiempo crítico de gelificación, t_c , en dependencia con φ para emulsiones AEND-2000 + GM 15%, la línea sólida representa la mejor curva de regresión no-lineal para el modelo cinético de Ross-Murphy.....	67
Figura 26. Variación del modulo de almacenamiento, G' , en función del φ , para las emulsiones correspondientes a la Figura 22 ($25\text{ }^\circ\text{C}$, $\gamma = 20$, $\omega = 5\text{ rad/s}$).....	69
Figura 27. Evolución del índice de carácter líquido $\tan \delta = (G'/G'')$ en función de φ , para emulsiones AEND-2000 + GM 15% correspondientes a la Figura 22.....	69
Figura 28. Representación esquemática del tipo de uniones coloide-coloide.....	70

Figura 29. Modelo de predicción teórico del número de esferas existentes en un cubo.....	71
Figura 30. Evolución en función del tiempo del módulo de almacenamiento, G' , módulo de pérdida, G'' , y $\tan \delta$, para emulsiones AEND-2005 + Solución 15% GM a $\varphi = 0.090$ con adición de NaCl a 3 distintas concentraciones (M) ($\gamma = 20$, $\omega = 5$ rad/s, 25°C)].	73
Figura 31. Evolución en función del tiempo del módulo de almacenamiento, G' , módulo de pérdida, G'' , y $\tan \delta$, para emulsiones AEND-2005 + Solución 15% GM a $\varphi = 0.090$ a 4 distintas temperaturas ($\gamma = 20$, $\omega = 5$ rad/s, 25°C)].	75
Figura 32. Gráfico de Arrhenius de t_c vs valor inverso de la temperatura absoluta para emulsiones AEND-2005 + Solución 15% GM; a un φ fijo de 0.0902.....	76
Figura 33. Micrografías obtenidas por SEM a una resolución de ~ 50 nm de emulsiones AEND 2005 + GM 15% a distintos φ	77

RESUMEN

En un estudio previo (Valdez y col. 2006) se documentó que las emulsiones aceite de naranja en agua, estabilizadas con goma de mezquite, forman una red de gel al dejarlas en reposo. En el presente trabajo este fenómeno fue investigado en mayor profundidad con atención al efecto de la composición química del aceite, la fracción de volumen de aceite (φ), la salinidad y la temperatura, sobre las propiedades de gelificación. Geles formados a distintas fracciones de volumen de aceite esencial de naranja desterpenado ($\varphi_0 \sim 0.018, 0.024$) indican que el tiempo crítico de gel (t_c) a 25°C guarda una relación exponencial con φ , a partir de la cual se estableció el volumen de fase crítico φ_0 para la gelificación ($\varphi_0 = 0.0152$). Los compuestos implicados en el fenómeno de gelificación, de acuerdo a evidencia cromatográfica (GC-MS) y espectroscópica (IRTF, ^1H y ^{13}C - RMN), se sugiere que son aldehídos alifáticos o α,β -insaturados de cadena larga (> 8), que presumiblemente se enlazan a las glicoproteínas de la goma de mezquite en la interfase. Por otro lado, se ha demostrado que únicamente uno de los tipos de aceite esencial de naranja participa en la gelificación, mientras que las emulsiones preparadas a partir de aceites esenciales de naranja no desterpenados y desterpenados, o aquellos derivados de otros cítricos (p.ej. limón y mandarina), no forman geles y son inestables frente a la floculación y cremado. Tampoco la goma arábiga forma geles en emulsiones preparadas en idénticas condiciones que con goma de mezquite. El comportamiento mecánico de estos sistemas es el de un líquido viscoelástico, que a medida que pasa un cierto periodo de tiempo, este va haciéndose más rígido adquiriendo características como el de un sólido debido a la formación de una red más rígida. La estructura de gel se modeló como un retículo tridimensional cúbico, formado por partículas esféricas interconectadas entre si. Al asumir una longitud promedio de 10 esferas por arista se obtuvo un valor de volumen de fase crítico teórico $\varphi_0 = 0.016$ (muy cercano al experimental. Todo lo cual es consistente con el modelo de gelificación propuesto.

INTRODUCCIÓN

Los polisacáridos solubles/dispersibles en agua, denominados hidrocoloides o gomas, se conocen como constructores de viscosidad y como agentes gelificantes en sistemas acuosos. Los tecnólogos los llaman *estabilizadores*, debido a que se ha comprobado que proporcionan gran estabilidad a sistemas consistentes de agua y aceite. Muchos científicos aseveran que estos hidrocoloides no son verdaderos emulsificantes, esto debido a que no son adsorbidos activamente dentro de las interfases líquidas. La estabilidad la proveen por medio de un incremento en la viscosidad y en disminución de la movilidad.

Únicamente ciertos hidrocoloides como la goma arábica y la goma de mezquite, se sabe que exhiben propiedades de emulsificación. La actividad de superficie se ha comprobado que se deriva de la habilidad de anclaje de las especies hidrofóbicas proteicas (unidas al polisacárido de enlace) en la fase aceite.

La goma de mezquite es una proteoglicana de alto peso molecular, ligeramente ácida, heterogénea y polidispersa. La heterogeneidad abarca la composición de los azúcares constituyentes, sus patrones de enlace y ramificación, así como el contenido y composición de aminoácidos que constituyen los distintos componentes proteicos. La polidispersión está dada en términos tanto de la masa molecular de las especies que constituyen las distintas fracciones, como del contenido de proteínas y carbohidratos de cada una de estas (Orozco *et al.*, 2003). Con base en la composición de sus azúcares constituyentes (predominantemente galactosa y arabinosa) y el contenido de proteína, se ha considerado a la goma de mezquite como una arabinogalactana proteica (AGP) tipo II (Goycoolea *et al.*, 2000a).

Químicamente, la goma de mezquite consiste predominantemente de una fracción de polisacáridos constituidos por una estructura altamente ramificada, en la cual el esqueleto central lo forma una cadena de residuos $\beta(1\rightarrow3)$ -D-galactosa, los cuales están unidos a los O(6) de la cadena central de oligosacáridos. Dichos oligosacáridos contienen residuos D-galactosa y L-arabinosa (que ocurren en las formas furanosa y piranosa) y en substancialmente menor proporción D-glucoronato, 4-O-metil-D-glu0.coronato y L-ramnosa.

La estructura primaria le confiere a la macromolécula de goma, una conformación globular compacta desordenada en solución; una alta solubilidad en agua y propiedades reológicas características de un fluido newtoniano aun a concentraciones de ca. 50% p/p.

Las gomas de mezquite (*Prosopis* spp.) y arábiga (*Acacia senegal*), son producidas por leguminosas de la familia *Mimosaceae*. Por ello es de esperar que estos exudados coincidan en una composición similar. Sin embargo, las fracciones de polisacáridos y glicoproteínas aislados de ambas gomas mediante cromatografía de interacción hidrofóbica, pueden distinguirse en sus dimensiones macromoleculares y propiedades de superficie (López Franco, 2004; Orozco *et al.* 2004). Además, las regiones terminales no reductoras de las cadenas laterales de oligosacáridos de ambos materiales, se han diferenciado claramente por medio de anticuerpos específicos (Miskiel y Pazur, 1991). Además de los constituyentes de carbohidratos, ambos polisacáridos tienen una fracción proteica como parte fundamental en su estructura molecular, aunque en concentraciones y masa molecular variable (Goycoolea *et al.*, 2000a). Esta estructura confiere a estas gomas la capacidad de formar y de estabilizar emulsiones aceite-en-agua y para encapsular aceites esenciales (Kim y Morr, 1996; Goycoolea *et al.*, 2000b). Tal estructura les proporciona la habilidad de disminuir la tensión superficial y presentar las propiedades de estabilizante y emulsificante, sin un aumento considerable de la viscosidad (Goycoolea *et al.*, 1995 e Islam *et al.*, 1997). Sin embargo, en algunos casos se ha demostrado que la goma de mezquite resulta ser mejor emulsificante y las emulsiones obtenidas son más estables (Vernon-Carter *et al.*, 1996; Beristain *et al.*, 1996; Goycoolea *et al.*, 2000a).

A pesar de que las propiedades de la goma de mezquite la hacen un hidrocoloide capaz de competir en funcionalidad con la goma arábiga, a la fecha no se aprovecha industrialmente. La goma arábiga por su parte, tiene gran demanda en las diversas industrias de alimentos, farmacéuticas y de pinturas, todo ello debido a sus propiedades funcionales, como estabilizante y emulsificante (Balderrama, 1998; McNamee *et al.*, 2001). La goma arábiga es utilizada sobretodo como un emulsificante natural para estabilizar emulsiones a base de aceites de cítricos en bebidas carbonatadas, en la encapsulación de sabores en alimentos secos, estabilización de espuma en cerveza, estabilización de metales en vino y en el control de la cristalización de azúcar, en productos confitados.

El estudio de los aceites esenciales en general como materias primas básicas para la industria de fragancias y sabores, se ha transformado en una de las áreas de investigación y desarrollo más importantes para muchos países. Inicialmente considerados como material de deshecho del metabolismo de plantas, la importancia biológica de los aceites esenciales ha sido reconocida sólo recientemente.

Desde el punto de vista comercial, los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes).

La estabilidad de las emulsiones depende de la existencia de varios tipos de interacciones atractivas y repulsivas entre las partículas, como son: van der Waals, electrostáticas, estéricas e hidrofóbicas. Todas estas interacciones afectan en aspectos, principalmente de tamaño de partícula, lo cual conduce a la deducción de que existe agregación entre dichas partículas debido a interacciones de tipo atractivas.

La creación de emulsiones debe de cumplir con un periodo largo de almacenamiento, con fines de uso de muchos productos comerciales principalmente en el rubro alimenticio. Desafortunadamente, las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables y tienden a desestabilizarse tempranamente por mecanismos fisicoquímicos de inestabilidad.

Una hipótesis de partida en este estudio se basa en que algunos componentes de los aceites esenciales son parcialmente solubles en la fase acuosa de las emulsiones, por vía de mecanismos de desestabilización, tales como el envejecimiento de Ostwald. Se piensa que la interacción de dichos componentes con los de la goma de mezquite conduce a una mayor agregación de las partículas recubiertas por la goma de mezquite, pero sin llegar a la floculación y al cremado, dando origen a la formación de un estructurado tridimensional gelificado. Por tanto, este trabajo se centra en expandir el conocimiento en el estudio de las propiedades de gelificación en emulsiones aceite-en-agua, realizadas con aceite esencial de naranja estabilizadas con goma de mezquite nativa (*Prosopis* spp.).

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la estabilidad frente al tiempo y las propiedades de gelificación de emulsiones aceite esencial de naranja desterpenado (AEND)-en-agua, estabilizadas con goma de mezquite (GM), con atención al efecto del volumen de fase (ϕ), la salinidad y la temperatura, a fin de entender los mecanismos subyacentes a dichos fenómenos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar las propiedades de estabilidad de emulsiones aceite-en-agua en términos de la evolución del tamaño de partícula, con atención al tipo de aceite esencial de naranja utilizado.
2. Analizar en detalle y contrastar la composición química del aceite esencial de naranja de distinto grado de desterpenación, mediante técnicas espectroscópicas y de cromatografía.
3. Estudiar la cinética de gelificación, las propiedades viscoelásticas generales y la microestructura de los geles obtenidos, con atención al efecto del volumen de fase (ϕ), la salinidad y la temperatura, a fin de proponer un modelo que describa al sistema en cuestión.

ANTECEDENTES

En un estudio previo (Valdez *et al.* 2006), se documentó el hecho de que emulsiones de aceite de naranja desterpenado-en-agua estabilizadas con goma de mezquite (GM), forman una red de gel al dejarlas en reposo, cuyas características reológicas fueron descritos en detalle. Esta capacidad de gelificación no se manifiesta en forma tan evidente en emulsiones de *R*-(+)-limoneno y otros aceites que poseen un grado menor de desterpenación comparado con el aceite de naranja desterpenado, ni en aquellas estabilizadas con goma arábica, por lo cual se ha pensado tanto en la especificidad como en los componentes de la GM para interactuar con los del aceite esencial de naranja. Sin embargo, el mecanismo de gelificación y propiedades generales de este sistema, requieren aun de mucha investigación a fin de desarrollar posibles aplicaciones prácticas en diversas áreas, p.ej. alimentos y biotecnología.

Generalidades de Coloides

Tipos de Coloides

Las sustancias puras son consideradas como soluciones de mezclas homogéneas de especies químicas dispersadas en escala molecular, las cuales permanecen estables e indistinguibles por largos periodos. Estas sustancias, son una clase intermediaria de materiales que se definen entre el bulto y sistemas moleculares dispersados, en los cuales también un componente es finamente dispersado en otro y su grado de subdivisión no está cerca de ser una mezcla molecular sencilla. Los sistemas de este tipo, llamados *coloides*, poseen propiedades especiales que son de gran importancia práctica.

En general, los coloides consisten de una fase dispersada (fase discontinua) de partículas pequeñas de un material, distribuidas uniformemente en un medio dispersante (fase continua) [Everett, 1988]. Las partículas coloidales son agregados de un gran número de átomos o moléculas, capaces de pasar a través de un filtro de papel, pero que pueden ser detectadas por dispersión de luz, sedimentación y ósmosis [Atkins, 1998].

Como ejemplos muy comunes de sistemas coloidales se pueden citar: *neblina* (dispersión de finas gotas líquidas o partículas sólidas en un gas – aerosoles); *leche* (dispersión de finas gotas de grasa en una fase acuosa – emulsiones); *pinturas, barros y mezclas* (dispersiones de finas partículas sólidas en un medio líquido – soluciones o suspensiones coloidales); *jaleas o gelatinas* (dispersiones de macromoléculas en líquido – geles). [Everett, 1988]

El nombre dado a la fase dispersa depende de las dos fases involucradas y se reconocen diversos tipos de coloides. Un *sol* es una dispersión de un sólido en un líquido (p.ej.; agregados de átomos de oro en agua, pinturas, etc.) o un sólido en un sólido (p.ej.; vidrio, plásticos pigmentados). [Dickinson, 1992]

Un aerosol es una dispersión de un líquido en un gas (p.ej.; niebla) o un sólido en un gas (p.ej.; humo). Una emulsión es una dispersión de un líquido en un líquido (p.ej.; mayonesa). Otra clasificación de coloides es como *liofílicos*, o que atraen solvente, y *liofóbicos*, o repelen solvente. Si el solvente es agua, los términos *hidrofílico* e *hidrofóbico* se utilizan respectivamente. [Dickinson, 1992]

Un gel es una masa semirígida de un sol *liofóbico* en el cual todo el medio dispersante ha penetrado dentro de las partículas de sol (p.ej.; jalea, flan, etc.) [Atkins, 1998]. Una tercera clasificación distingue *coloides simples*, a aquellos sistemas en los que se puede distinguir claramente entre la fase dispersa y el medio de dispersión. Sin embargo, en una *red coloidal* estas dos fases están interpenetradas en una red, cuyos elementos abarcan el rango de las dimensiones coloidales. Los poros sólidos en los cuales, las redes de gas y sólidos están interpenetrados, los cristales de dos fases (cristal de ópalo) y muchos tipos geles, son ejemplos de esta categoría. Los denominados *coloides múltiples* pueden involucrar la coexistencia de tres fases en las cuales dos de estas fases (en algunos casos tres fases) están perfectamente diferenciadas [Everett, 1988]. La Figura 1, ilustra esquemáticamente algunas de los principales elementos estructurales que pueden encontrarse en sistemas coloidales. Se pueden distinguir dos tipos de especies: partículas y macromoléculas. [Dickinson, 1992]

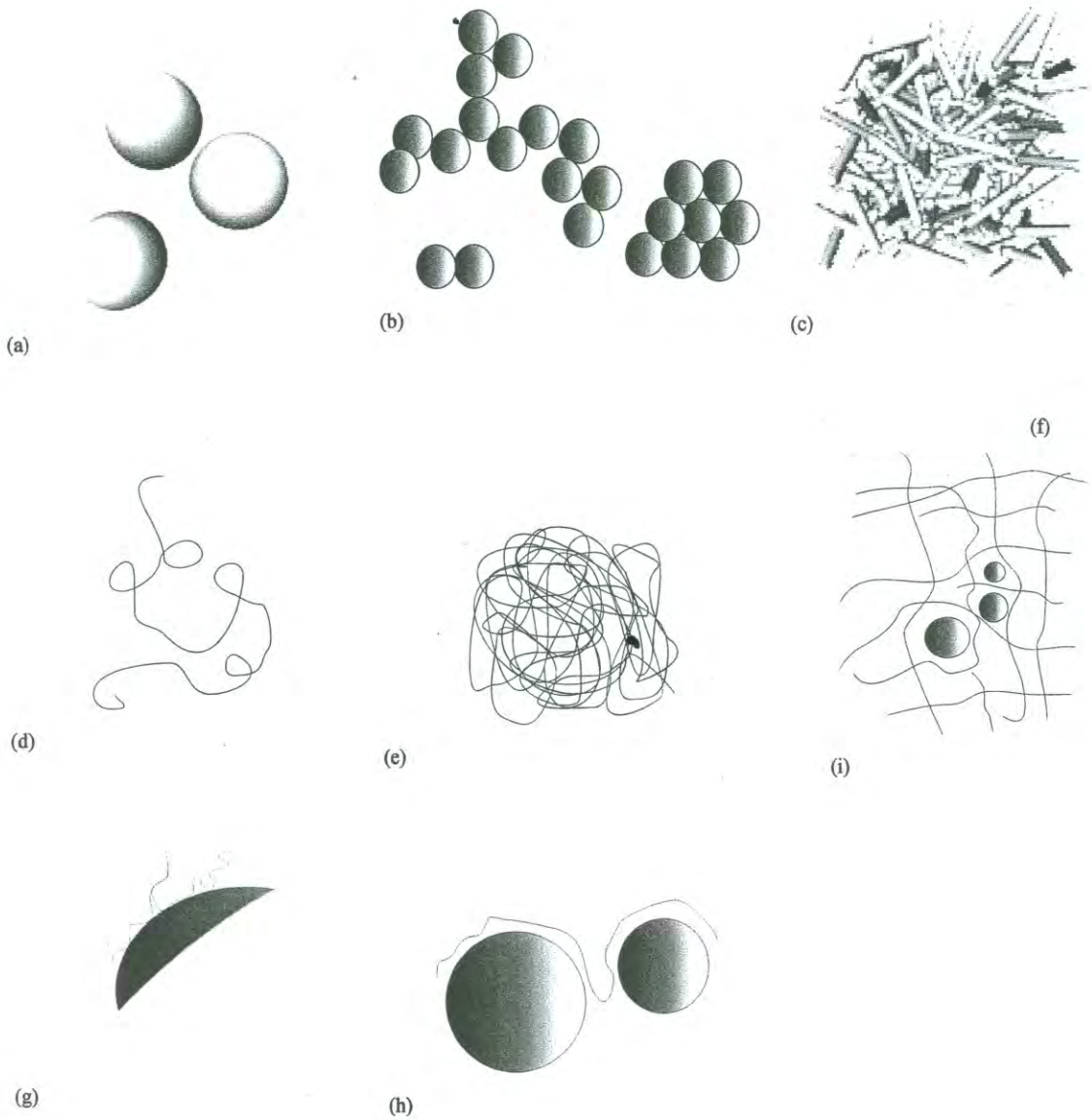


Figura 1. Diversos tipos de entidades estructurales encontradas en coloides de alimentos: (a) partículas esféricas dispersadas; (b) partículas esféricas agregadas; (c) partículas no-esféricas; (d) macromolécula desorganizada; (e) macromolécula compactada; (f) macromoléculas asociadas dentro de un gel; (g) macromolécula adsorbida en la superficie de una partícula; (h) macromolécula puenteada a través de dos partículas; (i) partículas atrapadas en una red macromolecular. [Dickinson, 1992]

Las partículas coloidales pueden ser esféricas (p.ej.; burbujas de gas, gotas de aceite y agua), o aproximadamente esféricas (p.ej.; burbujas de grasa, gránulos de almidón o de proteína). Estas se pueden presentar en una amplia variedad de tamaños, desde nanómetros (p.ej.; micelas surfactantes), micrómetros (p.ej.; gotas de emulsión) y milímetros (p.ej.; burbujas de espuma). Dichas partículas pueden existir como entidades aisladas dispersas, o se pueden presentar como agregados de varias formas, tamaños y estructuras. [Atkins, 1998]

Las partículas no-esféricas, pueden estar en forma de agujas o placas (p.ej.; hielo, grasa o cristales de azúcares), fibras u hojas (p.ej.; filamentos y membranas), o esferas deformes (p.ej.; gotas y burbujas) distorsionadas por fuerzas mecánicas o por empaquetamiento de alta densidad. [Atkins, 1998]

Las macromoléculas de alimentos pueden estar compactadas y altamente organizadas (p.ej.; proteínas globulares), o en cadenas y desorganizadas (p.ej.; la presentan varios tipos de polisacáridos y proteínas desnaturalizadas). Los pesos moleculares varían entre decenas de miles de daltons (un número considerable de cadenas proteínas) a millones de daltons (varías cadenas de polisacáridos). [Atkins, 1998]

Los agregados de macromoléculas o partículas pueden ser tan grandes que pueden alcanzar dimensiones microscópicas, de este modo formándose una red gelificante. Las macromoléculas (proteicas especialmente), pueden estar adsorbidas en superficies de partículas sólidas, como gotas y burbujas, o pueden funcionar como puentes entre entidades que están contribuyendo a un estado de agregación de partículas. Las partículas pueden ser atrapadas en una red de macromoléculas. [Atkins, 1998]

Las dimensiones coloidales de la fase dispersada se encuentran en el rango de 1-1000 nm (10 \AA y 1 \mu m), estos límites no son rigurosos en casos especiales, como emulsiones y jaleas, en donde están presentes partículas de tamaño grande. En otros sistemas como barro y películas delgadas, únicamente una dimensión está en el rango coloidal. Además, no es imprescindible que las tres dimensiones sean inferiores a 1 \mu m , toda vez que el comportamiento coloidal se manifiesta en sistemas fibrilares en los cuales únicamente dos dimensiones están en rangos coloidales. Todo lo anterior es ilustrado esquemáticamente en la Figura 2, en donde se muestran micrografías electrónicas de partículas coloidales de diferentes tipos. [Everett, 1998]

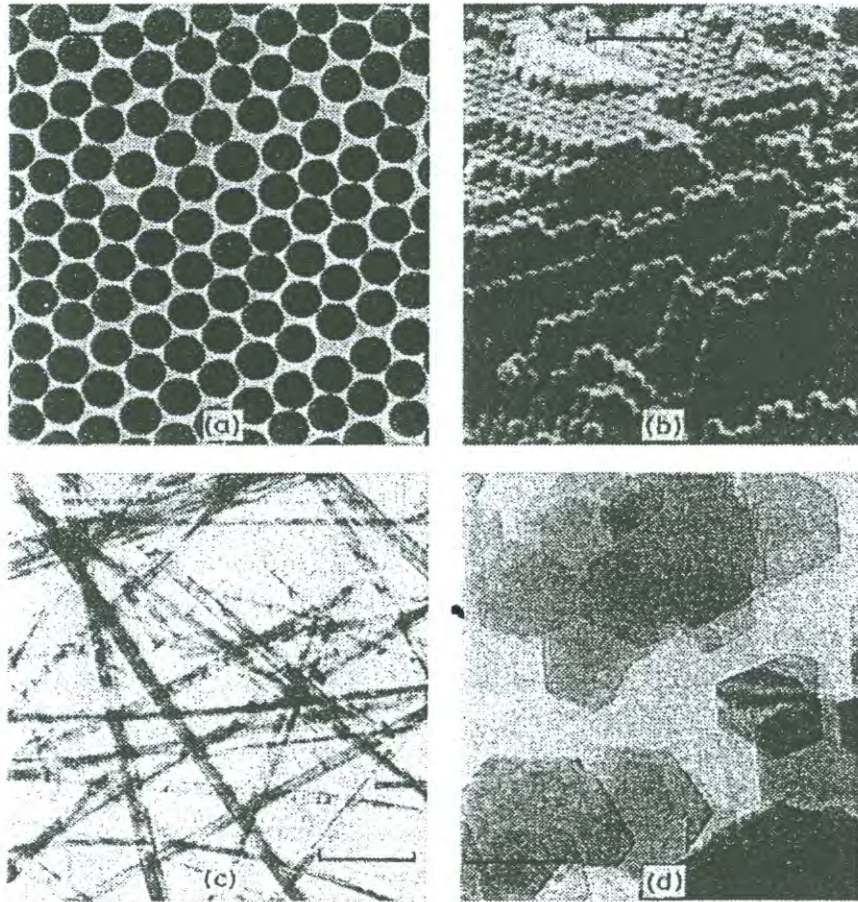


Figura 2. Micrografías electrónicas de materiales coloidales en tres, dos y una dimensión aparentemente en rangos coloidales: (a) partículas esféricas de un látex monodisperso de poliestireno, (b) partículas esféricas empaquetadas de látex de poliestireno, (c) fibras de asbestos, (d) placas delgadas de kaolinita. [Everett, 1988]

En las emulsiones, tanto la fase dispersada como el medio dispersante son fluidos. Los ejemplos más comunes de estas dos fases involucran son aceite y agua. Estos pueden ser de dos tipos: una dispersión de finas gotas de aceite en un medio acuoso, una emulsión aceite-en-agua (O/W); o gotas de agua en aceite, una emulsión agua-en-aceite (W/O). En algunos casos especiales, se puede formar una emulsión bicontinua cuando una de las fases forma una red continua en la otra fase. [Everett, 1988]

Recientemente, se ha mostrado la existencia de emulsiones diluidas gas-en-liquido (dispersiones de finas burbujas de gas en líquido), en soluciones de gas a alta presión en líquidos (por ejemplo en bebidas carbonatadas). A partir de este punto de vista, también un aerosol de gotas líquidas puede ser una emulsión líquido-en-gas. La formación de una emulsión involucra un incremento en el área interfacial entre dos fases, esta es acompañada por un incremento en la energía libre. [Everett, 1988]

La facilidad de la formación de una emulsión puede ser medida por el trabajo necesario para dicha formación: la baja tensión interfacial favorece a requerir de menor trabajo para formar la emulsión. La adición de *agentes emulsificantes*, los cuales son adsorbidos en la interfase y disminuyen la tensión interfacial, son usualmente empleados para estabilizar a las emulsiones formadas. [Everett, 1988]

Estabilidad Coloidal

Es un principio fundamental de la termodinámica, que si un sistema se mantiene a una temperatura constante, éste tenderá a un cambio espontáneo hacia la dirección que conduzca a disminuir su energía libre. En un coloide, la fase dispersa es termodinámicamente inestable con respecto al bulto. Esta inestabilidad puede expresarse termodinámicamente notando que, debido al cambio en la energía libre de Gibbs, dG , cuando el área superficial de la muestra cambia en $d\sigma$ a temperatura y presión constantes es (Ec. 1):

$$dG = \gamma d\sigma \quad (1)$$

donde γ , es la tensión interfacial de superficie, se tiene que $dG < 0$, si $d\sigma < 0$. Por tanto, la estabilidad de coloides debe ser una consecuencia de la cinética de colapsado del sistema: los coloides son termodinámicamente inestables pero cinéticamente no-vulnerables. [Atkins, 1998]

Un coloide se dice que es *estable*, si durante cierto periodo, este tiene pequeños cambios en agregación. En muchos sistemas coloidales, un estado termodinámicamente estable es permisible únicamente cuando todas las partículas o gotas están unidas componiendo un bulto homogéneo de fase dispersa, y además de una aparente estabilidad, puede ser observado como un fenómeno puramente cinético. En un sol liofóbico, una espuma o una emulsión, el exceso de energía libre en la región interfacial da lugar a una energía libre total del sistema. Un coloide no puede ser formado por dispersión espontánea y cuando se llega a formar es termodinámicamente inestable o en el mejor de los casos metaestable. [Everett, 1988]

Pero, si esta relación de cambio es permisiblemente lenta con respecto a la escala de tiempo de interés, se dice entonces que es *coloidalmente estable* [Everett, 1988]. Existen 3 enfoques principales para abordar el estudio de la estabilidad coloidal: 1) electrostático; 2) estérico y 3) de partículas. Estos se discuten brevemente a continuación. La mayor fuente de estabilidad cinética de los coloides, radica en la existencia de cargas eléctricas en las superficies de partículas. Los iones de carga opuesta a dichas cargas eléctricas, tienden a acercarse y/o aglomerarse, formándose entonces una atmósfera iónica. Se pueden distinguir dos regiones de carga. Primeramente, la capa de iones inmóvil que está mas cerca de adherirse a la superficie de la partícula coloidal, y la cual puede incluir partículas de agua (si esta es el medio de soporte). [Atkins, 1998]

El radio de la esfera, se representa entonces como una capa rígida, la cual es llamada *radio de cizalla*, y es un factor determinante en la movilidad de las partículas. El potencial eléctrico relativo del radio de cizalla, es un valor de distancia, en la región de bulto del medio, al cual se le llama *potencial zeta*, ζ , o *potencial electrocinético*. En segundo lugar, cuando la unidad de carga es atraída por la atmósfera iónica cargada opuestamente. En lo que respecta a la capa cargada exterior que corresponde a la atmósfera iónica, a la cual se le denominada *doble capa eléctrica*. [Atkins, 1998]

La teoría DLVO, fue desarrollada por B. Derjaguin y L. Landau, y de forma independiente por E. Verwey y J.T.G. Overbeek [Atkins, 1998], la cual explica la estabilidad de dispersiones liofóbicas. Esta teoría asume que hay un balance entre las interacciones *repulsivas* de cargas en la doble capa eléctrica de partículas adyacentes y las interacciones de carácter *atractivas* que se dan por interacciones de van der Waals entre moléculas de las

partículas. El potencial de energía está dado, a partir de la repulsión de la doble capa eléctrica de cada partícula de radio, a , de la siguiente manera (Ec. 2):

$$V_{\text{repulsión}} = + \frac{Aa^2\zeta^2}{R} e^{-s/r_D} \quad (2)$$

donde A es una constante, ζ es el potencial zeta, R es la separación entre los centros, s es la separación de las superficies de ambas partículas ($s = R - 2a$, para partículas esféricas de radio a), y r_D es el grosor de la doble capa eléctrica.

Dicha expresión solo es válida para partículas pequeñas con un grosor de la doble capa eléctrica ($a \ll r_D$). Cuando la doble capa eléctrica es delgada ($a \gg r_D$), la expresión es reemplazada por (Ec. 3):

$$V_{\text{repulsión}} = + \frac{1}{2} Aa^2\zeta^2 \ln(1 + e^{-s/r_D}) \quad (3)$$

En cada caso, el grosor de la doble capa, se puede estimar, a partir de una expresión que incluya la derivación del grosor de la atmósfera iónica en la teoría de Debye-Hückel (Ec. 4):

$$r_D = \left(\frac{\varepsilon RT}{2\rho F^2 I b^o} \right)^{1/2} \quad (4)$$

donde, I es la fuerza iónica de la solución, ρ es la densidad de masa, y $b^o = 1 \text{ mol kg}^{-1}$. El potencial de energía, está dado en este caso por la interacción atractiva de la siguiente forma (Ec. 5):

$$V_{\text{atracción}} = - \frac{B}{s} \quad (5)$$

donde, B es otra constante. La variación del total del potencial de energía con la separación se muestra en la Figura 3. [Atkins, 1998]

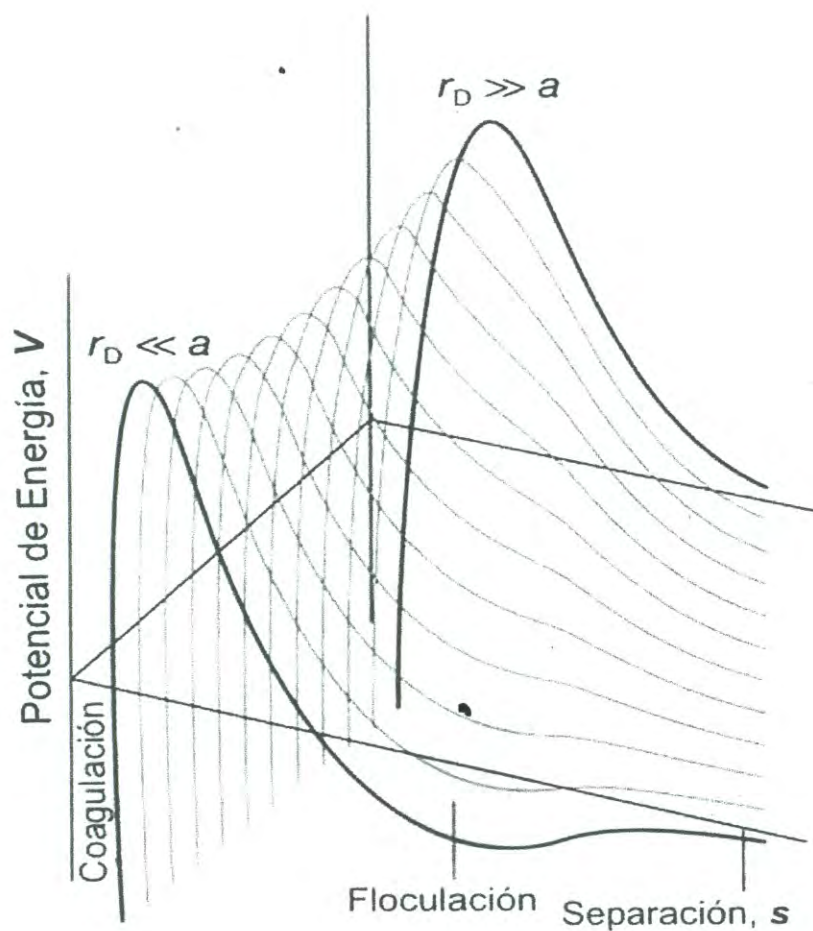


Figura 3. El potencial de energía de interacción, es una función de separación entre los centros de dos partículas, y esta variación del radio de tamaño de partícula de grosor a , corresponde a la doble capa eléctrica r_D . Las regiones indicadas de coagulación y floculación, muestran las profundidades en sus curvas de energía potencial donde dichos procesos ocurren. [Atkins, 1998]

Cuando existe alta fuerza iónica, la atmósfera iónica es muy densa y el potencial se muestra en un mínimo secundario en separaciones amplias. La agregación de partículas radica a partir del efecto estabilizante de este mínimo secundario, el cual es llamado *floculación*. El material floculado ofrece la ventaja de que puede ser redispersado por agitación, debido a que el pozo de potencial es muy bajo. [Atkins, 1998]

La *coagulación*, es irreversible debido que al mezclarse partículas muy pequeñas, se absorberán a partículas mas grandes; esto ocurre cuando la separación entre partículas es muy pequeña y se encuentran en el mínimo primario de la curva de potencial de energía, en donde dominan las fuerzas de van der Waals [Atkins, 1998]. La teoría DLVO puede predecir el comportamiento de partículas coloidales cargadas en un entorno iónico. Sin embargo, muy pocos sistemas reales se pueden describir únicamente en términos de fuerzas repulsivas electrostáticas. [Dickinson, 1982]

Por otra parte, las partículas coloidales se estabilizan mediante *estabilización estérica*. Esta involucra interacciones entre moléculas de cadena larga adsorbidas sobre las partículas coloidales. Otro mecanismo de tipo estérico que mantiene a las partículas separadas es el efecto osmótico local, el cual se manifiesta cuando en la interfase, son adsorbidos compuestos hidrofílicos. Estos pueden conducir a una fuerza repulsiva asociada a la hidratación de las superficies o de las moléculas, una vez que éstas se encuentran cercanas. [Dickinson, 1982]

Bajo el enfoque de partículas, el mecanismo de estabilidad distingue tres características:

- a) que las partículas se mojan preferentemente por la fase continua
- b) el ángulo de contacto define la habilidad de la partícula para estabilizar/desestabilizar el sistema coloidal
- c) el ángulo es usualmente de $60 - 70^\circ$. Desviaciones con respecto a este valor conlleva a problemas de estabilidad

En general el tamaño de las partículas, está dado por la teoría de Kolmogorov de la cual se deriva la siguiente ecuación (Ec. 6): [Dickinson, 1982]

$$d_{\min} \propto E^{-2/5} \gamma^{3/5} \rho^{-1/5} \quad (6)$$

donde:

d_{\min} = tamaño de partícula mínimo

E = densidad energética (Wm^{-3})

γ = tensión interfacial (4 – 40 mN^{-1})

ρ = densidad

Emulsiones

Este trabajo se centra en el estudio del comportamiento de emulsiones de aceite esencial de naranja-en-agua. Por tanto, es importante mencionar algunas de las propiedades fundamentales de la formación y estabilidad de estos coloides. En una emulsión, las fases tanto dispersa como la continua son líquidas. Los ejemplos más comunes de emulsiones son aquellos en los que estas fases son el agua y el aceite. Estas pueden ser de dos tipos: una dispersión de finas gotas de aceite en un medio acuoso (emulsión aceite-en-agua), o de gotas de agua en aceite (emulsión agua-en-aceite). El que se forme un tipo u otro depende de varios factores. Si la relación de cantidades de las dos fases es muy baja, la fase presente en menor proporción a menudo es la fase dispersa; si la proporción de ambas fases es aproximadamente equivalente, otros factores son los que determinarán el tipo de emulsión que se va a formar. El parámetro utilizado para expresar la cantidad presente de una fase, es el volumen de fase o fracción de volumen, φ , el cual se determina en base a mediciones de densidad, por lo tanto define la siguiente expresión (Ec. 7):

$$\varphi = \frac{GE_{ac} - GE_{em}}{GE_{ac} - GE_{oil}} \quad (7)$$

donde; GE_{ac} es la densidad de la fase acuosa, GE_{em} es la densidad de la emulsión y GE_{oil} se refiere a la densidad del aceite. [Buffo, 2001]

La formación de una emulsión involucra un incremento en la tensión interfacial entre las dos fases, la cual se ve acompañada por un incremento en la energía libre. La facilidad de formación de una emulsión puede ser medida por la cantidad de trabajo necesaria para su formación: entre menor sea la tensión interfacial, menor será el trabajo

requerido y más fácilmente, se formará la emulsión. La adición de agentes emulsificantes que se adsorben en la interfase, disminuyen la tensión interfacial, y por lo tanto se forma una emulsión estable. Además tienen un papel determinante en la estabilidad a largo plazo.

Desestabilización de Emulsiones

Al igual que otros sistemas coloidales, la desestabilización de emulsiones es un proceso cinético que requiere que el sistema sobrepase una barrera energética. La desestabilización en general tiene la forma de los siguientes cinco efectos: 1) Floculación; 2) Coagulación; 3) Coalescencia; 4) Envejecimiento de Ostwald; 5) Cremado y 6) Adsorción. Cada uno de estos procesos se describe a continuación. [Atkins, 1998]

- 1) **Floculación.** Es el proceso por medio del cual dos o más partículas coloidales se encuentran muy cercanas (agregadas) por fuerzas no especificadas de origen y magnitud [Dickinson, 1982]; dicho proceso involucra la agregación de partículas sin la destrucción de su individualidad, de esta manera se diferencia de los procesos de crecimiento de partícula. La floculación es el primer paso en la destrucción de un amplio rango de coloides, esto es importante para comprender los mecanismos involucrados. Por otro lado, se puede definir como un fenómeno que ocurre espontáneamente, si éste es acompañado por una disminución en la energía total del sistema. Esta energía libre se compone de varias contribuciones. Quizás la principal es la energía potencial de interacción entre partículas coloidales que poseen baja tensión superficial entre las superficies que están interactuando. Otra manera de definir la floculación, es que se trata de un proceso de agregación en el cual las distancias interpartícula se encuentran relativamente apartadas mas allá de distancias interatómicas [Dickinson, 1992].

La mayoría de las partículas que forman un agregado pierden su movimiento traslacional independiente como partículas individuales, incorporándose así al movimiento traslacional del agregado. Esta reducción de grados de libertad implica la reducción en la entropía del sistema, ΔS_{agg} , y por ende habrá un incremento en la energía libre (Ec. 8): [Everett, 1988]

$$\Delta S_{agg} = -T [\Delta S_{agg}] \quad (8)$$

La floculación puede ocurrir también como consecuencia de la presencia de un polímero situado en la interfase, fenómeno conocido como *floculación por puenteo*. Dicho proceso ocurre, si una solución de polímero de alto peso molecular es diluida en una dispersión. Dicho proceso se explica, cuando ambos extremos de una cadena de polímero se adsorben cada una a una gota coloidal respectivamente, quedando en cierta forma unidas ambas gotas por dicha cadena. La Figura 4 esquematiza en forma detallada dicho comportamiento [Everett, 1988]. En los sistemas tipo *floc* que presentan floculación por puenteo, se pueden dar formaciones tipo red, debido a la interrupción del *floc* por fuerzas tipo cizalla, dando lugar a un sistema de baja viscosidad. [Dickinson, 1982]

- 2) **Coagulación.** Un agregado de tipo *floc* puede o no separarse; si dicho agregado cambia a una forma mucho más densa, se dice que se da un proceso de *coagulación* con la formación de un *coágulo*. Los agregados producidos por coagulación poseen distancias interpartícula en el orden de dimensiones atómicas. Las fuerzas entre partículas coaguladas son fuertes, en comparación con los agregados floculados. En la *coagulación*, se da una separación irreversible formando un coágulo. En ausencia de una *barrera de coagulación*, cada colisión entre las gotas de un *floc*, tendrá como consecuencia el crecimiento de dicho *floc*. La relación de coagulación está controlada en su totalidad por un proceso de difusión que se da por colisión entre gota-gota. La teoría de *rápida coagulación*, fue desarrollada por Smoluchowski (1918) y elaborada por Müller (1926) [Dickinson, 1992]. La expresión, está relacionada con una reacción biomolecular (Ec. 9):

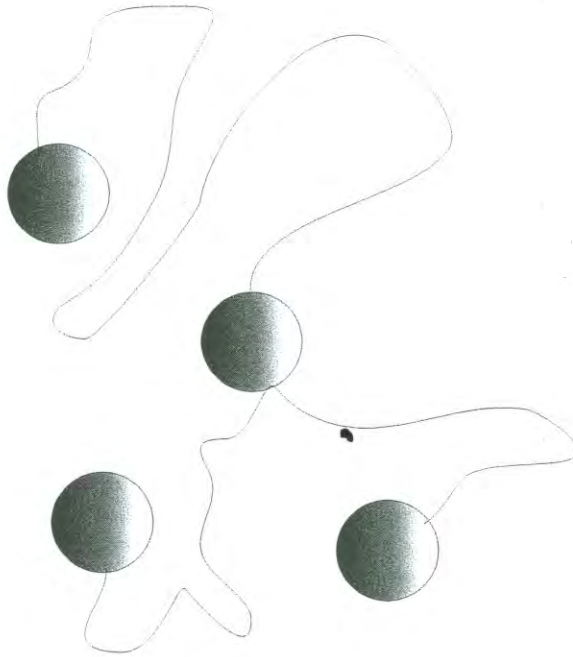


Figura 4. Representación del origen de *floculación por puenteo*. Esta depende de la presencia de un polímero de alto peso molecular en un buen solvente. Las terminales del polímero son adsorbidos en las gotas coloidales, manteniendo en cierta forma una estabilización en el sistema. [Everett, 1988]

$$\frac{dv}{dt} = -8\pi RDv^2 \quad (9)$$

donde; v es la concentración individual de las gotas y $\frac{dv}{dt}$ es la relación de la desaparición de las gotas. R , es el diámetro de colisión de la partícula y D es el coeficiente de difusión de las gotas individuales. [Everett, 1988]

- 3) **Coalescencia.** Es un proceso irreversible, que se caracteriza cuando dos gotas, o cuando muchas gotas en una emulsión se unen de tal manera, formándose gotas mucho mas grandes. Cuando dos gotas se acercan, la coalescencia dependerá de la estabilidad de la capa delgada líquida de fase continua que las separa. La ruptura de dicha película y/o capa se da por un proceso estocástico. El primer punto a notar, es que la probabilidad de que una película se rompa espontáneamente es muy baja. Esto significa que es muy poco probable, que dicha coalescencia, se de por medio de un movimiento browniano, un cremado o flujo de cizalla. La coalescencia ocurre usualmente cuando las gotas se acercan demasiado unas a otras por un periodo relativamente largo de tiempo en la capa cremada, o algunas en el estado floculado. Es conveniente clasificar los factores que afectan a la coalescencia, bajo dos puntos de vista: *adelgazamiento de la película*, el cual depende de las fuerzas coloidales que actúan a través de la película y de los aspectos hidrodinámicos del flujo de la película. El otro aspecto es la *ruptura de la película*, la cual depende de las fluctuaciones en el grosor y de las propiedades mecánicas de la película. [Dickinson, 1992]

La Figura 5, muestra esquemáticamente, el proceso de floculación y coalescencia en gotas coloidales durante la formación de una emulsión.

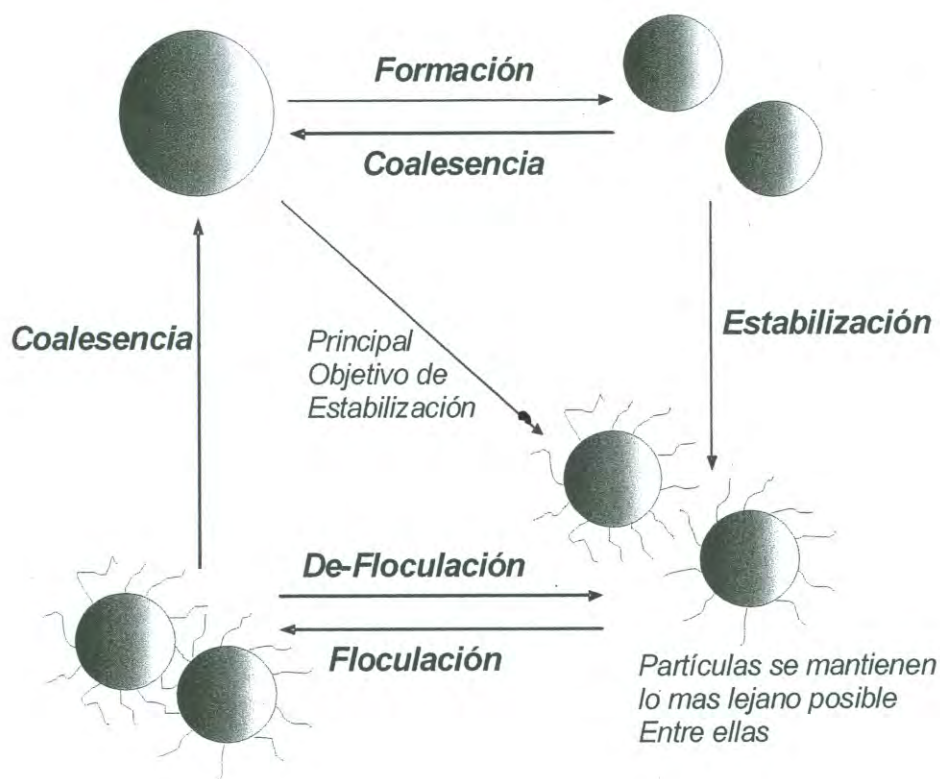


Figura 5. Representación esquemática de los procesos de *floculación* y *coalescencia*, que manifiestan la desestabilización y estabilización en la formación de una emulsión. [Dickinson, 1992]

- 4) **Envejecimiento de Ostwald.** Se refiere al crecimiento de las gotas más grandes a expensas de las más pequeñas, debido a un transporte de masa de fase dispersa soluble a través de la fase continua acuosa. La fuerza termodinámica conductora para este proceso, es el cambio en potencial químico de la fase dispersa con un radio de curvatura incremental de la superficie rodeando la gota. Esto es, hay una mayor tendencia de la fase dispersa a disolverse en la fase continua para las gotas más pequeñas que para las más grandes. La relación del *Envejecimiento de Ostwald* es obtenida por (Ec. 10):

$$\frac{d\langle a \rangle^3}{dt} = \frac{8v_1^\circ \gamma S_\infty D_1}{9RT} \quad (10)$$

donde; $\langle a \rangle$ es el radio de la gota conocido, t es el tiempo y D_1 es el coeficiente de difusión del componente 1 en la fase continua. Los parámetros γ , v_1° y D_1 , no varían considerablemente de un sistema a otro, solo un factor es el que puede deducirse como el principal que está afectando la cinética, el cual es S_∞ de la fase dispersada en la fase continua. La ecuación 10 se refiere al caso idealizado, en que las gotas están compuestas de un líquido que está conformado por un solo componente. Cuando la fase dispersa está compuesta de una mezcla de componentes con una amplia diferencia en la solubilidad, la relación es substancialmente menor con respecto a las especies más solubles. Dicha teoría muestra que el *Envejecimiento de Ostwald* es significativamente retardado, si la fase dispersada contiene menor cantidad de uno de los componentes, el cual es pobremente soluble en el medio de dispersión. Esto se explica, si el componente soluble 1 es transportado fuera de la gota, detrás del componente insoluble 2. Debido a este efecto, se reduce el potencial químico μ_1 en la gota, lo cual a su vez conlleva a su reducción local de fuerza termodinámica. [Dickinson, 1992] Sin embargo, se puede utilizar la ecuación 10, como una manera de distinguir entre la inestabilidad provocada por envejecimiento de Ostwald y una inestabilidad provocada por coalescencia: hay una relación lineal entre el promedio al cubo del tamaño de gota y el tiempo.

El envejecimiento de Ostwald ejerce su efecto, aunque la fase dispersada sea lo más mínimo soluble en la fase continua. Los triglicéridos son virtualmente insolubles en agua, fenómeno que no ocurre en la mayoría de emulsiones aceite-en-agua de alimentos a menos que las micelas del surfactante sean solubles en el aceite. El agua es levemente soluble en el aceite triglicérido, lo cual da lugar a un envejecimiento de Ostwald, en el caso de emulsiones agua-en-aceite, aunque se retarda dicho envejecimiento si el agua contiene especies salinas, ya que sus iones son insolubles en la fase aceite. Otro ejemplo son los aceites esenciales (ej.; limoneno), los cuales son apreciablemente solubles en agua, y forman un tipo de emulsión aceite-en-agua, la cual es propensa al efecto del envejecimiento de Ostwald. [Dickinson, 1992]

- 5) **Cremado.** En coloides alimentarios, la densidad de las fases dispersada y continua por lo común no se parecen (ej., aceite-en-agua); esto conduce a una sedimentación o a un cremado, dependiendo de la fase que se considere. Ambos procesos ocurren durante el almacenamiento [Dickinson, 1992]. El cremado se define como el movimiento de gotas o partículas, bajo la acción de la gravedad o en una centrífuga, para formar una capa concentrada sobre una emulsión aceite-en-agua, sin que éste se acompañe de un cambio en la distribución del tamaño de partícula. Por lo tanto, el cremado es un proceso reversible, en el sentido de que la distribución original de tamaño de las gotas, puede reestablecerse por un medio de mezclado lento. Si las gotas de aceite de una dispersión coloidal tiene una diferencia en densidad, ρ , con respecto al medio, esto puede estar sujeto a una fuerza gravitacional, la cual precipita a las gotas a sedimentarse. Si el sedimento es más denso que el medio, por otro lado puede llegar a emerger hacia la superficie (cremado), si este es menos denso.

En ambos casos el resultado puede ser producto del gradiente de concentración de las gotas que tienden a tomar una concentración uniforme. Las fuerzas gravitacionales son opuestas por difusión y toman un estado tal, que ambos procesos están balanceados. Se puede expresar la fuerza gravitacional como $-(\rho_p - \rho_m) \nu g$, donde ρ_p y ρ_m son las densidades de la partícula y el medio respectivamente, y ν es el volumen de la gota. [Dickinson, 1992]

- 6) **Adsorción.** Cuando las gotas en una emulsión se aproximan a la superficie, dependiendo de las energías interfaciales, conducirá a un adelgazamiento de la película y eventualmente a la ruptura de la misma. Ejemplos de este proceso, serían la acumulación de gotas de grasa en una tubería o en una bomba. Cuando dos fases se ponen contacto, están en una región de transición de dimensión molecular en la cual, se dan los cambios de una fase a otra. [Dickinson, 1992]

Emulsificantes y Estabilizantes

El término emulsificante, se define como un componente químico que provee estabilidad, por medio de acción interfacial. En base a lo anterior, se pueden distinguir tres tipos de surfactantes que se utilizan en sistemas de alimentos:

- 1) *Proteínas* (muy importantes)
- 2) *Polisacáridos / Polisacáridos substituidos* (azúcares de cadena muy larga)
- 3) *Poliderivados de ácidos grasos* (menor importancia, menor eficiencia)

Un emulsificante efectivo, en primer lugar, es el que facilita la generación de una interfase, logrando esto por medio de la disminución de la energía libre interfacial. En segundo lugar, confiere estabilidad a la gota por medio de la formación de una capa protectora, adsorbida alrededor de la superficie de la gota. Los emulsificantes son moléculas de superficie activas (*surfactantes*), las cuales bajan la tensión de interfases aceite-en-agua y aire-en-agua. [Dickinson, 1992]

Un estabilizante es un componente químico, o mezcla de componentes, que confiere estabilidad por largo tiempo a coloides de alimentos. Esto se lleva a cabo posiblemente por un mecanismo que involucra adsorción, y a veces por otros tipos de mecanismos. La actividad de superficie de proteínas se da a partir de la distribución de residuos amino-hidrofóbicos que se encuentren distribuidos a lo largo de la cadena polipeptídica. En contraste, los polisacáridos son predominantemente hidrofílicos y no tienen mucha actividad de superficie. La principal acción estabilizante de los polisacáridos de alto peso molecular, se da por medio de la modificación de la viscosidad o gelificación del medio de dispersión acuoso. [Dickinson, 1992]

Geles

La definición más aceptada para explicar un gel, es la *definición topológica*. Esta sustenta que un *gel* es una red tridimensional constituida de elementos básicos conectados de alguna manera e hinchada por un solvente. Es una regla, que únicamente son considerados como geles a los en sistemas en donde el solvente representa el mayor componente [Guenet, 1992]. La fase dispersa puede consistir de partículas sólidas (ej. arcilla), macromoléculas (ej. gelatina), de partículas agregadas sólidas, gotas floculadas, moléculas surfactantes (ej., jabones). [Dickinson, 1996]

Muchos materiales alimentarios son geles coloidales hechos a partir de partículas de proteína (p.ej. micelas de caseína, agregados de proteínas globulares) que han devenido en retículos tridimensionales entrecruzados o agregados [Dickinson, 1996]. Los ejemplos más familiares de geles macromoleculares, son los que están formados de polímeros hidrofílicos (principalmente de origen biológico), los cuales se hinchan espontáneamente en contacto con agua, esto debido a los fuertes enlaces entre moléculas, que le proporcionan cierto grado de rigidez. [Everett, 1988]

Tipos de Geles

Existen un gran número de sistemas en los cuales necesariamente se da la formación de redes tridimensionales (ej. esteroides, óxido de vanadio, polímeros). Los geles preparados a partir de polímeros sintéticos y biopolímeros, han recibido considerable atención. Estos geles denominados poliméricos, se dividen en dos categorías dependiendo del proceso por medio del cual estén interconectados los elementos de la red: *geles químicos* y *geles físicos*. [Guenet, 1992]

En *geles químicos*, el ensamblaje usualmente ocurre a través de enlaces covalentes. Estos son enlaces muy fuertes por los cuales se da una reticulación, la cual resulta en una molécula multifuncional. Como resultado, la zona de ensamblaje posee un tamaño similar a una unidad monomérica que puede ser considerarse como el punto de partida de donde se definen las propiedades macroscópicas. Los enlaces covalentes no están localizados únicamente en la zona de ensamblaje, sino que también constituyen el ensamblaje de las cadenas del polímero, estos geles son “termo-irreversibles”: este tipo de calor en un gel químico es el punto en donde los enlaces covalentes se rompen.

Esto da como resultado una degradación irreversible del gel polimérico, el cual impide la reformación hacia un sistema similar. En *geles físicos*, el ensamblaje entre las cadenas ocurre a través de interacciones de van der Waals. [Guenet, 1992]

Lo anterior tiene dos implicaciones principales: (1) la estabilidad de los enlaces van der Waals requiere cooperatividad, la cual implica que los dominios de ensamblaje no sean un punto de partida por donde se extiendan dichas interacciones dentro del espacio de estos tipos de geles y (2) la energía involucrada en las interacciones de van der Waals están en el orden de kT , por lo cual estos geles son llamados “termo-reversibles”. [Guenet, 1992]

Principales Fuerzas que Actúan en la Formación de Geles

Varios tipos de interacciones pueden ser importantes en la formación de geles. Estas pueden ser electrostáticas, interacciones van der Waals o enlace químico. En el caso de dispersiones de carga-estabilizadas que estén arriba de cierta concentración, al adicionarles un electrolito, presentarán una relación de gelificación mayor a la formación de distintos flóculos. Entonces, la gelificación se puede estimar como la formación de un extendido de flóculos continuo que llena el sistema completamente (Figura 6). [Everett, 1988]

En general, las partículas mas o menos esféricas tienden a asociarse como “cadenas de gránulos”, mientras que las partículas en forma de barra pueden formar estructuras como de “andamiaje”, tal y como es el caso de geles de pentóxido de vanadio. Los geles lamelares son también formados por jabones bajo condiciones apropiadas de concentración y temperatura. Estos pueden ser esencialmente sistemas micelares (Figura 7), en los cuales las micelas lamelares en altas concentraciones están extendidas sobre distancias considerables e interconectadas, para formar un gel de red continua. [Everett, 1988]

En el caso de geles acuosos macromoleculares, la estructura de red está controlada principalmente por enlaces hidrógeno, aunque las moléculas concernientes son polielectrolitos que proveen fuerzas iónicas. Estos polímeros que forman geles son usualmente copolímeros que a menudo contienen polisacáridos y/o cadenas proteicas. En soluciones diluidas, especialmente a altas temperaturas, los polímeros se presentan como cadenas en ovillos estadísticos (Figura 8a). [Everett, 1988]



Figura 6. Formación de una estructura abierta por producción de un floculo por partículas atractivas. [Everett, 1988]



Figura 7. Tipo de Estructura Micelar. Lamela [Everett, 1988]

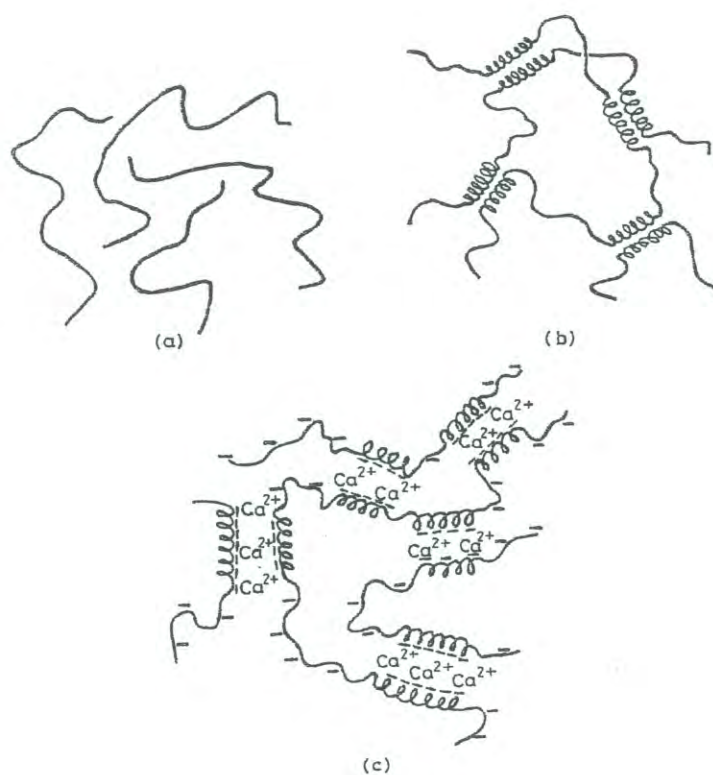


Figura 8. Gelificación de soluciones poliméricas: (a) cadenas de polímero con libre movimiento, (b) cadenas de polímero formando hélices que interactúan para formar una estructura de gel, (c) formación de gel en polielectrolitos, que va aumentando con la adición de ej., iones Ca^{2+} [Everett, 1988]

A altas concentraciones y bajas temperaturas, porciones de la cadena de polímero están asociadas con uno u otro de los bloques de polímero. Se presentan entonces como agregados que forman dobles o triples hélices (Figura 8b), que a su vez forman principalmente una estructura de red. [Everett, 1988]

Si los segmentos del polímero con los agregados son polielectrolitos (usualmente debido a la presencia de grupos carboxilos débiles), pueden presentarse enlaces adicionales, debido a la adición de cationes, especialmente cationes divalentes. Por ejemplo, en la gelificación de alginatos (copolímeros de ácido manurónico y glucurónico), esto es necesario para tener iones calcio presentes (Figura 8c). [Everett, 1988]

La formación de un gel involucra un balance entre fuerzas atractivas que tienden a formar una red rígida acompañada esta por un movimiento térmico de cadenas poliméricas. Por otro lado, los procesos de gelificación dependen de factores como pH, concentración de electrolito, los cuales afectan su formación. En cuanto al factor temperatura, se puede observar comúnmente en una solución gelatinosa, la cual a altas temperaturas se comporta como un líquido, formándose de nuevo la gelatina cuando está se enfría. [Everett, 1988]

Teoría de Percolación

Esta teoría describe y modela, cómo las moléculas ramificadas pequeñas forman macromoléculas cada vez mas grandes, en tanto se establece un número creciente de enlaces químicos entre las moléculas originales. Este proceso de polimerización puede conducir a la gelificación, esto es la formación de una red de enlaces químicos que abarcan todo el sistema. Si la funcionalidad de uno o más monómeros es superior a dos, las estructuras poliméricas que se forman son ramificadas. En condiciones adecuadas, dichas estructuras ramificadas conducen a redes tridimensionales. Para ilustrar estas estructuras, se deben considerar algunos ejemplos. [Horta, 2000]

- 1) El caso de un monómero difuncional, del tipo $A-B$, que copolimeriza con otro



trifuncional, del tipo

En estos símbolos, A y B son los dos grupos funcionales terminales y los guiones representan al resto de la molécula de monómero comprendida entre dichos grupos terminales (si se trata de una políesterificación, A puede ser el grupo $-OH$, y B el $-COOH$, con lo que el monómero $A-B$ será un hidroxilácido y A un triol, por ejemplo, glicerina. Las uniones $A-B$ son entonces grupos éster $-COO-$. El acoplamiento de grupos A y B dará lugar a estructuras ramificadas del tipo como se muestra en Figura 9:

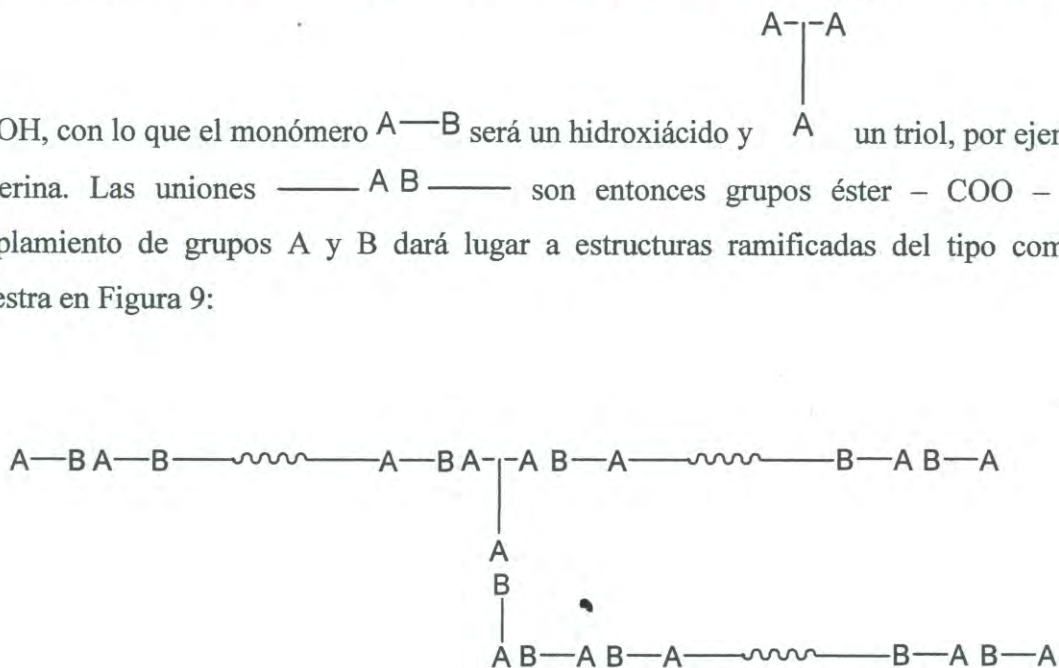


Figura 9. Estructuras ramificadas por acoplamiento de los grupos A y B. [Horta, 2000]

La polimerización se detiene, debido a que todas las estructuras ramificadas que se forman portan en el extremo de sus cadenas, grupos de la misma clase (como en figura 9). Para convertir estas estructuras en una red tridimensional entrecruzada hay que recurrir a una segunda reacción que las una entre sí, lo que se consigue añadiendo, tras la primera polimerización, un tercer monómero del tipo $B-B$, que actúe de enlace entre las terminales de cadena. [Horta, 2000]

En otro caso distinto, cuando la polimerización de tres monómeros cuyos tipos sean:

$A-A$, $B-B$ y A , respectivamente. Las estructuras ramificadas que entonces se generan son de la forma (Figura 10):

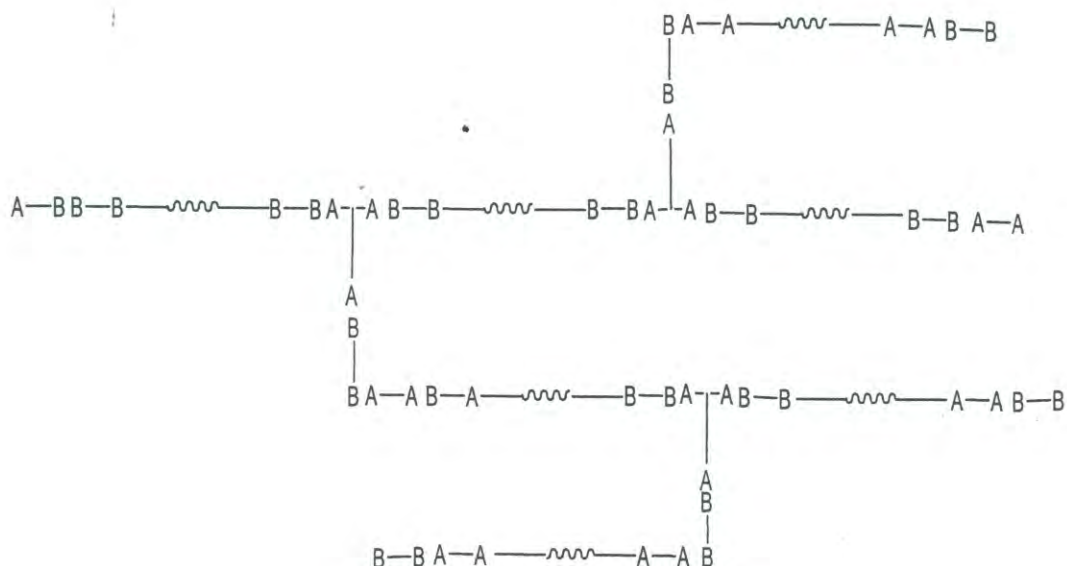


Figura 10. Ramificación por polimerización de tres monómeros. [Horta, 2000]

Es decir, las posibilidades de ramificación, son mayores que en el caso anterior y, lo que es más importante, los grupos terminales de las ramas son tanto de la clase A como de la clase B, por lo que estas estructuras ramificadas pueden proseguir la polimerización, acoplándose unos extremos de cadena con otros, así hasta que no quede ningún grupo libre. Por ello, si el grado de conversión se hace suficientemente elevado, el acoplamiento mutuo de estructuras del tipo de Figura 11, forma una red interconectada tridimensional, cuyo grado de polimerización es prácticamente infinito.

Al interconectarse en todas direcciones, las cadenas pierden su capacidad para dispersarse individualmente en el medio de reacción y la red tridimensional forma un gel insoluble. La viscosidad del medio sufre un crecimiento repentino al perder las cadenas su movilidad y formarse el gel. [Horta, 2000]

Se dice que el sistema gelifica o alcanza el punto de gel cuando se pasa de una estructura ramificada soluble a una reticulada insoluble. Esta gelificación ocurre al llegar a un determinado grado de avance de la reacción o grado de conversión. En la gelificación no todas las cadenas forman gel de inmediato. Algunas cadenas ramificadas se enlazan para formar un gel, pero otras quedan sin enlazar, dispersas en el medio, constituyendo lo que se denomina la fase sol. Después del punto de gel, sol y gel coexisten y la reacción prosigue incorporando paulatinamente las cadenas de la fase sol al gel. [Horta, 2000]

La teoría de percolación es un método establecido que se ha utilizado para modelar procesos de gelificación [Mourchid, 1995]. Dicha técnica tiene ventaja sobre otras con respecto a que no requiere del conocimiento fundamental de las propiedades tanto físicas como químicas de los sistemas a investigar. Se utiliza particularmente en la investigación de fenómenos de sistemas químicamente complejos. [Steventon, 1993]

La característica común de procesos modelados con esta aproximación, es la presencia de una fase de transición con amplio-rango de enlaces. Esto se conoce como *transición de percolación*, que ocurre con el incremento en la densidad de enlaces o de concentración. Por lo tanto, dependiendo del fenómeno, se maneja entonces un modelo intuitivo tanto para una transición de un aislante-conductor, transiciones de fase de ferromagnetos y en procesos de gelificación. [Steventon, 1993]

La teoría de percolación se aplica a las propiedades de un sistema que está en el umbral de la percolación, por ejemplo: el momento cuando comienza a existir un racimo polimérico tridimensional infinito. Entonces se espera un comportamiento crítico de las variables características del sistema. Primeramente, la *viscosidad* de un *sol* diverge en un racimo el cual incrementa su tamaño al acercarse a su umbral, por ejemplo (Ec. 11): [Mourchid, 1995]

$$\eta^* \approx G'' = k' \left[(p_c - p) / p_c \right]^{-k} \quad (11)$$

donde el parámetro control p es proporcional al número de enlaces y p_c es el valor crítico, por ejemplo: el valor de p del umbral donde existe un racimo infinito; k' es un factor escalar. En segundo lugar, la elasticidad de un gel partiendo de cero, incrementa continuamente a través del umbral, debido a la formación y consolidación de un racimo infinito; entonces cerca del umbral (Ec. 12): [Mourchid, 1995]

$$G' = k'' \left[(p - p_c) / p_c \right]^\mu \quad (12)$$

Durante la formación de un gel químico en donde la reacción ocurre de manera regular (ej., la relación de la formación de enbocado es constante), el parámetro de control es el tiempo, t , el exponente crítico k y μ , se esperan que sean independientes en el material y en la reacción. [Mourchid, 1995]

Generalidades de la Goma de Mezquite (*Prosopis* spp.)

Este trabajo se centró en el estudio de sistemas emulsificados a base de soluciones acuosas de goma de mezquite y en cierta medida también de goma arábica y aceites esenciales de naranja de distinto tipo. En esta sección se revisan los principales aspectos sobre las características y propiedades emulsificantes de la goma de mezquite.

La goma de mezquite (GM) es un exudado polisacárido natural proveniente de la corteza de árboles del género *Prosopis* spp. Esta goma era recolectada por indios Seris asentados en la costa del golfo de California en el estado de Sonora, México y forma parte de la farmacopea de remedios naturales, ya que la empleaban para formular un ungüento para los ojos (Farmacopea Seri). Actualmente, en Sonora la GM (“chúcata”) es extraída de árboles silvestres de *P. velutina*. Se utiliza sobretudo en las zonas rurales en diversas aplicaciones domesticas (ej.; endurecedor de sombreros), y es comúnmente masticada en las áreas rurales, como golosina [Aspinall, 1970b].

Como se explicará en detalle mas adelante, la GM se utiliza como un emulsificante en sistemas aceite-en-agua de colorantes naturales [Vernon-Carter, 1998; Whistler, 1953], es un agente encapsulante de gotas de aceite de naranja [Beristain, 1995]. También se ha venido utilizando en cantidades limitadas como emulsificante en bebidas suaves y como sustituto de goma arábica (GA), que es un hidrocoloide ampliamente utilizado. En estudios previos, se ha demostrado la funcionalidad de la GM, la cual es comparable y a veces superior, en ciertas condiciones, a la GA. [Anderson, 1982; Aspinall, 1970a; Beristain, 2002; Beristain, 2001, Beristain, 1994; Miskiel, 1991]

Propiedades Estructurales

Básicamente, la GM es una mezcla de heteropolisacáridos tipo arabinogalactanas, que están muy interconectados covalentemente con una pequeña fracción proteica [Taylor].

Dicho complejo proteoglicano está muy ramificado, presentando en su estructura primaria (Figura 11): una cadena central de residuos de D-galactosa atados por enlaces glicosídicos $\beta(1\rightarrow3)$, a la cual se le atan ramificaciones cortas en C6, que contienen D-galactosa, L-arabinosa (en ambas formas piranosa y furanosa), D-glucuronato, 4-O-metil-D-glucuronato y ocasionalmente L-ramnosa [Goycoolea, 2000a].

Por medio de la técnica de polidispersión; se ha determinado tanto la masa molecular de las especies que constituyen las distintas fracciones de la GM, como el contenido de proteínas y carbohidratos de cada una de estas [Miskiel, 1991]. Con base en la composición de sus azúcares constituyentes (predominantemente galactosa y arabinosa) y el contenido proteico, se ha llegado a la conclusión de que efectivamente la GM es una arabinogalactana proteica (AGP) tipo II, como se menciona anteriormente. [Aspinall, 1970a]

Similitudes Estructurales entre Goma de Mezquite y Goma Arábiga

Se han encontrado similitudes en la estructura primaria entre GM y GA. Dicha estructura, les confiere a ambas moléculas una conformación muy compacta y de alta solubilidad en agua (~50%).

A pesar de compartir casi la misma estructura primaria en términos de la fracción de carbohidratos, la GM y la GA pueden distinguirse por anticuerpos específicos, dirigidos hacia los extremos no-reductores de la cadena principal. [Aspinall, 1970a]. Asimismo, evidencia experimental obtenida por inmunolectroforésis en geles de dos dimensiones, reveló que existen regiones con alta identidad estructural en ambos materiales. Además de los constituyentes de carbohidratos, ambos polisacáridos contienen una fracción proteica como parte integral de su estructura molecular, aunque en concentraciones y masas molecular variable. Con base en esta estructura, en forma genérica, tanto GM como GA, se consideran como arabinogalactanas proteicas (AGPs). [Goycoolea, 1997]

En cuanto a la estructura macromolecular terciaria de la GA, se han propuesto dos modelos. El primero es el ensamblado tipo “retoño en flor”, en el que varios dominios de polisacárido de $\sim 2,0 \times 10^5$ kDa están enlazados por medio de un polipéptido [Connolly, 1987, 1988; Randall, 1989].

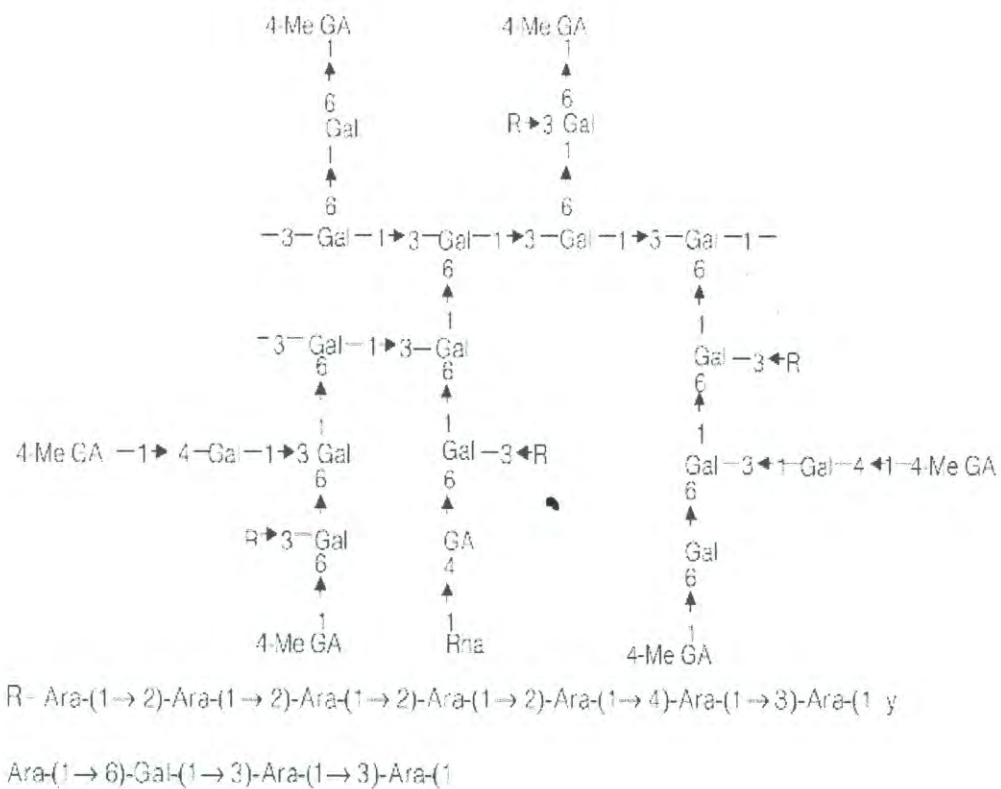


Figura 11. Estructura primaria propuesta para el componente polisacárido de la goma de mezquite. [Aspinall y Whitehead, 1970a,b]

En el modelo de “cuerda enrollada filamentosa”, a una cadena lineal de polipéptido (> 400 residuos) rico en hidroxiprolina/prolina se le unen, por cada 10 a 12 residuos de aminoácidos, pequeñas cadenas de azúcares (30 residuos), lo que en conjunto asemeja a una cuerda filamentosa. [Goycoolea, 1997]

Hasta hace poco tiempo no existía evidencia experimental que sustentara cualquiera de estos dos modelos estructurales en la GM y solo se hacía referencia a una estructura de “retoño en flor”. Esto debido a las similitudes que comparten en su estructura primaria y propiedades emulsificantes con la GA. Sin embargo, López-Franco *et al.* (2004) por medio de dispersión de luz estática y dinámica, determinaron parámetros estructurales de la goma nativa y sus fracciones obtenidas por medio de cromatografía de interacción hidrofóbica. Así, se obtuvo información de peso molecular, factor de forma, radio de giro y radio hidrodinámico. [López-Franco, 2004]

Los resultados mostraron que la estructura macromolecular de la GM se asemeja a un macro-ovillo elongado polidisperso, acorde al modelo de cuerda enrollada filamentosa, propuesto para las AGPs de la GA. [López-Franco, 2004]

Propiedades Emulsificantes y de Superficie de la Goma de Mezquite: Estabilidad y Aplicaciones

Las propiedades funcionales de las gomas o hidrocoloides son las que determinan su aplicación específica en la industria. Los criterios empleados para estudiar las propiedades funcionales son su habilidad para encapsular aromas, sabores, pesticidas, fármacos (propiedades encapsulantes); su capacidad para enlazar moléculas de agua y grasa (propiedades emulsificantes); su efecto sobre la reología y su textura; capacidad para formar geles y efectos sobre la cristalización [Beristain, 1996]. Por otro lado, el uso funcional, de estos hidrocoloides está relacionado también con su capacidad de incrementar la viscosidad en sistemas acuosos y a su capacidad de estabilizar partículas coloidales diversas, a las que dispersan o emulsifican. [López-Franco, 2004]

Esta última propiedad, característica de materiales como la GM y GA, se basa en la capacidad de las especies de arabinogalactanas proteicas (AGP) que constituyen estas gomas para adsorberse en interfases líquido-líquido, líquido-sólido o líquido-aire. [López-Franco, 2004]

La GM, como ya se menciono anteriormente, comparte varias características fisicoquímicas con la GA. Ambas son muy solubles en agua y en solución forman una estructura globular compacta. Dichà estructura les proporciona la habilidad de disminuir la tensión superficial y presentar las propiedades como estabilizantes y emulsificantes, sin aumentar considerablemente la viscosidad de dicho sistema. [Goycoolea, 2000a]

La GM es un agente emulsificante muy efectivo, propiedad relacionada con su contenido proteico, el cual le confiere un modelo de estructura tipo “Wattle–blossom” (“*retoño en flor*”) similar a la sugerida para la GA, en la que los residuos de aminoácidos se anclan en la interfase y los bloques de carbohidratos se extienden en la solución acuosa, evitando los procesos de floculación y coalescencia de las gotas, debido a efectos estéricos. [Beristain, 1996; Goycoolea, 2000a] En algunos casos, se ha demostrado que la GM resulta ser mejor emulsificante que la GA y las emulsiones obtenidas son más estables. [Beristain, 1996; Goycoolea, 2000a]

Generalidades de Aceites Esenciales Cítricos

Química de Aceites Esenciales Cítricos

Como ya se mencionó, en este trabajo se estudian los fenómenos asociados a la emulsificación del aceite esencial de naranja con goma de mezquite. Un aspecto central fue el de establecer una comparación entre el comportamiento de las emulsiones en función de la composición química del aceite.

Los aceites esenciales se extraen de todas las variedades de cítricos, porque los precios actuales son muy atractivos y su obtención no exige grandes inversiones. La producción mundial, de acuerdo con Wright (1990), es de unas 16.000 toneladas de aceite de naranja, 2.500 toneladas de aceite de limón y 180 toneladas de aceite de pomelo.

El mercado principal de los aceites esenciales lo constituyen las industrias de aromatizantes y bebidas [Arthey, 1982]. Representan la fracción aromática más importante del vegetal y están constituidos por una mezcla muy compleja de compuestos, principalmente terpenos, alcoholes, cetonas, ácidos, aldehídos y ésteres (Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Compuestos volátiles en diferentes aceites esenciales cítricos [Felger, 1974]

	<i>Naranja</i>	<i>Toronja</i>	<i>Mandarina</i>	<i>Limón</i>
Ácidos	5	4	7	4
Alcoholes	26	20	24	18
Aldehídos	25	14	11	16
Ésteres	16	13	4	11
Hidrocarburos	32	14	24	22
Cetonas	6	3	2	3
Otros	2	2	1	1
<i>Total</i>	<i>112</i>	<i>70</i>	<i>73</i>	<i>75</i>

Tabla 2. Principales constituyentes del aceite de la cáscara de cítricos [Felger, 1974]

<i>Monoterpenos</i>	<i>Ácidos</i>	<i>Aldehídos</i>
α -Pino	Acético	Acetaldehído
β -Pino	Caprílico	Citral
α -Terpineno	Caprílico	Decanal
γ -Terpineno	Decílico	Geranial
<i>p</i> -Cimeno	Fórmico	Octanal
Mirceno	Octílico	
<i>p</i> -Cimeno		<i>Ésteres</i>
Terpinoleno	<i>Alcoholes</i>	Acetato de geranilo
Sabineno	Citronelol	Acetato de linalilo
Canfeno	Geraniol	Antranilato de metilo
	Linanol	Acetato de octilo
<i>Sesquiterpenos</i>	Nonanol	
Bisaboleno	Octanol	
Cadineno	α -Terpineol	
Cariofileno	Terpinen-4-ol	

Estos aceites son parcialmente solubles en etanol, en cloroformo y en aceites fijos y son insolubles en agua. Su composición y sus propiedades sensoriales varían aun en una misma planta; por ejemplo, el árbol del naranjo tiene aceites esenciales en sus flores (aceite de azahar), en sus vástagos y hojas nuevas (aceite de *petit-grain*) y en la cáscara del fruto; cada uno de ellos tiene un aroma propio y una composición diferente. [Badui, 1999]

En general, las plantas jóvenes contienen una mayor cantidad de aceite, pero no con un perfil tan aceptado como el de las plantas adultas [Badui, 1999]. Como un ejemplo, se tiene a la esencia cítrica que continuamente se va oxidando, detectándose organolépticamente más graso y/o amargo, debido a cambios químicos en los compuestos específicos como son aldehídos (citral, decanal, nonanal, etc.) en sus respectivas fracciones ácidas o fracciones cetonas. [Anderson, 1982]. La característica que le da unicidad a la composición de una esencia es su método de obtención. Una esencia de naranja es todo lo liposoluble que se volatiliza a menos de 120°C, o todo lo que es liposoluble y proviene de su epicarpio. Ambas son esencias de naranja, ambas son parte del metabolismo de la fruta del naranjo, pero tienen entre sí diferencias notables de composición química, debido al distinto método de obtención utilizado. [Anderson, 1982]

Otro concepto que debe de tenerse en cuenta es que, siendo una parte del metabolismo de una planta, la composición química de una esencia está permanentemente variando. Se modifican las proporciones de sus constituyentes o se transforman unos constituyentes en otros, según de la parte de la planta que se trate, el momento de su desarrollo, o el momento del día. [Anderson, 1982]

Mas aún, debe tenerse en cuenta que dada su compleja composición, la esencia presenta una alta probabilidad de sufrir modificaciones fisicoquímicas por reacciones entre sus propios constituyentes o entre éstos y el medio (luz, temperatura, presencia de enzimas, componentes del reservorio donde se almacena la esencia, etc.). [Anderson, 1982]

Procesos de Obtención

Existen varios métodos para obtener aceites esenciales pero uno de los principales es el de destilación con vapor: en un recipiente se coloca el material molido (vg. clavo, canela, pimienta, etc.), y se les hace circular una corriente de vapor que arrastra los volátiles correspondientes.

Dichos compuestos se recuperan al separar el condensado en una torre de enfriamiento. A pesar de que este método es muy común, es también el que mas daño causa al aceite, ya que induce reacciones de oxidación, de hidrólisis y de polimerización [Badui, 1999].

Otro sistema que generalmente se usa para los cítricos es el de presión, que consiste en aplicar altas presiones sobre la cáscara para obtener el aceite; en estas condiciones, el producto no se expone a temperaturas elevadas, no se daña, y se logra un líquido con características sensoriales más representativas de la materia prima correspondiente [Badui, 1999]. Su composición se caracteriza por tener alta proporción de hidrocarburos terpenoides (de 90 a 95%, principalmente monoterpenos como el limoneno) y una cantidad baja de los derivados oxigenados, que son realmente los responsables del aroma; debido a esta situación, es importante eliminar los terpenos insaturados, que son oxidables, ya que de otra manera se podrían afectar fácilmente, con lo cual se dañaría completamente el aceite [Badui, 1999].

El limoneno es el hidrocarburo más abundante en los cítricos, pero también se ha identificado en muchos aceites esenciales; es fácilmente oxidable y tiene un umbral de detección de 10 $\mu\text{g/L}$. Por su parte, el aceite de pimienta contiene también muchos monoterpenos, entre los que destacan el 3-careno, el limoneno, el felandreno y el sabineno [Badui, 1999].

Existen diversas técnicas para el desterpenado, pero las más comunes son por intercambio entre dos disolventes, con una columna de destilación molecular, o por extracción con fluidos supercríticos [Anderson, 1982]. La eliminación de los terpenos o desterpenación se puede efectuar por uno de los tres métodos siguientes: destilación fraccionada al vacío; extracción con disolventes, y cromatográficamente. El primero es el más común y se lleva a cabo a una presión reducida de aproximadamente 2 mm de mercurio, para poder destilar a una temperatura lo suficientemente baja para no causar daño térmico al aceite, con esto se reduce drásticamente el contenido de monoterpenos [Beristain *et al.* 1999]. De este manera, se logra un doble propósito: facilitar la solubilidad y por ende la manipulación de estas esencias en formulaciones acuosas por un lado, y concentrar el olor y el sabor de las mismas, lo que redundará en un mejor aprovechamiento de sus propiedades organolépticas [Anderson, 1982].

El producto desterpenado no se deteriora tan fácilmente como el original, se puede almacenar durante largo tiempo y es soluble en etanol y agua. Está constituido básicamente por sesquiterpenos, aldehídos, cetonas y otros terpenoides oxigenados, además de compuestos no volátiles como pigmentos, flavonoides y resinas [Beristain *et al.* 1999]. Bajo estas condiciones, los aceites esenciales tienen características sensoriales muy similares a la materia prima de donde provienen, pero con una potencia o intensidad hasta 100 veces mayor: por esta razón, se usan concentraciones que van de 0.01 a 0.1%, para aromatizar diversos alimentos, bebidas y perfumes. [Beristain *et al.* 1999]

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Durante el desarrollo de esta investigación, se utilizaron las siguientes sustancias:

- a) Goma de mezquite de *Prosopis* spp.
- b) Goma arábica de *Acacia Senegal*
- c) R-(+)-limoneno
- d) *n*-hexadecano
- e) Aceite esencial de naranja desterpenado (AEND-2000)
- f) Aceite esencial de naranja desterpenado (AEND-2004)
- g) Aceite esencial de naranja desterpenado (AEND-2005)
- h) Aceite esencial de naranja terpenado (AENT-2004)
- i) Agua bidestilada (grado HPLC)

La goma de mezquite (GM) fue un lote de nódulos recolectados manualmente en la Costa de Hermosillo (km. 25 carretera a Bahía Kino, en el mes de junio de 2004). La goma arábica (GA) fue una muestra auténtica de *Acacia Senegal* africana (calidad “ExSudán”) donada por el Prof. Peter A. Williams. El R-(+)-limoneno y el *n*-hexadecano fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Los aceites esenciales cítricos fueron todos proporcionados por la compañía Esencítricos de México S. A. de C. V. (Tlalneplantla, Estado de México). En todos los ensayos se utilizó agua grado HPLC.

Métodos Experimentales

Caracterización fisicoquímica de la goma de mezquite (GM)

La GM recolectada se clasificó manualmente, en base al protocolo propuesto por Córdova (2004), obteniéndose la clasificación de goma de grados GMA, GMB y GMC. Para este estudio se utilizó exclusivamente goma grado GMA; para mantener la calidad de la misma, se procedió a la molienda en fresco de dicho lote en un molino eléctrico de martillos (Weber Bros. and White, Metal Works, Inc., Hamilton, Michigan 49419, serie no. 53983), con una malla 040. Se obtuvo un molido fino con un peso total de 0.404 kg, se envasó en un recipiente ambarino-oscuro y se almacenó en congelamiento.

Humedad

Se colocaron en cantidades de 1.5 a 2 g por triplicado, las muestras de GMA en pabillos de aluminio previamente tarados, y después se colocaron en una estufa (RIOSSA mod. HS-41) a 105 °C por 5 h. El porcentaje de humedad, se obtuvo por la diferencia entre los pesos inicial y final.

Contenido de Nitrógeno total

Se realizó por la técnica de microKjeldhal, en la cual se utilizaron 0.2 g de GMA por triplicado, en un equipo microKjeldhal. Los resultados se obtuvieron en base al volumen gastado de HCl utilizado en la titulación de las muestras.

Contenido de Proteína

En esta determinación se empleo el factor de conversión 6.25, a partir del N total determinado en la muestra por microKjeldhal (Anderson, 1989).

Cenizas

Se colocaron en crisoles previamente tarados, muestras de GMA por triplicado, en cantidades que oscilaron entre 1.5 a 2 g, a las cuales se les practicó un preincinerado en una placa de calentamiento (Theromlyne mod. SP47253). El procedimiento se consideró por finalizado hasta que las muestras dejaron de emanar humo, luego se pasaron a una mufla

(Thermolyne type 15000 Furnace) a 550 °C durante 4 h. Una vez finalizado dicho período, las muestras se colocaron en un desecador para evitar resultados erróneos por humedad y una vez frías se volvieron a pesar. El porcentaje de ceniza se obtuvo por la diferencia entre el pesado original de la muestra y el peso final incinerado.

Caracterización fisicoquímica de los aceites esenciales

Las determinaciones fisicoquímicas, cromatográficas y espectroscópicas de los aceites esenciales y R-(+)-limoneno utilizados, se llevaron a cabo mediante distintas técnicas analíticas e instrumentales a fin de caracterizar en detalle su composición y propiedades.

Determinación de pH de la fracción hidrosoluble

El aceite esencial se mezcló con agua en una proporción 1:10, en un embudo de separación, agitándose vigorosamente durante 10 min. El pH de la fase acuosa, fue registrado en un potenciómetro Omega (mod. CDB-430).

Gravedad específica

Se determinaron por quintuplicado a los aceites esenciales puros, utilizando un picnómetro Kimax calibrado a 25°C y en una balanza analítica Sartorius BP121S con precisión de 0.0001 g.

Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

Los espectros se obtuvieron en un espectrómetro Nicolet Protegé 460 ESP con un software OMNIC 4.1, en un rango de 450-3999 cm^{-1} , resolución de 2 cm^{-1} y una frecuencia de láser de 15798.3 cm^{-1} . El número de corridas por experimento fue de 48, utilizándose 16672 puntos. El experimento se realizó, colocando una gota del aceite sobre un cristal de NaCl en la modalidad de transmisión para líquidos.

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

Se realizó en un equipo Varian Saturn 3 (Sunnyvale, Cal.). Se utilizó una columna de análisis DB-1 de 30 m de longitud con un diámetro interno de 0.25 mm. Para la inyección, 0.1 mL de metanol puro; una vez realizada la dilución se tomó 1 μL y se inyectó directamente en el equipo, en donde el horno de la columna hace un barrido de temperatura de 40 a 250 $^{\circ}\text{C}$, con una temperatura del inyector de 250 $^{\circ}\text{C}$ con esto manteniéndose una línea de transferencia de 280 $^{\circ}\text{C}$ y la trampa se mantuvo a 200 $^{\circ}\text{C}$. La ionización de las muestras fue por impacto electrónico.

Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (^1H - RMN) y carbono (^{13}C - RMN)

Las muestras de aceites esenciales cítricos fueron disueltas en CHCl_3-d_6 (~ 3 gotas en 3 mL de CHCl_3-d_6). Se utilizó un Espectro Bruker AM 400 (400 MHz) para realizar ^1H -RMN y AM 100 (100 MHz) para ^{13}C -RMN. Los espectros se procesaron con el programa Mestre-C (v. 3.4.0).

Preparación de emulsiones

Las emulsiones objeto de este estudio fueron preparadas a distintos volúmenes de fase (ϕ). Esto en base al tipo de estudio que se realizó; como se describirá mas adelante, los ϕ se obtuvieron por medio de la calibración de las mediciones de gravedad específica de cada aceite, del agua, de las soluciones de GM y goma arábica (GA), y de las emulsiones a distinto contenido de aceite, tal como esta indicado en la Sección de Gravedad Especifica.

Emulsiones a contenido de aceite variable

Se prepararon emulsiones con los distintos aceites, mezclando una solución de GM (o GA) con aceite esencial (o limoneno) en distintas proporciones. Para las determinaciones de tamaño de partícula se mezclaron 15.2 mL soluciones de GM (o GA) al 1% (p/p) con 0.8 mL de aceite (o limoneno) utilizando un homogeneizador Ultra Turrax (Janke and Kunkel, Alemania) operado a 8000 rpm durante 1 min.

Para la preparación se tomaron 2 mL de esta emulsión y se diluyeron con 2 mL de búfer de fosfatos (pH = 7.00) conteniendo 0.01% de azida de sodio (como conservador) y se mezcló agitando manualmente. Para las determinaciones reológicas y de microscopía electrónica de barrido (SEM), se prepararon soluciones de goma al 15% (p/p); éstas se mezclaron con los distintos aceites en proporciones de solución de goma a aceite: 19.925:0.075, 19.80:0.20, 19.65:0.35, 19.50:0.50, 19.0:1.00 ó 18.0:2.0 mL y homogeneizaron a 15000 rpm por 2 min; inmediatamente después se colocaron en el plato del reómetro previamente estabilizado a 25°C, para las determinaciones reológicas.

Emulsiones a distinta salinidad

Se prepararon emulsiones a una relación de solución de goma al 15% (p/p) a aceite 18.0:2.0 mL, a distinta concentración de NaCl (0.1, 0.01 y 0.001 M) y se homogeneizaron en idénticas condiciones que como se describe arriba. Inmediatamente después se colocaron en el plato del reómetro previamente estabilizado a 25°C, para las determinaciones reológicas.

Emulsiones a distinta temperatura

Se fabricaron emulsiones en una relación de solución de goma al 15% (p/p) a aceite 18.0:2.0 mL a temperatura ambiente en las mismas condiciones que como se describe en la Sección de Preparación de Emulsiones. Inmediatamente después se colocaron en el plato del reómetro previamente estabilizado a 20, 25, 30, 40, 50 y 70°C.

Caracterización de las emulsiones

Para el estudio de las emulsiones, se realizaron las siguientes determinaciones físicas: volumen de fase (ϕ), tamaño de partícula, reología dinámica y microscopía electrónica de barrido. Los resultados arrojados por dichas técnicas, permiten discernir y/o describir, los comportamientos gelificantes y estructurales de dichos sistemas, los cuales se describen a continuación.

Determinación del volumen de fase (φ)

Se realizó en base a las mediciones de gravedad específica (sección 2.2), de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\varphi = \frac{GE_{aq} - GE_{em}}{GE_{aq} - GE_{oil}} \quad (13)$$

donde GE_{aq} es la gravedad específica de la fase acuosa (solución de GM), GE_{em} es la gravedad específica de la emulsión y GE_{oil} es la gravedad específica de los aceites esenciales cítricos, incluyendo R-(+)-limoneno (Klemaszewski, Das, y Kinsella, 1992).

Evolución del radio hidrodinámico con el tiempo

La dependencia del radio hidrodinámico con el tiempo se estudió por medio de dispersión de luz dinámica (DLS) en un sistema correlador digital ALV-5000 (Langen-GmbH, Germany), a una temperatura controlada de 25 ± 0.1 °C. La luz es dispersada verticalmente con un láser de argón a $\lambda_0 = 632$ (30 mW), las muestras se midieron a 90° , el índice de refracción fue medido con un refractómetro (Mettler-Toledo, model RE4OD). El radio hidrodinámico, R_H , de las muestras diluidas se obtuvo por la relación Stokes-Einstein:

$$D_o = \frac{k_B T}{6\pi n R_H} \quad (14)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta, D_o es el coeficiente de difusión y n es la viscosidad del solvente. Las mediciones se obtuvieron como un promedio de tres corridas de 30 segundos cada una. Las emulsiones se almacenaron a 25 °C y se midieron diariamente durante un periodo de 7 días.

Determinaciones Reológicas

Las propiedades reológicas de todas las emulsiones, fueron estudiadas utilizando un reómetro de alta sensibilidad de deformación controlada (Rheometrics Mod. RFSII Fluids Spectrometer, Piscataway, NJ), equipado con una geometría de cono-plato truncado (ángulo del cono: 0.0397 rad, diámetro: 50 mm) y un sistema controlador de temperatura. Para prevenir el secado de las muestras, se adaptó un anillo de vidrio de ~ 60 mm alrededor de la geometría de medición, el cual se llenó con aceite de silicón de baja viscosidad. La evolución del proceso de gelificación se monitoreó en el reómetro, inmediatamente después de haber sido preparadas, midiéndose así los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') en función del tiempo (Barrido Dinámico de Tiempo, DTS), a una frecuencia y un esfuerzo de corte ($\omega = 1$ rad/s; $\gamma = 0.05$), respectivamente, durante periodos de corrida que variaron de 3000 a 6000 s.

Determinaciones de microscopia electrónica de barrido (SEM)

Las emulsiones gelificadas, se sometieron a un tratamiento de extracción del exceso de aceite con éter-anhidro, posteriormente fueron congeladas con N líquido, por último se liofilizaron. Una vez preparadas las muestras, se estudio la morfología seccional de superficie, mediante microscopia electrónica de barrido en un equipo SEM JEOL (modelo 5410 LV), con una aceleración de voltaje de 10kV a una distancia de trabajo de 15 mm. Las muestras se colocaron sobre un portamuestras de metal y se recubrierón con una capa fina de Au/Pd, con un equipo Balzers SCD 004 Sputter Coater.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de los aceites esenciales y de las emulsiones aceite-en-agua estabilizadas con GM y GA. A este efecto se realizaron diversos estudios espectroscópicos para poder discernir sobre la composición de los aceites esenciales y el efecto de ésta sobre las propiedades físicas de las emulsiones gelificadas estabilizadas con goma de mezquite. Un aspecto primordial que se aborda en el trabajo es el estudio del mecanismo de gelificación que opera en estos sistemas y de las posibles interacciones entre los componentes específicos del aceite esencial y de la goma de mezquite que intervienen en este fenómeno.

Características fisicoquímicas de la goma de mezquite

Inicialmente, se determinaron las características fisicoquímicas básicas de la GM, con el fin de tener un mejor entendimiento sobre su composición y comparar ésta con la del material utilizado en estudios previos. En la Tabla 3, se muestran los resultados de estos análisis. Los valores de los diversos parámetros estudiados reflejan que el material de este trabajo no fue distinto en su composición nativa con respecto al de otros estudios.

Características fisicoquímicas de los aceites esenciales

En la Tabla 4, se muestran los resultados de gravedad específica para los aceites esenciales cítricos con distinto grado de desterpenación y de R-(+)-limoneno. Los resultados reflejan que existen diferencias en gravedad específica (*GE*) entre los distintos aceites, la cual sigue la siguiente tendencia AEND-2000 > AEND-2004 > AEND-2005 >> AENT 2004 ~ R-(+)-limoneno. Estas diferencias están asociadas sin lugar a duda a la composición del aceite. Es de esperar que a medida que aumenta el contenido de especies polares o hidrosolubles, la *GE* del aceite es mayor. De acuerdo con esta interpretación, era de esperar que el R-(+)-limoneno exhibiera la menor *GE*, toda vez que es un compuesto puro no polar. La presencia de componentes solubles en el aceite esencial de naranja es de esperar que tenga una marcada influencia en la desestabilización de emulsiones agua-en-aceite vía el envejecimiento de Ostwald (Dickinson, 1992).

Tabla 3. Resultados de análisis proximal de goma de mezquite nativa.

	% Humedad	% N _{total}	% Proteína	% Cenizas	pH [solución 15% (p/p)]
GMN ^a	12.32 ± 0.18	0.52 ± 0.0158	3.25 ± 0.099	2.47 ± 0.065	4.603
GMN ^b	9.75 ± 0.05	0.57 ± 0.02	3.73 ± 0.13	2.61 ± 0.01	4.54

^a Parámetros determinados en el presente estudio

^b López-Franco *et al.* 2006 (Yolanda L. López-Franco, Ana M. Calderón de la Barca, Miguel A. Valdez, Martin G. Peter⁴, Sven Bahrke, Shopie Haebel, Marguerite Rinaudo, Francisco M. Goycoolea. Structural Composition of Mesquite Gum (*Prosopis velutina*) by Chromatographic Techniques and MALDI-TOF mass spectroscopy. Manuscrito en preparación para Macromolecular Bioscience)

Tabla 4. Resultados de determinaciones de pH y gravedad específica en aceites esenciales

	Gravedad específica, <i>GE</i> , (25°C)
AEND-2000	0.9127 ± 0.0004
AEND-2004	0.8935 ± 0.0011
AEND-2005	0.8776 ± 0.0014
AENT-2004	0.8469 ± 0.0041
R-(+)-limoneno	0.8404 ± 0.0001

Caracterización química de los aceites esenciales

Se llevó a cabo por distintas técnicas: GC-MS, FTIR y RMN- ^1H y ^{13}C ; esto permitió determinar los principales componentes de los aceites esenciales, a fin de poder entender que fracciones y/o compuestos específicos de éstos son los que interaccionan de manera directa con los componentes de la GM, lo cual conlleva a un proceso de gelificación, tal como se ha documentado en estudios previos (Valdez *et al.* 2005), aspecto que se aborda posteriormente en este trabajo.

A continuación se describen los resultados obtenidos para los estudios de composición química mediante las distintas técnicas ya mencionadas.

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

En las Figuras 12, 13 y 14, se muestran los cromatogramas de GC-MS de aceites esenciales de naranja desterpenados AEND-2000, AEND-2004 y AEND-2005, respectivamente. La comparación detallada de los tres cromatogramas, permite apreciar que existen picos intensos con tiempos de retención idénticos, notablemente a 28.18 (pico 1) y 29.79 min (pico 2) (Tabla 5). La intensidad del pico 1 en los aceites AEND-2000 y AEND-2005 es comparable y en ambos casos corresponde con el pico de mayor intensidad del cromatograma. En tanto que en AEND-2004, la intensidad de dicho pico equivale a ~30% de la que presenta en AEND-2000 y AEND-2005. Por su parte, la intensidad del pico 2 sigue el orden AEND-2004 > AEND-2000 > AEND-2005. Los patrones de fragmentación de masas del pico 1 (Apéndice 1) en los tres aceites fueron prácticamente idénticos ($m/z = 83, 69, 85, 41, 71, 57$), con muy ligeras variaciones en la proporción relativa de cada uno, lo que hace suponer que se trata del mismo compuesto. Un análisis detallado de las masas (m/z) de los iones de fragmentación de dicho pico, permitió inferir que corresponden con un aldehído α,β -insaturado de por lo menos 8 átomos de carbono. A su vez, el patrón de fragmentación de iones correspondiente al pico 2 también fue idéntico entre los tres aceites. En este caso, el patrón de fragmentación de iones indica que presumiblemente se trate de un compuesto tipo aldehído insaturado.

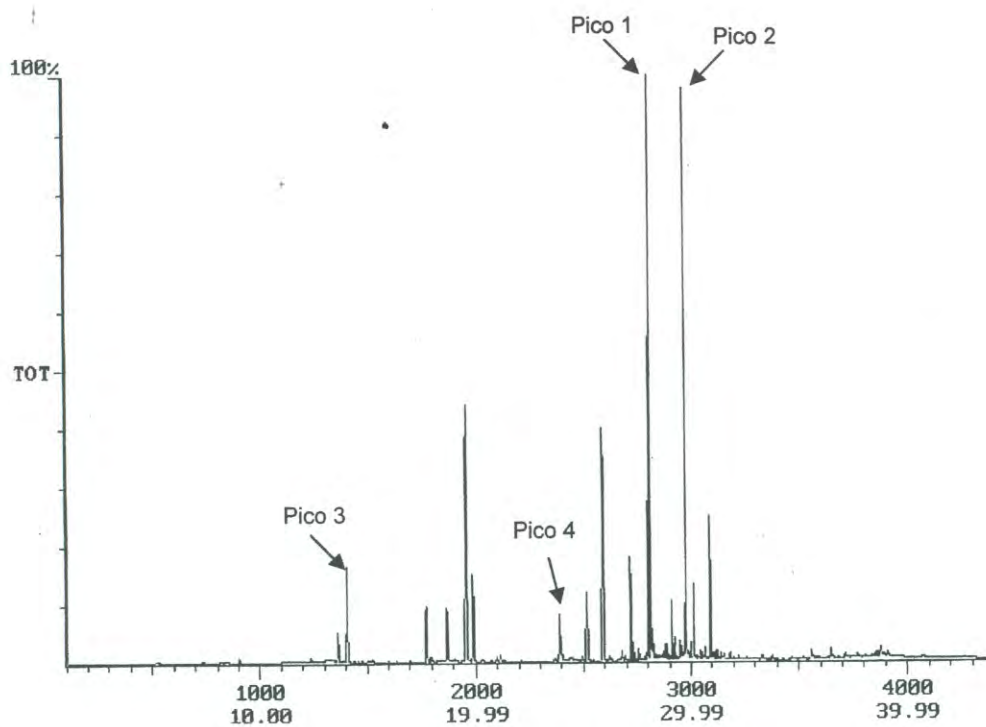


Figura 12. Espectro GC-MS para AEND-2000

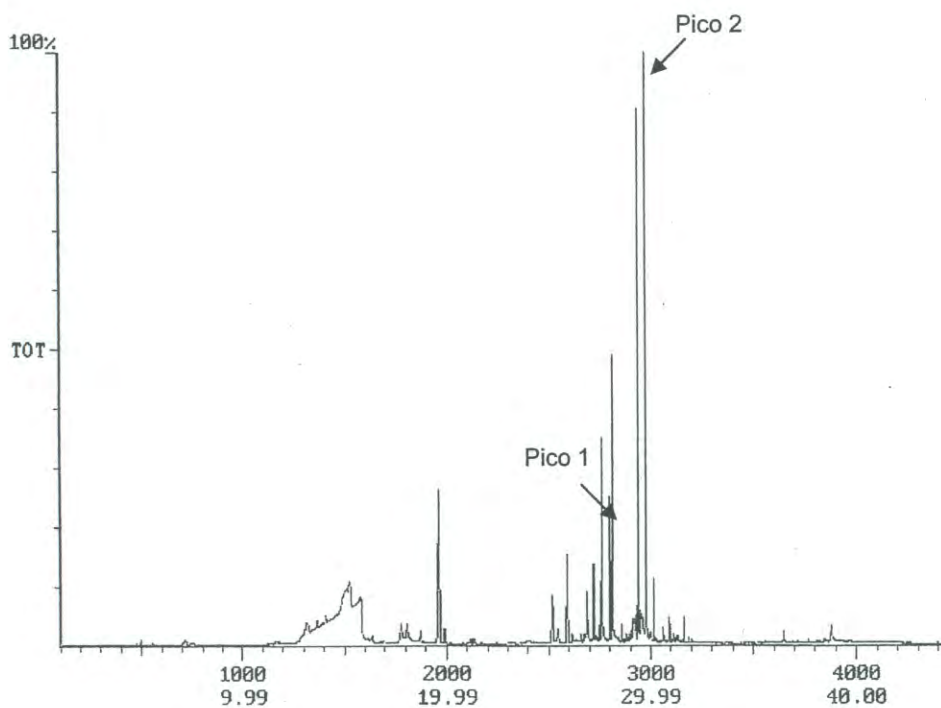


Figura 13. Espectro GC-MS para AEND-2004

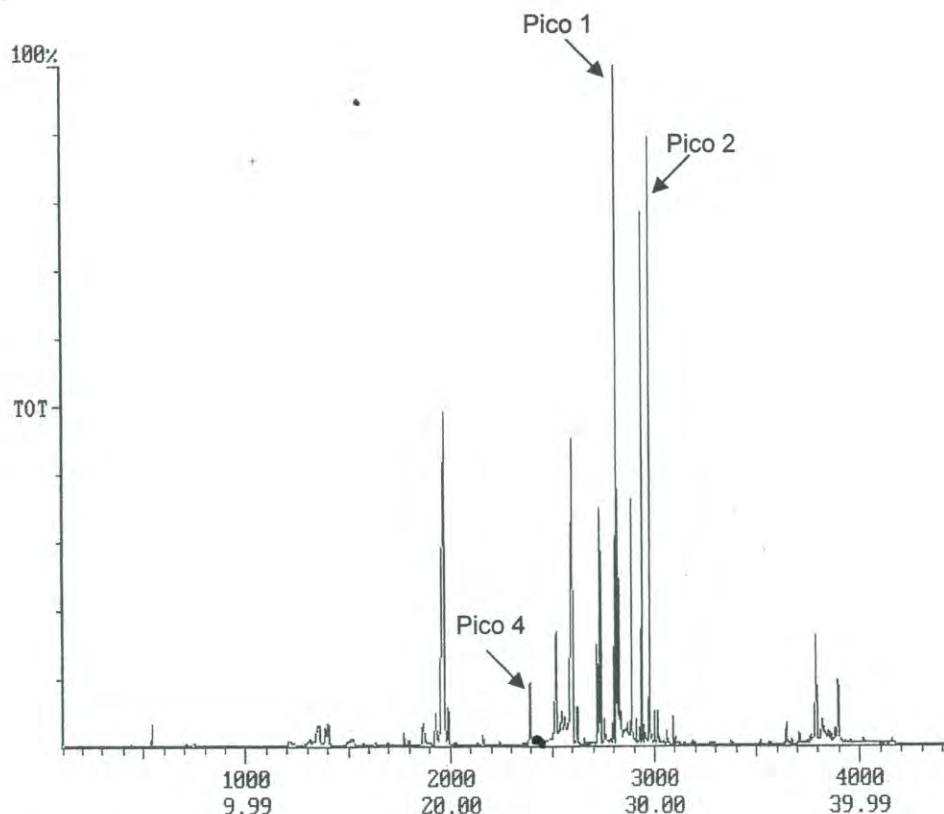


Figura 14. Espectro GC-MS para AEND-2005

El hecho de que el tiempo de retención correspondiente al compuesto asociado al pico 2 sea ligeramente mayor al del pico 1, indica que se trata de un compuesto menos polar, toda vez que la naturaleza química del material de la fase estacionaria (columna DB-1) es de carácter no polar. Es interesante que en AEND-2000 además de los picos 1 y 2, se advierte también la presencia de un pico que eluye a 14.09 min (pico 3). El análisis del patrón de fragmentación de iones correspondiente a dicho pico indica que se puede tratar también de un compuesto de tipo aldehído con instauraciones α , β -, pero de substancialmente menor punto de ebullición y/o polaridad. Vale la pena enfatizar que únicamente en AEND-2000 se observa la presencia de este pico. Un cuarto pico de baja intensidad (pico 4) con tiempo de retención centrado a 24.10 min, se detectó únicamente en AEND-2000 y AEND-2005, y no en AEND-2004. El patrón de fragmentación de iones correspondiente a este pico ($m/z = 41, 55, 69, 56, 70, 83$) y se puede asignar a un compuesto tipo aldehído alifático.

Tabla 5. Tiempos de retención y patrones de fragmentación de masas de los picos predominantes de los cromatogramas de GC-MS obtenidos para los aceites esenciales de naranja y R-(+)-limoneno.

Aceite	Tiempos de retención (min)	m/z
AEND-2000		
Pico 1	28.18	83, 69, 85, 41, 71, 57
Pico 2	29.79	81, 41, 42, 69, 80, 95
Pico 3	14.09	41, 43, 56, 69, 55, 44, 57, 42
Pico 4	23.90	41, 55, 56, 69, 70, 43, 83, 71
AEND-2004		
Pico 1	28.12	83, 69, 41, 85, 70, 57
Pico 2	29.79	81, 41, 43, 69, 80, 93
AEND-2005		
Pico 1	28.16	83, 69, 85, 41, 70, 55
Pico 2	29.79	81, 41, 43, 69, 80, 93
Pico 4	23.93	41, 55, 56, 69, 70, 43, 83, 71
AENT-2004		
Pico 5	15.50	136, 77, 90, 135, 78, 121
R-(+)-limoneno		
Pico 5	15.50	81, 93, 136, 67, 107, 121

Los resultados de los análisis de GC-MS en los aceites de naranja desterpenados, sugieren consistentemente la presencia de compuestos tipo aldehído alifático que dan origen a picos en GC-MS, cuyos tiempos de retención y patrones de fragmentación difieren sólo ligeramente, debido a variaciones estructurales muy sutiles (p.ej. estereoisomería, número de insaturaciones y/o átomos de carbono).

En cuanto al aceite AENT-2004 (Figura 15), es posible apreciar que su cromatograma es notablemente distinto al del resto de los aceites en cuestión. Así lo refleja la presencia de una serie de picos a tiempos de retención situados en el rango de 13.00 a 16.00 min, los cuales no se observan en los aceites desterpenados. Nótese el predominio de un pico con tiempo de retención de ~15.50 min. A su vez, en la región 19.00 a 35.00 min se observan un gran número de picos, que en general puede decirse que coinciden con los de los aceites desterpenados, aunque con mucha menor intensidad. Todo lo cual concuerda con el hecho de que el proceso de desterpenado conlleva a la desaparición de los compuestos asociados a picos de tiempos de retención de 13.00 a 16.00 min (Figuras 12-14), los cuales presumiblemente son de tipo terpenoide. El análisis del patrón de fragmentación de iones ($m/z = 81, 93, 136, 67, 107, 121$) del pico predominante a tiempo de retención 15.50 min, reveló que se trata del compuesto limoneno, monoterpene predominante en el aceite esencial de naranja y en la mayoría de los aceites esenciales cítricos (Badui, 1999). En acuerdo con esta conclusión, el cromatograma de R-(+)-limoneno puro (Figura 16), reveló la presencia de sólo un pico con tiempo de retención (15.50 min) y patrón de fragmentación de iones (Tabla 5) muy similar a los del pico predominantemente encontrado en AENT-2004.

Aunque el análisis exhaustivo del resto de los picos de los cromatogramas de GC-MS de los aceites analizados escapa al objetivo de esta tesis, es importante subrayar que las diferencias en composición química evidenciadas entre los distintos aceites estudiados, tuvieron un profundo efecto sobre el comportamiento y características físicas de las emulsiones aceite-en-agua con goma de mezquite en solución acuosa, tal como se discute en secciones posteriores de esta tesis.

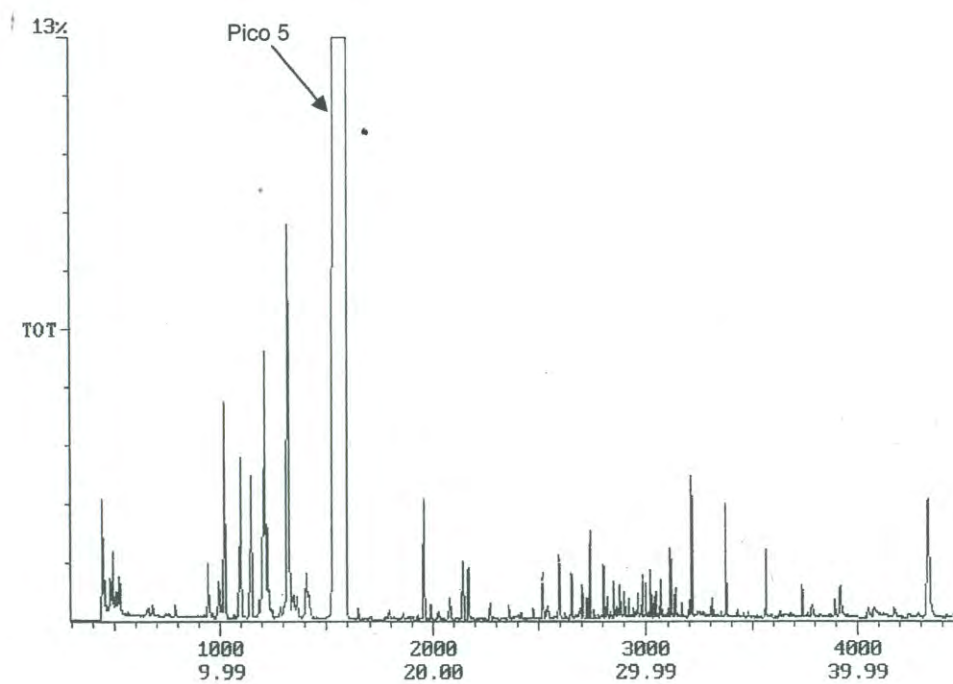


Figura 15. Espectro GC-MS para AENT-2004

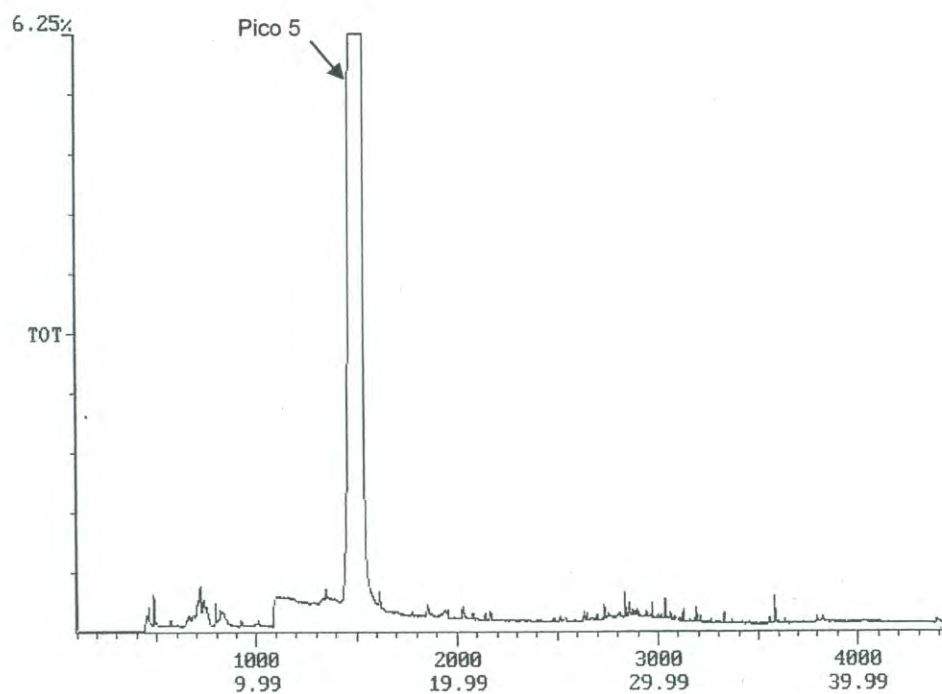


Figura 16. Espectro GC-MS para R-(+)-limoneno

No obstante, vale la pena adelantar que los aceites AEND-2000 y AEND-2005 fueron los únicos que indujeron la gelificación de las emulsiones, de aquí la importancia de conocer en mayor detalle aspectos de composición química en particular de estos aceites, sobretodo de aquellos aspectos que los diferencian del resto.

Espectroscopia de FTIR, RMN - ^1H y ^{13}C

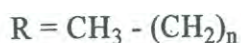
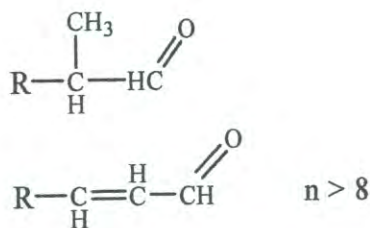
A fin de confirmar las diferencias en composición química inferidas a partir de los análisis de cromatografía GC-MS, se registraron espectros de FTIR en el modo de transmisión (Apéndice 2) y espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C (Apéndice 3) en los aceites esenciales de naranja estudiados. A diferencia de los análisis de GC-MS en espectroscopia de FTIR y en RMN, los espectros registrados son el resultado de la contribución conjunta de los distintos compuestos presentes. Estos análisis se discuten únicamente para los aceites esenciales de naranja desterpenados, por su importancia para los objetivos del trabajo.

El análisis de las características espectrales de FTIR confirmó la presencia de compuestos tipo aldehído en AEND-2000, AEND-2004 y AEND-2005, que dan origen a dos bandas débiles centradas a 2855 y 2729 cm^{-1} , asignadas a vibraciones de estiramiento $\nu_{\text{as}}\text{C}=\text{O}$; se distingue además una banda de intensidad media a $\sim 1676 \text{ cm}^{-1}$ asociada a $\nu_{\text{as}}\text{C}=\text{O}$ para aldehído conjugado. Sin embargo, únicamente en AEND-2000 y AEND-2005, se aprecia, además de las anteriores, una banda a $\sim 1723 \text{ cm}^{-1}$ que se asigna a vibraciones $\nu_{\text{as}}\text{C}=\text{O}$ en cadenas de aldehído alifáticas. Lo que confirma que exclusivamente en estos dos aceites existe una o varias especies químicas de aldehídos alifáticos conjugados con características estructurales muy similares, las cuales presumiblemente están asociadas a los picos 1 y 4 de los cromatogramas de GC-MS (Figuras 12 y 14).

Por otro lado, en lo que concierne a los espectros de los aceites obtenidos por RMN- ^1H , se confirmó la presencia del grupo aldehído en distintas formas de sustitución en los siguientes desplazamientos: protones asignados a un grupo de aldehídos con desplazamientos químicos a campo bajo ($\delta = 9.7, 9.96$ y 9.99 ppm), lo que sugiere que existen por lo menos tres tipos de aldehídos químicamente distintos.

El protón de la cadena alifática a la que está unida el aldehído que le corresponde un δ a campo mas alto y el protón del aldehído conjugado desplazado a campo un poco mas bajo, debido a la resonancia de este con los (C=C) de la cadena hidrocarbonada; a campo mas alto, $\delta \sim 5.9$ ppm, se localizan los protones correspondientes al grupo etileno (R-CH=CH-R) que están constituyendo a aldehídos conjugados (α , β - insaturados). En cuanto a los protones del grupo etileno (R-CH=CH-R) adyacentes al carbonilo (C=O) del grupo funcional aldehído, les corresponde un $\delta \sim 5.8$ ppm; en tanto que a los no adyacentes localizados en la cadena principal resuenan a $\delta \sim 2.0$ ppm.

Por último, los protones de grupos metilo (R-CH₃) ramificados en la cadena lineal que les corresponde un $\delta = 1.71$ ppm y las señales a $\delta = 1.06$ ppm que se asignan a protones de grupos metilo terminales (R-CH₃) que están enlazados a la cadena alifática. En concordancia con la evidencia de los espectros de RMN-¹H, se obtuvieron los correspondientes a RMN-¹³C (Apéndice 3). Las señales se asignaron de acuerdo a los siguientes criterios: picos a $\delta \sim 203$ y 190 ppm se asignan a grupos carbonilo (C=O) de aldehídos alifático isoalquílicos y α, β insaturados, respectivamente; a su vez, las señales localizadas en $\delta \sim 125$ y 161 ppm, se asignan a etilenos conjugados con aldehídos (α , β - insaturados); y aquellas a campo alto ($\delta \sim 33.0, 24.0, 16.8, 16.7$ ppm) que corresponden a carbonos alifáticos mas protegidos cercanos al extremo opuesto del grupo funcional polar; a ~ 14.0 ppm se observan también señales intensas asignables a metilenos. Por tanto, de los análisis cromatográficos y espectroscópicos se puede concluir que en los aceites de naranja desterpenados existen al menos dos tipos de aldehídos, cuyas estructuras genéricas serían:



Resultados de preparación y caracterización de las emulsiones

Evolución del radio hidrodinámico con el tiempo

Una vez conocida la composición química de los distintos aceites utilizados en este trabajo, se procedió a evaluar el efecto de las propiedades químicas de éstos sobre las características de estabilidad de las emulsiones a base de GM. A este fin, se utilizó dispersión de luz dinámica (DLS) para caracterizar la distribución del tamaño de partícula (radio hidrodinámico) y su evolución con el tiempo en emulsiones obtenidas a partir de soluciones diluidas de GM (1% p/p). La estabilización coloidal depende de que el tamaño de radio promedio de los coloides y/o partículas que componen a un sistema de emulsión, se mantenga a través del tiempo. Los resultados se muestran en las Figuras 17 a y b en donde se muestra el comportamiento del radio hidrodinámico (R_H) con el tiempo para un volumen de fase de 0.040 y 0.024, respectivamente. La dependencia del tamaño de gota con el tiempo del tamaño de gota se muestra en la Figura 18. La inspección de dicha Figura indica que las emulsiones a base de GM y AEND-2005 fueron marcadamente más estables que aquellas formadas con R-(+)-limoneno, n-hexadecano. Asimismo, se aprecia que la emulsión a base de GA y R-(+)-limoneno fue más estable que aquella formada a base de GM y R-(+)-limoneno. Aunque ambas mostraron un crecimiento progresivo del tamaño de partícula a través del tiempo, lo cual es atribuible al envejecimiento de Ostwald.

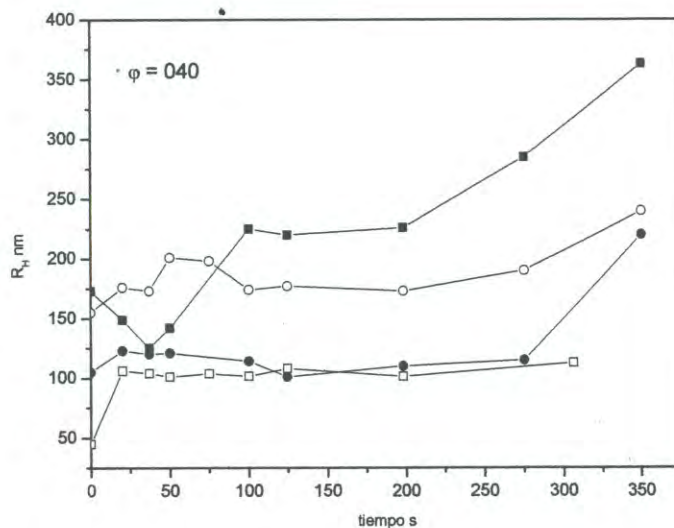
La influencia de la naturaleza de la fase aceite en el comportamiento emulsificante de la GA ha sido investigado por Dickinson *et al.* (Dickinson, Galazka & Anderson 1991). Ellos reportan la dependencia de la distribución de tamaño de gota en emulsiones aceite-en-agua fabricadas con n-hexadecano, D-limoneno y aceite de naranja, y encontraron diferentes tendencias en la coalescencia de las gotas de n-hexadecano, y solo una tendencia en D-limoneno y aceite de naranja, causado principalmente por el proceso de envejecimiento de Ostwald (Dickinson, 1986). En un estudio paralelo a este trabajo de tesis (Valdez, *et al.* 2005), se demostró la evidencia del proceso de envejecimiento de Ostwald en emulsiones preparadas con D-limoneno y GM.

El comportamiento de las emulsiones con aceite de naranja es bastante estable a través del tiempo, por lo que se puede discernir en cuanto a su estabilidad ante el envejecimiento de Ostwald, debido al hecho de que el aceite de naranja estabilizadas con GM es, en general, menos soluble en agua con respecto al R-(+)-limoneno. El control del proceso de envejecimiento de Ostwald fue demostrado por Welin-Berger y Bergenstahl (2000) por medio de adición de aceite poco soluble en emulsiones produciendo gotas de aceite estables durante largos periodos de tiempo.

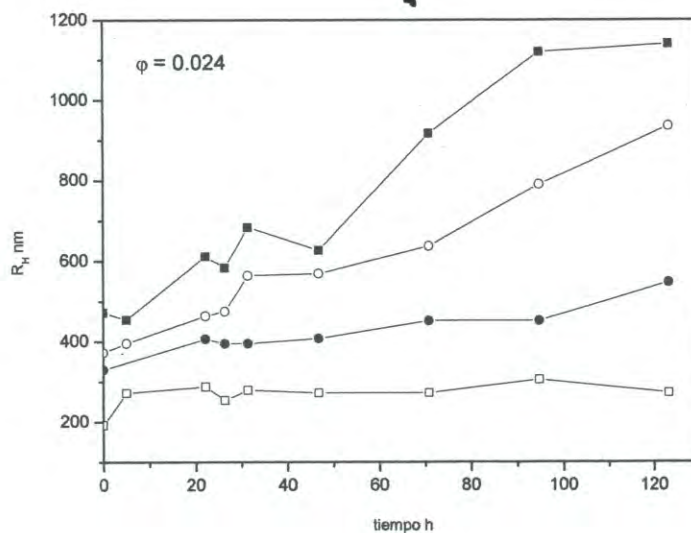
Alternativamente, cuando ocurre un aumento de la viscosidad de una emulsión debido a un incremento efectivo de la fracción de volumen en las gotas, provoca que se generen fuerzas repulsivas y/o atractivas entre ellas, lo cual puede resultar en una transición sol-gel, que pudiera contribuir al envejecimiento de Ostwald. En un trabajo en conjunción con este estudio (Valdez, *et al.* 2005), se evidenció que emulsiones de aceite de naranja estabilizadas con GM, exhibieron una verdadera transición reológica líquido-sólido. La dependencia con el tiempo de emulsiones diluidas, obtenidas a un volumen de fase de 0.024, se muestra en la Fig. 17b.

Es de hacer notar que en todas las emulsiones, se manifiesta un comportamiento lineal, excepto en el caso de aceite de naranja, el cual muestra un valor constante. Chanami *et al.* (2002), también obtuvo en algunos casos un comportamiento lineal con algunos emulsificantes y distintos aceites; entre otros, un comportamiento cúbico con el tiempo cuando el aceite se solubilizaba.

En la Figura 18, se demuestra la primera y la última distribución de tamaños de gota para aceite de naranja y R-(+)-limoneno ($\phi = 0.024$), ambos estabilizados con GM. Se observó una distribución mas amplia para el caso de gotas de R-(+)-limoneno, muy similar al encontrado por Dickinson (1986). En el caso de gotas de aceite de naranja, se notó una forma de distribución y rangos de tamaño de partícula, sin mucha variación significativa después de 100 h.



a)



b)

Figura 17. Evolución en función del tiempo, del radio hidrodinámico promedio en emulsiones diluidas aceite-en-agua por DLS. Las emulsiones con AEND-2005 (cuadros vacíos), R-(+)-limoneno (cuadros rellenos) y *n*-hexadecano (círculos vacíos), fueron estabilizadas con GM al 1 % (p/p). Emulsiones fabricadas con R-(+)-limoneno (círculos rellenos) fueron estabilizados con GA al 1 % (p/p). a) representa a la fracción de volumen del aceite al $\phi = 0.040$ y b) corresponde a un volumen de fase del aceite $\phi = 0.024$.

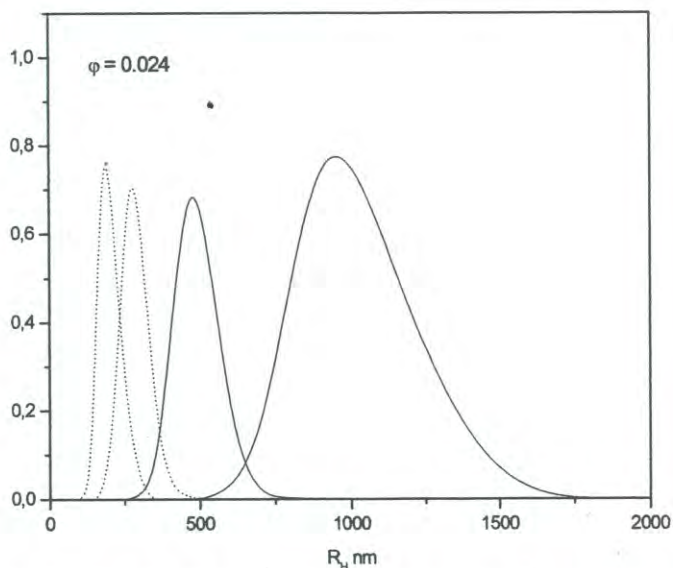


Figura 18. Medición de distribución del radio hidrodinámico en DLS, para emulsiones AEND-2005 y R-(+)-limoneno, las cuales fueron estabilizadas con solución de GM 1%. Las líneas sólidas corresponden a las mediciones de 1 y 120 horas de emulsiones preparadas con R-(+)-limoneno; las curvas punteadas corresponden a las emulsiones fabricadas con AEND-2005, que fueron medidas en los mismos intervalos de tiempo. El volumen de fase utilizado fue de 0.024.

En la Figura 19, se presentan la apariencia de las distintas emulsiones fabricadas con aceites esenciales cítricos de distinta naturaleza (incluidos aceite esencial de limón, tangerina, etc.), todos estabilizados con GM 15% (p/p) a una misma concentración y aun volumen de fase, $\varphi = 0,90$. En la Figura 20 a y b se presenta una comparación mas detallada entre el aspecto de la emulsión fabricada con AEND-2000 y con AENT-2004. Es de hacer notar que la emulsión con AEND-2000 presenta características de tipo sólido, toda vez que no cede al flujo. En tanto que la emulsión con AENT-2004 si lo hace. En los estudios previos anteriormente citados (Acedo, 2004), se había documentado la capacidad de la GM de formar emulsiones gelificadas con aceite esencial de naranja. Sin embargo, los resultados del presente estudio, revelaron desde un inicio, que este fenómeno no lo presentaban todos los aceites de cítricos, sino únicamente dos los lotes de aceite esencial de naranja desterpenado, a saber AEND-2000 y AEND-2005 (no incluido en la imagen).

Lo anterior dio pie a investigar, por un lado, el mecanismo subyacente a una posible interacción específica entre la GM y ciertos componentes del aceite esencial de naranja que no son comunes a todos estos aceites. Y por otro, a conocer en mayor profundidad las propiedades de gelificación con énfasis al papel del volumen de fase de aceite, la salinidad y la temperatura.

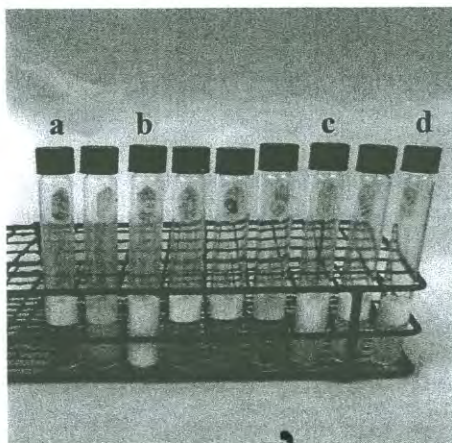


Figura 19. Imagen de emulsiones de distintos aceites esenciales cítricos-en-solución GMN 15%, a) AENT-2004, b) AEND-2000, c) R-(+)-limoneno, d) AEND-2004; a una concentración 18.0:2.0 mL

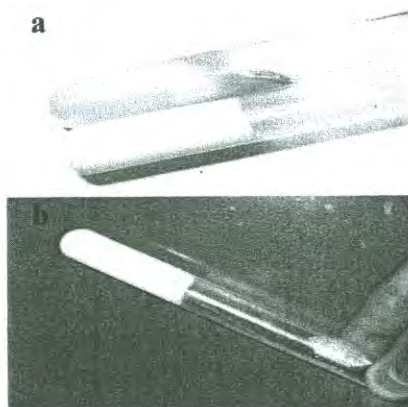


Figura 20. Emulsiones fabricadas en la misma concentración 18.0:2.0 mL, se observa una clara diferencia en estabilidad frente al cremado, a) observar la estabilidad del tubo que contiene la emulsión AEND 2000 + GM 15% (p/p); b) emulsión AEND-2000 con GM (15%) a 18.0:2.0 mL, la cual presenta una notable estabilidad y gelificación a través de todo el sistema

Determinaciones reológicas de las emulsiones

Una vez que fue demostrado el fenómeno de gelificación en emulsiones formadas con AEND-2000 y AEND-2005 a base de GM, se procedió a caracterizar la cinética de formación de gel y las propiedades mecánicas utilizando reología oscilatoria de baja deformación. El emulsificante (surfactante o polímero) es necesario para estabilizar una emulsión manteniendo una solución monodispersa de las gotas para evitar fenómenos de desestabilización tales como coalescencia, que puede inducir a interacciones atractivas que afectan a las propiedades reológicas de las emulsiones. La Figura 21, ilustra el curso de la evolución de G' y G'' con el tiempo para emulsiones de aceite de naranja-en-agua, estabilizadas con GM a distintos volúmenes de fase, ϕ . Inicialmente, los sistemas se comportan como fluidos viscosos, ya que el modulo de pérdida, G'' , se encontraba por encima del modulo viscoso, G' , con altos valores de $\tan \delta$. Después de cierto tiempo, G' comienza a incrementarse rápidamente y eventualmente excede a G'' . A tiempos largos, tanto G' , G'' y $\tan \delta$, alcanzan valores constantes.

En el presente estudio el t_c fue definido como el punto donde se cruzaron G' y G'' , de acuerdo a estudios previos (Tung y Dynes, 1982). En la Figura 21, se aprecia claramente que entre menos proporción de aceite ($< \phi$) exista en la emulsión, mayor será t_c , manifestándose también en una red gelificante mas débil. Una vez demostrado que las emulsiones en cuestión formaban geles, fue de suma importancia establecer el criterio para determinar el punto crítico de gel (t_c). Es decir, el punto en donde el sistema que inicialmente era un líquido viscoso, comienza a comportarse como un gel (formación de red gelificante) o se encuentra en el umbral de percolación (ej.; el instante cuando el sistema se asume que comienza a formarse el primer racimo de masa molecular infinita).

El comportamiento de $\tan \delta$ con el tiempo es también característico de un líquido viscoelástico a tiempos cortos (alrededor de 90°) y disminuye hacia el valor característico de un sólido elástico (cerca de 0°) a tiempos largos. En la literatura algunos autores consideran que el punto crítico de gelificación es el tiempo en donde la elasticidad (G') aparece por primera vez (t_c) y es en donde se puede utilizar la teoría de percolación.

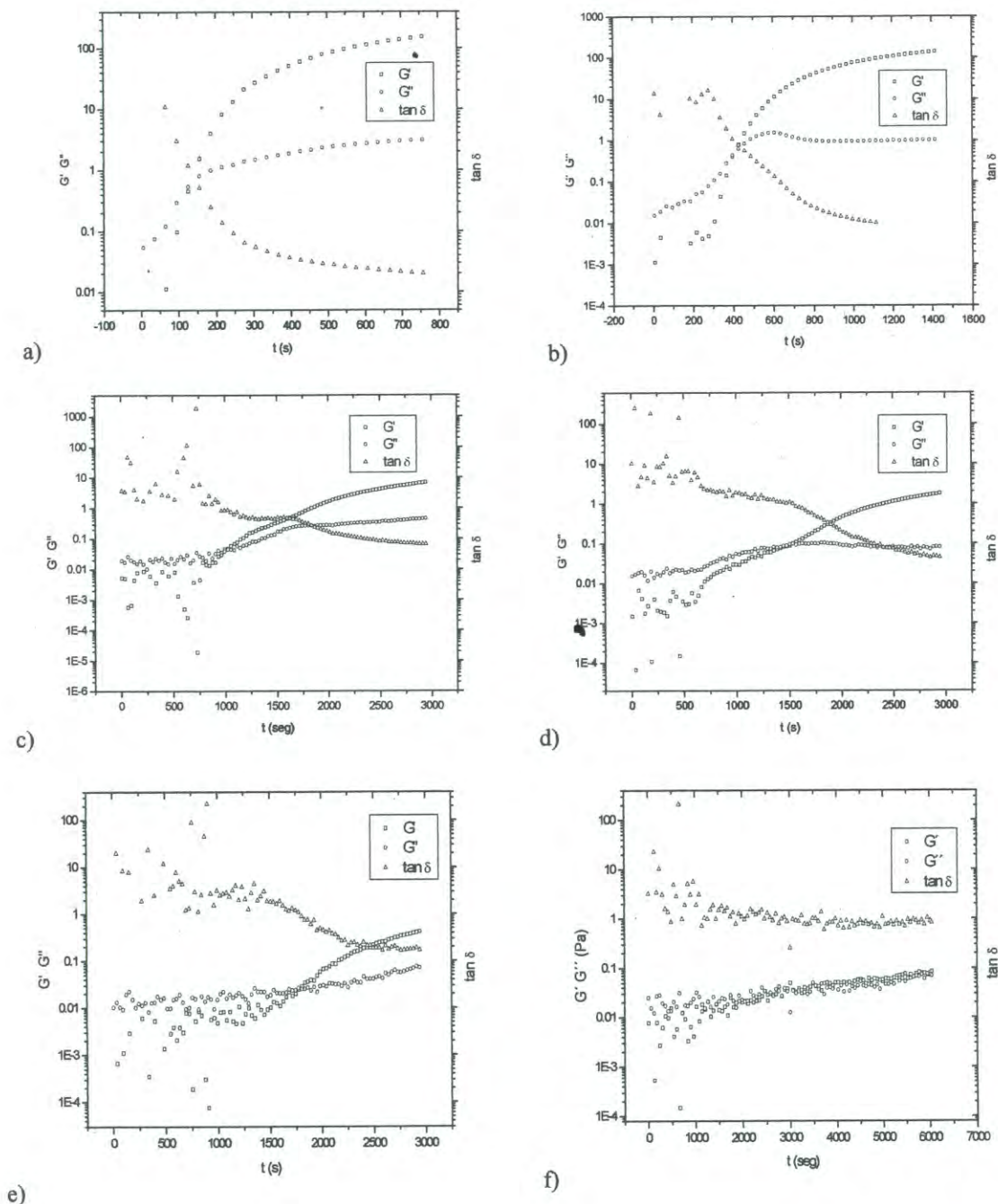


Figura 21. Evolución en función del tiempo del modulo de almacenamiento, G' , modulo de pérdida, G'' , y $\tan \delta$, para emulsiones AEND-2000 + Solución 15% GM; donde se muestra, el t_c cuando ocurre el cruzamiento de G' y G'' , así como el índice de carácter líquido $\tan \delta = (G''/G')$; [(a) $\phi = 0.090$, (b) 0.050, (c) 0.030, (d) 0.024, (e) 0.018 y (f) 0.013; 25°C; $\gamma = 20$; $\omega = 5$ rad/s]; nótese que el t_c va de menor a mayor tiempo respectivamente; esto sugiere que existe una interacción altamente específica entre componentes del AEND y de GM, la cual gobierna el proceso de gelificación.

En la Figura 22, se muestra el barrido de frecuencia realizado en el mismo experimento correspondiente a la Figura 22a. En dicho espectro mecánico se advierte que a lo largo de casi todo el intervalo de frecuencias, los valores del módulo de almacenamiento, G' , exceden a los del módulo de pérdida, G'' , y la viscosidad compleja, η^* , presenta una variación inversa con la frecuencia con una pendiente cercana a -1. Todas estas características son diagnósticas inequívocas de la formación de una red de gel. A su vez, la Figura 23 incluye la variación de los módulos G' y G'' con la deformación, γ , en la que es posible apreciar que en el rango de 0.5 a 100% de deformación, el sistema exhibe una respuesta dentro del rango viscoelástico lineal.

De manera contrastante, en la Figura 24, se presenta la evolución de G' y G'' con el tiempo para una emulsión preparada con AEND 2000, que esta vez fue esta estabilizada con GA 15%, en donde no se presentó un comportamiento gelificante. De hecho, el cruzamiento de los módulos G' y G'' , no ocurrió y el parámetro $\tan \delta$ al no variar, indica que la emulsión no cambió su carácter de líquido.

En la Figura 25, se muestran los resultados de la dependencia de t_c en función de φ , y se incluye la curva de regresión no-lineal del modelo ajustado, a partir del modelo cinético de la ecuación de Ross-Murphy (1991):

$$t_c = \frac{k}{\left(\left(\frac{\varphi}{\varphi_0} \right)^{n'} - 1 \right)^p} \quad (15)$$

Este modelo fue originalmente propuesto para la determinación de la dependencia de t_c en función de la concentración de polímero, C . El modelo se modificó para este estudio, reemplazándose la concentración, C , por el volumen de fase, φ .

De esta forma fue posible establecer el valor del volumen de fase crítico, $\varphi_0 (= 0.0152)$, por debajo del cual no se presenta la gelificación. Los valores del resto de los parámetros del modelo se presentan en la Tabla 6.

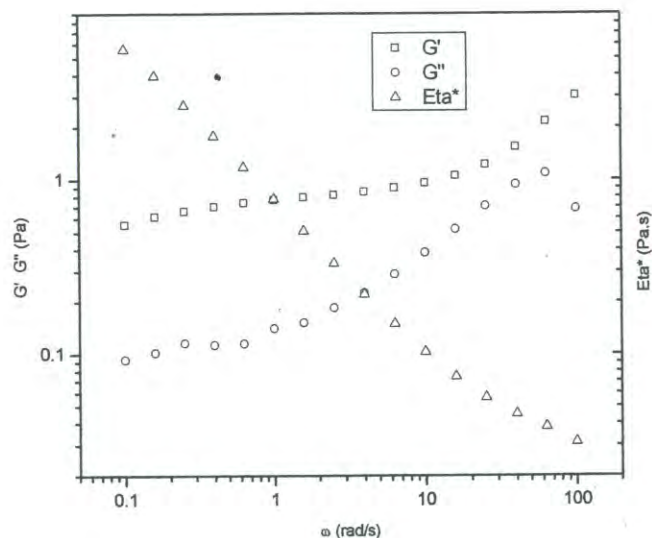


Figura 22. Dependencia de la tensión con la frecuencia del modulo de almacenamiento, G' , y el modulo de perdida, G'' , de una emulsión AEND 2000-en-agua estabilizada con GM 15% ($\varphi = 0.090$, $25\text{ }^\circ\text{C}$, $\gamma = 2.0$)

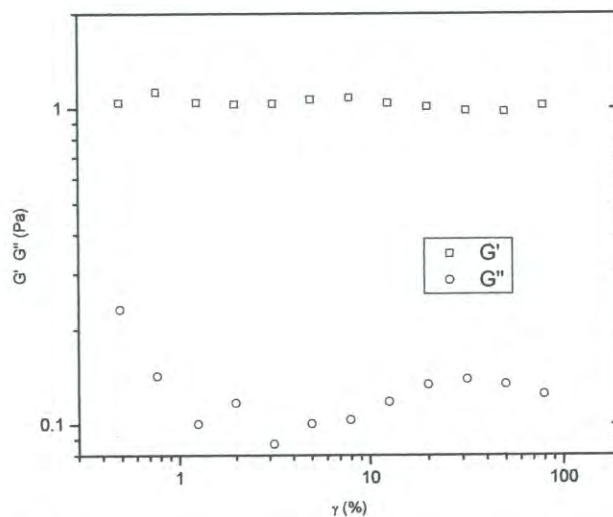


Figura 23. Dependencia de la tensión del modulo de almacenamiento, G' y el modulo de perdida, G'' , de una emulsión AEND 2000-en-agua estabilizada con GM 15% ($\varphi = 0.090$, $25\text{ }^\circ\text{C}$, $\omega = 5\text{ rad/s}$)

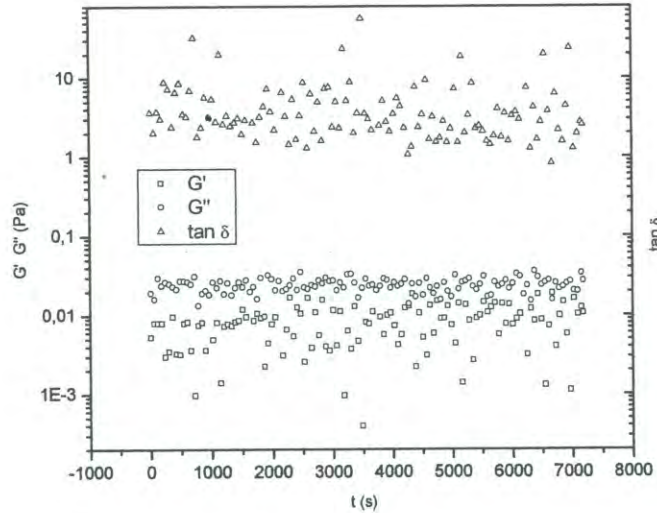


Figura 24. Evolución en función del tiempo del módulo de almacenamiento, G' , módulo de pérdida, G'' , y $\tan \delta$, para una emulsión AEND-2000 + Solución 15% GA; donde no se evidencia, el t_c debido a que nunca se entrecruzaron los módulos G' y G'' , y el índice de carácter líquido $\tan \delta = (G''/G')$ se mantuvo constante en la región líquida; [$\varphi = 0.090$, 25°C , $\gamma = 20$, $\omega = 5 \text{ rad/s}$]

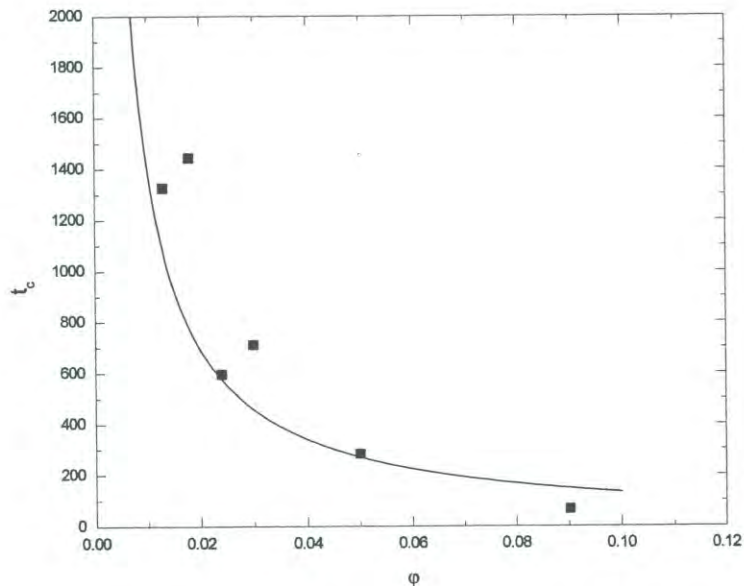


Figura 25. Tiempo crítico de gelificación, t_c , en dependencia con φ para emulsiones AEND-2000 + GM 15%, la línea sólida representa la mejor curva de regresión no-lineal para el modelo cinético de Ross-Murphy (Ec.15).

Tabla 6. Parámetros de regresión no-lineal del modelo cinético de gelificación de Ross-Murphy (Ec. 15) para emulsiones gelificadas de AEND 2000-en-agua estabilizadas con GM 15%, a volumen de fase, φ , variable.

Emulsión AEND-2000 + GM 15% a	
distinto φ	
n'	1.265
k	911.607
φ_0	0.0152
p	0.807
Coeficiente de correlación (R)	0.94

En la Figura 26 está representada la variación del módulo de almacenamiento, G' ($2t_c$), en función del φ ; en donde se aprecia que existe una tendencia monótonica para valores de $\varphi > 0.3$; sin embargo, a valores inferiores de φ se observan fluctuaciones de G' . En otros sistemas de geles de biopolímeros es bien conocido que existe una variación exponencial entre $G' \propto C^2$. Es interesante anotar que en nuestro sistema, el comportamiento de G' en función del volumen de fase es comparable al observado con respecto a la concentración.

Dicha dependencia de G' con respecto a la concentración de aceite representada por el φ , se ha observado de manera teórica por medio de una amplia gama de aproximaciones de modelos de geles de biopolímeros, desarrollados por Clark y Ross-Murphy, dichos modelos describen las características básicas de la gelificación polimérica.

La disminución del carácter líquido [$\tan \delta = (G''/G')$] de las emulsiones con AEND-2000 + GM 15% en función del aumento en la concentración de aceite representada por el volumen de fase, φ , está representada en la Figura 27. En dicha figura se puede apreciar una disminución de la viscosidad a medida que aumenta φ . Es interesante hacer notar que a valores de $\varphi \geq 0.05$, el valor de $\tan \delta$ parece alcanzar su mínimo. Esto coincide también con los geles de máxima rigidez mecánica, según lo indican los valores de G' .

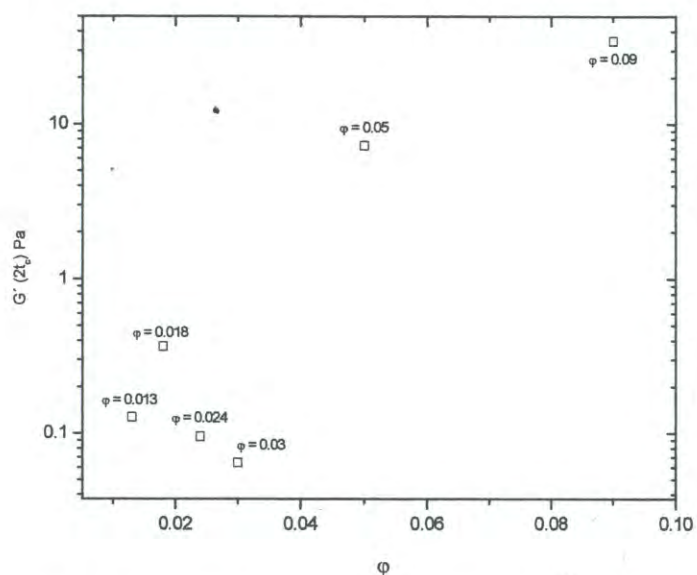


Figura 26. Variación del módulo de almacenamiento, G' , en función del ϕ ; para las emulsiones correspondientes a la Figura 22 ($25^{\circ}C$, $\gamma = 20$, $\omega = 5$ rad/s)

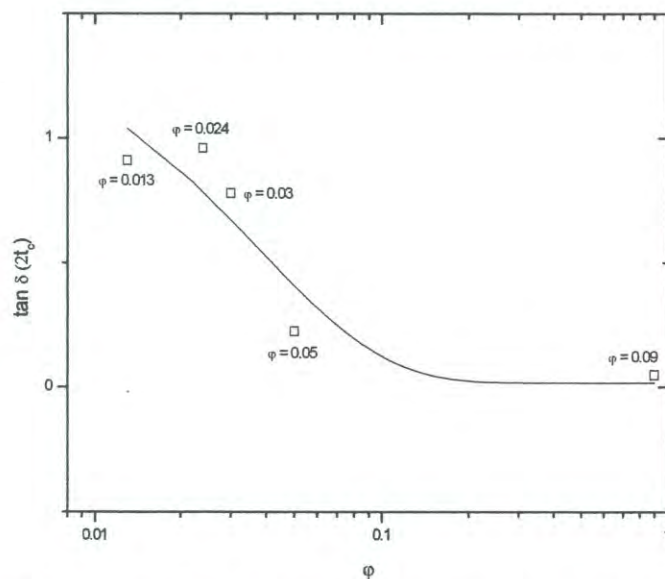


Figura 27. Evolución del índice de carácter líquido $\tan \delta = (G''/G')$ en función de ϕ , para emulsiones AEND-2000 + GM 15% correspondientes a la Figura 22.

Una posible interpretación a estos resultados es que a medida que aumenta el volumen de fase, el sistema alcanza su nivel de empaquetamiento cercano, de forma tal que la contribución de partículas de aceite por encima de dicha fracción crítica de empaquetamiento a las conexiones de la red gelificada, va cesando. Bajo este argumento, se puede postular que la red de gel esta construido por partículas (gotas) de aceite de naranja, interconectadas entre sí por componentes altamente específicos del aceite, los cuales de alguna forma se enlazan a otros componentes de la goma de mezquite adsorbida en la interfase aceite/agua, tal como se ilustra en la Figura 28.

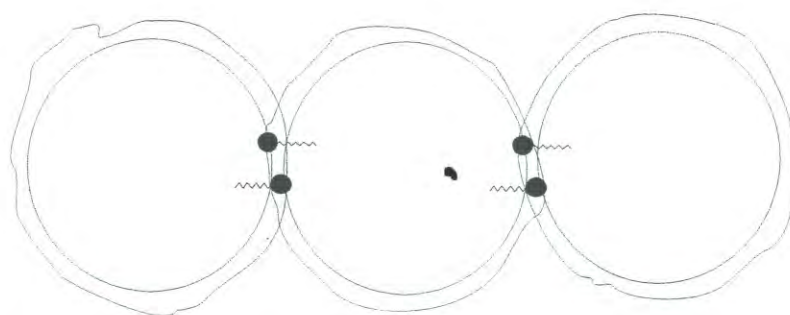


Figura 28. Representación esquemática del tipo de uniones coloide-coloide, debido a grupos funcionales de componentes del aceite con grupos de la capa de goma de mezquite.

Se propone que el (los) compuesto(s) responsable(s) establecer las uniones entre las gotas de aceite, corresponden a aldehídos identificados exclusivamente en los aceites AEND2000 y AEND2005 por medio de métodos cromatográficos y espectroscópicos. Dichos compuestos tienen capacidad para enlazarse a grupos amino libres, factiblemente presentes en las fracciones proteicas de la GM. Por su parte, la tendencia al envejecimiento de Ostwald demostrada que opera en estos sistemas (Figura 17), debe contribuir a que las especies químicas propuestas tiendan a migrar hacia a la interfase, con la consecuente disminución entrópica y contribuyendo así al fenómeno de gelificación.

Basándose en lo anterior, se desarrolló un modelo teórico propuesto para explicar la formación de una red tridimensional gelificada, construida a partir del empaquetamiento de partículas coloidales esféricas, las cuales representan a las gotas de aceite interconectadas.

A fin de poder calcular un valor teórico del volumen de fase crítica a partir del cual se puede formar una malla tridimensional (Figura 29), se propone un modelo cúbico el cual se desglosa a continuación.

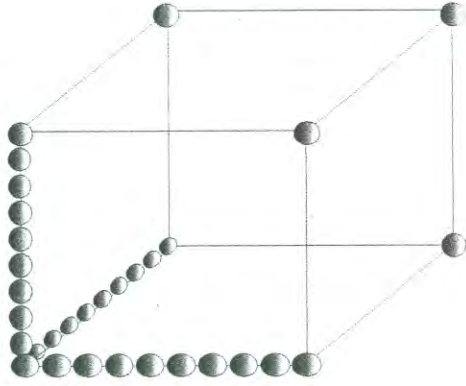


Figura 29. Modelo de predicción teórico del número de esferas existentes en un cubo

Para este análisis se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones. El diámetro promedio de cada esfera fue estimado en $0.5 \mu\text{m}$, valor obtenido a partir de los valores experimentales de tamaño de partícula (radio hidrodinámico, R_h) determinado por DLS (Figura 17). Asumiendo que cada arista está constituida por 10 esferas con un largo de $5 \mu\text{m}$ ($10 \times 0.5 \mu\text{m}$), el volumen de la celda cúbica completa, por tanto, fue de $125 \mu\text{m}^3$ ($= 1.25 \times 10^{-10} \text{cm}^3/\text{celda}$). Por otro lado, se calculó el número de esferas que hay por unidad cúbica que no está compartido con otras unidades vecinas a partir de la siguiente relación:

$$1/8 (8) + 10/4 (12) = 31 \text{ esferas no compartidas}$$

donde: $1/8$ representa el número de esferas por arista que corresponden a un cubo (toda vez que el resto forma parte de 8 cubos vecinos), en tanto que $10/4$ corresponde a las esferas que están formando parte de 4 cubos que se multiplica por 12, el número total de aristas.

El volumen total de la celda está dado por $1/1.25 \times 10^{-10} \text{cm}^3/\text{celda}$ ($= 8 \times 10^9 \text{celda}/\text{cm}^3$). Valor que al multiplicarse por 31 de esferas/celda no compartidas da $2.48 \times 10^{11} \text{esferas}/\text{cm}^3$, equivalente al número de esferas por cm^3 .

A su vez, el volumen teórico de una esfera básica viene dado por $V = 4/3 \pi r^3$ ($= 6.545 \times 10^{-14} \text{ cm}^3/\text{esfera}$); con dicho valor se puede determinar la fracción de volumen total ocupado por las esferas por cm^3 , dada por el producto de multiplicar el volumen de cada esfera por el número de esferas por unidad de volumen ($2.48 \times 10^{11} \text{ esferas/cm}^3 \times 6.545 \times 10^{-14} \text{ cm}^3/\text{esfera}$), dando como resultado un volumen de fase teórico de $\varphi = 0.016$. Fue muy gratificante advertir que este valor coincide muy cercanamente con el valor experimental obtenido para el volumen de fase crítico para la gelificación ($\varphi_0 = 0.0152$) (Figura 25 y Tabla 6).

Otros dos aspectos que consideramos importantes de evaluar en este trabajo, fueron la dependencia de la cinética de gelificación sobre la fuerza iónica del medio y sobre la temperatura. La Figura 30 recoge los resultados obtenidos para la variación con el tiempo de los módulos viscoelásticos G' y G'' y de $\tan \delta$, en función de la fuerza iónica. La inspección de los distintos paneles, permite distinguir en primera instancia, que en lo que corresponde a t_c no existen grandes cambios asociados a la presencia de NaCl y el t_c oscila entre ~ 1000 y ~ 1100 s. Es interesante advertir que en 0.001M NaCl, la evolución del módulo G' con el tiempo, no sigue el mismo curso que a las mayores concentraciones salinas, sino que a tiempos por encima de 3000 s, los valores de G' presentan un nuevo incremento (un segundo proceso) y a su vez alcanzan la mayor rigidez mecánica con respecto a los geles en 0.01 y 0.1M de NaCl.

En el mismo caso que a las mayores concentraciones salinas, sino que a tiempos por encima de 3000 s, los valores de G' presentan un nuevo incremento para alcanzar la mayor rigidez mecánica con respecto a los geles en 0.01 y 0.1M de NaCl. Se puede especular que a muy baja salinidad, la GM se puede encontrar un poco más expandida y por tanto ocupará un mayor volumen hidrodinámico lo que podría conducir a la formación de un mayor número de uniones entre los compuestos del AEND y de la GM y por tanto a una elevación en los valores de G' . El que dicha elevación suceda después de la consolidación inicial de la red de gel (~ 3000 s), puede ser consecuencia de que las uniones en cuestión sean producto de rearrreglos conformacionales que pueden estar bajo control cinético del sistema.

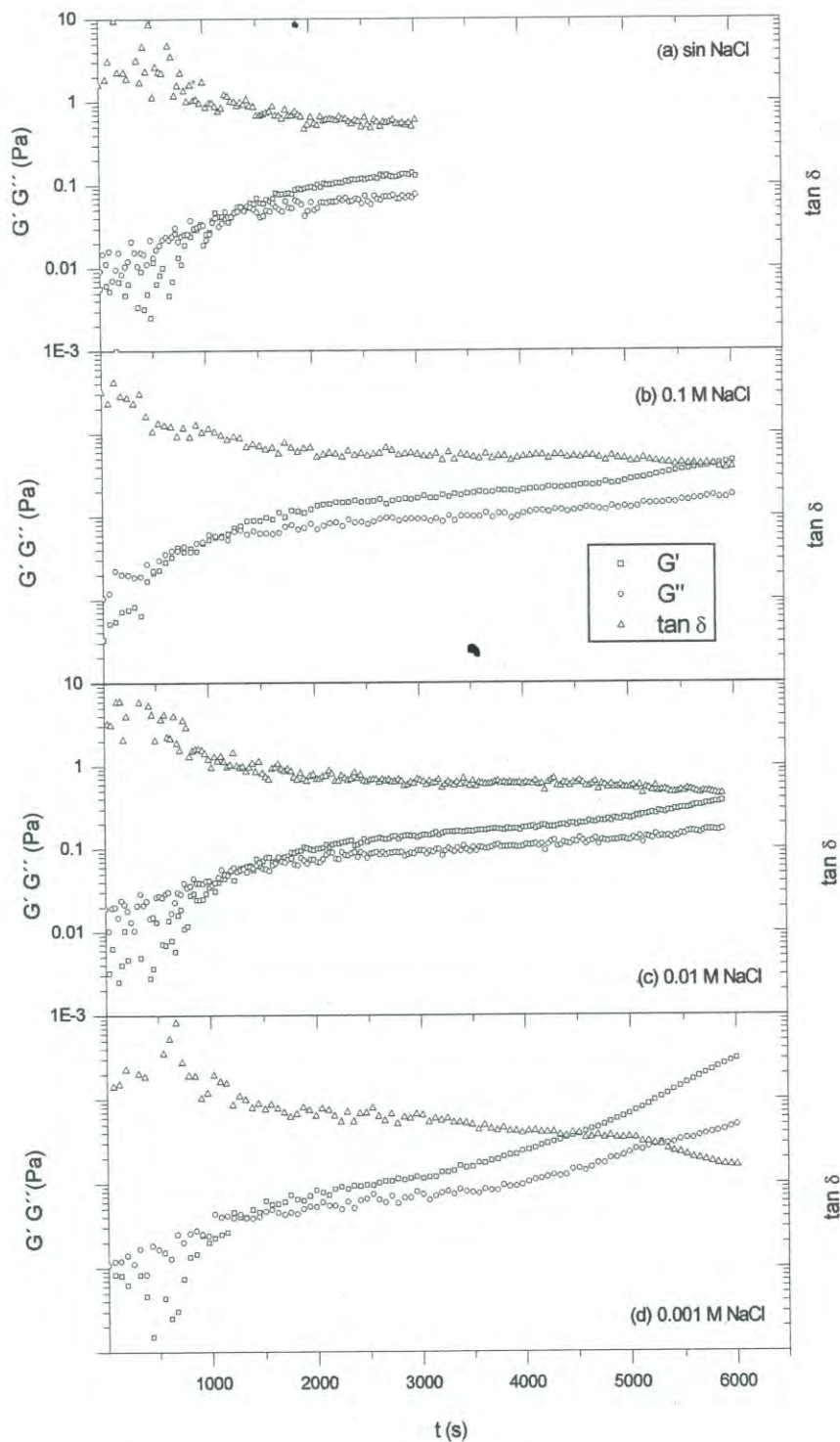


Figura 30. Evolución en función del tiempo del módulo de almacenamiento, G' , módulo de pérdida, G'' , y $\tan \delta$, para emulsiones AEND-2005 + Solución 15% GM a $\phi = 0.090$ con adición de NaCl a 3 distintas concentraciones (M); donde se muestra el t_c cuando ocurre el cruzamiento de G' y G'' , así como el índice de carácter líquido $\tan \delta = (G''/G')$; [(a) sin NaCl, (b) NaCl a 0.1M, (c) NaCl a 0.01M y (d) NaCl a 0.001M; ($\gamma = 20$, $\omega = 5$ rad/s, 25°C)].

En la Figura 31, se observa el efecto que ejerce la temperatura sobre el t_c . Está claro que a medida que aumenta la temperatura disminuye el t_c . Esto se puede explicar como el efecto térmico esperado sobre la velocidad de una reacción química, que en este caso obedece a la de la formación de enlaces covalentes establecidos en la interfase de las partículas emulsificadas. Es de hacerse la observación que debe de existir una temperatura crítica de formación de gel, ya que si se aumentara mas la temperatura $\sim 80^\circ\text{C}$ o mas elevada, favorecería a la desnaturalización de la fracción proteica de la GM y el sistema de gel se perdería por completo.

La dependencia de t_c con respecto a la temperatura, se muestra en la Figura 32, en forma de diagrama de Arrhenius para emulsiones AEND-2000 + GM 15%, en donde se observó una dependencia lineal del $\ln t_c$ en función de la temperatura absoluta [$1/T$ (K^{-1})]. Se obtuvo un valor de regresión ($R = 0.98796$); la energía de activación, E_a , de las emulsiones fue estimado en un valor de $E_a = -38.5 \text{ kJ mol}^{-1}$; este valor es 15 veces mayor que el estimado para energía térmica ambiental, lo cual se refleja en enlaces muy fuertes entre las partículas que componen a las emulsiones, lo cual conlleva a la formación de una red gelificante estable.

La morfología y ultraestructura para emulsiones gelificadas se muestra en la Figura 33. La observación de corte seccional de la superficie, en la Figura 33a se evidencia la mayor evidencia de la existencia de gotas de aceite, a medida que va disminuyendo el ϕ , es menor la presencia de dichas gotas, lo cual concuerda, ya que a menor ϕ , menor será la concentración de aceite como se muestra en la Figura 33e; lo cual conlleva a la formación de una red gelificante mas débil.

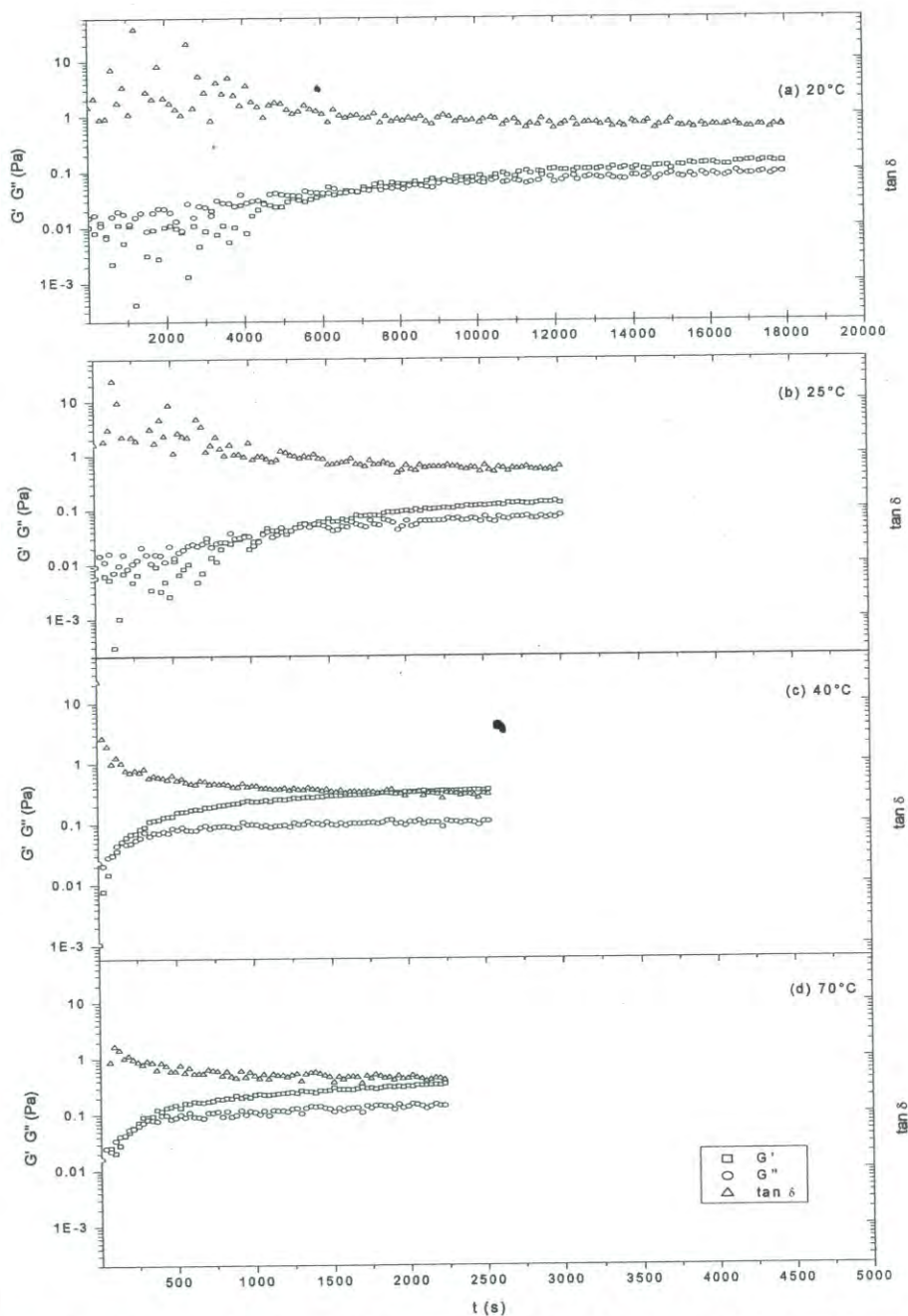


Figura 31. Evolución en función del tiempo del modulo de almacenamiento, G' , modulo de perdida, G'' , y $\tan \delta$, para emulsiones AEND-2005 + Solución 15% GM a $\phi = 0.090$ a 4 distintas temperaturas; donde se muestra el t_c cuando ocurre el cruzamiento de G' y G'' , así como el índice de carácter líquido $\tan \delta = (G''/G')$; [(a) 20°C, (b) 25°C, (c) 40°C y (d) 70°C; ($\gamma = 20$, $\omega = 5$ rad/s, 25°C)].

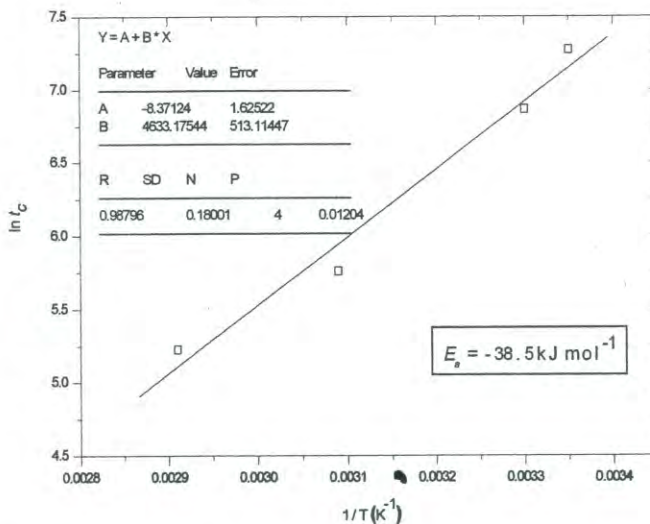
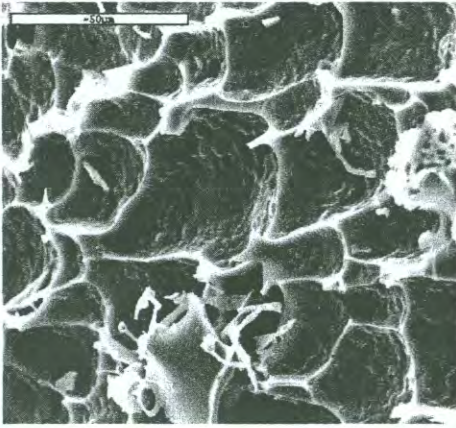
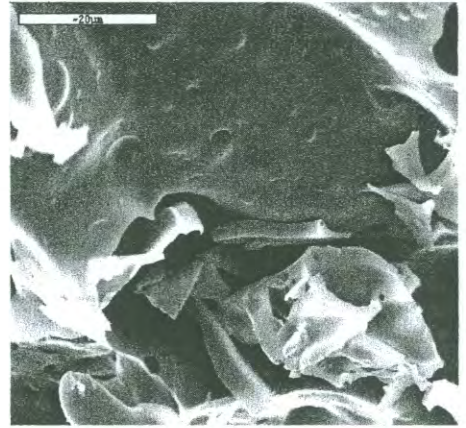


Figura 32. Gráfico de Arrhenius de t_c vs valor inverso de la temperatura absoluta para emulsiones AEND-2005 + Solución 15% GM; a un ϕ fijo de 0.0902, con lo cual se pudo determinar la energía de activación total del sistema (E_a) en una regresión lineal. En donde se muestra que a mayor temperatura menor será el t_c .

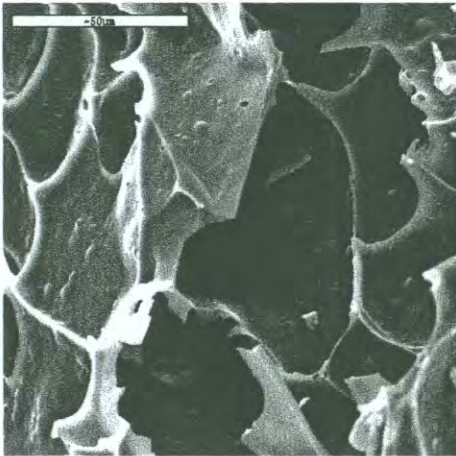
a)



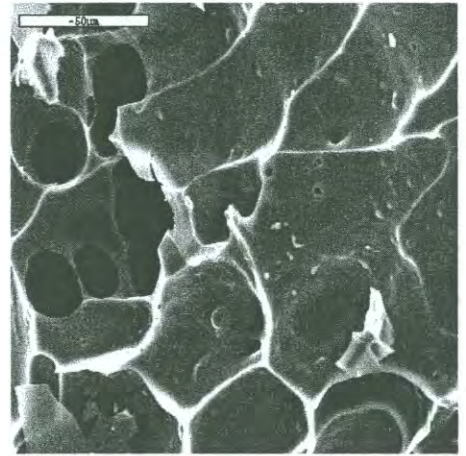
b)



c)



d)



e)

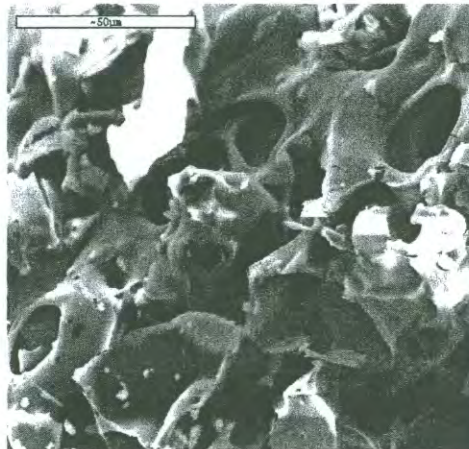


Figura 33. Micrografías obtenidas por SEM a una resolución de ~ 50 nm de emulsiones AEND 2005 + GM 15% a distintos ϕ . [(a) $\phi = 0.090$, (b) 0.050, (c) 0.030, (d) 0.024 y (e) 0.018].

CONCLUSIONES

De los resultados de este trabajo es posible concluir lo siguiente:

1. Se confirmó que la goma de mezquite posee la capacidad de formar geles con ciertos aceites esenciales de naranja que poseen características de composición química peculiares.
2. Los aceites cuyas emulsiones presentan el fenómeno de gelificación poseen en común la presencia de compuestos aldehídos de cadena alifática ($n > 8$), identificados parcialmente por medio de cromatografía de GC-MS, espectroscopia de IRTF y ^1H y ^{13}C -RMN.
3. La cinética de formación de los geles estuvo influenciada por el volumen de fase (φ), de forma que el tiempo crítico de gel, t_c , presentó una dependencia exponencial inversa con φ . Aplicando el modelo de Ross-Murphy fue posible establecer el volumen de fase crítico (φ_0), por debajo del cual no hay precolación del sistema, en un valor de $\varphi_0 = 0.0152$.
4. Este valor estuvo en concordancia con un valor calculado para un retículo de unidades cúbicas, formado por partículas esféricas (gotas de aceite) interconectadas, estimado en $\varphi = 0.016$.

5. La unión entre partículas, se puede explicar como la consecuencia del establecimiento de puntos de contacto a nivel de la interfase. Dichos contactos se sugiere que corresponden a uniones covalentes entre los compuestos aldehídos y grupos amino primarios de las glicoproteínas de la goma de mezquite.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Anderson, D. M. W., Farquhar, G.K. (1982). *Int. Tree Crops J.*: 2, 15.
- Arthey, D. A., P.R. (1997). Procesado de Frutas. Zaragoza, España, Ed. ACRIBIA, S.A.
- Aspinall, G.O., Whitehead, C.C. (1970a). *Can. J. Chem* **48**: 3850.
- Aspinall, G.O., Whitehead, C.C. (1970b). *Can. J. Chem* **48**: 3840.
- Atkins, P. W. (1998). Physical Chemistry. Oxford, OXFORD, University Press.
- Badui Dergal, S. (1999). Química de los Alimentos. Naucalpan, Edo. de México, Pearson Educación.
- Balderrama, J. R. (1998). "Caracterización Físicoquímica y Análisis del Aprovechamiento de la Goma 'Chúcata' y Galactomanana del Mezquite (*Prosopis* spp.) como Posibles Hidrocoloides Alimentarios". Hermosillo, Universidad de Sonora.
- Beristain, C. I., Azuara, E., Vernon-Carter, E. J. (2002). *J. Food Sci.* **67**: 206.
- Beristain, C. I., García, H. S., Vernon-Carter, E. J. (2001). *Lebensm. Wiss. Technol.* **34**: 398.
- Beristain, C. I., García, H.S., Vernon-Carter, E.J. (1996). "Kinetic model for water/oil absorption of mesquite gum (*Prosopis juliflora*) and gum arabic (*Acacia senegal*)."
Int. J. Food Sci.

- Beristain, C. I., Vernon-Carter, E.J. (1995). "Studies on the interaction of arabic (*Acacia senegal*) and mesquite (*Prosopis juliflora*) gums as emulsion stabilizing agents for spray-dried encapsulated orange peel oil." *Drying Technol.* **13**: 455-461.
- Beristain, C. I., Vernon-Carter, E.J. *Drying Technol.* 1994, **12**, 727.
- Buffo, R. A., Reineccius G.A., Oehlert G.W. (2001). "Factor affecting the emulsifying and rheological properties of gum acacia in beverage emulsions." *Food Hydrocolloids.* **15**.
- Clark, A. H. (1987). In Food Structure and Behaviour, Academic Press: London.
- Clark, A. H. R.-M., S. B. (1985). *Br. Polym.* **17**: 164.
- Connolly, S., Fenyo, J.C., Vandavelde, M.C. (1987). *Food Hydrocolloids* **1**: 477 - 480.
- Córdova M, R. E. (2004). Clasificación y Caracterización Físicoquímica de la Goma de Mezquite (Chúcata) Cruda y Ultrafiltrada. Departamento de Ciencias-Biológicas. Hermosillo, Universidad de Sonora: 122.
- Dickinson, E., Stainsby, G. (1982). Colloid Stability. *Colloids in Food.* A. Science. London.
- Dickinson, E. (1986). Emulsions. In: Annual Reports in the Progress of Chemistry: Section C. London, Royal Society of Chemistry: 31-58.
- Dickinson, E., Galzaka, V., B., & Anderson D., M., W. (1991). "Emulsification behaviour of gum arabic: Part 1: effect of the nature of the oil phase on the emulsion droplet size distribution." *Carbohydr. Polym.* **14**: 373-383.

Dickinson, E. (1992). An Introduction to Food Colloids, Oxford Science Publications.

Dickinson, E. a. D. J. M. (1996). Advances in Food Colloids, Blackie Academic and Professional, an Imprint of Chapman and Hall.

Everett, D. H. (1988). Basic Principles of Colloid Science. London, Royal Society of Chemistry Paperbacks.

Felger, R.; Moser, C. 1974. Pharmacopocia of the seri indians of Sonora Mexico. *Econ. Botany*. 28:414-436

Felger, R., Moser, M.B. (1974). *Encon. Bot.* 28: 414.

Goycoolea, F. M., Calderón de la Barca, A.M., Hernández, G., Valenzuela, J.R. y Balderrama, J.R. (2000a). Immunochemical, Structural and Functional Properties of Mesquite Gum Compared with Gum Arabic. In Cell and Developmental Biology of Arabinogalactan Proteins, Klower Academy/Plenum Publishers.

Goycoolea, F. M., Baca, A.M.C., Balderrama, J.R. y Valenzuela, J.R. (1997). *Int. J. Biol. Macromol.* 21: 29-36.

Goycoolea, F. M., Morris, E.R., Richardson, R.K. and Bell, A.E. (1995). arbohydr. Polym.: 37-45.

Guenet, J. M. (1992). 1. Gel Formation: thermal behaviour and phase diagrams. Thermoreversible Gelation of Polymers and Biopolymers. San Diego, Academic Press Inc.

Hiemenz Paul C., Rajagopalan Raj. (1997). Principles of Colloid and Surface Chemistry. Third edition, revised and expanded, pp. 541-546.

- Horta, A. Z. (2000). Macromoléculas. Madrid, Universidad Nacional de Educación a Distancia.
- Islam, A. M. P., G. O.; Sljivo, A.; Snowden, M. J.; Williams, P. A. (1997). Food Hydrocolloids 11: 493-505.
- Klemaszewski, J. L., Das, K.P., Kinsella, J.E. (1992). "Formation and coalescence stability of emulsions stabilized by different milk proteins." Journal of Food Science 57(2): 366 - 371, 379.
- López-Franco, Y. L., Javier Hernández, M. A. V., Ana M. Calderón de la Barca, Marguerite Rinaudo, Francisco M. Goycoolea (2004). "Macromolecular Dimensions and Mechanical Properties of Monolayer Films of Sonorean Mesquite Gum." Macromol. Biosci. 4: 865-874.
- Miskiel, F.J. (1991). Carbohydr. Polym. 16, 17-35.
- Mourchid, A. D. A. L. P. (1995). "Sol-Gel Transition of Colloidal Suspensions of Anisotropic Particles of Laponite." Faraday Discuss 101: 275-285.
- Orozco-Villafuerte, J. C.-S., F.; Ponce-Alquicira, E.y Vernon-Carter, E.J. (2003). "Mesquite Gum: Fractionation and characterization of the gum exuded from *Prosopis laevigata* obtained from plant tissue culture and from wild trees." Carbohydr. Polym. 54: 327-333.
- Orozco, J. P., C.I. Beristain, G. Espinosa-Paredes, C. Lobato-Calleros, E.J. Vernon-Carter (2004). "Interfacial shear rheology of interacting carbohydrate polyelectrolytes at the water-oil interface using an adapted conventional rheometer." Carbohydr. Polym. 57: 45-54.

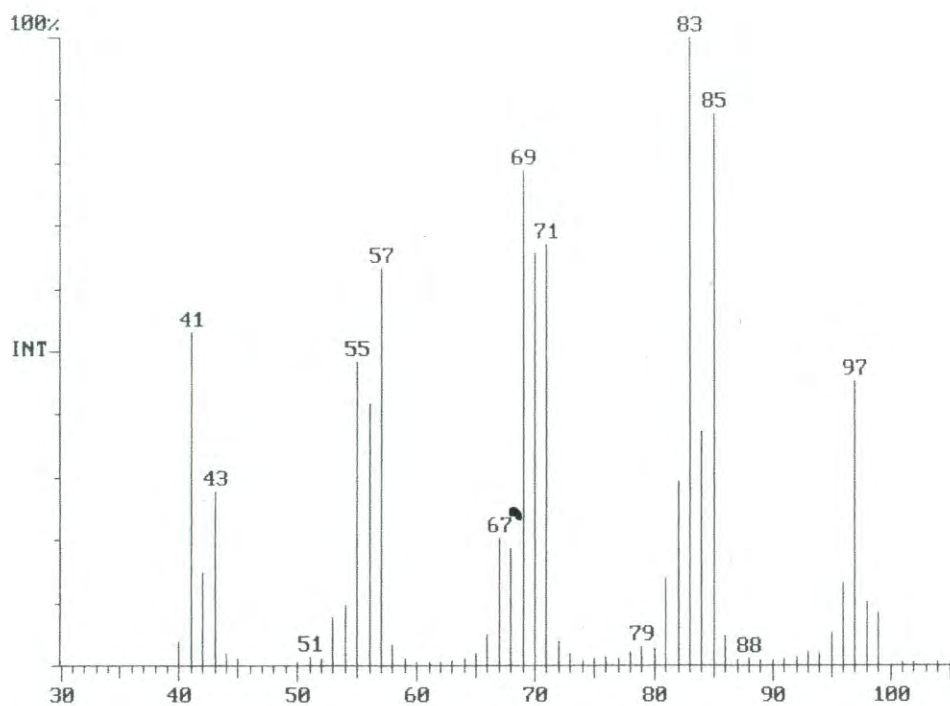
- Qi, W., Fong, C., Lamport, D.T.A. (1991). "Gum arabic glycoprotein is a twisted hairy rope. A new model based on O-Galactosylhydroxyproline as the polysaccharide attachment site." *Plant Physiol.* **96**: 848 - 855.
- Randall, R. C., Phillips, G.O. and Williams, P.A. (1989). *Food Hydrocolloids* **3**: 65-75.
- Robins, M. M., Watson, A.D., Wilde, P.J. (2002). "Emulsions-creaming and rheology." *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **7**: 419-425.
- Ross-Murphy, S. B. (1991). *Rheol. Acta.* **30**: 401.
- Steventon, A. J., Gladden, L.F., Bottomley, R.C., Fryer, P.J. (1993). Modelling the Gelation of Whey Protein Concentrates using Percolation Theory. Weinheim, Visser, VCH.
- Tung, C. Y. M. y. D., P.J. (1982). *Journal of Applied Polymer Science* **27**: 569.
- Valdez, M. A., J. I. C., A.Rosas-Durazo, J. Lizardi, M. Rinaudo, F.M. Goycoolea. (2006). ""Small-deformation rheology of mesquite gum stabilized oil in water emulsions."" *Carbohydr. Polym.*: 1-7.
- Vernon-Carter, E. J., Gómez, S.A., Beristain, C.I., Pedroza-Islas, R. (2000). Mesquite gum (*Prosopis Gum*), Elsevier Science Ltd.
- Vernon-Carter, E. J., Pedroza-Islas, R., Beristain, C.I. (1998). "Stability of *Capsicum annuum* oleoresin-in-water emulsions containing *Prosopis* and *Acacia* gums." *J. Texture Studies* **29**: 553-567.
- Vernon-Carter, E. J., Gomez, S.A., Beristain, C.I., Mosqueira, G., Pedroza-Islas, R., Moreno Terrazas, R.C. (1996). "Color degradation and coalescence kinetics of aztec marigold oleoresin-in-water emulsions stabilized by mesquite or arabic gum and their blends." *J. Texture Studies* **27**: 625-641.

Whistler, R. L. a. S., C.L. (1953). Polysaccharides Chemistry. New York, Press.

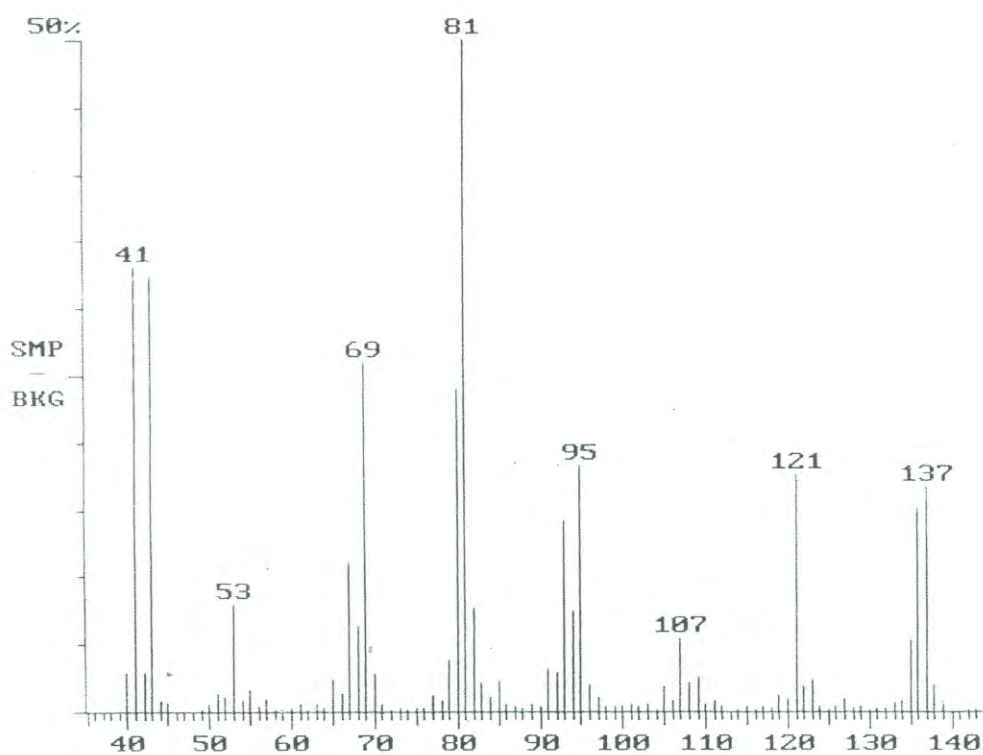
Winter, H. H., Chambon, F. (1986). Journal of Rheology **30**: 367.

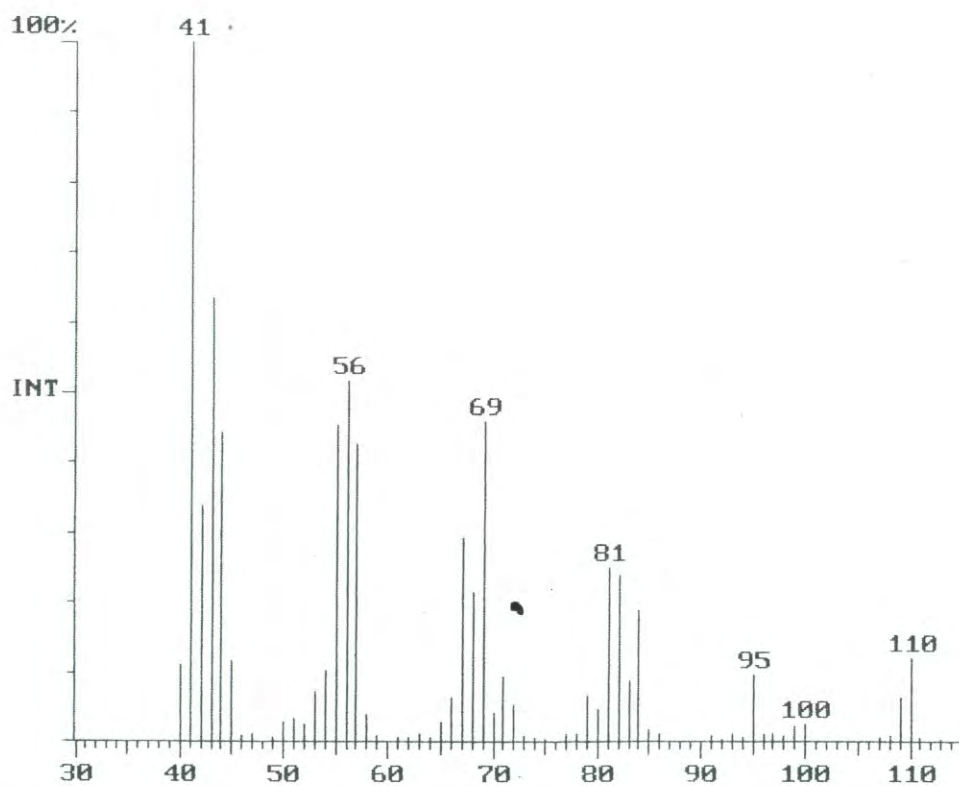
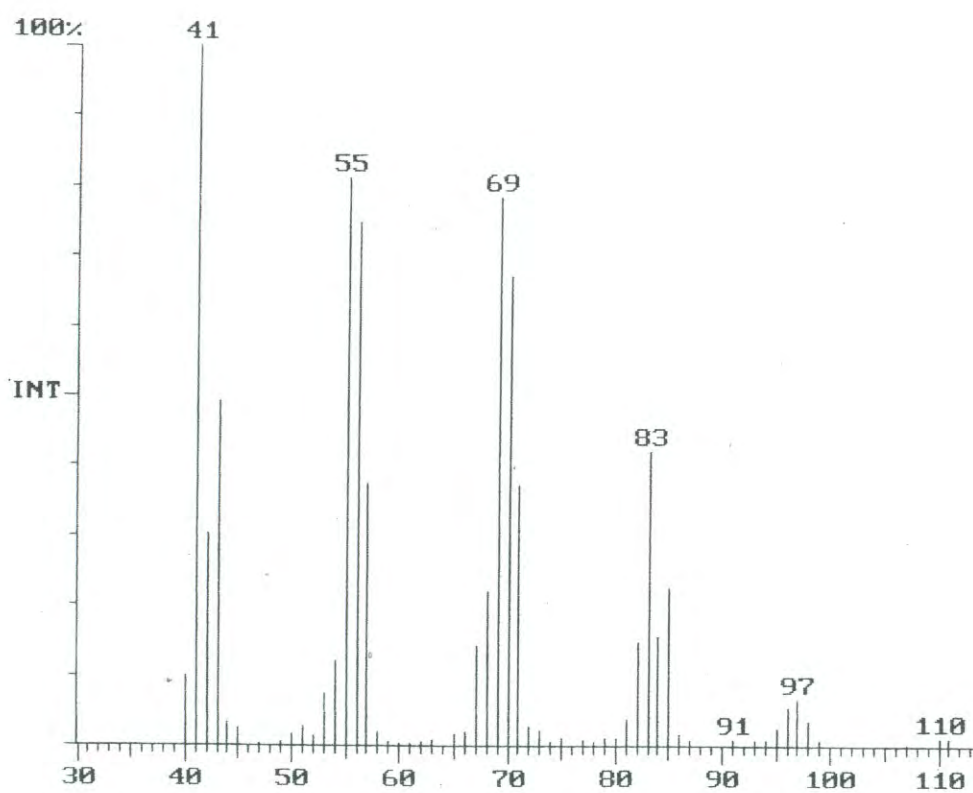
ANEXO 1

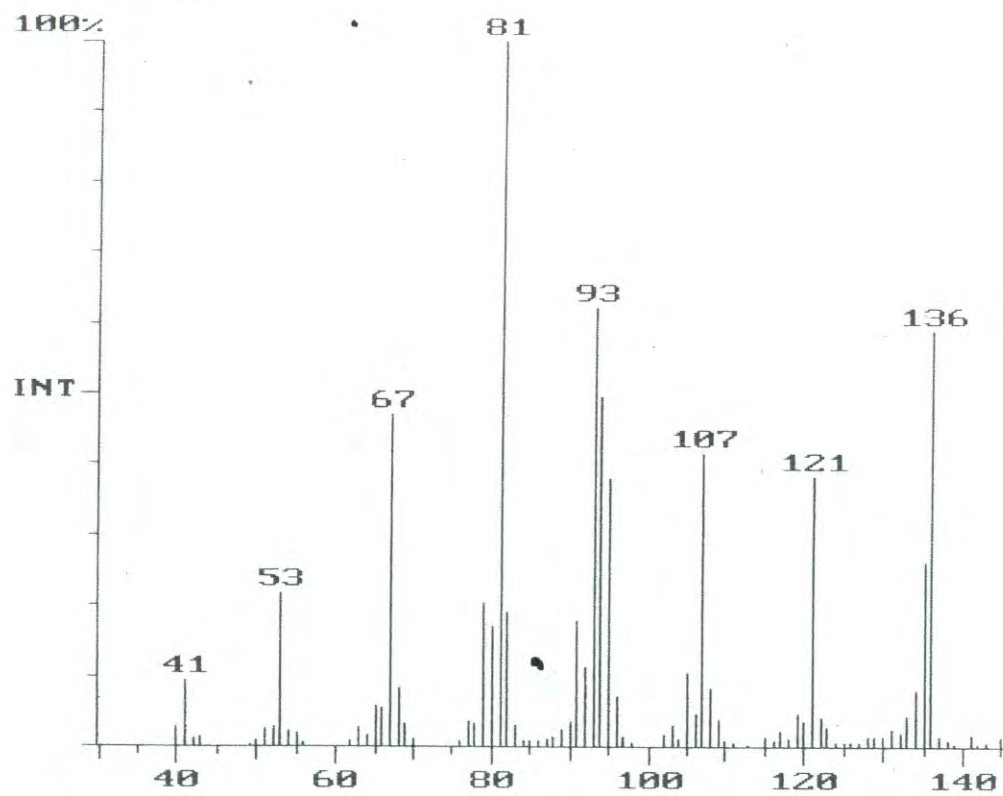
APÉNDICE 1



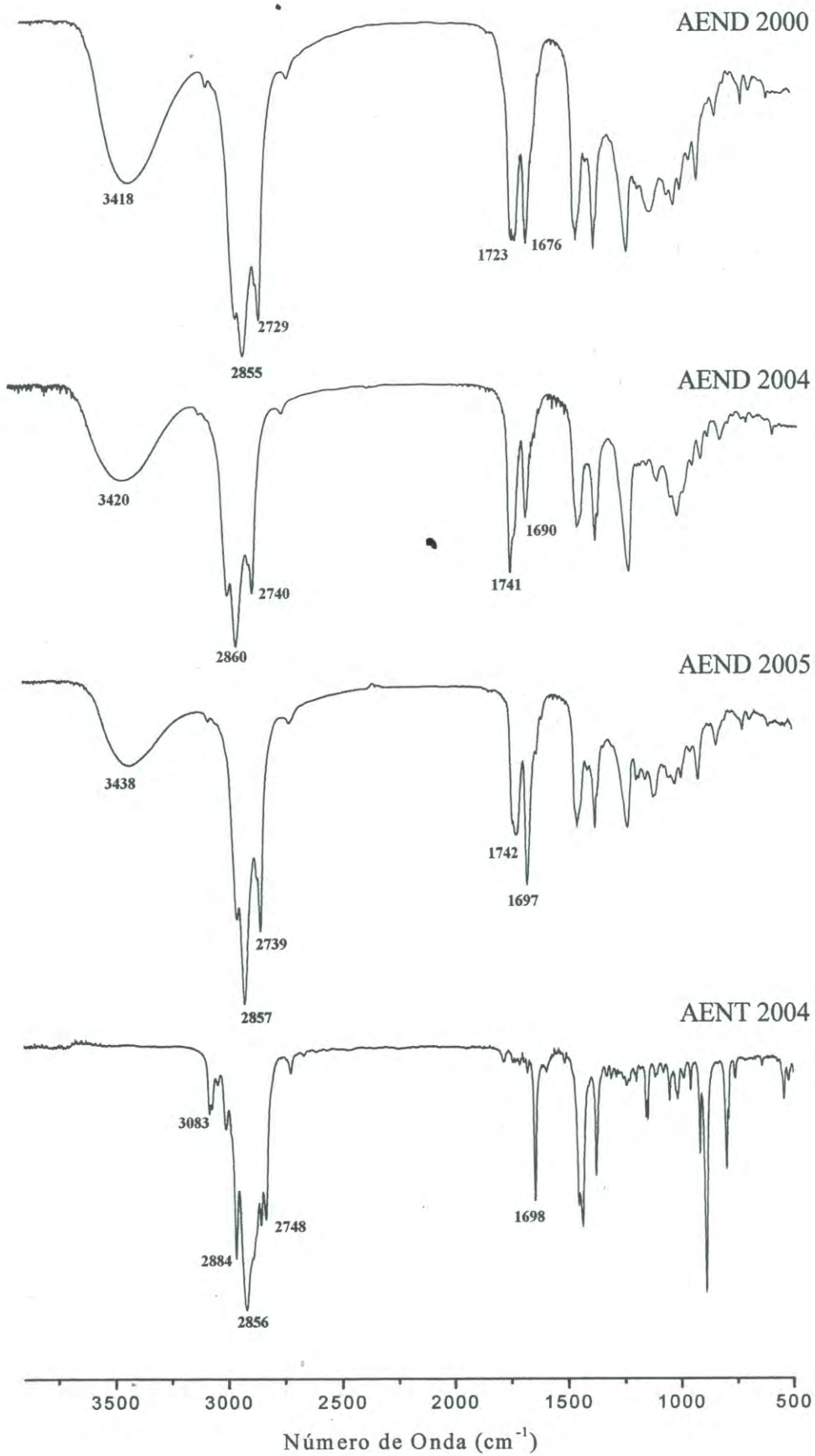
Pico 1 AEND 2000



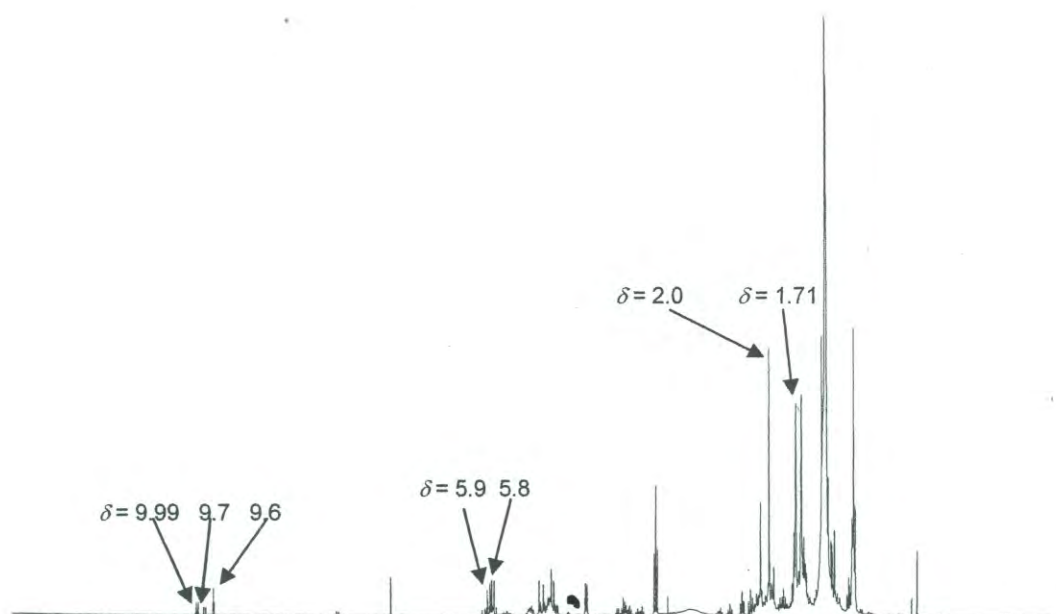
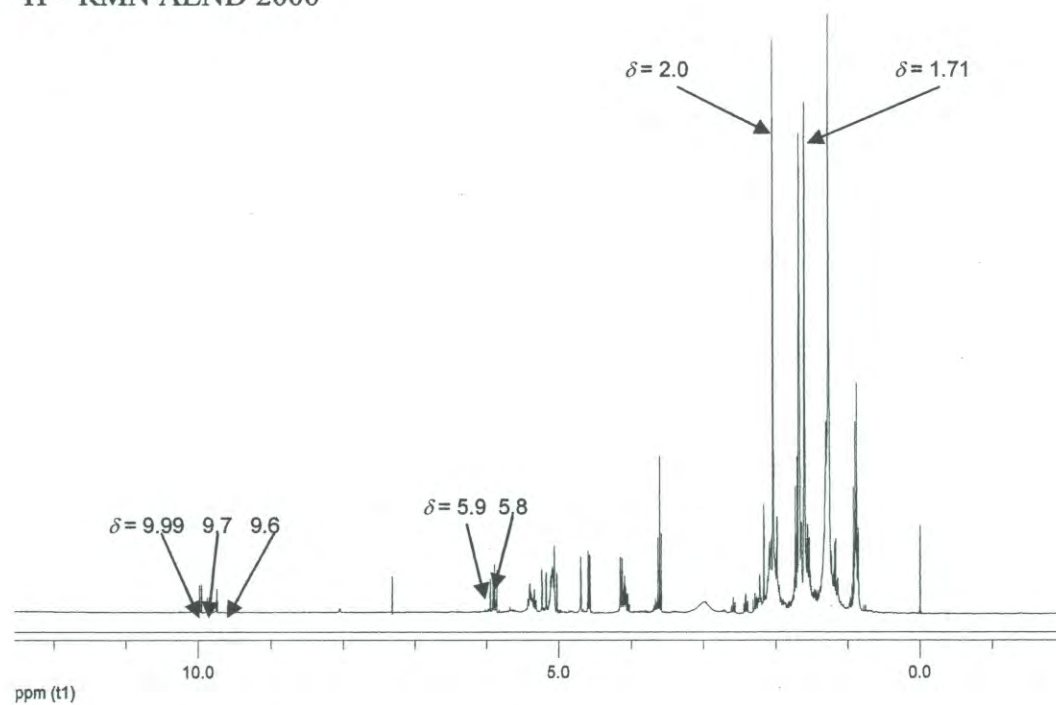
Pico 2 AEND 2000**Pico 3 AEND 2000**

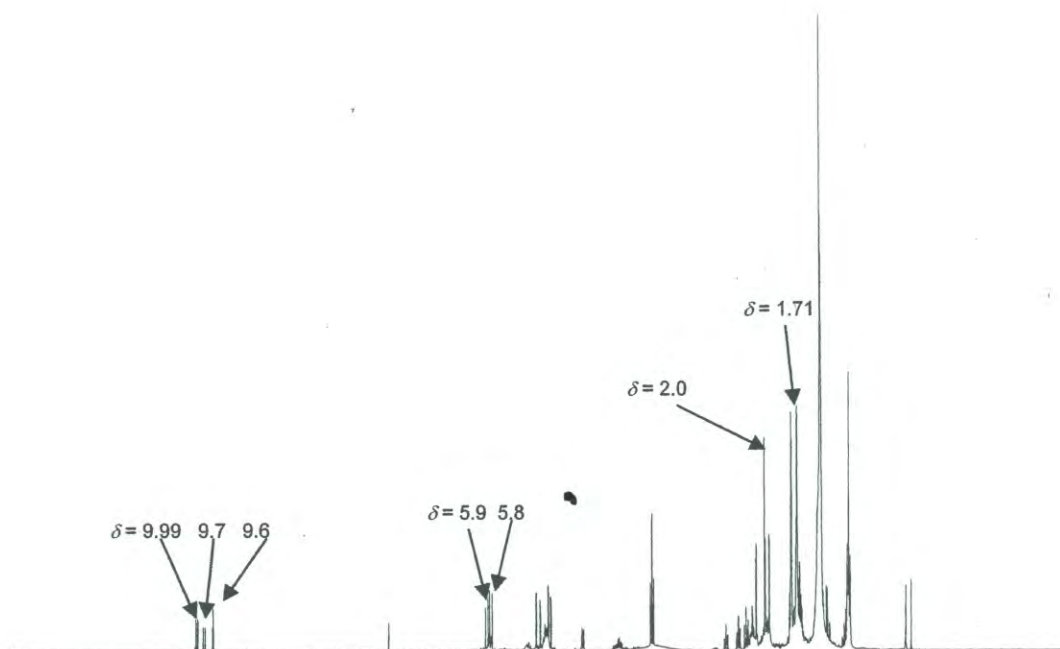
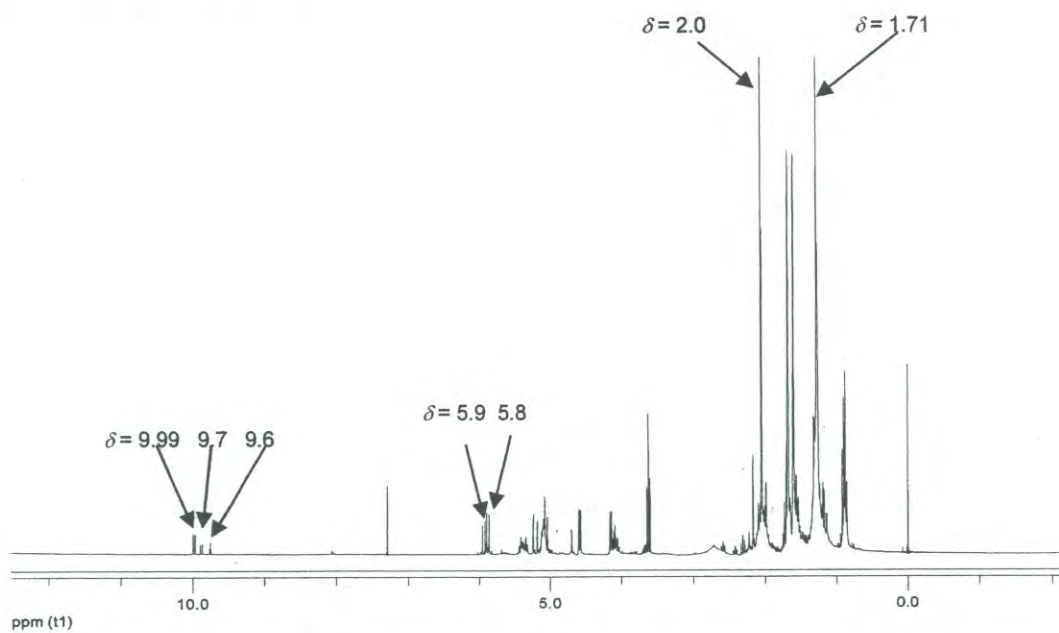
Pico 4 AEND 2000**Pico 5 R-(+)-Limoneno**

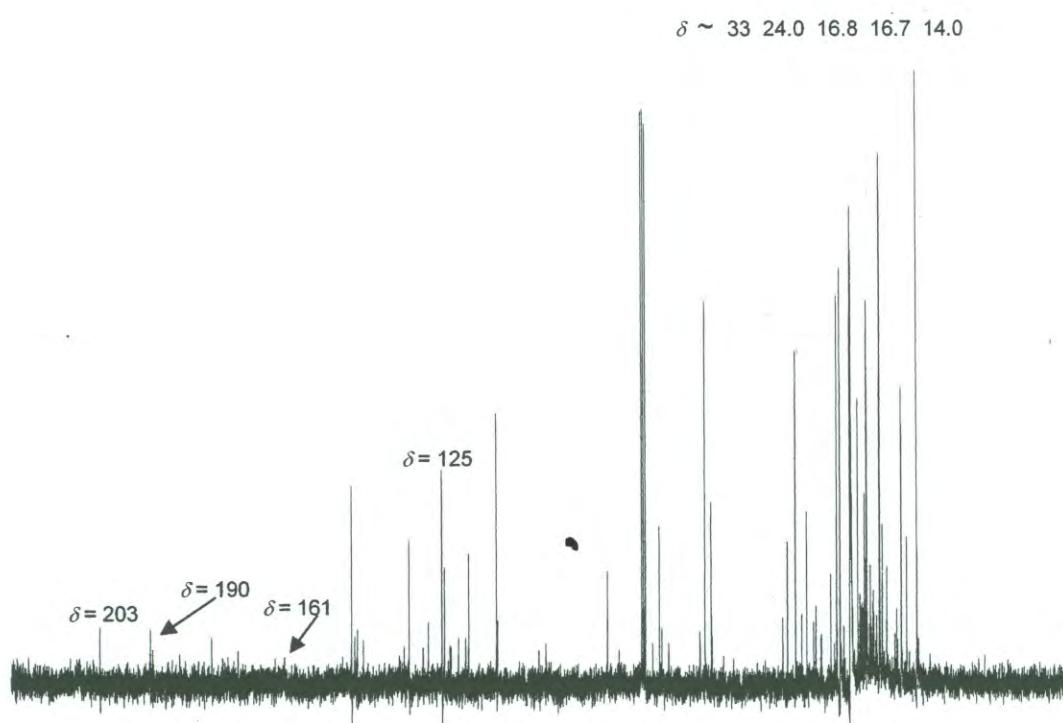
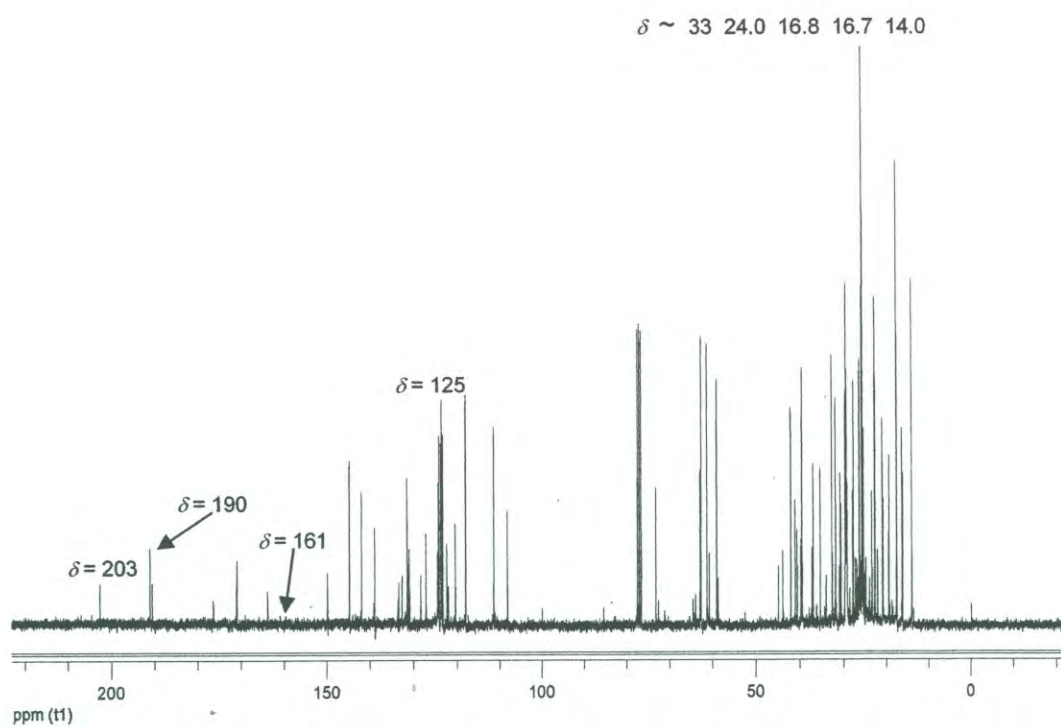
APÉNDICE 2

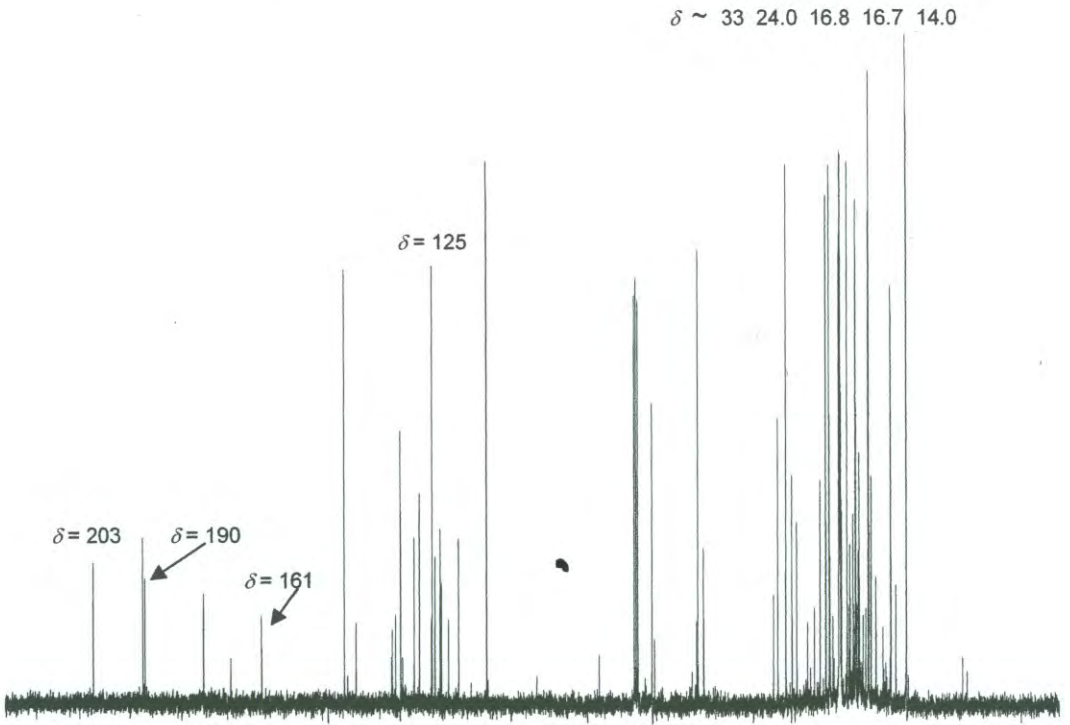
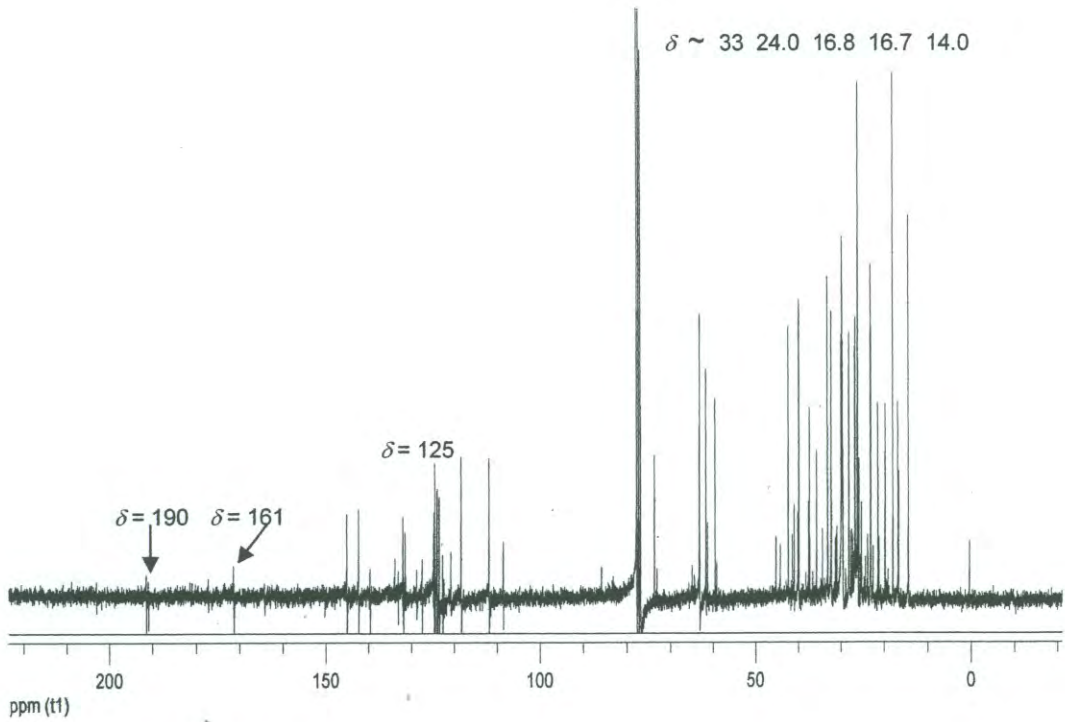


APENDICE 3

 ^1H - RMN AEND 2000 ^1H - RMN AEND 2004

 ^1H - RMN AEND 2005 ^1H - RMN AENT 2004

 ^{13}C - RMN AEND 2000 ^{13}C - RMN AEND 2004

 ^{13}C - RMN AEND 2005 ^{13}C - RMN AENT 2004