



Casa abierta al tiempo

CBS

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA ADICION DE POLISACARIDOS EN LA
GELIFICACION DE PROTEINAS ANIMALES

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T A



ALFONSO TOTOSAUS SÁNCHEZ

MARZO 2001

225702

"El Doctorado de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrado de Excelencia del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo. con el convenio PFP-20-93"

El jurado designado por las
Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud
de las Unidades Iztapalapa y Xochimilco aprobó la tesis que presentó

Alfonso Totosaus Sánchez

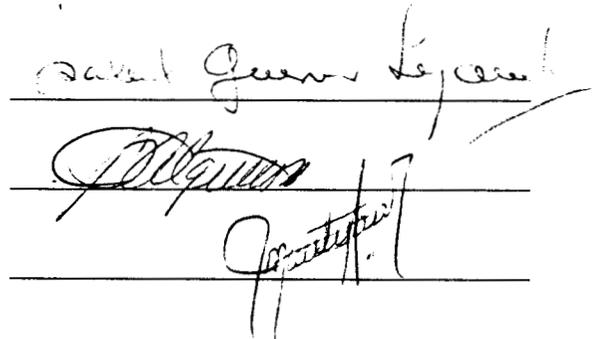
El día 19 de Marzo del año 2001

Comité Tutorial

Tutora: Dra. Isabel Guerrero Legarreta

Asesora: Dra. Edith Ponce Alquicira

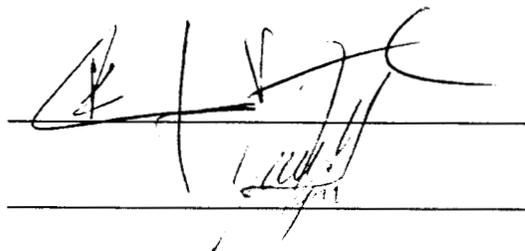
Asesor: Dr. J. Gerardo Montejano Gaitán



Three handwritten signatures are written on a set of three horizontal lines. The top signature is 'Isabel Guerrero Legarreta', the middle one is 'Edith Ponce Alquicira', and the bottom one is 'Gerardo Montejano Gaitán'.

Sinodal: Dr. Jaime Vernon Carter

Sinodal: Dr. Leonardo Rejón García



Two handwritten signatures are written on a set of two horizontal lines. The top signature is 'Jaime Vernon Carter' and the bottom one is 'Leonardo Rejón García'.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Luis García de FMC por la muestra de carragenina Gelcarin 913.

Al Ing. Iñigo de Alimentos Deshidratados por la albúmina de huevo "Campeón" obsequiada para esta Tesis.

Al Sr. Jorge Lodigliani por el procesamiento de las fotos de este trabajo.

A mis amigos Herminio, Víctor y Cristina por las copias de artículos enviadas desde tan lejos.

DEDICATORIAS

Primero, este trabajo esta dedicado no a Dios, sino a la Fe que tienen mi mamá y mis abuelos, ya que sería muy hipócrita de mi parte volver a creer solo cuando me hace falta. Por eso quiero agradecer a esa Fe el habernos mantenido unidos en los duros momentos que vivimos el año pasado con mi abuela. Cuando niños, en la casa mi papá siempre tuvo muchos libros, compraba revistas, leía bastante. Pero era mi mamá quien nos hacia leerlos y estaba ahí con nosotros para que todos los días termináramos la tarea. A mi *papá* le dedico este trabajo ya que mis recuerdos son verlo estudiar sus clases o preparar algún asunto. A mi *mamá* agradezco infinitamente la dedicación que tuvo para que estudiara y me superara, ya que eso es lo hoy me tiene aquí, y lo que me permitirá llegar a donde aún me falta y quiero llegar. De igual manera a *Quique* y a *Mónica Rocío*, que a pesar de todo sigue adelante. A mis primos y a todos mis sobrinos, especialmente a *Edwin* y *Kevin*, que son los más latosos, esperando que estudien y sean buenos siempre. No podían faltar *Malena*, *Nicolás* y *Yashka*, que me acompañaron durante la escritura del documento. Otra vez a *Royer*, donde quiera que este. De manera muy especial a la Dra. *Isabel Guerrero* por todo el apoyo durante toda mi formación académica: nunca voy a poder pagarle. A mi muy querida y adorada *Lulucita*, por todo.

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue determinar la compatibilidad de mezclas proteínas-polisacáridos mediante la relación entre la microestructura y las propiedades de textura de geles. Las mezclas estuvieron compuestas de κ -carragenina, xantana y gelana con albúmina sérica bovina y albúmina de clara de huevo. Del mismo modo se evaluaron extractos musculares de carne de cabra y res. Concentraciones típicas de los componentes fueron utilizadas en la preparación de la mezclas.

En mezclas de proteínas-polisacáridos, cuando el pH esta por debajo del punto isoelectrico de las proteínas, ambos constituyentes tienen cargas opuestas formando complejos insolubles. Por otra parte, la compatibilidad entre este tipo de macromoléculas decrece cuando el pH baja más allá del punto isoelectrico. En las mezclas estudiadas, el pH de las mezclas estaba por arriba del punto isoelectrico de las proteínas, por lo que no hubo este tipo de interacción electrostática para formar un complejo. Sin embargo, no se presentó separación de fases visible después de la elaboración de las mezclas ni durante la formación de los geles, lo que indica cierta compatibilidad entre ambas especies a las condiciones utilizadas. Los geles formados presentaron diferentes estructuras dependiendo de las proteínas y de los polisacáridos empleados.

Los geles de albúmina sérica bovina tuvieron una estructura de agregados en filamentos finos, donde estos son de pequeño diámetro molecular formando geles translúcidos. Por otra parte, los geles de albúmina de clara de huevo fueron opacos y la agregación fue del tipo particulado, donde se forman agregados de mayor diámetro molecular. En cuanto al tipo de polisacárido, la gelana formó geles más homogéneos y con menos agregados en ambas proteínas. Al relacionar esta información con las pruebas de textura instrumentales, se encontró que los geles de albúmina sérica bovina tuvieron valores mayores que los geles de albúmina de clara de huevo en las pruebas realizadas. Para la fuerza de penetración, los parámetros del análisis de perfil de textura y las pruebas de fractura torsional, albúmina sérica bovina tuvo mejor desempeño. El mejor desempeño se obtuvo con gelana, seguida de κ -carragenina, mientras que la xantana tuvo los valores de textura más pobres.

Las microestructuras y texturas desarrolladas por las mezclas no presentaron separación de fases y rindieron diferentes geles según las condiciones del sistema. Esto pudo ser debido a que durante el calentamiento, la interacción entre estas macromoléculas aumentó y incrementando el peso molecular del complejo, disminuyendo fuerzas endotérmicas repulsivas debido al desplegamiento, al menos parcial, necesario para la formación de la red de gel. Las condiciones de fuerza iónica no afectaron la carga neta de las macromoléculas, comparado con otras sales distintas al sodio (potasio, calcio y magnesio) y sin iones. Las pruebas de textura dieron información acerca de la composición de los geles. Las interacciones generadas en las mezclas estudiadas, bajo las condiciones específicas del sistema propiciaron que ambos biopolímeros, proteínas y polisacáridos, estuvieran en condiciones de cosolubilidad, formando diferentes estructuras al ser sometidas a un calentamiento.

ABSTRACT

The objective of this thesis was to determine the compatibility in protein-polysaccharide mixtures by the relationship of microstructure and textural properties of gels. The mixtures were composed by κ -carrageenan, gellan, xhantan with bovine serum albumin and egg white albumin. In the seam way, beef and goat meat protein extracts were evaluated. Typical concentrations were employed in mixtures preparation.

In protein-polysaccharide mixtures, when pH is below protein isoelectric point, both constituents had opposite net charge forming insoluble complex. On other hand, the compatibility in this kind of macromolecules decrease when the pH down beyond the isoelectric point. In the mixtures studied the pH was above the protein isoelectric point, where the complex formation were not possible because no electrostatic interactions were formed. More the less, no visible phase separation was detected in mixture preparation or during the gel formation, indicating some kind of compatibility between macromolecules employed. Gels formed presented different structures depending in proteins and polysaccharides employed.

Bovine serum albumin gels had a microstructure in fine-strands aggregation, where these kinds of aggregates are of low molecular diameter, forming a translucent gel. Egg white albumin gels were opaque resulting in a particulate structure gel, where the aggregates had higher molecular diameter. Regarding to polysaccharide employed, gellan formed more homogeneous gels and with less big aggregates with both proteins. The relation of this information with the instrumental textural properties, bovine serum albumin gels had higher values than the egg white gels in the test analysed. In penetration force, textural profile analysis parameters and torsional fracture test bovine serum albumin has a better performance than egg white albumin gels. Gellan produced better gels than κ -carrageenan, and xhantan gave the poor performance.

The microstructure and texture developed by the different mixtures had no phase separation forming different gels because system conditions. This could be due because during the heating the interaction between these molecules were enhanced, increasing the complex molecular weight, reducing endothermic repulsive forces by, at least partial, protein unfolding required to form a gel matrix. Ionic strength conditions no affected the macromolecules net charge,

compared with another salts (potassium, calcium, magnesium) and no ions. Textural test gave information about the gel composition. Interactions generated in the mixtures studied under the specific system conditions promoted that both biopolymers, protein and polysaccharide, existed in cosolubility conditions forming different gel microstructures during heating.

INDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	MARCO TEORICO.....	2
3.	ANTECEDENTES	5
3.1	Mezclas de Proteína y Polisacáridos	6
3.1.1	Separación de fases	9
3.1.1.1	Equilibrio de fases	9
3.1.2	Efecto de las condiciones del sistema	10
3.1.2.1	Efecto del pH	10
3.1.2.2	Efecto de la concentración de sal.....	11
3.2	Geles Multicomponentes	11
3.3	Proteínas: Gelificación	13
3.3.1	Albúmina Sérica Bovina.....	14
3.3.2	Albúmina de Clara de Huevo	15
3.3.3	Proteína Muscular.....	16
3.4	Polisacáridos: Gelificación	17
3.4.1	Xantana	18
	κ-Carragenina.....	21
3.4.3	Gelana	23
3.5	Textura.....	26
3.5.1	Pruebas de presión.....	29
3.5.2	Análisis de Perfil de Textura	30
3.5.3	Fractura Torsional.....	32
4.	JUSTIFICACIÓN	34
5.	OBJETIVOS	36
6.	MATERIALES Y METODOS	37
6.1	Selección Y Obtención de las muestras	37
6.1.1	Determinación de la concentración para los geles de albúmina	38
6.1.2	Extracción de Proteínas Musculares	39
6.2	Preparación de las Mezclas.....	39
6.3	Caracterización de los Geles	40
6.3.1	Microscopía de Contraste de Fases de los Geles	40
6.3.2	Pruebas de Penetración de los Geles	40
6.3.3	Pruebas de Análisis del Perfil de la Textura	44
6.3.4	Pruebas de Fractura Torsional	47
7.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	50
7.1	Propiedades de los geles de albúmina	50
7.1.1	Microscopía de contraste de fases de los geles	51
7.1.2	Análisis del perfil de la textura	55
7.1.3	Penetración de geles de albúmina sérica bovina y de clara de huevo	64
7.1.4	Fractura torsional.....	67
7.2	Propiedades de los geles de res y carne de cabra	76
7.2.1	Pruebas de penetración de los geles de res y carne de cabra.....	76

7.2.2	Análisis de perfil de la textura de geles de proteína muscular	79
8.	CONCLUSIONES	86
9.	BIBLIOGRAFÍA	88
10.	ANEXOS	100
	Anexo I. SUPERFICIES DE RESPUESTA: FUERZA DE GEL	I-1
	Anexo II. ANÁLISIS DEL PERFIL DE TEXTURA DE GELES DE ALBUMINA	II-1
	Anexo III. PENETRACIÓN DE GELES DE ALBÚMINA	III-1
	Anexo IV. FRACTURA TORSIONAL	IV-1
	Anexo V. PENETRACIÓN DE GELES DE RES Y CABRA	V-1

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Métodos instrumentales para evaluar la textura	26
Tabla 2.	Resultados del análisis del perfil de la textura para los geles de albúmina sérica bovina (ASB) y albúmina de clara de huevo (ACH)	57
Tabla 3.	Análisis de varianza: coeficientes de determinación y niveles de significancia para los parámetros del análisis del perfil de textura de los geles de ASB y ACH.	59
Tabla 4.	Resultados de Elasticidad Instantánea, Elasticidad Retardada y Módulo TPA para geles de ASB y ACH con los diferentes polisacáridos e iones utilizados.	61
Tabla 5.	Análisis de varianza: coeficientes de determinación y niveles de significancia para elasticidad instantánea, elasticidad retardada, módulo TPA para los geles de ASB y ACH	62
Tabla 6.	Trabajo de Penetración, Índice de Viscosidad y Elasticidad Aparente de geles de ASB y ACH	65
Tabla 7.	Análisis de varianza: coeficiente de determinación y niveles de significancia para Trabajo de Penetración, Índice de Viscosidad y Elasticidad Aparente de geles de ASB y ACH	66
Tabla 8.	Fractura Torsional de geles de albúmina sérica bovina (ASB) y albúmina de clara de huevo (ACH)	70
Tabla 9.	Análisis de varianza: coeficiente de determinación y niveles de significancia de la prueba de Fractura Torsional para los geles de ASB y ACH	71
Tabla 10.	Trabajo de penetración, índice de viscosidad y elasticidad aparente en la prueba de penetración en geles de proteína muscular con polisacáridos	77
Tabla 11.	Análisis de varianza: coeficiente de determinación y niveles de significancia para trabajo de penetración, índice de viscosidad y elasticidad aparente en las pruebas de penetración de los geles de proteína muscular	78
Tabla 12.	Parámetros del análisis de perfil de textura para los geles de proteína muscular de res y carne de cabra.	80
Tabla 13.	Análisis de varianza: coeficiente de determinación y niveles de significancia para el APT de los geles de proteína muscular	80

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipos de geles multicomponentes	13
Figura 2. Molécula idealizada de xantana	18
Figura 3. Modelo de auto asociación de la xantana para la formación de un gel débil..	19
Figura 4. Modelo de agregados filamentosos para la formación de un gel débil de xantana por auto asociación.....	20
Figura 5. Subunidad idealizada de κ -carragenina	21
Figura 6. Modelos de la formación de geles de κ carragenina. (a) modelo de dominios y (b) modelo de nidos. Los puntos representan iones potasio.	22
Figura 7. Mecanismo de gelificación de κ carragenina. (a) modelo de hélices y (b) modelo de formación intermolecular.....	22
Figura 8. Subunidad idealizada de gelana.....	23
Figura 9. Gelificación de gelana	25
Figura 10. Curva característica del análisis del perfil de textura.....	30
Figura 11. Penetración de los geles formados en tubos de ensaye	41
Figura 12. Curva típica de fuerza-deformación para geles inducidos por calor e ilustración de la naturaleza elástica de los geles.....	44
Figura 13. Compresión de las muestras para el APT	46
Figura 14. Formación de la mancuerna: (a) antes y después del esmerilado.	47
Figura 15. Gel en el viscosímetro durante la prueba de torsión, dimensiones aproximadas del gel y curva típica de torsión.....	48
Figura 16. Microscopía de contraste de fases de los geles de ASB y ACH con κ -carragenina a 40x.....	53
Figura 17. Microscopía de contraste de fases de los geles de ASB y ACH con gelana a 40x.....	54
Figura 18. Microscopía de contraste de fases de geles de ASB y ACH con xantana a 40x.....	55

INDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Índice de viscosidad.....	42
Ecuación 2. Elasticidad aparente	43
Ecuación 3. Esfuerzo cortante.....	48
Ecuación 4. Deformación cortante.....	49

1. INTRODUCCIÓN

Las mezclas entre proteínas y polisacáridos tienen importancia en la práctica de la industria alimentaria. Las diferencias intrínsecas (características químicas, funcionales y termodinámicas) y extrínsecas (concentración, temperatura, pH y fuerza iónica del medio) entre los componentes de las mezclas son las que gobiernan la formación de coacervados o sistemas de una fase, donde se presenta la interacción de los componentes. Si las condiciones del sistema no lo permiten, ocurrirá una separación de fases y cada componente actuará de forma individual.

Muchos biopolímeros han sido encontrados como resultado de experimentación y la aplicación de sus propiedades fisicoquímicas han sido determinada después de que los productos han sido comercializados. En el futuro los biopolímeros quizá sean desarrollados de acuerdo a necesidades específicas de funcionalidad. Los biopolímeros comerciales exhiben un amplio rango de propiedades físicas. Ejemplos de esto son la xantana de *Xanthomonas campestris*, la gelana de *Sphingomonas paucimobilis* y los alginatos bacteriales secretados por *Pseudomonas* spp., *Azotobacter vinelandii* y *A. Chroococumm* (Sutherland, 1998). Sin embargo, no hay información suficiente respecto a las interacciones de estos biopolímeros con otras macromoléculas, ya sea en sistemas modelo o en alguna formulación alimenticia, por lo que es importante determinar las características de las interacciones en estas mezclas, específicamente con proteínas, ya que estos son dos de los principales componentes naturales presentes en los alimentos.

2. MARCO TEÓRICO

Con excepción de algunos sistemas alimenticios, como por ejemplo la gelatina, la mayoría de los geles alimenticios son una mezcla de varios componentes, de los cuales algunos gelifican individualmente. Estas mezclas se presentan naturalmente, como en el caso de aislados de proteína de suero de leche, de soya, o proteínas miofibrilares, o en la formulación, como la adición de surimi a otros productos. Las investigaciones en este campo han sido llevadas a cabo usando sistemas "modelo", formados por fracciones aisladas de los principales agentes gelificantes de estas mezclas (Ziegler y Foegeding, 1990). Uno de los principales objetivos en la investigación de la funcionalidad de proteínas en alimentos es entender como las proteínas interactúan entre ellas y con otros componentes del sistema, ya que los efectos al mezclar diferentes proteínas no son solamente aditivos, como a menudo se supone (Schoen, 1977).

Los principales biopolímeros de interés en la industria alimentaria son las proteínas y los polisacáridos. Para los polisacáridos, el volumen de los residuos substituyentes presentan una restricción estérica de rotación mayor que para las uniones entre péptidos o proteínas. Para estas ultimas, la entropía normal lleva hacia una configuración total al azar gobernada por interacciones entálpicas intermoleculares o intramoleculares entre los residuos no adyacentes, que pueden ser paralelas como en la α -hélice o antiparalelas como en la hoja plegada- β . Las macromoléculas pueden

1. INTRODUCCIÓN

Las mezclas entre proteínas y polisacáridos tienen importancia en la práctica de la industria alimentaria. Las diferencias intrínsecas (características químicas, funcionales y termodinámicas) y extrínsecas (concentración, temperatura, pH y fuerza iónica del medio) entre los componentes de las mezclas son las que gobiernan la formación de coacervados o sistemas de una fase, donde se presenta la interacción de los componentes. Si las condiciones del sistema no lo permiten, ocurrirá una separación de fases y cada componente actuará de forma individual.

Muchos biopolímeros han sido encontrados como resultado de experimentación y la aplicación de sus propiedades fisicoquímicas han sido determinada después de que los productos han sido comercializados. En el futuro los biopolímeros quizá sean desarrollados de acuerdo a necesidades específicas de funcionalidad. Los biopolímeros comerciales exhiben un amplio rango de propiedades físicas. Ejemplos de esto son la xantana de *Xanthomonas campestris*, la gelana de *Sphingomonas paucimobilis* y los alginatos bacteriales secretados por *Pseudomonas* spp., *Azotobacter vinelandii* y *A. Chroococumm* (Sutherland, 1998). Sin embargo, no hay información suficiente respecto a las interacciones de estos biopolímeros con otras macromoléculas, ya sea en sistemas modelo o en alguna formulación alimenticia, por lo que es importante determinar las características de las interacciones en estas mezclas, específicamente con proteínas, ya que estos son dos de los principales componentes naturales presentes en los alimentos.

formar grandes estructuras cuaternarias de manera natural así como en materiales alimenticios 'desnaturalizados' por el proceso (Ross-Murphy, 1995a).

El propósito de algunos procesos alimenticios es crear una estructura la cual proporcione al producto sus propiedades características. Un alimento específico puede ser manufacturado usando una variedad de formulaciones y procesos, los cuales difieren en sus requerimientos de ingredientes funcionales. Para entender totalmente la funcionalidad de los biopolímeros en los sistemas multifásicos, se necesita abordar esta complejidad por varias técnicas y tener en consideración el comportamiento de los biopolímeros en varios niveles espaciales (Hermansson, 1995). En algunos sistemas alimenticios los principales componentes son mezclas complejas de biopolímeros en solución acuosa. En estos casos hay una relación directa entre la morfología de tales mezclas y sus propiedades macroscópicas y reológicas, las cuales dan al consumidor la apreciación subjetiva de textura (Donald y col., 1995). La interacción de dos o más proteínas y/o polisacáridos puede ser de varias formas, las cuales afectarán las propiedades del gel multicomponente formado. Entre los factores que pueden influir en el tipo de estructura formada están la compatibilidad termodinámica de los componentes y su mutua reactividad o el potencial de interacción. En el caso de que dos o más agentes gelificantes se combinen también afectarán sus respectivos mecanismos de gelificación. Una vez mezclados se pueden considerar cualitativamente como incompatibles, semicompatibles, o compatibles, y esto depende ya sea de la formación de dos fases inmiscibles por un mezclado parcial a escala molecular, o que se forme una fase simple y termodinámicamente estable (Manson y Sperling, 1976).

De este modo, los geles son responsables de algunas propiedades funcionales, tales como la capacidad de retención de agua y de las propiedades reológicas, por lo que la formación de geles con biopolímeros han recibido mucha atención (Hermansson, 1995). Los geles compuestos o multicomponentes son producidos al mezclar dos o más agentes gelificantes, o un solo agente gelificante y componentes no gelificantes. En el caso de que una segunda proteína capaz de formar un gel esté presente, ésta actuara como agente no gelificante si su concentración está debajo de su punto crítico para formar el gel. La presencia o adición de material polimérico en un gel multicomponente tiene el efecto de reducir la concentración crítica de gelificación del agente gelificante primario (Ziegler y Foegeding, 1990). Un ejemplo simple de tales mezclas de biopolímeros es la presencia de dos especies de polímero en agua. Generalmente, el agua es un buen solvente para los biopolímeros, y en tal situación ésta sirve principalmente para disminuir interacciones no favorables. Sin embargo, esto puede llevar a la separación de fases en algunos intervalos de temperatura y concentración (Donald y col., 1995).

3. ANTECEDENTES.

En el caso de sistemas proteína-polisacárido, las condiciones del solvente (pH, fuerza iónica, temperatura y otros), la estructura química, peso molecular y conformación, tipo de proteína o polisacárido, etcétera, están involucrados en el proceso de separación (Doublier y col., 1995). Asimismo, hay varios mecanismos de gelificación para proteínas así como para polisacáridos, que involucran una amplia variedad de redes estructurales. Incluso un solo biopolímero puede formar muchos tipos geles diferentes dependiendo de la selección de las condiciones ambientales y de proceso (Hermansson, 1995).

Los sistemas biopoliméricos exhiben comportamientos complejos que son importantes en la práctica. Primero, las mezclas biopoliméricas nunca son mezclas ternarias verdaderas; los biopolímeros por si mismos son generalmente polidispersos, además de que otros componentes tales como lípidos, agentes surfactantes y iones inorgánicos podrían estar presentes. Segundo, la separación de fases puede ocurrir en procesos que toman tiempos relativamente largos. Durante la gelificación puede ocurrir que haya un profundo efecto termodinámico y cinético sobre la separación de fases (Donald y col., 1995). Esta ocurre como resultado de una compatibilidad termodinámica limitada entre dos tipos de macromoléculas. No obstante, la incompatibilidad es una tendencia general exhibida por numerosos sistemas ternarios, compuestos de un solvente y dos polímeros diferentes (Doublier y col., 1995). Más aún, dado que la mezcla de biopolímeros produce el efecto

sinérgico, muchas investigaciones se han enfocado a la determinación de las causas de estos efectos (Hermansson, 1995).

3.1 MEZCLAS DE PROTEÍNA Y POLISACÁRIDOS

La estructura, las propiedades reológicas y otras propiedades fisicoquímicas de los alimentos están determinadas en gran medida por el comportamiento de sus componentes mayoritarios: proteínas, polisacáridos y lípidos. Estos son a la vez los responsables de las propiedades funcionales que dan los atributos físicos y sensoriales. Como resultado, las propiedades funcionales del sistema se alteran debido a la presencia de otros componentes macromoleculares o material añadido en el sistema alimenticio. La atención se enfoca en la formación de un complejo proteína-polisacárido termodinámicamente compatible en medio acuoso, y a determinar la forma en que este fenómeno influencia las propiedades funcionales de estas mezclas (Tolstoguzov, 1986).

Los complejos proteína-polisacárido solubles resultan de las interacciones de macromoléculas que llevan la misma o carga opuesta. Las proteínas y los polisacáridos forman sistemas de dos fases solamente bajo ciertas condiciones, las cuales inhiben la interacción macromolecular entre diferentes tipos y promueve la asociación entre las del mismo tipo. En todos los casos, la compatibilidad termodinámica decrece con el incremento de la concentración de sal y temperatura. Se han observado diferencias significativas en la compatibilidad de varias proteínas con el mismo polisacárido, indicando el papel de la estructura en la compatibilidad

(Samant y col., 1993). Debe tenerse en cuenta que la interacción de proteínas con polisacáridos aniónicos es un caso particular de una interacción entre moléculas de carga opuesta en solución (Tolstoguzov, 1986). Cualquiera que sea este mecanismo, los grupos carboxilos o sulfato de los polisacáridos deben estar involucrados, junto con alguno o todos los residuos de las proteínas cargados positivamente, en la fuerza de las interacciones que será relativa al número y distribución de esos sitios, así como de la carga total de la proteína (Ledward, 1990).

La presencia de un polisacárido incompatible contribuye a la actividad termodinámica de una proteína en solución e intensifica la agregación o desnaturalización de las moléculas y por lo tanto promueve el proceso de gelificación (Samant y col., 1993). La cinética del proceso y las propiedades del gel en presencia de un polímero incompatible añadido es más pronunciado en proteínas con una conformación desplegada que con proteínas globulares. Los complejos proteína-polisacárido puede ser considerada como un nuevo tipo de agente gelificante donde las condiciones de formación así como las propiedades reológicas y fisicoquímicas del gel pueden ser controladas. Este fenómeno es atribuido a la presencia de puentes de sal entre proteínas y polisacáridos aniónicos. De interés particular es la posibilidad de formar geles de soluciones de complejos electrostáticos proteína-polisacárido bajo condiciones donde los dos componentes individuales no gelifican, propiedades gobernadas por la composición, pH de la solución y la fuerza iónica. Una consecuencia relativa a la incompatibilidad entre polímeros es el reducir la concentración crítica para gelificación de los componentes en un gel mezclado,

comparado con un sistema binario polímero-solvente (Tolstoguzov, 1986; Samant y col., 1993).

Las interacciones entre proteína-polisacárido pueden dar dos tipos de geles: rellenos y mezclados. Los geles rellenos son obtenidos si uno de los componentes puede formar una red continua en el sistema completo. El otro componente polimérico sirve como un relleno en el gel. Hay dos tipos de geles rellenos: geles de fase sencilla en los cuales el relleno está en un estado de dispersión molecular y el gel de dos fases donde la fase dispersa consiste de partículas de líquido o gel (Samant y col., 1993; Tolstoguzov, 1986). Los geles mezclados son obtenidos cuando los dos componentes macromoleculares de un sistema de una sola fase forman redes continuas separadamente, llamadas también redes poliméricas interpenetradas (Tolstoguzov, 1986). La formación de ambos tipos de geles puede explicarse en cierta medida en términos de factores de energía, incompatibilidad de los polímeros y el efecto del volumen excluido.

La incompatibilidad termodinámica afecta fuertemente a la formación de la estructura de geles multicomponentes. La adición de un polisacárido incompatible a una solución de proteína globular no tiene efecto en el equilibrio de la transición nativa \rightleftharpoons desnaturalizada, pero intensifica la agregación de moléculas de proteína desnaturalizada por incrementar la actividad termodinámica de la proteína, inhibiendo la re-naturalización y promoviendo el proceso de gelificación (Tolstoguzov, 1991; 1997). Los complejos proteína-polisacárido son formados en condiciones en las cuales la proteína por sí sola es muy soluble. Por otro lado, la interacción con el

polisacárido previene una fracción de proteína de las condiciones de precipitación bajo las cuales la agregación podría ocurrir por el fenómeno de agregación debida al "salting-out" o por el pH (Delben y Stefancich, 1998).

3.1.1 Separación de fases

La efectividad de un polisacárido para alcanzar la separación de fases en una suspensión de proteína dependerá de la carga negativa de los biopolímeros (fuerzas atractivas-repulsivas) y pH del sistemas, de la flexibilidad de la cadena, del tamaño molecular y de la concentración de sales. En general, con polisacáridos cargados la incompatibilidad se incrementa con la concentración de sal (Ledward, 1990). El proceso de formación de un complejo puede ser tratado a nivel molecular en términos de una gradual asociación de proteínas como macromoléculas (ligandos) a otros macro-iones que son los polisacáridos (núcleos del complejo). Con la sucesiva unión de cada ligando, las cargas de complejo polianiónico decrece. Los complejos que se agreguen después probablemente lo harán por vía de interacciones hidrofóbicas y por la formación de puentes de hidrógeno (Tolstoguzov, 1986).

3.1.1.1 Equilibrio de fases

Las proteínas y los polisacáridos forman sistemas de dos fases solamente bajo ciertas condiciones. Generalmente esto tiene lugar a ciertos valores de pH, fuerza iónica y concentración de los componentes macromoleculares. La separación de fases se presenta si la concentración de estos componentes excede el 4%

(Tolstoguzov, 1986; Ledward, 1990). El sistema líquido obtenido bajo condiciones óptimas inhibirá las interacciones entre macromoléculas del mismo tipo y promoverá la asociación entre proteínas y polisacáridos. Estos complejos proteína-polisacárido son inhibidos cuando el pH excede el punto isoeléctrico de la proteína a cualquier fuerza iónica, o cuando el pH es menor o igual al punto isoeléctrico y la fuerza iónica es mayor a 0.25 M. La reducción de la compatibilidad termodinámica en estos sistemas se mejora al incrementar la temperatura, ajustar el pH al punto isoeléctrico o la protonación de los grupos carboxilos de proteína (Tolstoguzov, 1986).

3.1.2 Efecto de las condiciones del sistema

3.1.2.1 Efecto del pH

A pH debajo del punto isoeléctrico las proteína y los polisacáridos aniónicos llevan carga neta opuesta. En esta región de pH se puede formar un complejo insoluble e incluso al mezclar soluciones muy diluidas (de hasta 0.1 mg ml^{-1}) con una fuerza iónica baja (generalmente menor de 0.1 M), donde la relación de cargas positivas/negativas en el sistema es cercana a uno. A fuerzas iónicas altas la formación del complejo es inhibida. Cuando un sistema se separa en dos fases una de ellas contiene una alta concentración de los dos reactivos, denominada fase coacertiva, y la otra es una fase líquida en equilibrio de ambos reactivos (Tolstoguzov, 1986).

3.1.2.2 Efecto de la concentración de sal

Si la concentración de sales esta por debajo del valor critico, la proteína y el polisacárido son completamente incompatibles. Si la concentración de sal excede este punto critico, la compatibilidad de los componentes macromoleculares cae rápidamente. Este umbral es función del pH y de la concentración de sales (Tolstoguzov, 1986).

3.2 GELES MULTICOMPONENTES

Las mezclas biopoliméricas, como las define Ross–Murphy (1995b), consisten en al menos de dos sistemas biopoliméricos mas, en términos de volumen que es el componente más abundante, un solvente acuoso. Este sistema puede que contenga por sí mismo sales y otros componentes solubles de bajo peso molecular. Dependiendo de la naturaleza de los biopolímeros, se tienen varias mezclas potenciales. Si los dos biopolímeros gelifican separadamente, es un sistema de gel mezclado. Considerando los sistemas de geles binarios se puede distinguir entre los polímeros que forman parte de la red molecular y aquellos que están meramente contenidos dentro de la estructura de la red. Los primeros se consideran 'activos' y los últimos 'no-activos' (Morris, 1985). Hay una variedad de maneras en las que las proteínas pueden interactuar y que afectaran las propiedades del gel multicomponente. Los respectivos mecanismos de gelificación son uno de los factores que más afectan la estructura formada. Así, estos geles pueden ser producidos al mezclar dos o más agentes gelificantes, o un agente gelificante y

componentes no gelificantes. Una segunda proteína o polisacárido capaz de formar un gel pueden actuar como agentes no gelificantes si están presentes en la mezcla por debajo de su concentración crítica de formación de gel.

Los tipos de geles pueden ser distinguidos dependiendo del estado de fase del sistema: geles de una fase, donde un biopolímero no participa en la formación de la red (Figura 1A); geles de dos fases, donde la incompatibilidad termodinámica causa la separación de las fases, en donde un biopolímero esta como partículas dispersas o como una red secundaria (Figura 1B). Los geles "complejos" son formados por la interacción entre los componentes que llevan a su asociación física. Un biopolímero 'no-gelificante' se asocia a la red primaria en una forma aleatoria por interacciones no específicas (Figura 1C). Tales interacciones quizá reduzcan la flexibilidad de las cadenas de la red primaria y añadan rigidez al gel. Alternativamente, dos o más proteínas o polisacáridos quizá copolimerizen para formar una red sencilla y heterogénea (Figura 1D). Un tipo único de gel multicomponente es la red de polímero interpenetrada (RPI). En una RPI ambas redes son continuas a través de la muestra (Figura 1E). En éstas son posibles en sistemas de una fase, donde dos o más proteínas o polisacáridos son totalmente compatibles, aun si hay diferencias importantes en el mecanismo de gelificación. Incluso si hay algún grado de incompatibilidad, donde ocurre una separación de fases, los dos componentes pueden permanecer íntimamente mezclados. Generalmente, la red formada primero exhibe cierto grado de continuidad. Esta red a la vez representa el componente menor en peso, pero determinante en las propiedades mecánicas del gel. La

presencia de material polimérico en un gel multicomponente tiene el efecto de reducir la concentración crítica de gelificación del agente gelificante primario (Ziegler y Foegeding, 1990).

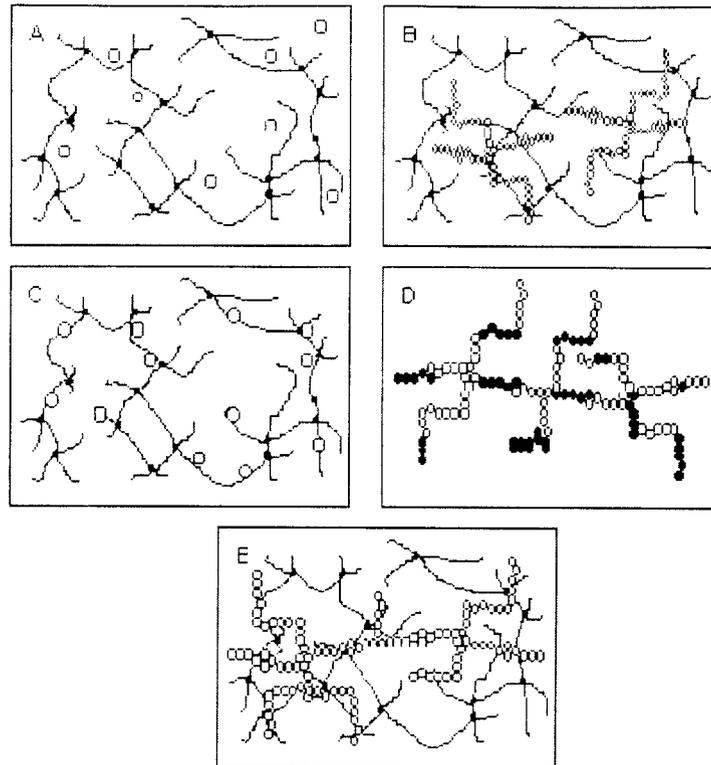


Figura 1. Tipos de geles multicomponentes

3.3 PROTEÍNAS: GELIFICACIÓN

El mecanismo de gelificación inducida por calor contempla dos pasos: un paso inicial involucrando un desplegamiento o disociación de las moléculas proteicas seguido de un segundo paso de agregación en el cual las reacciones de asociación y agregación dan como resultado la formación del gel, bajo las condiciones apropiadas. Para la

formación de una matriz de gel altamente ordenada, es imperativo que el proceso de agregación proceda a una velocidad menor que el de desplegamiento (Ziegler y Acton, 1984). Para una velocidad dada de desnaturalización, mientras más pequeñas sean las fuerzas de atracción entre cadenas de proteína desnaturalizada, más lento será el segundo proceso. De acuerdo a esto, la concentración de proteína libre desnaturalizada será mayor y se acumulará como un intermediario en el curso de la gelificación. Si la concentración de estas moléculas de cadena larga es más alta, la red del gel será más fina. Así, la fineza en la estructura esta correlacionada con las bajas fuerzas atractivas o un bajo coeficiente de actividad para una sola molécula relativa a los agregados (Ferry, 1948). Por lo anterior, el mecanismo para la formación de geles de proteína puede describirse de la siguiente manera:



Donde x es el número de moléculas de proteína P, con n denotando el estado nativo y del estado desnaturalizado (Ziegler y Acton, 1984).

3.3.1 Albúmina Sérica Bovina

La albúmina sérica bovina (ASB) tiene un peso molecular de 66,267 Da, contiene 17 grupos disulfuro y 1 un grupo sulfhidrilo libre. La concentración mínima para gelificar va de 0.6 a 6.6.% dependiendo de las condiciones y criterios utilizados para su evaluación. La gelificación ocurre a 55°C, aunque muchos estudios utilizan temperaturas de 60 a 100°C. El balance de las fuerzas electrostáticas producidas por variaciones en el pH y fuerza iónica producen efectos en los geles de ASB, y es una

de las proteínas más utilizadas como modelo en el estudio de propiedades funcionales (Ziegler y Føegeding, 1990). Su punto isoeléctrico esta entre 4.7-4.9.

3.3.2 Albúmina de Clara de Huevo

La clara de huevo contiene 13 proteínas caracterizadas, donde la ovoalbúmina (54%), la ovotransferrina (12%) y el ovomucina (11%) constituyen el 77% de la proteína total (Ziegler y Foegeding, 1990), con un punto isoeléctrico de 4.5-4.6, 6.1-6.6 y 3.9-4.3, respectivamente. La albúmina de clara de huevo (ACH), considerada como ovoalbúmina, forma un gel a 65°C, pero no a 60°C. El incremento en la concentración de proteína causa un aumento en la dureza del gel y esta es mayor a pH 5 que a pH 6, 7 y 8, por otro lado, el incremento en la concentración de cloruro de sodio causa una disminución general en la fuerza del gel (Woodward y Cotterill, 1986). El tratamiento térmico, como el que ocurre durante el secado, provoca cambios significativos en las propiedades físicas y químicas, al decrecer la tensión superficial, se incrementa la gravedad específica del espumado y decrece la estabilidad de la espuma. En algunos casos un tratamiento de precalentamiento puede reducir estos efectos (Brown y Zabik, 1967).

3.3.3 Proteína Muscular

Las proteínas del músculo se clasifican generalmente en tres grupos: miofibrilares o contráctiles, sarcoplásmicas y del estroma. En el músculo esquelético de mamíferos las proteínas miofibrilares constituyen del 50 al 55% de la proteína total (Ziegler y

Acton, 1984). Se han observado grandes variaciones en las propiedades de gelificación han sido observadas en sistemas miofibrilares más complejos derivados de diferentes tipos o grupos de músculo. En productos cárnicos procesados, donde una concentración de sal de más del 2% (aproximadamente 0.5 M de cloruro de sodio en la fase acuosa) es normalmente añadida, la estructura miofibrilar inicialmente se hincha y se rompe, liberando actomiosina, miosina y una variedad de agregados o complejos proteicos incluyendo miofibrillas intactas. Por lo tanto, los sistemas miofibrilares son más cercanos respecto a productos cárnicos procesados que los aislados de miosina (Xiong, 1994). Se pueden considerar varios factores intrínsecos que afectan al tejido muscular y por lo tanto aquellas propiedades moleculares que se consideran importantes en el desempeño funcional de estas proteínas musculares. Entre estos factores intrínsecos están: contenido de tejido conectivo, pH final del músculo, estado contráctil y composición del músculo (proteína, grasa y humedad); además de la edad del animal, sexo y raza, y condiciones de *rigor mortis* (Rodgers y Wilding, 1990). Los factores extrínsecos son aquellos relativos al manejo de los animales antes del sacrificio que afectaran el desarrollo del rigor, así como el manejo del tejido muscular durante la conversión de músculo a carne (respecto a temperatura, tiempo, etcétera), que determinaran la calidad de la carne. Otro factor importante es la diferencia entre especies. Debido a las diferencias intrínsecas antes mencionadas, en esta tesis se evaluaron dos especies animales: bovinos y caprinos. Los bovinos han sido de las especies más estudiadas en cuanto a la funcionalidad de su carne (Samejima y col., 1985;

Lamballerie y col., 1993) debido a su amplia utilización en la elaboración de productos cárnicos.

3.4 POLISACÁRIDOS: GELIFICACIÓN

La estructura química de los polisacáridos es de principal importancia para determinar sus propiedades. Estos exhiben diferencias en cuanto a solubilidad y propiedades de gel debido a la variación en la estructura primaria, que determina la forma que las moléculas adoptan tanto en sistemas acuosos o en estado sólido. La asociación entre cadenas de polisacáridos para formar un gel puede ser promovida de varias maneras, ya que la asociación cadena-cadena esta en competencia con la asociación cadena-solvente, la reducción de la actividad de agua causa un incremento en las uniones entre cadenas. En sistemas de un solo polisacárido, las zonas de unión involucran agregación ya sea por extensión, ordenamiento o conformaciones de listón, que pueden llevar a la formación de un gel. La gelificación en mezclas de polisacáridos involucra la agregación ordenada de diferentes tipos de conformaciones de listón (Dea, 1993).

3.4.1 Xantana

La xantana es una goma extracelular producida por fermentación aeróbica sumergida de *Xanthomonas campestris*. La xantana en solución presenta alta viscosidad a alta tensión, así como alta pseudoplasticidad, además de mantener la viscosidad estable en rango amplio de pH y temperaturas y en presencia de sales (Morris, 1990). La

molécula tiene un esqueleto de unidades de D-glucosa, en unión de β -1,4. En contraste con la celulosa, que no tiene grupos sustituyentes, el esqueleto de la xantana tiene cadenas laterales cada segundo residuo de glucosa (Figura 2). Las cadenas laterales están compuestas de dos unidades de D-manosas y una unidad de ácido D-glucorónico (Sanderson, 1982). El peso molecular esta en el intervalo de 15 a 50×10^6 Da (Kang y Pettitt, 1993).

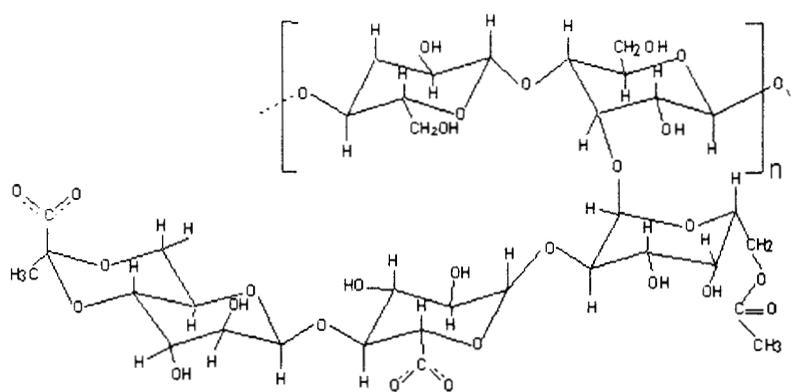


Figura 2. Molécula idealizada de xantana

La goma de xantana en solución acuosa existe en un intervalo amplio de temperaturas en forma de una varilla rígida estabilizada por interacciones no-covalentes entre las cadenas laterales y el esqueleto, dando a la goma de xantana su funcionalidad única (Sanderson, 1982). La incorporación de iones sodio o potasio a la goma de xantana aumenta ligeramente la rigidez del gel (Ma y Barbosa-Cánovas, 1997). Se han propuesto dos modelos para geles débiles de xantana: uno

basado en las hélices sencillas, donde el ordenamiento conformacional de las hélices se considera incompleto (Figura 3).

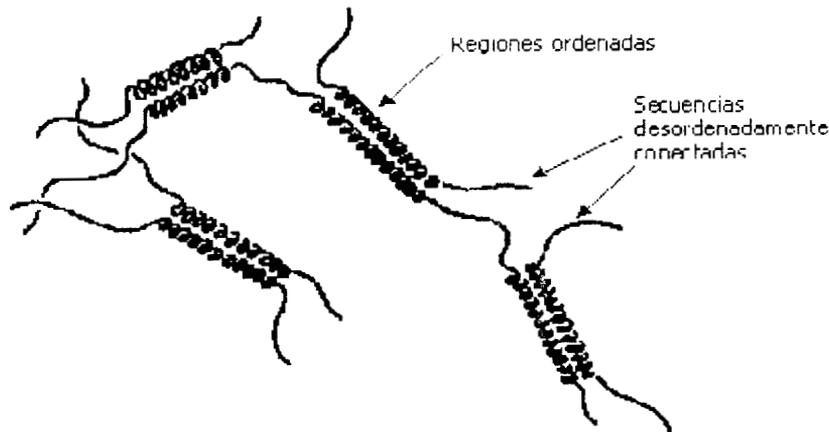


Figura 3. Modelo de auto asociación de la xantana para la formación de un gel débil

El segundo modelo está basado en el modelo de la doble hélice de xantana, donde el mecanismo primario de acción es considerado como la asociación entre cadenas terminales para la formación de una doble hélice en agregados filamentosos. Las fibras más delgadas se bifurcan dando la formación de un gel débil (Figura 4). En ambos ejemplos la formación de la red se ve favorecida por las condiciones de pH, temperatura y fuerza iónica que, a la vez, estabilizan a la hélice de xantana (Morris, 1990).

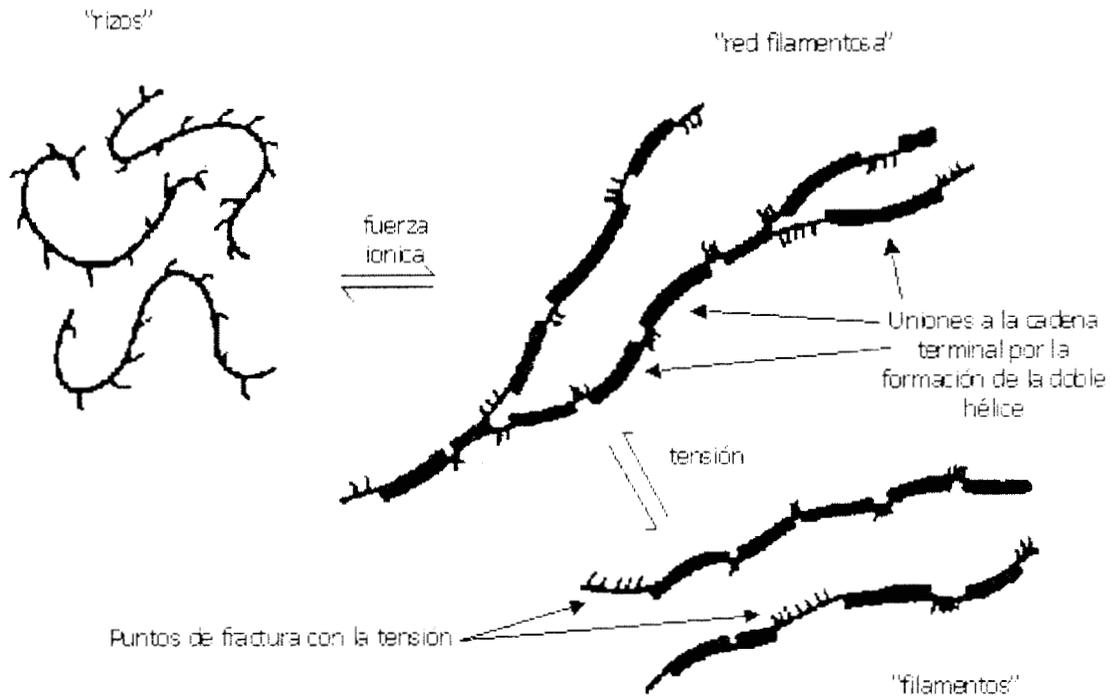


Figura 4. Modelo de agregados filamentosos para la formación de un gel débil de xantana por auto asociación.

3.4.2 κ -Carragenina

Las carrageninas constituyen el principal polisacárido de algunas algas marinas. El esqueleto consta de unidades de 3,6-anhidro-D-galactopiranosil, que favorece una estructura terciaria de hélice (Therkelsen, 1993). En el caso de la κ -carragenina, el contenido de grupos sulfuro es del 23% (Figura 5).

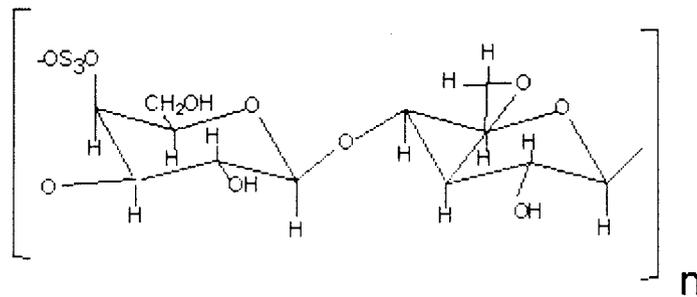


Figura 5. Subunidad idealizada de κ -carragenina

La carragenina es soluble solo en solventes muy polares. En agua fría no es soluble en proporciones de más del 3%, mientras que a 60-80°C puede solubilizarse hasta un 7.8%. Las formas κ e ι de la carrageninas tienen la capacidad de formar geles termorreversibles con el enfriamiento, siempre que estos estén en soluciones acuosas que contengan sales. La κ -carragenina puede formar geles cohesivos a una concentración de polímero hasta 0.5% en sistemas acuosos y de 0.1-2.0% en sistemas bicoloidales. La fuerza de gel depende de la concentración de carragenina y del tipo y concentración de cationes monovalentes. Originalmente se creía que el entrecruzamiento necesario para la formación de una red de carragenina se debía únicamente a la formación de la doble hélice. Un modelo ampliamente aceptado incluye la agregación de las doble hélices en zonas de unión (Figura 6), aunque esta en conflicto con el modelo propuesto basado en la formación de nidos de hélices (Therkelsen, 1993). Otros modelos propuestos están representados en la Figura 7 (Morris, 1985).

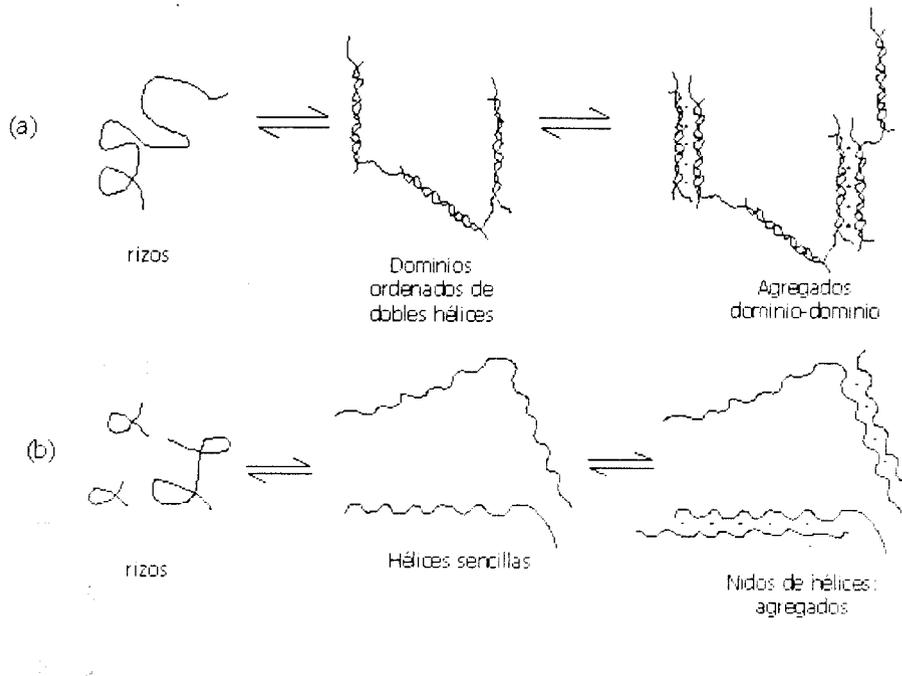


Figura 6. Modelos de la formación de geles de κ carragenina. (a) modelo de dominios y (b) modelo de nidos. Los puntos representan iones potasio.

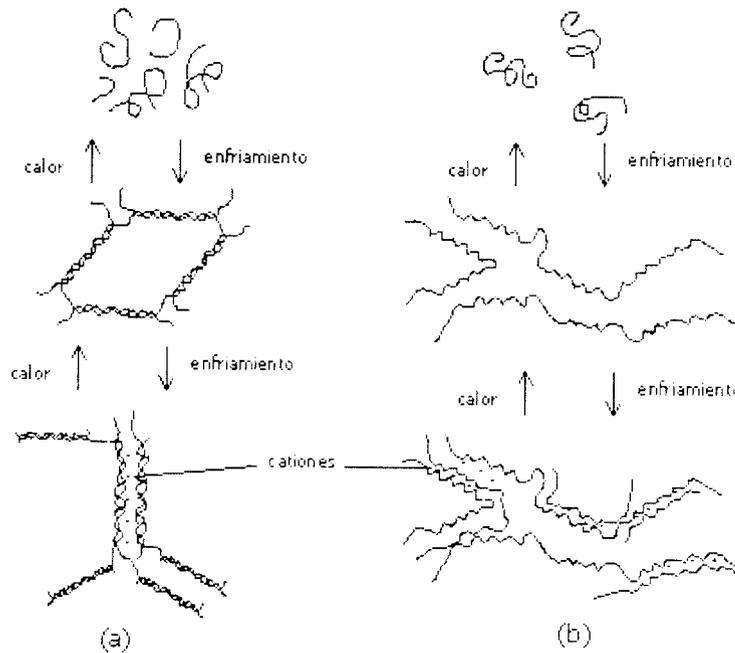


Figura 7. Mecanismo de gelificación de κ carragenina. (a) modelo de hélices y (b) modelo de formación intermolecular.

3.4.3 Gelana

La gelana es producida por el microorganismo *Sphingomonas elodea*, antes llamado *Pseudomonas elodea* en fermentación aerobia y sumergida. La gelana presenta buena estabilidad incluso a pH ácidos, formando geles excepcionalmente claros y con una amplia variedad de texturas dependiendo de las condiciones del sistema (Sanderson, 1990). La gelana esta compuesta de una secuencia lineal de unidades repetidas de tetrasacáridos conteniendo D-glucoronopiranosido, D-glucopiranosido, D-glucoronopiranosido y L-manopiranosido y grupos acilados (Figura 8). El peso molecular es estimado alrededor de 1 a 2×10^6 para las formas aciladas y desaciladas (Kang y Pettitt, 1993).

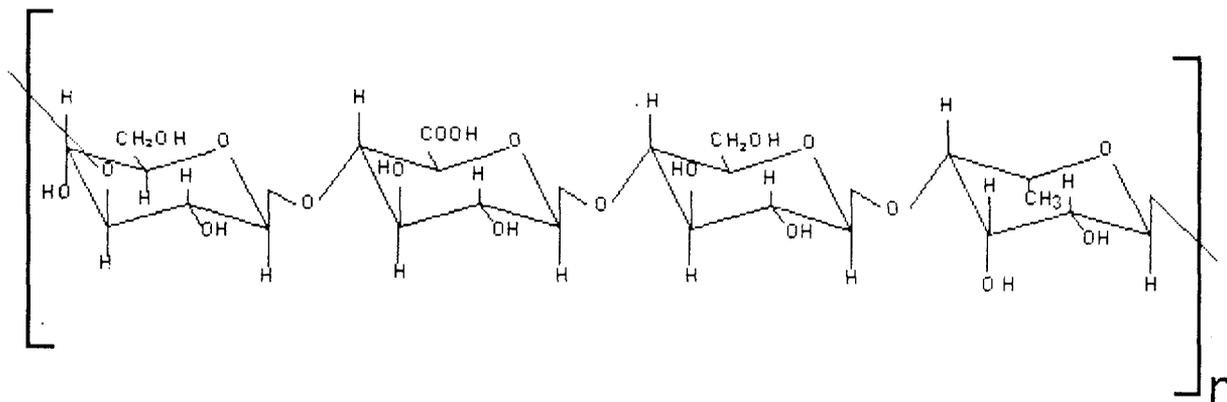


Figura 8. Subunidad idealizada de gelana

Las soluciones de gelana sufren cambios reversibles de viscosidad debido a la temperatura. La viscosidad decrece marcadamente con el incremento de la

temperatura pero retorna a su valor original con el enfriamiento (Kang y Pettitt, 1993). Entre 30 y 0°C el espectro mecánico de una solución al 1% de gelana sin sales es la típica para una solución diluida. Sin embargo, a una concentración del 2% el comportamiento de la solución varia de una solución diluida a un gel débil con la disminución de temperatura (Nishinari y col., 1996). Al igual que la xantana, la gelana adquiere una conformación de hélice al estar en solución (Kang y Pettitt, 1993, Morris, 1990). Las sales promueven la agregación de las hélices a baja temperatura mientras se reduce la dimensión de las mismas a altas temperaturas (Nishinari y col., 1996). Las dispersiones acuosas de gelana producen geles termorreversibles cuando se calienta y se deja enfriar. Las características del gel varían de acuerdo al contenido de substituyentes orto-acilados del polisacárido. La gelana requiere de la presencia de cationes ya sea mono o divalentes para gelificar, además de que los cationes como el potasio, junto con los puentes de hidrogeno formados entre cadenas y las interacciones con el agua, estabilizan la estructura y son responsables de la formación de gel. La temperatura de gelificación es función de la concentración de goma y cationes, y puede variar de 35 a más de 50°C para una solución al 1% de gelana. La fuerza de gel se incrementa con el aumento en la concentración de cationes alcanzando un máximo y luego decreciendo (Kang y Pettitt, 1993). El modelo propuesto para la gelificación de la gelana esta representado en la Figura 9 (Morris, 1990). La gelana forma geles con cationes mono, di y trivalentes. Para los monovalentes se sigue el siguiente orden de acuerdo a la fuerza de gel obtenida: $H^+ > Cs^+ > K^+ > Na^+ > Li^+ > (CH_3)_4N^+$. No hay selectividad de la gelana por cationes del grupo II (Mg, Ca, Sr, Br), y esto la distingue de otros polisacáridos aniónicos como los

alginatos o la pectina. Los iones divalentes dan una fuerza de gel mayor a concentraciones estequiométricamente equivalentes, lo que indica que tienen un papel activo en la asociación entre grupos carboxilos de las hélices vecinas (Kasapis, 1995).

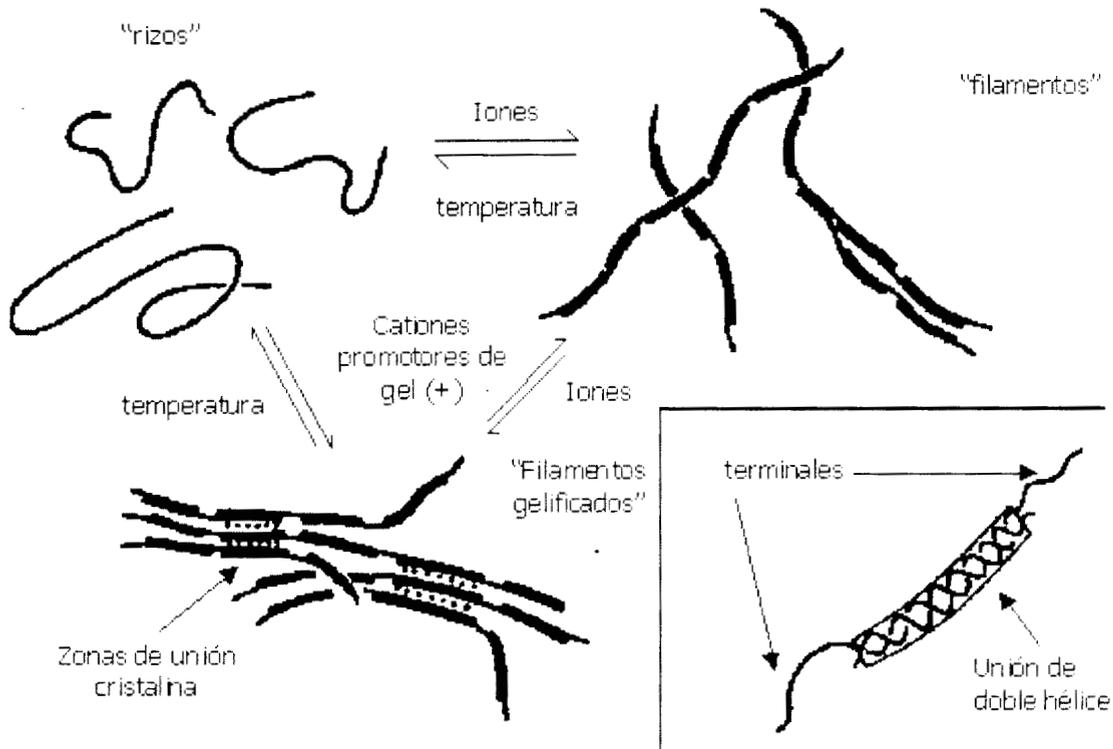


Figura 9. Gelificación de gelatina

3.5 TEXTURA

La textura es un atributo resultado de la combinación de las propiedades físicas y químicas, estas incluyen el tamaño, la forma, el número, la naturaleza y el arreglo de los elementos estructurales constituyentes. Estas propiedades son el reflejo de la estructura macroscópica del material. El estudio de la estructura lleva a un mejor entendimiento de las propiedades físicas y de sus características de textura (Lewis, 1987). Los métodos instrumentales para medir la textura (Lewis, 1987; Bourne, 1982) son descritos en la Tabla 1.

Tabla 1. Métodos instrumentales para evaluar la textura

Métodos Fundamentales	<p>Diseñados para medir una o más propiedades bien definidas. Pueden ser descritos matemáticamente.</p> <p>El esfuerzo es siempre una fuerza, mientras que la tensión es siempre medida como distancia.</p>
Métodos Imitativos	<p>Miden parámetros que no están bien definidos y no pueden ser fácilmente expresados en términos fundamentales.</p> <p>Hay poca definición de lo que se está midiendo, hay arbitrariedad en la escala y no hay un estándar absoluto.</p>
Métodos Empíricos	<p>Intentan simular, en cierto grado, las fuerzas y deformaciones a las que se ve sometido un alimento durante su consumo.</p> <p>El más común es análisis del perfil de la textura.</p>

La textura de geles, ya sea de proteína o polisacáridos, esta determinada por el mecanismo de gelificación y las condiciones del medio y formación del gel. La mezcla de estos componentes debe producir texturas diferentes a las de geles no mezclados. La medición de la textura en geles o productos alimenticios se hace principalmente a través de equipos que interpretan la fuerza necesaria para comprimir, penetrar o atravesar la muestra.

El termino textura debe ser definido no solo considerando la evaluación instrumental, sino también la evaluación sensorial del consumidor, debiendo abarcar los dos aspectos, ya que la textura se compone de aquellas propiedades las cuales emergen de los elementos estructurales y de la manera de cómo estos son registrados por los sentidos (Sherman, 1982). De acuerdo a varios autores (Szczesniak y col., 1963; Montejano y col., 1984; Lanier, 1986), la textura no es un simple parámetro medible porque involucra un amplio rango de propiedades las cuales deben ser identificadas independientemente, utilizando alguna metodología instrumental (Sherman, 1982). Esto es importante al momento de analizar la textura de sistemas extrapolables a alimentos. Aún bajo condiciones ideales de experimentación, los parámetros texturales obtenidos, ya sea por métodos instrumentales o sensoriales, tienen algunas ambigüedades. Los parámetros instrumentales son ambiguos debido principalmente a la dependencia que hay en el tamaño de la muestra y velocidad de la prueba, y los parámetros sensoriales debido a problemas de semántica. Teóricamente, los problemas no pueden ser resueltos estableciendo condiciones de prueba estándar, debido a que no es totalmente claro que cualquier atributo textural

dado se realmente el mismo para todos los alimentos debido a la relación multidimensional que no puede lógicamente ser condensada dentro de un sencillo valor representativo. Esto viene a reforzar el punto de vista de que una prueba universal o la terminología estándar de textura no puede tener un significado específico para ser suficientemente sensitivos (Peleg, 1983). De este modo, la complejidad de los sistemas alimenticios hace de particular importancia el llevar a cabo experimentos con el cuidado necesario para que seamos capaces de valorar la confiabilidad de los datos y de las conclusiones basadas en estos. Esto aplica para los datos obtenidos por métodos puramente empíricos y para aquellos obtenidos por métodos fundamentales o básicos. Hay del mismo modo una necesidad de expandir el entendimiento fundamental del comportamiento de los materiales. No hay duda de que las pruebas empíricas sobre alimentos son importantes, y no deben ser utilizados en la práctica a menos que los resultados estén correlacionados de alguna manera con propiedades en el producto final o características de proceso, o servir como un índice de calidad de producto o como control de proceso (Bagley y Christianson, 1987).

3.5.1 Pruebas de presión

Bourne (1966) clasificó las pruebas para medir la textura en presión, deformación y penetración. Las pruebas de presión son cualquier tipo de prueba donde se aplica presión a la muestra por cualquier medio, y necesitan un equipo que determine la fuerza aplicada. Las pruebas de punción miden la fuerza requerida para empujar

alguna clase de punzón dentro de la muestra y está caracterizada por que la distancia de penetración es generalmente constante. Las pruebas de deformación miden la distancia que la muestra es deformada bajo una fuerza antes de penetrarla. La fuerza puede ser aplicada por un punzón, vástago u otros medios y la fuerza es mantenida constante a manera de obtener una deformación constante de la muestra. En las prueba de penetración se mide la profundidad de penetración de un vástago dentro de la muestra una fuerza determinada en un tiempo dado. Se necesita el uso de un equipo que registre la distancia-tiempo, de modo que mida el tiempo para alcanzar una profundidad estándar, además de que hay penetración del punzón o vástago en la muestra y la fuerza se mantiene constante. Es importante distinguir entre estas pruebas para su correcta aplicación en la determinación de la textura.

3.5.2 Análisis de Perfil de Textura

Tradicionalmente la medición de la fuerza de gel ha sido utilizada para caracterizar los sistemas gelificantes. Sin embargo, esta medición es un solo punto o a menudo basada en la ruptura de muestra, y no es representativa del comportamiento mecánico total del gel (Pons & Fiszman, 1996). La prueba del análisis del perfil de la textura (APT) se lleva a cabo comprimiendo la muestra a velocidad constante, regresando el vástago a la posición original con un periodo de espera, dejando recobrar la muestra, volviendo a comprimir la muestra con las mismas condiciones iniciales. La Figura 10 muestra la curva característica del APT.

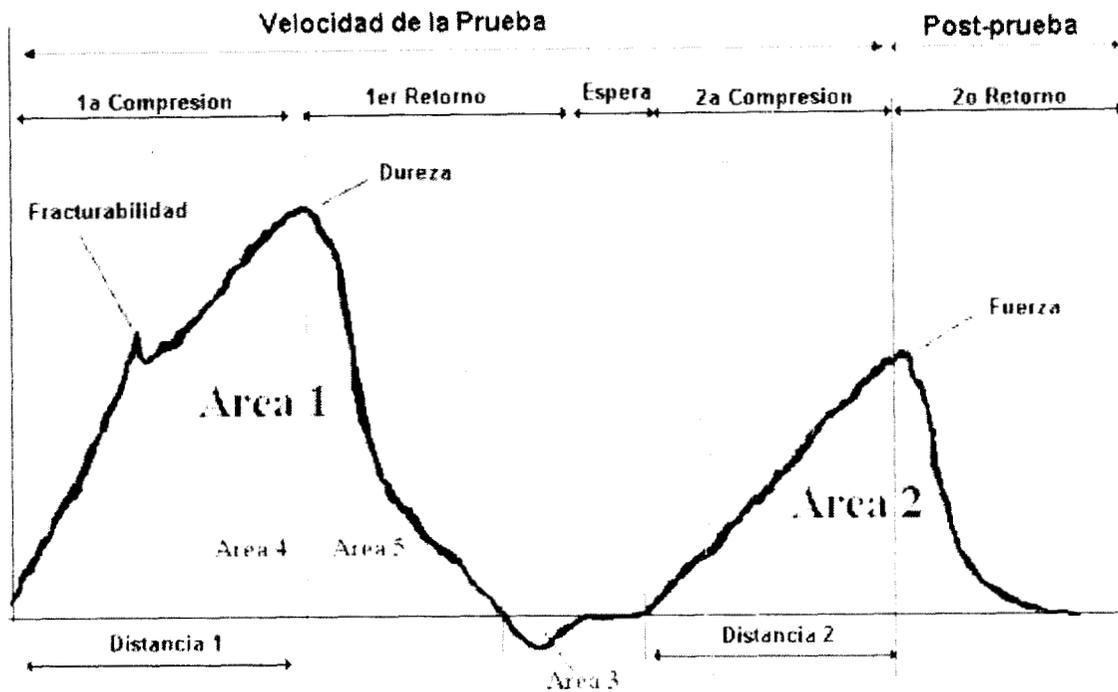


Figura 10. Curva característica del análisis del perfil de textura

Donde se pueden obtener los siguientes parámetros:

Fracturabilidad: definida como la fuerza al primer rompimiento significativo en la curva, no siempre presente ya que depende de las propiedades del espécimen.

Dureza: máximo en fuerza alcanzado durante la primera compresión, definida como "la fuerza necesaria para alcanzar una deformación dada". Depende de la magnitud de la deformación seleccionada, y esta correlacionada en muchos casos con la fuerza de ruptura del gel.

Cohesividad: resultado de la relación del área de fuerza positiva durante la segunda compresión entre el área de la primera compresión (A_2/A_1). La cohesividad es la suma de las fuerzas de unión internas que forman el cuerpo de la muestra.

Adhesividad: el área de fuerza negativa (A_3), es el trabajo necesario para sobreponer las fuerzas atractivas entre la superficie de la muestra y la de la base o embolo.

Elasticidad: altura que recobra la muestra durante el periodo de tiempo entre el fin de la primera compresión y el inicio de la segunda. Es definida como la tasa relativa a la cual un material regresa a su condición original antes de ser deformada. Por lo tanto, la elasticidad del APT debe ser igual a la deformación recobrada después de la primera compresión.

Resilencia: definida como la energía acumulada en la muestra que le permite recobrar, hasta cierto punto, su forma original.

No hay un estándar internacional para realizar APT, aunque son muy necesarios (Peleg, 2000; Bourne, 2000). Sin embargo, es importante estandarizar el tamaño y forma de las muestras y mantenerlas constantes durante la prueba (Bourne, 2000).

3.5.3 Fractura Torsional

El esfuerzo y la deformación cortante pueden ser medidos en los geles por medio de fractura torsional utilizando una geometría de mancuerna en la muestra. Esta geometría minimiza la concentración de esfuerzos en los puntos donde se aplica el torque (Montejano y Morales, 1990). En esta metodología la determinación del

esfuerzo cortante se hace midiendo el torque aplicado a la muestra. El esfuerzo cortante representa la fuerza estructural del gel y la deformación cortante es la ductilidad de la muestra.

4. JUSTIFICACIÓN

En la adaptación y/o mejora de características de proceso y formulación, es esencial investigar el proceso fundamental de la formación de estructuras en alimentos que se reflejen en el comportamiento macroscópico, así como de las propiedades mecánicas y fisicoquímicas de los sistemas alimenticios. La incorporación a sistemas alimenticios de aditivos funcionales exige la estimación y control de las funciones estructurales de las macromoléculas alimenticias de dos tipos, aditivos funcionales y constituyentes del sistema, así como el estudio de las varias interacciones proteicas en conjunción con sus propiedades funcionales en sistemas modelo. Tal investigación es concerniente a la relación estructura-textura de las proteínas texturizadas en los productos cárnicos, así como otras propiedades organolépticas, además del mejoramiento en la composición. Los logros prácticos en esta área, sin embargo, dependen del entendimiento del proceso de la formación de la estructura en los sistemas proteicos así como el proceso de reutilización o aplicación a productos alimenticios.

Los sistemas alimenticios son siempre multicomponentes, siendo notable la gran variedad de una composición altamente complicada en estructuras, y propiedades. Estos contienen un amplio rango de ingredientes que interactúan entre sí y con otros componentes del sistema. La mayor contribución a la formación de estructura y propiedades de los alimentos procede de tres tipos de macromoléculas: proteínas, polisacáridos y lípidos. La presente tesis se centra en las mezclas proteina-

polisacárido debido a la tendencia actual de reducción del contenido de grasa o la búsqueda de nuevas y mejores texturas en los alimentos. La información sobre la incompatibilidad termodinámica y complejidad de estos biopolímeros en sistemas alimenticios ayuda al entendimiento de los principios fundamentales del proceso de formación de la estructura, ya que una gran cantidad de alimentos musculares son fundamentalmente geles. Las dificultades que surgen son causadas por la naturaleza multicomponente de los sistemas alimenticios en los cuales el comportamiento y función estructural de las proteínas son más complicadas y variadas que en sistemas modelo, los cuales han sido empleados para el estudio del efecto de los factores termodinámicos, cinéticos y reológicos sobre la estabilidad, formación de la estructura y textura de productos alimenticios. Esta circunstancia se debe a la carencia de datos sobre: (1) compatibilidad termodinámica y formación de complejos de proteínas en sistemas alimenticios, (2) interacciones entre proteínas e incorporados solubles e insolubles, grasa, sal y agua, (3) la relación estructura-textura en sistemas alimenticios y, especialmente, (4) los mecanismos básicos a la formación de gel y habilidades de unión de agua y grasa. Esto significa que algunos problemas básicos en la formación de la textura de productos no son lo suficientemente claros para ser discutidas a niveles molecular y supermolecular.

Dado lo anterior, tratando de eliminar el empirismo que prevalece en la elucidación del mecanismo de gelificación de proteínas y aún más de mezclas de proteína y otros polisacáridos, en esta tesis se estudiaron geles de proteínas y polisacáridos

mediante pruebas reológicas, para tratar de determinar la estructura de geles de proteína muscular y albúminas mezclados con polisacáridos.

Al aplicar a la formulación o al proceso de alimentos, la tendencia de las proteínas y/o los polisacáridos para actuar como agentes gelificantes puede ser mejorada notablemente por la adición de otras macromoléculas. Cuando dos macromoléculas son mezcladas en un medio ambiente acuoso, ya sea en forma diluida o coloidal, y de acuerdo a Harding y col. (1995), pueden pasar tres cosas:

1. Que no halla interacciones en el sistema, es decir, nada.
2. Que ocurra una separación de las fases debido a la incompatibilidad termodinámica.
3. La interacción entre macromoléculas de forma covalente o no-covalentemente, de manera reversible o irreversible, esto es, que se mantengan juntas formando un complejo con propiedades diferentes.

Así, con la interacción de diferentes macromoléculas de diferentes propiedades fisicoquímicas, funcionales y sensoriales, como las proteínas y los polisacáridos, en alimentos o sistemas modelo, se hace necesaria la investigación en cuanto a que esta pasando en estos sistemas, ya que las condiciones del sistema propicia la formación de complejos o la separación de fases durante la gelificación que afectan la textura final del producto.

5. OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis fue estudiar la relación de las características microestructurales con las propiedades de textura de geles inducidos por calor de proteínas animales y polisacáridos.

Este estudio servirá como base para la elucidación del desempeño funcional desde el punto de vista de la textura de geles de sistemas modelo de mezclas de agentes gelificantes, proteínas y polisacáridos. Las interacciones entre las albúminas o proteínas globulares y los diferentes polisacáridos permitirán interpretar las estructuras formadas al combinar estos. El demostrar una funcionalidad similar o mejor de las proteínas de carne de cabra comparadas con las de res al mezclarse con los polisacáridos implicara el poder utilizar esta carne en productos cárnicos.

Los objetivos específicos fueron:

- ❖ Determinar la estructura de los geles inducidos por calor de las mezclas de proteína y polisacárido mediante microscopía de contraste de fases.
- ❖ Relacionar esta microestructura con el comportamiento de los geles durante el análisis de textura (penetración, análisis del perfil de textura y fractura torsional).

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 SELECCIÓN Y OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las proteínas se eligieron por su amplio uso como aditivos en alimentos. La albúmina de clara de huevo tiene propiedades de formar espumas con gran volumen y estabilidad, debido a la presencia de otras proteínas de la clara de huevo, además de ser un agente estabilizante y estructural que coagula por calentamiento, ligando otros ingredientes. La albúmina sérica bovina se utilizó como referencia de la funcionalidad al ser una proteína purificada. Los extractos de carne de cabra se compararon con extractos de res, especie más estudiada y utilizada en la industria cárnica. La cabra es una fuente de proteína subutilizada al ser un subproducto de la producción de leche o pieles. El demostrar un desempeño funcional similar entre ambas especies permitirá incorporar carne de cabra sin la adición de otros aditivos en la elaboración de productos cárnicos emulsionados y cocinados.

La albúmina sérica bovina fue comprada a Sigma Chemical Company (St Louis, MO) y la albúmina de clara de huevo "campeón" fue donada por Alimentos Deshidratados, S.A. (México). La carne de cabra y de res se adquirió en el rastro municipal de Ciudad Nezahualcoyotl, Estado de México, con un tiempo post-mortem aproximadamente de 24 horas.

Los polisacáridos escogidos son ingredientes ampliamente incorporados en formulaciones alimenticias. La κ -carragenina ha sido utilizada desde hace tiempo y

tiene propiedades específicas de gelificación, espesamiento y estabilización. Para formar geles y ligar agua necesita de iones potasio, y es importante su interacción con algunas proteínas, especialmente de la carne y leche. Las gomas de gelana y xantana son de más reciente aplicación y se obtiene por fermentación. La fuerza de los geles de gelana es afectada por los sólidos solubles, concentración de iones y el pH, se utiliza principalmente en dulces, productos lácteos, bebidas, entre otros. La xantana tiene la función de estabilizar emulsiones y suspensiones, aunque no tiene la capacidad de formar geles como tal, su incorporación incrementa la viscosidad, además de que depende de factores tales como la concentración, pH, sales y temperatura.

La κ -carragenina (gelcarin ME 913[®]) fue amablemente proporcionada por FMC Corporation (Philadelphia, PA). Las gomas de xantana (Keltrol[®]) y gelana (Kelcogel LT 100[®]) fueron adquiridas de The Nutrasweet Kelco Co. (San Diego, CA).

6.1.1 Determinación de la concentración para los geles de albúmina.

La concentración para las mezclas de albúmina sérica bovina y albúmina de clara de huevo se determinó mediante un análisis de superficie de respuesta, explicada a detalle en el Anexo I. Las concentraciones utilizadas fueron de 10% de proteína, 0.5% de polisacárido y 1.62% de cloruro de sodio (0.1M). Para las proteínas musculares se utilizaron concentraciones típicas y la concentración de sal fue aproximadamente la que hay en un producto cárnico.

6.1.2 Extracción de Proteínas Musculares

La extracción de proteínas se llevó a cabo modificando la técnica reportada por Ngapo y col. (1992), homogenizando 50 g de carne con hielo y agua en las mismas proporciones (p/ p) con un biohomogenizer M133128-O (Biospec Products, Inc., Bartlesville, OK) hasta integrar totalmente la carne en el agua. Este extracto se agitó por 10 minutos en baño de hielo y se coló en una coladera metálica de cocina para retirar tejido conectivo. Se añadieron 2:3 volúmenes de agua y se agitó por 15 minutos más. El homogenizado se centrifugó a 2,000 x g durante 10 minutos a 4°C en una centrifuga refrigerada Centra MP-4R (IEC, Needham Heights, MA). El precipitado fue resuspendido en una solución al 3.5% de sal de mesa (Sal Karla, México) y 0.5% de fosfatos para salmuera D -1017-1 (PIASA, Monterrey, N.L.). El contenido de proteína fue determinado por el método de biuret (Gornall y col., 1949) ajustando a 10 mg/ml con la misma solución. Se agregó azida de sodio al 0.1% para prevenir contaminación microbiana.

6.2 PREPARACIÓN DE LAS MEZCLAS

Las soluciones de albúmina se prepararon disolviendo la proteína en una solución salina (0.1 M NaCl), posteriormente se añadió el polisacárido (0.5% p/p) disolviendo cualquier grumo y retirando las partículas extrañas presentes. Las mezclas se mantuvieron en refrigeración hasta el momento de formar los geles. Para las proteínas musculares se ajustó la concentración de proteína y se añadió el polisacárido.

Para las proteínas musculares se ajustó la concentración de proteína y se añadió el polisacárido, donde la concentración de cloruro de sodio utilizada fue de 3.24%.

6.3 CARACTERIZACIÓN DE LOS GELES

6.3.1 Microscopía de Contraste de Fases de los Geles

Se utilizó la metodología reportada por Roff y Foegeding (1996), con pocas modificaciones. Los geles se adhirieron a la base del crióstato con Tissue-Tek O.C.T. (Miles Inc., Elkhart, IN), se congelaron a -25°C por 24 horas y se cortaron perpendicularmente a un espesor de $10\ \mu\text{m}$ en un crióstato Criocut 1800 (Reichert-Jung, Iowa City, IO) para observarse al microscopio de contraste de fases Olympus modelo CH 30 (Olympus Optical Co., Ltd., Japón) a 400 aumentos.

6.3.2 Pruebas de Penetración de los Geles

Las pruebas de penetración de las mezclas se realizaron de acuerdo a lo sugerido por Hickson y col. (1982). Los geles fueron formados colocando 5 ml de la mezclas en tubos de ensaye con tapón rosca de 13 mm (diámetro interno) por 15 mm de alto. Los tubos fueron colocados en un baño a 80°C por 15 minutos, enfriando después en agua de hielo. Los geles se conservaron en refrigeración hasta su análisis al día siguiente.

Las pruebas de penetración se llevaron a cabo en un Analizador de Textura TA-XT2 (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY) equipado con el software Texture

Expert[®] (versión 1.20, Stable Micro Systems, Ltd., Surrey, UK), con una celda de carga de 5 Kg (Figura 11). Los geles formados en tubos de ensaye se colocaron en una base y se penetraron 20 mm desde la superficie del gel con un vástago de acrílico (8 mm diámetro) a una velocidad de 1 mm/s. Para las pruebas de penetración se determinó por medio del software el área bajo la curva, considerado como el trabajo de penetración y las determinaron las distancias y fuerzas para calcular el índice de viscosidad y la elasticidad aparente de los geles.

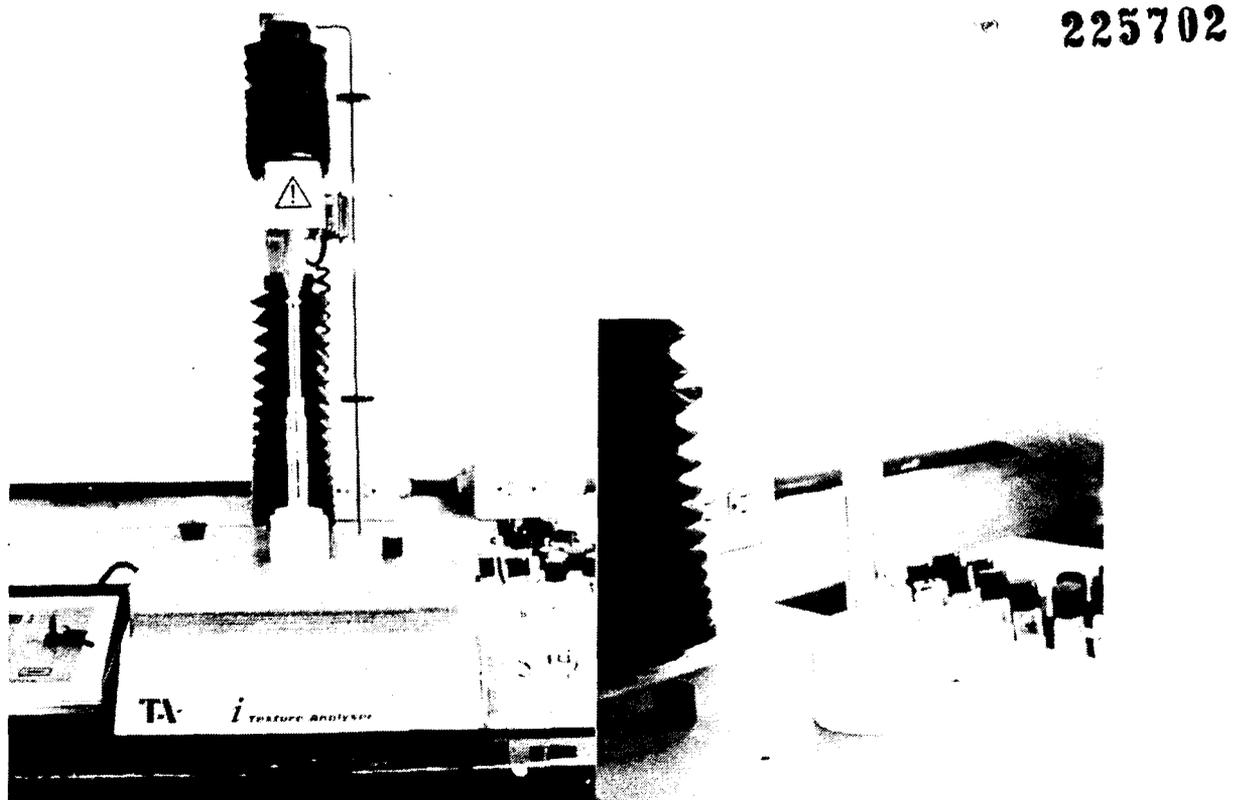


Figura 11. Penetración de los geles formados en tubos de ensaye

Las pruebas de penetración dan información acerca de las propiedades mecánicas del gel. Los geles de proteína se comportan generalmente como fluidos viscosos no-newtonianos. Sin embargo, las ecuaciones para este tipo de fluidos en la retro-extrusión a contra flujo no están disponibles, por lo que Hickson y col. (1982) suponen que las ecuaciones para fluidos newtonianos pueden ser utilizadas para evaluar un "índice" el cual está relacionado a las propiedades reológicas de las propiedades de los geles. De esta manera, los valores reportados son referidos como "índice de viscosidad". En esta tesis, este índice se calculó de acuerdo a:

$$n_I = \frac{1}{2\pi v_p} \left[\frac{F_p}{L_p} \right] [1 - K^2] \ln \left[\frac{1}{K} \right] \left[1 + \frac{\alpha}{\ln K} \right] \quad \text{Ecuación 1. Índice de viscosidad}$$

donde:

F_p = fuerza detectada por el vástago, definida según la Figura 12;

L_p = distancia que recorrió el vástago, definida según la Figura 12;

v_p = velocidad del vástago, en mm/min;

$K = R_i/R_0$;

R_i = Radio del vástago, mm;

R_0 = Radio del tubo de ensaye, mm;

$\alpha = (1-K^2)/(1+K^2)$

Las determinaciones de elasticidad calculadas utilizando este modelo, no son valores ideales debido al hecho de que los valores de esfuerzo y la deformación no son absolutos. En la Figura 12 se ilustra como la tensión y la fuerza "aparentes" pueden

ser calculadas. La "elasticidad aparente" (E_a), fue calculada en esta tesis de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$E_a = \frac{\sigma}{\varepsilon} 2\pi v_p$$

Ecuación 2. Elasticidad aparente

donde:

σ = fuerza en tensión aparente, N/cm²;

ε = tensión aparente.

La fuerza en tensión aparente (σ) esta definida por:

$$\sigma = \frac{P_f}{\pi \left[R_i^2 + \delta(R_i + R_0) \right]}$$

Donde P_f esta definido en la como la fuerza requerida para penetrar la superficie inicial del gel, y

$$\delta = (R_0 - R_i)^2 + L_e^2$$

La tensión aparente (ε) puede ser estimada por:

$$\varepsilon = \frac{R_i + \delta - R_0}{R_0}$$

De este modo se reportaron el índice de viscosidad, elasticidad aparente y el trabajo de penetración (área bajo la curva) de los geles

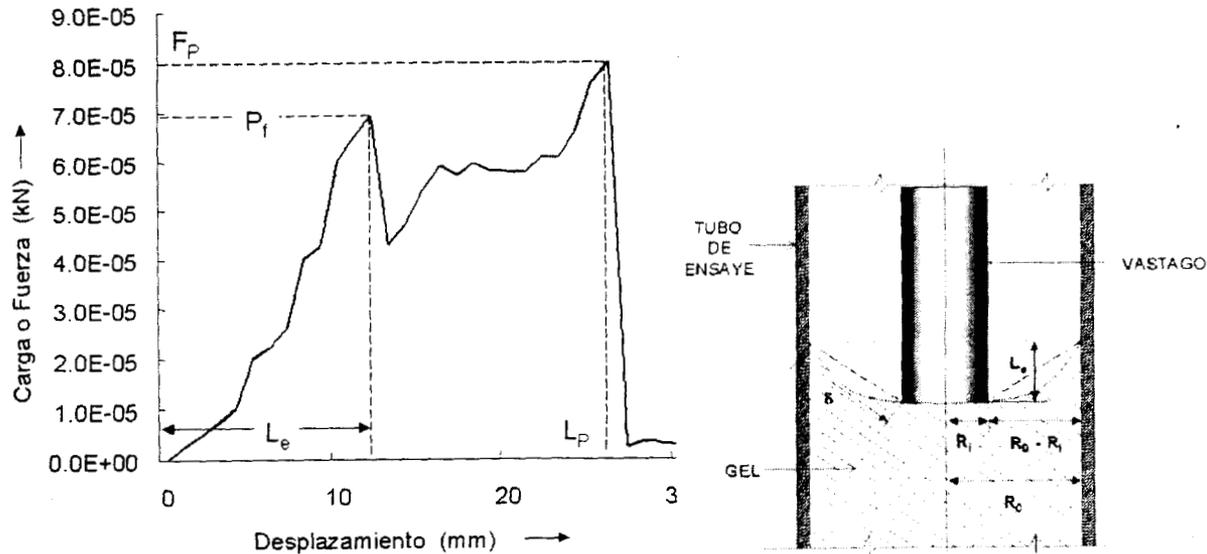


Figura 12. Curva típica de fuerza-deformación para geles inducidos por calor e ilustración de la naturaleza elástica de los geles.

6.3.3 Pruebas de Análisis del Perfil de la Textura

Para los análisis del perfil de textura (APT) los geles fueron formados colocando las mezclas en fundas para salchicha de poliamida de 2 cm de diámetro para posteriormente sumergir en un baño a 80°C durante 15 minutos. Se enfriaron en baño de hielo y se almacenaron a 4°C para que al día siguiente extraerlos cuidadosamente de las fundas. Los geles fueron cortados con navajas de un solo filo en cilindros de 1.5 cm de alto. En este análisis, los geles fueron comprimidos axialmente en el Analizador de Textura TA-XT2 (Figura 13) con un cilindro de acrílico de 25 mm de diámetro y una velocidad de prueba de 1 mm/s, deformando 50% (0.75 mm), con una espera de 5 segundos para el siguiente ciclo de compresión. La

velocidad de retorno fue de 2 mm/seg. La velocidad del cabezal se determinó en base a los datos reportados por Daget y Collyer (1984) y Shama y Sherman (1973), ya que debido a que los humanos utilizamos diferentes fuerzas de masticación dependiendo de las características texturales del alimentos evaluado, por lo que al incrementar la velocidad del cabezal la compresión también se incrementa. La compresión de solo el 50% de la muestra registra solo las fuerzas de compresión uniaxial, ya que el área transversal del vástago es mayor que el de la muestra, ya que en el caso contrario las fuerzas registradas son debido a una combinación de compresión y deformación. Los niveles de deformación entre el 20-50% no rompen la muestra pero permiten obtener información sobre dureza, elasticidad y cohesividad (Ponz y Fiszman, 1996). Se calculó la fracturabilidad, dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad y resiliencia, elasticidad recobrada instantáneamente, elasticidad recobrada retrasadamente y el modulo TPA. La elasticidad recobrada instantáneamente, S_{ins} , es la relación de la distancia o tiempo de descompresión de la muestra durante la primera compresión. Este parámetro podría ser un índice de las características elásticas de la muestra. Un valor cercano a la unidad indica un componente altamente elástico en la muestra. La elasticidad recobrada retrasadamente, S_{ret} , se define como la relación de distancia o tiempo durante la segunda compresión de la muestra, indicando la altura recobrada durante el tiempo después de la segunda compresión con relación a la altura original. Este parámetro refleja las características debidas al comportamiento viscoso del gel. Si el material es altamente viscoso, entonces $S_{ret} > S_{ins}$. Este y el anterior parámetro deben ser medidos en intervalos de deformación donde la muestra no se fracture, ya que es en

este rango donde la elasticidad mecánica es realmente significativa (Peleg, 1976). El modulo TPA. Definido como la pendiente de la primera curva de penetración, que es una medición de cómo la muestra se comporta cuando es comprimida dentro de un pequeño rango de deformación (Sanderson y col., 1987)

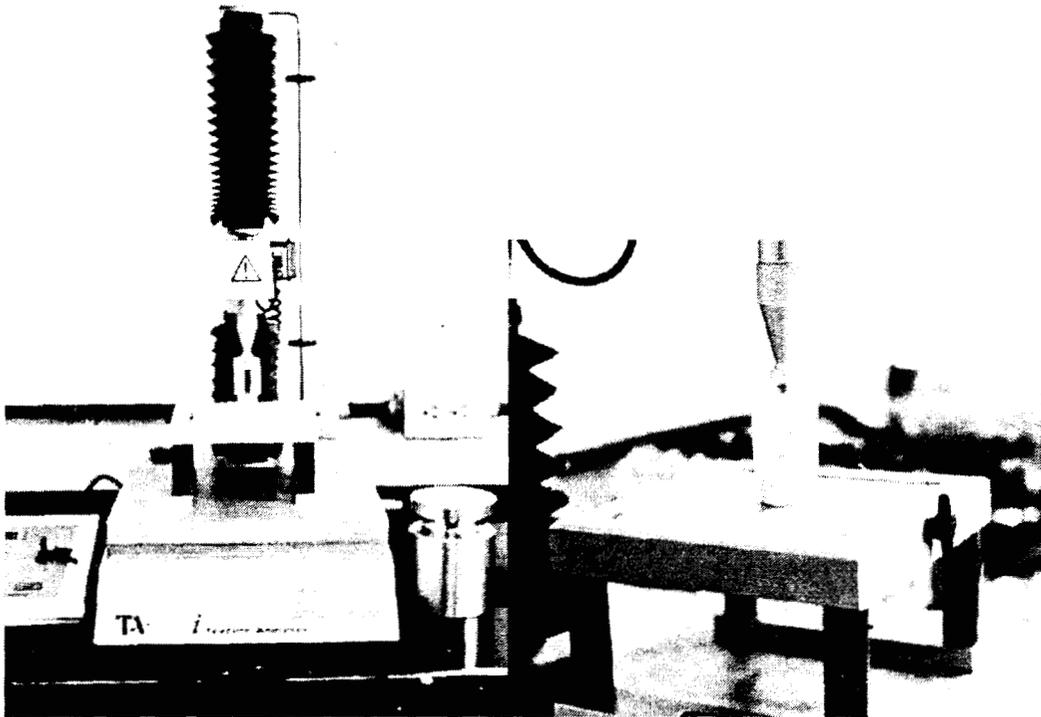


Figura 13. Compresión de las muestras para el APT

6.3.4 Pruebas de Fractura Torsional

Los geles fueron formados colocando las mezclas fundas de poliamida de 2 cm de diámetro y sumergidas en un baño a 80°C durante 15 minutos. Se enfriaron en baño de hielo y se almacenaron a 4°C para que al día siguiente extraerlos cuidadosamente de las fundas y se cortaron a 2.8 cm.

Las pruebas de fractura torsional se llevaron a cabo en los geles con geometría de mancuerna adaptados a un viscosímetro Brookfield modelo 5XHB (Brookfield Engineering Laboratories, Massachusetts, MA) acoplado a un graficador Brookfield a una velocidad de 10 cm/min. Los geles, de forma cilíndrica, se ajustaron a un esmeril con un aditamento especial para dar la forma de mancuerna (Figura 14, a y b), girando cuidadosamente el gel para evitar romperlo.

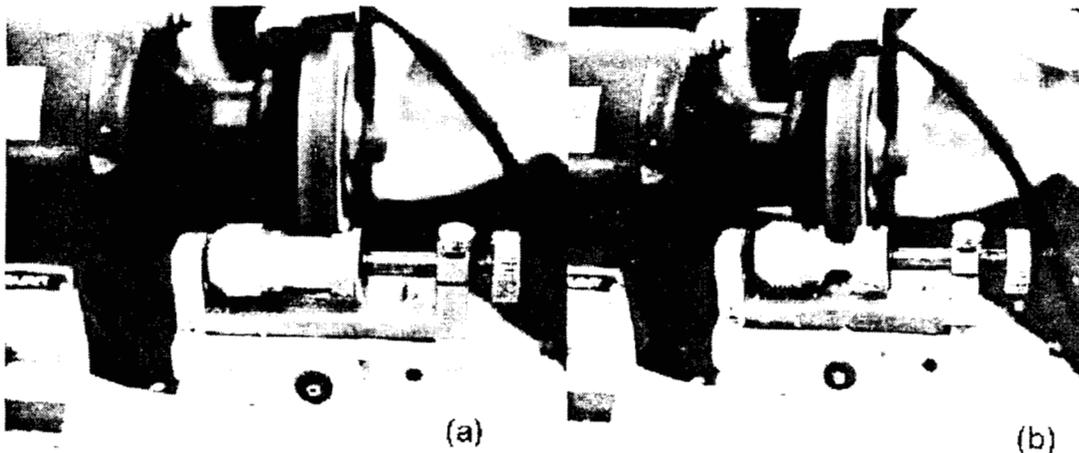


Figura 14. Formación de la mancuerna: (a) antes y después del esmerilado.

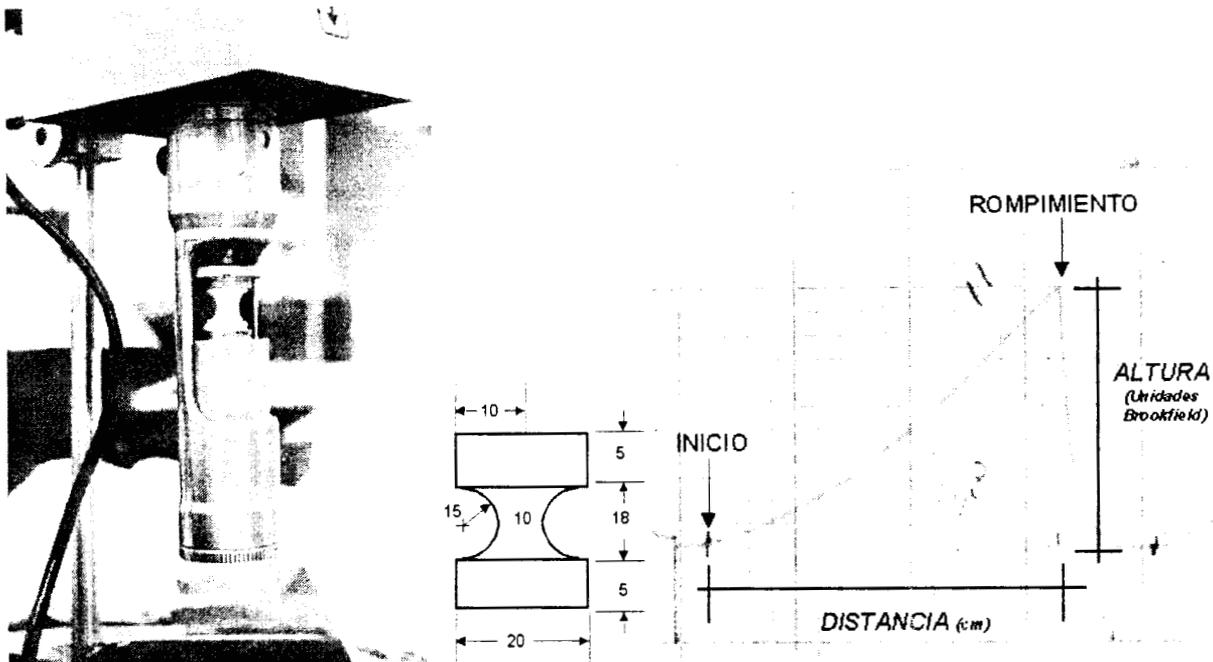


Figura 15. Gel en el viscosímetro durante la prueba de torsión, dimensiones aproximadas del gel y curva típica de torsión.

La muestra se colocó en el aditamento especial del viscosímetro (Figura 15), se fijo con alfileres a las bases y se registró en la curva la distancia recorrida y la altura de la curva en unidades Brookfield (Figura 15) hasta su rompimiento. Estos valores fueron substituidos en las fórmulas correspondientes para calcular el esfuerzo y la deformación cortante.

El esfuerzo cortante se calcula por medio de:

$$\tau = 1580 \times \text{Unidades Brookfield}$$

Ecuación 3. Esfuerzo cortante

La deformación cortante fue calculada por:

$$\gamma = 0.15 \frac{D}{V} - 0.00848 \times \text{Unidades Brookfield}$$

donde:

D: distancia recorrida, en cm

V: velocidad del graficador, en cm/min, si esta es igual a 10 cm/min, entonces:

$$\gamma = 0.9 D - 0.00848 \times \text{Unidades Brookfield}$$

y aplicando una corrección por efecto del cambio de volumen en la geometría, tenemos que queda como:

$$\gamma_{vmax} = \ln \left(1 + \left(\frac{\gamma^2}{2} \right) + \gamma \left[1 + \left(\frac{\gamma^2}{4} \right) \right]^{1/2} \right)$$

Ecuación 4. Deformación cortante

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 PROPIEDADES DE LOS GELES DE ALBÚMINA

Las mezclas utilizadas en esta tesis tuvieron diferentes valores de pH de acuerdo a la proteína utilizada. El valor promedio de las soluciones con albúmina sérica bovina fue de 7.10 y las de albúmina de clara de huevo fue de 5.9. A pH abajo del punto isoeléctrico, las proteínas y los polisacáridos aniónicos llevan carga neta opuesta. En esta región de pH, complejos insolubles pueden ser formados, incluso mezclando soluciones muy diluidas ($\sim 10^{-2}$ mg ml⁻¹) y la relación de cargas positivas y negativas en el sistema es cercano a uno (Tolstoguzov, 1986). Por otra parte, la compatibilidad entre este tipo de macromoléculas decrece cuando el pH baja mas allá del punto isoeléctrico. De acuerdo a lo anterior, y según el punto isoeléctrico de la albúmina sérica bovina (4.7-4.9) y de la albúmina de clara de huevo (ovoalbúmina, 4.5-4.6), las condiciones no propiciaron la formación de un complejo electrostático insoluble, si bien, tampoco se presento la separación de fases en el sistema, por lo que podemos deducir que las condiciones manejadas permitieron cierta co-solubilidad para que ambas especies permanecieran estables en el sistema. Respecto a las condiciones del sistema, los resultados reportados por Ustonol y col. (1992) sugieren que las interacciones electrostáticas y las uniones de hidrogeno fueron las fuerzas más cooperativas manteniendo las redes del gel de la mezcla de alginato/proteína miofibrilar. El calentamiento causa la exposición de sitios reactivos en el alginato y en la proteína, por lo tanto facilita los entrecruzamientos intermoleculares, reacciones dependientes del

pH. Para ASB y polisacáridos aniónicos, las propiedades de gelificación son pobres a pH bajo el punto isoeléctrico (Cai y Arntfield, 1997)

225702

7.1.1 Microscopía de contraste de fases de los geles

La microscopía de contraste de fases ha sido utilizada para estudiar mezclas de biopolímeros y la microestructura de los geles formados por estas mezclas (Abeysekera y Robards, 1995; Roff y Foegeding, 1996; Foegeding y col., 1995). La técnica de contraste de fases mejora la diferenciación de estructuras sin teñir con diferente índice de refracción, permitiendo que parte de la luz sea modificada al pasar por el medio y se incrementa el contraste entre las fases (Abeysekera y Robards, 1995). Las ventajas de esta técnica son que la brillantez aparente de la luz es proporcional al cuadrado de la amplitud, por lo que las imágenes son vistas cuatro veces más brillantes en comparación con un microscopio regular, efecto conocido como fase oscura. Así, los objetos transparentes continúan siendo transparentes aún cuando el contraste del fondo sea mejorado (Gray, 1954). La microestructura determina las características sensoriales y mecánicas de un alimento. De este modo, la textura viene a ser una consecuencia directa de la microestructura, determinada a su vez por la composición química y las fuerzas físicas que gobiernan la formación de la estructura. En la interpretación de estos resultados el eventual objetivo es un entendimiento de la organización estructural del material. Como la microscopía involucra una interpretación del observador es por lo tanto subjetividad (Stanley y Tung, 1976).

Se ha observado, mediante microscopia de transmisión, que los geles claros o translucidos tienen una estructura de filamentos o hebras de un diámetro entre 5-12 nm, con puntos de unión periódicos. Cuando el gel se vuelve turbio, este ya no es homogéneo y el número de puntos de unión en la microestructura aumenta y con una microestructura compuesta de partículas con un diámetro entre 500 y 1000 nm, llamados particulados. La diferencia para clasificar a los geles es en cuanto a la composición de los filamentos o hebras, donde si tienen un diámetro de varios diámetros moleculares (basado en la estructura nativa) son de "filamentos finos" (*fine-stranded*). Cuando la estructura esta compuesta de partículas con diámetros en un rango de 100-1000 veces el diámetro molecular, son llamados "particulados" (*particulate*) (Clark y col., 1981). De esta forma, las diferentes matrices proteicas son las responsables de la textura de varios alimentos, por lo que el entendimiento de las reacciones químicas y procesos físicos asociados a las propiedades de fractura de los geles proporciona información acerca de las propiedades mecánicas asociadas con la textura (Foegeding y col., 1995).

En la Figura 16 se muestran fotografías de la microscopia de contraste de fases de los geles de ASB y ACH con KCG. Los geles de ASB-KCG fueron translucidos mientras que los de ACH resultaron opacos. No se apreciaron grumos o grandes agregados en los geles. Los geles de ASB-KCG parecen ser del tipo de filamentos finos y con una estructura compacta, mientras que los de ACH-KCG son del tipo particulado, es decir, grandes agregados. La albúmina sérica bovina es una proteína pura, por lo que las

Se ha observado, mediante microscopia de transmisión, que los geles claros o translucidos tienen una estructura de filamentos o hebras de un diámetro entre 5-12 nm, con puntos de unión periódicos. Cuando el gel se vuelve turbio, este ya no es homogéneo y el número de puntos de unión en la microestructura aumenta y con una microestructura compuesta de partículas con un diámetro entre 500 y 1000 nm, llamados particulados. La diferencia para clasificar a los geles es en cuanto a la composición de los filamentos o hebras, donde si tienen un diámetro de varios diámetros moleculares (basado en la estructura nativa) son de "filamentos finos" (*fine-stranded*). Cuando la estructura esta compuesta de partículas con diámetros en un rango de 100-1000 veces el diámetro molecular, son llamados "particulados" (*particulate*) (Clark y col., 1981). De esta forma, las diferentes matrices proteicas son las responsables de la textura de varios alimentos, por lo que el entendimiento de las reacciones químicas y procesos físicos asociados a las propiedades de fractura de los geles proporciona información acerca de las propiedades mecánicas asociadas con la textura (Foegeding y col., 1995).

En la Figura 16 se muestran fotografías de la microscopia de contraste de fases de los geles de ASB y ACH con KCG. Los geles de ASB-KCG fueron translucidos mientras que los de ACH resultaron opacos. No se apreciaron grumos o grandes agregados en los geles. Los geles de ASB-KCG parecen ser del tipo de filamentos finos y con una estructura compacta, mientras que los de ACH-KCG son del tipo particulado, es decir, grandes agregados. La albúmina sérica bovina es una proteína pura, por lo que las

interacciones con la κ -carragenina para formar una red fueron favorecidas, resultando en un gel translucido de agregados con un diámetro molecular pequeño.

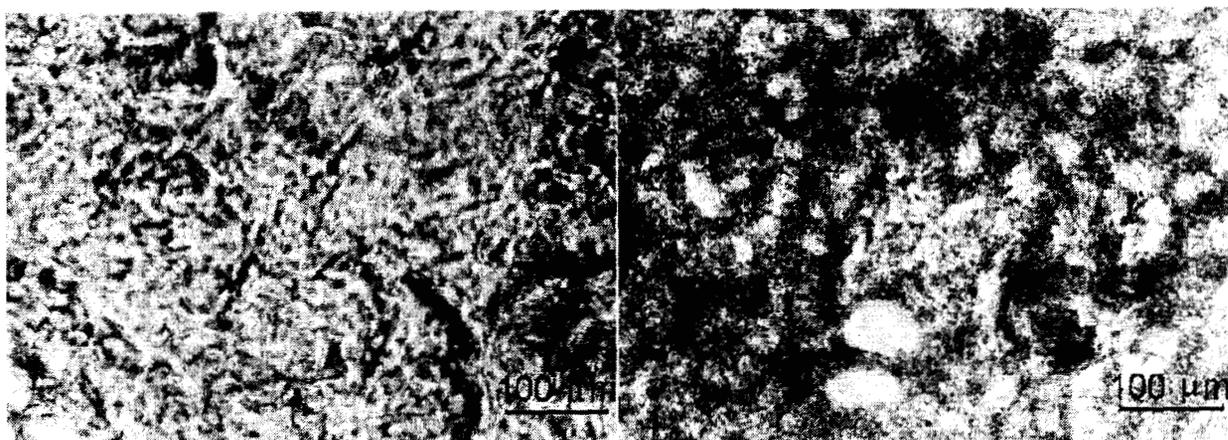


Figura 16. Microscopía de contraste de fases de los geles de ASB y ACH con κ -carragenina a 40x.

Para los geles con gelana el comportamiento de agregación fue similar (Figura 17). Sin embargo, la estructura de los geles de albúmina sérica bovina se aprecia más homogénea, además de que el gel formado fue más translucido que el de KCG, mientras que el gel de ACG-GLN fue similar en color al anterior. Definitivamente la interacción de la ASB con la gelana resultó en un gel de filamentos finos altamente ordenado debido a las características de la estructura observada. La agregación de la albúmina de clara de huevo con la gelana fue similar para con la KCG, donde debido a la composición proteica heterogénea de este producto, distintos agregados fueron formados, produciendo un gel particulado.

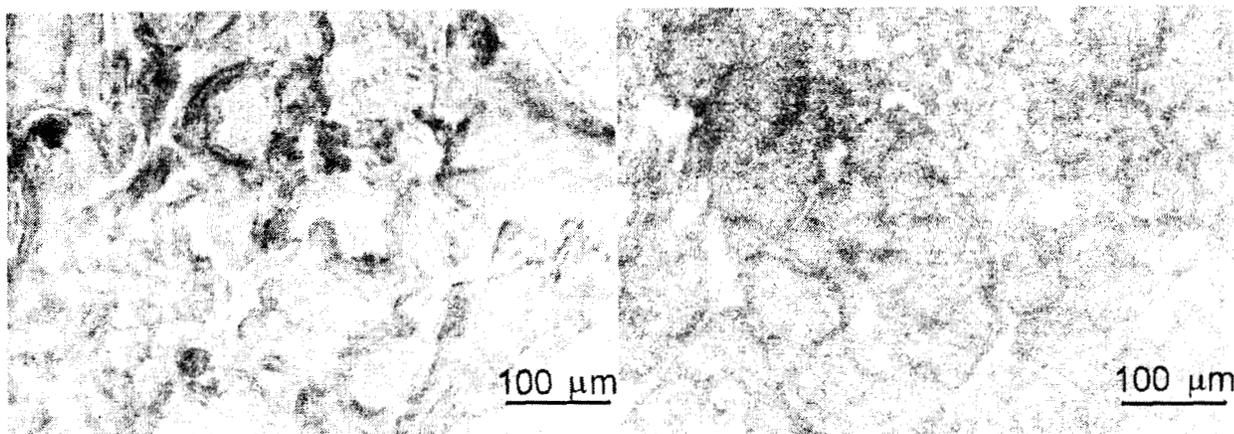


Figura 17. Microscopía de contraste de fases de los geles de ASB y ACH con gelana a 40x.

El polisacárido con un desempeño más pobre fue la xantana al ser mezclada con las proteínas y formar los geles. En la Figura 18 se observa un patrón de agregación comparable con los anteriores. No obstante, el gel de albúmina sérica bovina no fue tan transparente como los formados con KCG y GLN, lo que se reflejó en la formación de una red mezclada entre filamentos finos y particulados. El gel de albúmina de clara de huevo con la xantana fue similar a simple vista en cuanto al color opaco, además de tener un comportamiento similar de grandes agregados, como se menciono antes, debido a que por las condiciones del sistema las proteínas con diferentes puntos isoeléctricos tuvieron patrón de agregación un tanto diferentes que al de la proteína que conforma la mayor proporción del aditivo.

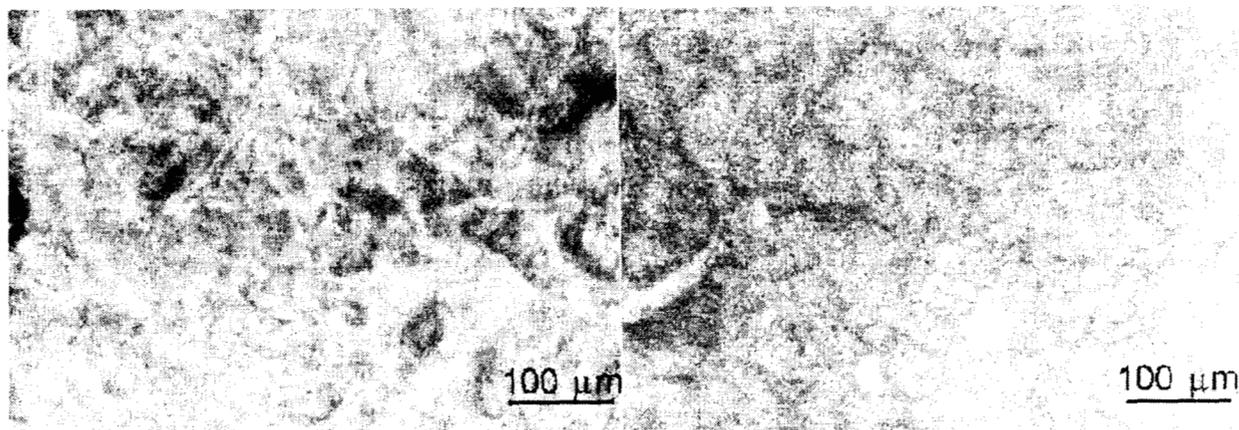


Figura 18. Microscopía de contraste de fases de geles de ASB y ACH con xantana a 40x.

7.1.2 Análisis del perfil de la textura

Las curvas de perfil de textura de las muestras de ASB con los iones divalentes tuvieron valores menores que las muestras con iones monovalentes (Figura II-1, Anexo II). La κ carragenina presentó un pobre desempeño comparada con gelana y xantana cuando no hay iones en el medio o en presencia del ión sodio. Sin embargo, con potasio casi no se ve diferencia entre las curvas. Para ACH (Figura II-2, Anexo II), en comparación con ASB, los resultados obtenidos son menores. En esta muestra el menor desempeño fue de la xantana. Estas diferencias en el desempeño de los polisacáridos puede ser debido a diferencias en las estructuras y composición de las proteínas. Con la ASB, que prácticamente es una sola proteína, la interacción entre esta y los polisacáridos se ve favorecida y el desarrollo de la red de gel es más densa comparada con ACH, donde la composición de este aditivo lo hace actuar de manera muy diferente a la ASB. Esto se ve en los resultados de los parámetros del APT.

En la Tabla 2 se resumen los resultados de los parámetros del APT calculados. Los valores más altos de dureza se obtuvieron con sodio, así como ciertos resultados negativos en fracturabilidad en muestras con calcio. Los geles mas elásticos se obtuvieron con sales monovalentes o sin sales. Los valores mayores de resiliencia se obtuvieron sin iones o con sodio y potasio, así como valores de adhesividad mayores, tomando en cuenta el valor absoluto.

Tabla 2. Resultados del análisis del perfil de la textura para los geles de albúmina sérica bovina (ASB) y albúmina de clara de huevo (ACH).

Variables	Dureza (N)		Fracturabilidad (N)		Cohesividad		Elasticidad(mm)		Resiliencia		Adhesividad(N)		
	ASB	ACH	ASB	ACH	ASB	ACH	ASB	ACH	ASB	ACH	ASB	ACH	
Polisacárido	Ion												
	Sin	3135.50	1327.84	21.11	0.4965	0.2866	-84.19	-178.32	19.37	0.5437	0.4682	0.9687	0.8814
Gelana	Na ⁺	3387.17	1415.36	36.14	0.5239	0.2630	-147.71	-187.27	20.43	0.5455	0.4592	0.9787	0.8528
	K ⁺	3233.22	1540.53	28.73	0.5020	0.2793	-109.11	-192.60	20.364	0.5433	0.4762	0.9793	0.8641
Xantana	Mg ⁺⁺	1350.26	1263.84	15.87	0.3263	0.1216	-64.67	-391.56	19.83	0.5828	0.2941	0.8641	0.6875
	Ca ⁺⁺	1487.66	837.15	18.61	0.0315	0.0224	-61.68	-216.55	-5.22	0.6334	0.3167	0.8394	0.7067
κ Carragenina	Sin	2338.22	202.74	18.90	0.4980	0.0339	-75.15	-315.76	18.86	0.5310	0.2628	0.9820	0.3771
	Na ⁺	2814.24	321.82	36.00	0.4711	0.0621	-187.27	-313.30	26.60	0.5179	0.2801	0.9714	0.5053
	K ⁺	2449.78	195.74	19.77	0.5112	0.0400	-68.14	-249.32	16.90	0.5141	0.1971	0.9833	0.2145
	Mg ⁺⁺	316.83	399.53	6.50	0.0688	0.1129	-54.95	-218.02	16.08	0.3799	0.4214	0.9194	0.8128
	Ca ⁺⁺	302.98	-7.26	17.96	0.1897	0.1201	-220.78	-312.69	18.95	0.3961	0.2005	0.8827	0.3213
	Sin	665.97	819.94	823.67	0.2727	0.2031	-40.367	-203.96	17.00	0.5182	0.3690	0.9867	0.8547
	Na ⁺	686.48	1154.70	821.05	0.2550	0.3156	-72.46	-70.45	18.99	0.4510	0.5204	0.9320	0.9127
	K ⁺	3505.99	944.20	18.17	0.4689	0.1852	-34.97	-170.47	18.90	0.5278	0.3440	0.9840	0.8261
	Mg ⁺⁺	1327.72	1007.86	15.63	0.1606	0.0928	-83.12	-280.45	50.10	0.6537	0.2590	0.6560	0.7067
	Ca ⁺⁺	819.20	886.58	19.40	0.1697	0.1031	-91.24	-312.69	22.60	0.6851	0.2770	0.7648	0.6907

El análisis descriptivo de los parámetros del análisis del perfil de la textura (Anexo II) en los geles de ASB y ACH con cloruro de calcio mostró un notable valor de fracturabilidad en ASB-KCG, ocho veces mayor al resto de las muestras. Estos geles tuvieron también altos valores de elasticidad, aunque fueron un poco más duros que los anteriores, teniendo valores de cohesividad y resiliencia similares. Este mismo perfil descriptivo al utilizar cloruro de potasio presentó una mayor fracturabilidad en las muestras. Las muestras de ASB tuvieron valores superiores a los ACH, al igual que en las anteriores muestras. Para las muestras sin sales, al igual que con sodio, la mezcla ASB-KCG presentó valores elevados de fracturabilidad. Contrariamente a las muestras con calcio y magnesio, la mezcla ACH-XNT tuvo valores similares a las otras muestras en cuanto a fracturabilidad. En estas gráficas del perfil descriptivo mostraron el efecto del tipo de ión utilizado sobre la textura de los geles de albúmina. Las sales divalente, calcio y magnesio, presentaron valores menores al combinar ASB y ACH con los polisacáridos, como se explica más adelante.

La Tabla 3 presenta el análisis de varianza (coeficientes de determinación y niveles de significancia) para los parámetros del análisis del perfil de textura de los geles de ASB y ACH con los polisacáridos y los diferentes iones utilizados. Los resultados del APT muestran que los geles se ven afectados por el tipo de proteína, polisacárido y sal en todos los parámetros evaluados, excepto en la fracturabilidad. Parámetros tales como la elasticidad, la cohesividad y la elasticidad instantánea y elasticidad recobrada son afectadas principalmente por el tipo de proteína dan una idea de que tanto la textura de los geles es homogénea a largo de toda la muestra. Los valores

mayores fueron obtenidos con ASB y GLN, y en caso de existir efecto del tipo de ión, el potasio afectó más a estas características texturales. La xantana y los iones dicatiónicos tuvieron el más pobre desempeño comparados con los otros hidrocoloides e iones.

Tabla 3. Análisis de varianza: coeficientes de determinación y niveles de significancia para los parámetros del análisis del perfil de textura de los geles de ASB y ACH.

Variable	R ²	P>	Factor	P>
Fracturabilidad	0.3334	0.1960	Proteína	0.1362
			Ion	0.4607
			Polisacárido	0.1113
Dureza	0.6508	0.0006	Proteína	0.0005
			Ion	0.0308
			Polisacárido	0.0109
Cohesividad	0.6727	0.0003	Proteína	0.0001
			Ion	0.9385
			Polisacárido	0.0126
Elasticidad	0.5287	0.0109	Proteína	0.0008
			Ion	0.4855
			Polisacárido	0.0748
Resilencia	0.7228	0.0109	Proteína	0.0001
			Ion	0.0014
			Polisacárido	0.0319
Adhesividad	0.6889	0.0002	Proteína	0.0001
			Ion	0.6649
			Polisacárido	0.0425

En la Tabla 4 tenemos los resultados de elasticidad instantánea y recobrada y módulo TPA. La elasticidad instantánea se refiere a las características elásticas de la muestra, un valor cercano a la unidad indicara un comportamiento altamente elástico. Por otro lado, la elasticidad retardada refleja las características viscosas de la muestra. Si el material es altamente viscoso, entonces la elasticidad instantánea será menor a la retardada. Estas deben ser medidas en rangos de deformación donde la muestra no se fracture, es decir, en la región linear, rangos donde la elasticidad mecánica es significativa (Peleg, 1976). De acuerdo a los resultados obtenidos, los geles de ASB y ACH presentan valores de S_{ret} mayores a las de S_{ins} , por lo que el comportamiento de estos geles tiende a ser más bien viscoso que elástico, de acuerdo a estos parámetros. El módulo de deformación o TPA, siendo la pendiente inicial de la curva de deformación antes del punto de fractura, es una medida de cómo se comporta la muestra cuando es comprimida en una pequeña deformación (Sanderson y col., 1987). Realmente el módulo de deformación es un indicio de la rigidez o firmeza del material, donde la deformación total en los puntos seleccionados sobre la curva de esfuerzo-deformación son tomados en cuenta para el cálculo (Pons y Fiszman, 1996). Los valores del módulo de deformación obtenidos en las muestras de ASB son mucho mayores que los de ACH, indicando que los primeros geles fueron más duros, sobre todo al mezclarse con gelana.

Tabla 4. Resultados de Elasticidad Instantánea, Elasticidad Retardada y Módulo TPA para geles de ASB y ACH con los diferentes polisacáridos e iones utilizados.

Polisacárido	Ion	ASB		ACH		ASB	ACH
		S _{ins} (%)	S _{ret} (%)	S _{ins} (%)	S _{ret} (%)	Módulo TPA	
Gelana	Sin	0.85	< 0.97	0.58	< 0.88	417.92	174.35
	Na ⁺	0.85	< 0.98	0.54	< 0.85	446.51	185.76
	K ⁺	0.88	< 0.98	0.56	< 0.86	426.98	202.52
	Mg ⁺⁺	0.54	< 0.86	0.33	< 0.69	177.85	137.17
	Ca ⁺⁺	0.30	< 0.84	0.33	< 0.71	195.83	93.94
Xantana	Sin	0.88	< 0.98	0.05	< 0.38	309.04	24.47
	Na ⁺	0.83	< 0.97	0.12	< 0.51	371.24	40.46
	K ⁺	0.86	< 0.98	0.04	< 0.21	323.79	23.71
	Mg ⁺⁺	0.16	< 0.92	0.22	< 0.81	53.16	50.79
	Ca ⁺⁺	0.05	< 0.88	0.03	< 0.32	37.69	18.55
κ Carragenina	Sin	0.71	< 0.99	0.50	< 0.85	107.76	103.38
	Na ⁺	0.58	< 0.93	0.64	< 0.91	107.76	151.33
	K ⁺	0.88	< 0.98	0.48	< 0.83	464.73	117.30
	Mg ⁺⁺	0.17	< 0.66	0.33	< 0.71	174.65	109.58
	Ca ⁺⁺	0.19	< 0.76	0.32	< 0.69	106.57	94.13

La Tabla 5 muestra el resultado del análisis de varianza para la elasticidad instantánea y recobrada y para el modulo TPA. Hay un efecto significativo del tipo de proteína e hidrocoloide sobre las variables estudiadas. De manera general, los geles de ASB tuvieron valores más altos que los de ACH, mientras que el orden del efecto de los iones en las variables fue: potasio > sodio = sin sales > calcio > magnesio. El polisacárido con resultados mayores fue la GLN, seguida de KCG y XNT. En Anexo II recopila las tablas de la comparación múltiple de medias de Duncan para los

resultados de elasticidad instantánea y retardada. Se sigue el mismo patrón general donde ASB es mayor ACH; con potasio y gelana se tienen los valores más altos. La elasticidad retardada no fue afectada por el tipo de ion utilizado.

Tabla 5. Análisis de varianza: coeficientes de determinación y niveles de significancia para elasticidad instantánea, elasticidad retardada, módulo TPA para los geles de ASB y ACH

Variable	R ²	P>	Factor	P>
Elasticidad Instantánea	0.681514	0.0003	Proteína	0.0019
			Ion	0.0014
			Polisacárido	0.0233
Elasticidad Retardada	0.531023	0.0007	Proteína	0.0007
			Ion	0.4794
			Polisacárido	0.0717
Módulo TPA	0.662635	0.0004	Proteína	0.0002
			Ion	0.0221
			Polisacárido	0.0187

Los valores de la elasticidad retardada son más cercanos al uno, por lo que el comportamiento fue más viscoso que elástico. Se observó la misma tendencia de las variables respuesta con resultados mayores para ASB, potasio y gelana.

La mezcla de ASB con GLN y potasio fue la que obtuvo valores más altos en la mayoría de las variables estudiadas. Era de esperarse que con magnesio y calcio se formaran redes de gel más densas, al menos para gelana, ya que estos tienen una influencia mayor sobre la fuerza del gel de que los iones monovalentes (potasio y

sodio). Los iones calcio producen geles 1.5 veces mayores que magnesio, necesitando de 9 a 14 veces mas de iones monovalentes para producir una fuerza de gel similar (Kang y Pettitt, 1993; Kasapis, 1995; Tang y col., 1997; Moritaka y col., 1995; Watase y Nishinari, 1993). Una posible explicación es la relativamente baja concentración del polisacárido, quizá no suficiente para formar una red de gel primaria, pero si para de algún modo reforzar la red de proteína formada. Sin embargo, solo el trabajo de penetración y la curva media fueron afectadas por el tipo de sales empleadas. La KCG tampoco se vio favorecida por la presencia de iones. DeFreitas y col. (1997b) reportaron que la gelificación de la KCG a bajas concentraciones (0.5%), en mezclas con proteínas musculares durante el enfriamiento, es un efecto separado del asentamiento en la gelificación inducida por calor de las proteínas y no pudo ser medida con DSC. La xantana presentó los menores valores, aunque ha sido reportado que este polisacárido disminuye la fuerza de gel al mezclarse con proteínas musculares (Foegeding y Ramsey, 1986 y 1987; Xiong y Blanchard, 1994). De este modo, en las pruebas de penetración tenemos que ASB formo geles con una red de gel más densa que ACH, sobre todo al combinarse con GLN.

Relacionando los anteriores resultados con las micrografías de la sección 7.1.1, tenemos que los geles de ASB tuvieron los valores de los parámetros de APT más altos sobre todo al combinarse con la gelana, correspondiendo una microestructura de filamentos finos. Contrariamente, la microestructura de particulados de los dgeles de ACH no tuvo el mismo desempeño que los geles de ASB.

7.1.3 Penetración de geles de albúmina sérica bovina y de clara de huevo

En el Anexo III se encuentran las curvas de penetración de ASB y ACH con los polisacáridos y los diferentes iones empleados (Figuras III-1 y III-2). Gelana presento las curvas más grandes en la mayoría de las muestras, excepto con potasio. En contraste, xantana tiene las curvas mas bajas. Los geles formados con iones divalentes parecen ser más homogéneos que los formados sin sales o con potasio y sodio, que presentan varios picos durante la prueba de compresión. Para ACH con magnesio y calcio, contrariamente a ASB, los geles de ACH fueron más irregulares en su composición. Los geles formados sin sales parecen ser los mas duros, mientras que la xantana formó los geles más débiles. Gelana presentó las curvas más grandes en todos los casos, aunque las curvas de κ -carragenina no son muy diferentes en tamaño. Xantana presentó las curvas menores y casi sin ningún pico durante la prueba. Relacionando estos resultados con los de la sección 7.1.1, tenemos en las Figuras III-1d y III-2d las diferencias en cuanto a la estructura de los geles. Para ASB la fuerza detectada fue mucho mayor que con ACH, reflejo de la estructura más homogénea y continua de los geles de ASB. El gel de ASB-GLN mostró una estructura más uniforme ya que no tuvo grandes picos durante las prueba, comparada con ASB y KCG o ASB-XNT. La composición de la ACH definitivamente afecta la composición del gel formado, ya que al no estar purificada y estar compuesta de varias proteínas, cada una con propiedades un tanto diferentes, afecta la interacción entre los polisacáridos para formar un gel.

La Tabla 6 muestra los resultados del trabajo de penetración, índice de viscosidad y de elasticidad aparente. Los geles de gelana fueron los que tuvieron mayores valores de trabajo de penetración y de índice de viscosidad. Los valores de elasticidad aparente fueron muy bajos o negativos. Los geles de ASB fueron más fuertes que los de ACH, además de tener mayores valores de índice de viscosidad y elasticidad aparente.

Tabla 6. Trabajo de Penetración, Índice de Viscosidad y Elasticidad Aparente de geles de ASB y ACH.

Polisacárido	Ion	Trabajo de Penetración (g s)		Índice de Viscosidad (Poise)		Elasticidad Aparente (N/cm ²)	
		ASB	ACH	ASB	ACH	ASB	ACH
Gelana	Sin	25949.1	12627.1	1.82	0.70	-55.75	-33.53
	Na ⁺	28836.6	9763.6	1.96	0.54	-43.37	-26.49
	K ⁺	29572.1	12265.5	1.89	0.71	-62.65	-30.95
	Mg ⁺⁺	27780.7	9965.2	2.51	0.64	0.18	-24.75
	Ca ⁺⁺	20216.7	9007.6	1.97	0.56	1137.6	-21.11
Xantana	Sin	13134.7	1410.2	0.67	0.07	-40.48	-2.49
	Na ⁺	16224.2	3678.5	0.85	0.21	-32.33	-8.87
	K ⁺	17319.0	1404.4	1.07	0.08	0.07	-3.76
	Mg ⁺⁺	2803.9	3980.6	0.19	0.23	-4.54	-9.93
	Ca ⁺⁺	4070.0	8291.4	0.21	0.54	-7.58	-19.72
κ Carragenina	Sin	14660.5	7613.9	0.90	0.49	-30.14	-18.45
	Na ⁺	20086.8	9367.6	0.85	0.60	-46.70	-23.89
	K ⁺	36575.6	9350.1	1.86	0.57	-488.57	-25.69
	Mg ⁺⁺	10030.4	8577.6	0.98	0.54	-33.40	-23.12
	Ca ⁺⁺	15910.9	1101.9	1.57	0.07	8.38	-2.54

La Tabla 7 muestra los resultados del análisis de varianza aplicado a estos resultados, donde la elasticidad aparente no fue significativamente afectada ($P > 0.3914$) por los tratamientos.

Tabla 7. Análisis de varianza: coeficiente de determinación y niveles de significancia para Trabajo de Penetración, Índice de Viscosidad y Elasticidad Aparente de geles de ASB y ACH.

Variable	R ²	P>	Factor	P>
Trabajo de Penetración	0.801570	0.0001	Proteína	0.0001
			Ion	0.0520
			Polisacárido	0.0001
Índice de Viscosidad	0.806195	0.0001	Proteína	0.0001
			Ion	0.7437
			Polisacárido	0.0001
Elasticidad Aparente	0.261064	0.3914	Proteína	0.6517
			Ion	0.2954
			Polisacárido	0.3344

En el Anexo III están las tablas de comparación múltiple de medias de Duncan para el trabajo de penetración ($P > 0.0001$), donde los geles de ASB fueron más fuertes. El efecto por el tipo de ión arroja que los geles con potasio fueron más fuertes, pero están en el mismo grupo Duncan que sodio y sin sales, a su vez traslapados con magnesio y calcio en el siguiente grupo. La gelana formo los geles más fuertes, seguida de la KCG y de XNT. El índice de viscosidad ($P > 0.0001$) siguió un patrón similar a la anterior variable, pero sin efecto del ión. Los geles de ASB tuvieron

valores de índice de viscosidad mayores que los de ACH, mientras que los geles con gelana tuvieron un índice mayor que KCG y XNT.

Los geles de ASB resultaron más duros y con un índice de viscosidad mayor, que al relacionarse con la microestructura de los geles (Sección 7.1.1), indicó que los geles translucidos y con microestructura de filamentos finos son más homogéneos en sus propiedades de penetración que los geles de ACH, opacos y con una microestructura de particulados.

7.1.4 Fractura torsional

Las muestras de albúminas con cloruro de calcio y magnesio no pudieron trabajarse para darles forma de mancuerna, ya que presentaban sinéresis después de sacarlas de la funda de poliamida, además de ser geles muy suaves y poco manejables.

La geometría de mancuerna minimiza los esfuerzos en los puntos donde se aplica el torque a las muestra y evita resultados erróneos (Montejano y col., 1994). Esta geometría minimiza indeseables concentraciones de tensión en los lugares donde los momentos de torsión son aplicados (Montejano y col., 1983). El momento de torsión aplicado al espécimen produce un torque linear contra el ángulo de rotación en la gráfica, creando tensión, compresión y esfuerzo cortante de igual magnitud, donde el gel se romperá debido a la tensión que soporta. Cada espécimen en la prueba de torsión se rompe aproximadamente en un ángulo de 45° desde el eje central de la muestra en una plano máximo de tensión cuando un momento de torsión es aplicado (Kim y col., 1986). De este modo, la tensión, la compresión y el esfuerzo cortante

creados son de igual magnitud, pero actúan en planos diferentes no paralelos (Montejano y col., 1984). Las ventajas de la prueba de torsión (Montejano y col., 1983; Hamman, 1991) respecto a otras de gran deformación son las siguientes:

1. No hay cambio apreciable del volumen. La forma del espécimen es mantenida durante la prueba minimizando consideraciones geométricas.
2. Produce rompimiento incluso en materiales altamente deformables.
3. La tensión, la compresión y la deformación cortante creadas son de igual magnitud, así que el material se romperá debido a la tensión resultado de su última fuerza.
4. La fricción entre el espécimen y el equipo no tiene que ser considerado.
5. No hay restricción del criterio para fractura. El material puede caer en compresión, tensión o deformación, o de modo combinado.

La prueba de deformación torsional mide dos propiedades reológicas: uno, tensión y esfuerzo que responden bajo una relación de deformación constante antes de la fractura (perfil de esfuerzo-tensión) y dos, valores de tensión y esfuerzo a la fractura. Los cambios antes de la fractura son dinámicos, y los valores a la fractura son la medición de un punto estático simple (Li y col., 1999). En la prueba de torsión, los parámetros son esfuerzo cortante, fuerza de gel, y deformación cortante, deformabilidad del gel (Lavelle y Foegeding, 1993).

De acuerdo a lo anterior, mientras más alta sea la curva significa que el gel es más fuerte, y a mayor distancia recorrida en la gráfica mayor es más elástico (Anexo IV). Los geles de ASB y GLN fueron los que tuvieron valores de unidades Brookfield mayores, mientras los geles con XNT fueron más difíciles de romper, presentando un promedio mayor al resto de las muestras. Los geles menos deformables y fuertes fueron con KCG. La forma de la curva puede indicar la estructura del gel formado. Mientras los geles de ASB y GLN y KCG parecen muy homogéneos o isotrópicos, la curva de torsión con XNT indica que el gel no es homogéneo pues se presentan irregularidades en la curva, reflejo de la estructura del gel. Los geles de ACH fueron mucho menos fuertes y deformables que los de ASB, sobre todo los que contenían XNT y sodio. El efecto en las curvas parece ser por el tipo de ión más que por el polisacárido utilizado.

La Tabla 8 resume los resultados del esfuerzo cortante y de la deformación cortante para las muestras. El esfuerzo cortante fue mucho mayor en los geles de ASB que para los geles de ACH (Anexo IV). Las muestras de ASB y potasio obtuvieron valores mayores que sodio y/o sin sales. En los geles de ACH el comportamiento es un poco diferente, ya que el gel ACH-GLN y sin sales obtuvo el valor de esfuerzo cortante mayor. Lo mismo sucede con la deformación cortante (Anexo IV), aunque la diferencia entre proteínas no parece tan grande. Las muestras sin sales en ASB tuvieron mayor deformabilidad que el resto de las muestras, ya que los geles de ACH tuvieron valores menores.

Tabla 8. Fractura Torsional de geles de albúmina sérica bovina (ASB) y albúmina de clara de huevo (ACH).

Polisacárido	Ion	Esfuerzo Cortante (N/m ²)		Deformación Cortante	
		ASB	ACH	ASB	ACH
Gelana	Sin	30020	10080	1.9062	1.8391
	Na ⁺	47558	13746	1.7544	1.7415
	K ⁺	42186	12672	1.7207	1.8422
Xantana	Sin	14694	4803	2.3516	1.6581
	Na ⁺	31442	2370	2.0893	1.7887
	K ⁺	31758	1580	2.0270	1.8597
κ Carragenina	Sin	19276	17696	2.1503	1.2076
	Na ⁺	17506	10238	1.6829	1.5674
	K ⁺	48980	9796	1.6483	1.6217

En la Tabla 9 se presenta el resultado del análisis de varianza aplicado a los resultados de la prueba de torsión. Tanto el esfuerzo como la deformación cortante fueron afectados significativamente por el tratamiento, aunque para este último la significancia y el coeficiente de correlación fueron bajos. En el esfuerzo cortante el tipo de albúmina, el tipo de sal y el polisacárido fueron significativos (Anexo IV), donde ASB tuvo una media mucho mayor que los valores de ACH, mientras que GLN y KCG están en el mismo grupo Duncan. El efecto del ión utilizado no es tan significativo, donde potasio obtuvo la media más alta seguido de sodio y sin sales.

Para la deformación cortante solo el tipo de proteína y el Polisacárido tuvieron efecto significativo en la variable respuesta (Anexo IV). ASB presento mayor deformación que ACH, donde las muestras con xantana resultaron más deformables que con GLN y KCG.

Tabla 9. Análisis de varianza: coeficiente de determinación y niveles de significancia de la prueba de Fractura Torsional para los geles de ASB y ACH

Variable	R ²	P>F	variable	P>F
Esfuerzo Cortante	0.696183	0.0001	Proteína	0.0001
			Ion	0.0339
			Polisacárido	0.0089
Deformación Cortante	0.292301	0.0541	Proteína	0.0134
			Ion	0.8091
			Polisacárido	0.0964

Los geles de ASB tuvieron valores de fuerza de gel mayores que los de ACH, como en los anteriores resultados, al ser combinados con GLN. No hubo un efecto tan significativo del tipo de ión utilizado, lo que indica que bajo estas condiciones de fuerza iónica el tipo de sal no importa. La deformabilidad de los geles de ASB fue mayor, pero para con XNT dio una mayor elasticidad, aunque los geles no eran totalmente homogéneos por la presencia de grandes agregados de xantana dentro del gel. De acuerdo a Montejano y col. (1984), comparando las características de

rompimiento mecánico de los geles, los parámetros mecánicos obtenidos por la prueba de torsión son suficientes para detectar diferencias entre los materiales. Un incremento en la concentración de proteína podría causar un incremento en la densidad de las hebras de proteína que podrían requerir una fuerza mayor para romperse, incrementando el esfuerzo cortante en las muestras (Lavelle y Foegeding, 1993). Este incremento pudo deberse a cierta asociación entre proteína-polisacárido. Por otro lado, las diferencias en la deformación cortante podrían ser debido a las disimilaridades en las estructuras de la red de gel y/o interacciones moleculares dentro de la red. Dispersión y las condiciones de calentamiento pueden alterar la desnaturalización y/o agregación. La extensión del desplegamiento de las proteínas, la formación de interacciones interproteína (en particular, puentes disulfuro) y la extensión de la agregación se incrementa con el tiempo temperatura de calentamiento. En adición, diferentes proteínas tienen diferente sensibilidad a cambios en dispersión y condiciones de calentamiento, así diferentes conformaciones de proteína en el estado pre-gel llevaran a diferentes interacciones moleculares en la red final de gel y esto afectara las propiedades reológicas (Lavelle y Foegeding, 1999). Dado lo anterior, en las muestras con cloruro de sodio tenemos que los geles de ASB fueron mas deformables al combinarse con GLN, sin embargo al ser combinados con XNT estos fueron mas elásticos. Relacionando esto con los resultados de la sección 7.1.1, tenemos que la estructura de los geles de ASB al ser más homogénea resulta en un gel más fuerte y elástico, comparado con los de ACH que resultaron menos densos y por lo tanto con menor capacidad estructural para soportar una deformación.

De manera general, los geles de ASB tuvieron los valores mayores en la mayoría de las pruebas reológicas realizadas. Del mismo modo, la GLN tuvo los valores medios más altos en las pruebas de medias donde resulto significativo el tipo de goma utilizada. En esta parte experimental el nivel de sales fue menor, aunque las sales divalentes solo formaron geles muy débiles en tubos de ensaye, pues al tratar de sacarlos de las fundas de poliamida estos se deshacían sin poder manejarse para las pruebas de APT o moldearse para fractura torsional. De este modo, el efecto de las sales fue más significativo cuando se utilizo potasio, seguido de sodio o sin sales y al último por las sales divalentes, lo que indica su poca participación en la gelificación de las gomas. Esto no esta de acuerdo con lo reportado, al menos para gelana, donde magnesio y calcio tuvieron un efecto más profundo en las características del gel que los iones monovalentes sodio o potasio. Calcio tiene el efecto mas profundo sobre la fuerza de gel (Kang y Pettitt, 1993; Watase y Nishinari, 1993; Kasapis, 1995). En la gelificación de la gelana, los iones potasio indican que esta habilidad de la goma es mejorada por el escudo electrostático de repulsión entre los ácidos glucorónicos y las moléculas de gelana (Watase y Nishinari, 1993). Sin embargo, potasio tiene mayor influencia en el gel formado que sodio o litio (Kasapis, 1995). Esto ha sido reportado también para xantana, donde el efecto de los electrolitos depende de la concentración (Kang y Pettitt, 1993). El uso de sodio y calcio a la goma de xantana aumenta ligeramente la rigidez del gel (Ma y Barbosa-Canovas, 1997). El efecto del ion no fue lo significativo que se esperaba, por lo que solo se utilizo sodio, potasio y sin sales en las pruebas de fractura torsional y APT, mientras

que para la caracterización reológica de los geles y de las mezclas solo se empleo cloruro de sodio.

225702

No obstante, el comportamiento de las gomas al ser mezcladas en la suspensión de proteínas es muy diferente. La temperatura de gelificación de los geles de KCG podría influenciar la cinética de asociación entre cadenas y afectar la fuerza de gel. Las pequeñas diferencias entre la temperatura de gelificación y la temperatura máxima de la solución (debido al aumento en la temperatura de gelificación por agregar especies o cationes) podría permitir menor tiempo para que el sistema alcance temperaturas de asentamiento al enfriarse, esto podría resultar en una red menos ordenada y consecuentemente con menor fuerza de gel (Shand y col., 1994). Varios estudios sobre las interacciones proteína-goma en sistemas modelo han sugerido que las interacciones electrostáticas y puentes de hidrogeno son las mayores fuerzas responsables involucradas en la unión goma-proteína y las propiedades de gelificación (Ustonol y col., 1992; Xiong y Blanchard, 1994; Cai y Arntfield, 1997). De acuerdo a Xiong y Blanchard (1994), hay dos posibilidades: puede suponerse interacciones mínimas entre proteína y goma en la fase inicial de la gelificación de las proteínas (esto es, desplegamiento estructural y entrecruzamiento intermolecular). Pero cuando se aproxima el punto de gelificación (el entrecruzamiento infinito), la goma interfiere con la formación de la red (quizá por entrapamiento). La otra posibilidad es que solamente cuando la goma y la proteína están altamente concentradas, las dos macromoléculas interactuaron (por entrapamiento) para producir una matriz de gel altamente viscosa. Las

interacciones que pudieron haberse dado entre los componentes del sistema se reflejan en las características de textura de los geles. Así, de manera general se puede decir que los geles de ASB resultaron más fuertes de acuerdo a las pruebas de penetración, y del mismo modo tuvieron valores más altos en los parámetros del ATP, es decir, los geles fueron más cohesivos, elásticos y deformables que los de ACH. Esto se corrobora en los resultados de fractura torsional, donde los geles de ASB fueron más deformables y fuertes. Del mismo modo, la gelatina contribuyó a estas características físicas de estos geles, por lo que la interacción entre ASB y GLN se vio más favorecida que con las otras gomas o con la ACH. En este caso el grado de pureza y la composición de las proteínas pudo haber tenido cierta influencia, además de las condiciones del sistema.

7.2 PROPIEDADES DE LOS GELES DE RES Y CARNE DE CABRA

7.2.1 Pruebas de penetración de los geles de res y carne de cabra.

En cuanto a los resultados de penetración de los geles de proteína muscular de res (Anexo VII), los geles presentaron un comportamiento irregular dependiendo del polisacárido y de la sal empleada, donde al parecer el gel presenta mayor resistencia a la penetración cuando no hay sales en el medio. El cloruro de calcio y el cloruro de magnesio no formaron geles a 0.6 M. La baja resistencia presentada a la penetración puede deberse a un exceso de iones en el medio (0.6 M), lo cual impide tanto la interacción entre proteínas e polisacáridos o la gelificación de alguno de los dos. El tamaño del ión debe ser definitivo en el impedimento estérico entre los componentes. La xantana tuvo el más pobre desempeño en los tres casos, donde al parecer ningún gel es formado. En presencia de iones (potasio y sodio), la κ -carragenina presentó mayor resistencia a la penetración durante la prueba, sin embargo cuando no hay iones en el medio la gelatina aumento notablemente la fuerza del gel. Sin embargo, el tipo de curva indica que la composición del gel no es homogénea debido a los picos que se presentan durante la prueba. Al parecer, en presencia de potasio la κ -carragenina forma un gel homogéneo, aunque muy débil comparado al formado sin iones. Para las proteínas musculares de carne de cabra los resultados son parecidos a los de res (Anexo VII). La xantana presentó un comportamiento muy parecido tanto en presencia de iones como sin ellos. Las muestras sin iones son las que

presentaron mayor resistencia a la penetración, significando un gel más fuerte, pero con una estructura muy irregular.

La Tabla 10 muestra los resultados de trabajo de penetración, índice de viscosidad y elasticidad aparente calculados de las curvas para los geles de res y carne de cabra. Gelana sin iones tiene los valores más altos en cuanto a trabajo de penetración, que es la integración del área bajo la curva. El índice de viscosidad es mayor para estas muestras también, sin embargo los geles de xantana y potasio resultaron con valores superiores en la viscosidad aparente.

Tabla 10. Trabajo de penetración, índice de viscosidad y elasticidad aparente en la prueba de penetración en geles de proteína muscular con polisacáridos

Polisacárido	Ion	Trabajo de Penetración (g s)		Índice de viscosidad (Poise)		Elasticidad Aparente (N/cm ²)	
		Res	Cabra	Res	Cabra	Res	Cabra
Gelana	Sin	596.59	656.20	4.87x10 ⁻⁰²	4.24x10 ⁻⁰²	49.91	283.78
	Na ⁺	130.59	144.02	1.02x10 ⁻⁰²	1.02x10 ⁻⁰²	32.82	303.52
	K ⁺	24.96	142.91	2.14x10 ⁻⁰³	9.90x10 ⁻⁰³	0.75	46.00
Xantana	Sin	21.90	83.57	2.25x10 ⁻⁰³	1.43x10 ⁻⁰³	0.99	469.03
	Na ⁺	62.92	181.84	4.70x10 ⁻⁰³	9.19x10 ⁻⁰³	23.02	87.05
	K ⁺	77.41	138.62	4.29x10 ⁻⁰³	7.25x10 ⁻⁰³	254.79	374.94
κ Carragenina	Sin	318.44	567.83	1.83x10 ⁻⁰²	2.92x10 ⁻⁰²	374.94	0.99
	Na ⁺	159.58	293.13	1.33x10 ⁻⁰²	1.87x10 ⁻⁰²	16.14	1493.82
	K ⁺	22.22	71.54	2.14x10 ⁻⁰³	5.00x10 ⁻⁰³	1.35	9.79

El análisis de los resultados estadísticos se muestra en la Tabla 11, donde todas las variables respuesta se vieron afectadas excepto el porcentaje de la curva. No existe efecto por el uso de polisacáridos, solamente por especie o ion utilizado.

Tabla 11. Análisis de varianza: coeficiente de determinación y niveles de significancia para trabajo de penetración, índice de viscosidad y elasticidad aparente en las pruebas de penetración de los geles de proteína muscular

Variable	R ²	P>F	Variable	P>F
Trabajo de Penetración	0.623343	0.0234	Especie	0.1934
			Ion	0.0133
			Polisacárido	0.1109
Índice de Viscosidad	0.582115	0.0402	Especie	0.5559
			Ion	0.0291
			Polisacárido	0.0695
Elasticidad Aparente	0.605917	0.0297	Especie	0.0134
			Ion	0.0268
			Polisacárido	0.9397

El trabajo de penetración se vio afectado por el tipo de ion utilizado ($P > 0.0133$), donde se obtienen los valores más altos sin iones en el medio, seguido de sodio o potasio (Anexo VII, Tabla VII-1).

El índice de viscosidad tuvo diferencias significativas respecto al tipo de ión ($P > 0.0291$) y en menor medida por el polisacárido ($P > 0.0695$). Los valores más altos son obtenidos otra vez en las muestras sin sales, aunque agrupadas junto con sodio. El efecto por polisacárido es mayor con la gelana, aunque hay traslape con los otros

polisacáridos en los mismos grupos Duncan (Tabla VII-1). La elasticidad aparente de los geles se vio afectada por la especie ($P > 0.0134$) y la sal empleada ($P > 0.0268$). Las proteínas musculares de carne de cabra obtienen valores mayores a los de las muestras de res, mientras que el efecto de los iones no estuvo presente al ser más altos los resultados sin ion que al utilizar alguna sal (Tabla VII-1). El marcado efecto del ion utilizado con proteínas musculares sugiere la combinación de gelana y potasio para productos cárnicos bajos en sodio.

7.2.2 Análisis de perfil de la textura de geles de proteína muscular

Los APT solo se llevaron a cabo con 0.6M de cloruro de sodio, debido al interés de incorporar los polisacáridos a un sistema cárnico. Las curvas características del APT para los geles de proteína muscular de res y de carne de cabra están en el Anexo VII. La xantana no pudo mezclarse con los extractos proteicos, por lo que solo se evaluó κ -carragenina y gelana.

En las gráficas del análisis descriptivo de los parámetros del APT, se observó que los geles de res son más duros y con mayor fracturabilidad que los de cabra, mientras que estos últimos tienen mayor resiliencia, cohesividad y elasticidad. Esto significa que los geles de res tienen una estructura más rígida que los de cabra, que resultaron más deformables, pero sin recobrar su forma original. Estos resultados están resumidos en la Tabla 12. Los resultados del análisis de varianza se muestran en la Tabla 13, donde únicamente la elasticidad no fue afectada significativamente por los tratamientos.

Tabla 12. Parámetros del análisis de perfil de textura para los geles de proteína muscular de res y carne de cabra.

Especie	Res		Cabra	
	κ Carragenina	Gelana	κ Carragenina	Gelana
Dureza	99.05	118.66	26.39	65.99
Fracturabilidad	5.74	8.11	-0.18	1.553
Cohesividad	0.1841	0.2390	0.5247	0.4926
Elasticidad	0.7095	0.6418	0.6573	0.7947
Resilencia	0.0414	0.0644	0.4128	0.3926
Adhesividad	-14.68	-33.91	-10.51	-11.06

Tabla 13. Análisis de varianza: coeficiente de determinación y niveles de significancia para el APT de los geles de proteína muscular.

Variable	R ²	P>F	Variable	P>F
Dureza	0.9796	0.0001	Especie	0.0001
			Polisacárido	0.0001
Fracturabilidad	0.9558	0.0001	Especie	0.0001
			Polisacárido	0.0150
Cohesividad	0.9577	0.0001	Especie	0.0001
			Polisacárido	0.3164
Elasticidad	0.2636	0.2523	Especie	0.1731
			Polisacárido	0.3359
Resilencia	0.9192	0.0001	Especie	0.0001
			Polisacárido	0.8501
Adhesividad	0.7913	0.0009	Especie	0.0019
			Polisacárido	0.0112

La dureza del gel fue afectada por la especie ($P > 0.0001$) y el polisacárido utilizado ($P > 0.0001$) (Comparación múltiple de medias en el Anexo VII). Res formó geles más fuertes que los de cabra, sobre todo al combinarse con gelana que dio valores más altos de dureza. La fracturabilidad de los geles también se vio afectada por la

especie ($P > 0.0001$) y el polisacárido ($P > 0.0150$). Res y gelana tuvieron los valores mayores. La cohesividad de los geles solo se vio afectada por la especie ($P > 0.0001$). La resiliencia de las muestras solo se vio afectada por la especie ($P > 0.0001$), donde res tuvo valores mayores a cabra. La adhesividad de los geles se vio afectada por la especie ($P > 0.0019$) y el polisacárido ($P > 0.0120$). El índice de viscosidad y la elasticidad aparente han sido reportados para determinar diferencias entre especies. Lan y col. (1995c) sugieren que las diferencias en las propiedades de gelificación entre especies se vio influenciada por la presencia de isomorfos de proteína, alterando la estructura del gel, además de que la concentración de proteína debe ser suficiente para permitir interacciones entre las moléculas de proteína y formar una red de gel fuerte. Del mismo modo, la gelificación no es simplemente la suma de las propiedades de gelificación de los componentes. La fuerza total del gel es determinada no solamente por la contribución relativa de las fracciones proteicas, sino también por las interacciones entre estas que se ven influenciadas por su concentración (Lan y col., 1995a). Existen diferencias en las propiedades de gelificación entre especies y el tipo de músculo en igual parte. Las propiedades de gelificación dependieron del pH, sugiriendo que a valores de pH arriba de 6.0 las carnes procesadas podrían mejorar su propiedades de gelificación (Lan y col., 1995b). Los extractos musculares de ambas especies al ser mezcladas con los geles tuvieron un valor de pH entre 6.2 y 6.5. De acuerdo a lo anterior, y ya que estas se encuentran arriba de su punto isoeléctrico, las matrices proteicas debieron de ser lo suficientemente fuertes para registrar una fuerza de gel parecida. Sin embargo, el tipo de sal influyó de manera definitiva al precipitar al sistema con las sales dibásicas

a los niveles utilizados. Contrariamente a lo esperado, las muestras sin sales tuvieron los valores medios más altos en las variables respuesta afectadas, de acuerdo al análisis de medias, seguido de sodio y potasio, sin diferencia significativa entre estos dos últimos. El tipo de polisacárido utilizado solo afectó al índice de viscosidad. Respecto a la KCG, ha sido reportado que el tipo y concentración de ión afectan su gelificación, donde el cloruro de potasio produce una fuerza de gel mayor que el cloruro de sodio o magnesio o calcio (Therkelsen, 1993; Zabik y Aldrich, 1968). Para la xantana, la adición de sodio y calcio incrementan ligeramente la rigidez del gel (Ma y Barbosa-Canovas, 1997) y el potasio produce geles más fuertes que sodio para la gelatina (Kang y Petit, 1993; Kasapis, 1995). Los niveles empleados de polisacárido no debieron ser lo suficientes para lograr una gelificación coadyuvada por el tipo de ión utilizado. No obstante, al utilizar cloruro de calcio y magnesio no se formó ningún gel. Posiblemente el nivel de iones utilizado (0.6 M) fue muy alto, interfiriendo quizá en la solubilidad de las proteínas musculares y/o en la formación de un gel de polisacárido. Es decir, posiblemente el polisacárido interfirió con la formación del gel, y no se asoció con las proteínas o entre ellas para formar una red más fuerte al haber iones en el medio. Esta interacción parece mejorar cuando no hay sales, aunque la gelatina requiere de ellos para formar un gel.

La especie solo influyó en la elasticidad aparente, lo cual significa que las proteínas musculares de cabra tienen un desempeño al menos igual a las de res. De acuerdo a esto, los geles de proteínas musculares de res tuvieron mayores valores en todos los parámetros del APT, excepto en la elasticidad que no resultó significativa, sobre todo

al ser combinados con gelana mas que con KCG. Esto significa que los geles de proteína muscular de res son más duros, fracturables, con mayor cohesividad y resiliencia que los de proteína muscular de cabra. Esto no esta de acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas de penetración, aunque es muy probable que la geometría de la muestra, las condiciones de prueba y el efecto de las paredes del tubo afecten los resultados.

Los geles obtenidos a partir del extracto muscular de carne de cabra y res y los diferentes polisacáridos tuvieron diferentes estructuras, de acuerdo a los resultados de las pruebas de penetración y del APT. Los geles más homogéneos al parecer se obtuvieron cuando no se agregaron sales al sistema. Estos fueron además los geles más fuertes, comparados con los que contenían cloruro de sodio y cloruro de potasio. Las sales dicationicas no formaron geles en las condiciones utilizadas, aunque la κ carragenina forma geles más débiles con cloruro de calcio o magnesio (Zabich y Aldrich, 1968). La separación de fases posiblemente fue debido a la precipitación (salting-out) de las proteínas musculares por el tipo de sal empleada. Aunque la fuerza de geles de κ carragenina depende de la concentración y tipo de ión utilizado (Therklensen, 1993; Zabick y Aldrich, 1968), al ser combinadas con el extracto muscular las características gelificantes de ambos polisacáridos cambian. Ha sido reportado que la adición de KCG a sistemas cárnicos aumenta la fuerza de la matriz de gel (Foegeding y Ramsey, 1986), afectando la temperatura de transición de las proteínas. Sin embargo, su funcionalidad en los sistemas cárnicos ha sido relacionada a sus propiedades termoreversibles, donde el aumento en la capacidad

de retención de agua y una textura más dura de los geles de proteínas solubles en sales al agregar KCG fueron probablemente debidos al atrapamiento físico de proteína y agua en el KCG dependiendo de la concentración de esta última, ya que bajas concentraciones de CGN (0.5%) no inducen cambios térmicos en las proteínas cárnicas (DeFreitas y col., 1997a y b). Debido a los diferentes mecanismos de gelificación, el papel de la KCG fue secundario en la formación de la red de gel. Las carrageninas gelifican al enfriamiento y necesitan de la presencia de iones potasio u otro agente promotor de la gelificación (Lopes da Silva y Rao, 1999). La gelificación de la KCG al enfriamiento es un efecto separado de la gelificación inducida por calor de las proteínas cárnicas y no fue detectada por medio de calorimetría diferencial de barrido (DeFreitas y col., 1997b). La temperatura de transición de KCG fue aumentada por el uso de NaCl (Shand y col., 1994). Al agregar XNT disminuye la rigidez del gel, posiblemente afectando la estabilidad de la proteína, pero sin alterar la transición térmica de las proteínas (Foëgeding y Ramsey, 1986 y 1987). De manera similar a la KCG, se esperaba un mayor efecto por el tipo de sales empleada, ya que la adición de sodio o calcio incrementa ligeramente la rigidez del gel (Ma y Barbosa-Canovas, 1997). En sistemas cárnicos, la adición de xantana no causó un apreciable cambio en el patrón de agregación, o en la temperatura de asentamiento para gelificación, indicando que la goma no interfiere con la asociación interfilamental, por lo que tiene un efecto mínimo en la conformación de los componentes de las proteínas solubles en sales. La adición de 0.5% de xantana reduce la fuerza de gel de las proteínas solubles en sales en un 33% (Xiong y Blanchard, 1994). El mecanismo de gelificación de la gelana también necesita la

presencia de iones para su agregación durante el enfriamiento (Lopes da Silva y Rao, 1999), donde el ión potasio tiene definitiva influencia en su gelificación (Moritaka y col., 1995), aunque los iones divalentes son más efectivos para incrementar la fuerza de gel (Watase y Nishinari, 1993). En el análisis estadístico aplicado, se encontró que los iones sin sales son más fuertes que los que contenían cloruro de sodio o potasio, por lo que la gelificación de los polisacáridos KCG, GLN y XNT influyeron de manera negativa al formar geles menos fuertes. El efecto por la especie utilizada no es significativa, al menos en las pruebas de penetración. Sin embargo, en las pruebas de análisis del perfil de textura las proteínas de res formaron geles más duros, fracturables, cohesivos y con mayor resiliencia y adhesividad que los de proteína muscular de cabra. Solamente se empleo cloruro de sodio en esta serie de pruebas. La gelana coadyuvo a este resultado, ya que tuvo un efecto significativo en la mayoría de las pruebas de APT. El efecto o influencia en la formación del gel del sistema contenedor es determinante. La gelificación de las mezclas en las fundas de poliamida para esta prueba determina las propiedades mecánicas del gel, ya que la pared del tubo influencia el comportamiento del gel. La xantana no formó geles decentes y manejables. En estas pruebas si se encontró un efecto en el polisacárido utilizado, donde la gelana ayudo a las características mecánicas del gel formado.

8. CONCLUSIONES

Sobre la base de los resultados obtenidos y su discusión, se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Las diferentes microestructuras observadas en los geles fue de filamentos finos en los de ASB y de particulados en los de ACH. En la microscopia de contraste de fases se observó el efecto del polisacárido empleado, donde la gelatina contribuyó en mayor medida a la formación de una red homogénea.
2. Los geles de ASB resultaron de manera general más fuertes y con parámetros de textura mayores que los de ACH al ser combinado con los polisacáridos utilizados. Esto debido al grado de pureza y por lo tanto a la agregación entre las moléculas de proteína.
3. Relacionando estos resultados, tenemos que una microestructura de filamentos finos se relaciona con las propiedades de gel. Geles con agregados en particulados tuvieron un desempeño más pobre en cuanto a las propiedades del gel.
4. Aunque las diferencias en las pruebas sobre geles de proteína muscular de carne de cabra y de res mostraron que no había efecto de la especie en cuanto a fuerza de gel se refiere, los geles de proteína de res tuvieron mejores atributos de textura (basándose en el APT aplicado). Esto es importante al momento de

extrapolar los resultados a otros sistemas o especies. La adición de polisacáridos puede mejorar en mucho las características de sistemas cárnicos.

5. El efecto del tipo de sal no fue lo significativo que se esperaba, pues los resultados obtenidos no corroboran lo reportado acerca del efecto de los iones divalentes en sobre la gelificación de los polisacáridos. Las sales monovalentes siguen de alguna manera lo reportado, dando geles más fuertes con potasio que con otra sal.
6. El tipo de polisacárido contribuyó de manera secundaria en la formación de la red de gel, ya que es en pocos casos donde su adición afectó su comportamiento al gelificar, donde gelana presentó valores mayores si había potasio en el medio. Al substituir potasio por sodio en la última parte, KCG presentó valores mayores que GLN y XNT, por lo que parece que GLN fue más sensible al tipo de ion presente.
7. Las diferentes técnicas para estudiar la textura de los geles empleadas en esta tesis coincidieron en la mayor parte de los resultados, donde se pudo evaluar la dureza, elasticidad, continuidad y ductilidad de las estructuras de gel formadas.

9. BIBLIOGRAFÍA

Abeyssekera, R.M. y A.W. Robards, 1995. Microscopy as an analytical tool in the study of phase separation of starch-gelatin binary mixtures, capítulo 8 *Biopolymer Mixtures*, editado por S.E. Harding, S.E. Hill & J.R. Mitchell. Nottingham University Press, Wiltshire, pp. 143-160

Bagley, E.B. y D.D. Christianson, 1987. Measurement and interpretation of rheological properties of foods. *Food Technology* 41(3): 96-99.

Bourne, M.C., 1966. Measure of shear and compression components of puncture tests. *Journal of Food Science* **31**: 282-291

Bourne, M.C., 1982. *Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement*. Academic Press, San Diego, pp. 44-117.

Bourne, M.C., 2000. Comunicación personal.

Brown, S.L. y M.E. Zabik, 1967. Effects of heat treatment on the physical and functional properties of liquid and spray-dried egg albumen. *Food Technology* **21**(1): 87-92.

Cai, R y S.D. Arntfield, 1997. Thermal gelation in relation to binding of bovine serum albumin-polysaccharide systems. *Journal of Food Science* **62**: 1129-1134.

- Clark, A.H., F.J. Judge, J.B. Richards, J.M. Stubbs y A. Suggett, 1981. Electron microscopy of network structures in thermally-induced globular protein gels. *International Journal of Peptide and Protein Research* **17**: 380-392.
- Clegg, S.M., 1995. Thickeners, gels and gelling, capítulo 6 en *Physicochemical Aspects of Food Processing*, editado por S.T. Beckett. Blackie A&P, Glasgow, 117-141.
- Daget, N. y S. Collyer, 1984. Comparison between quantitative descriptive analysis and physical measurement of gel systems and evaluation of the sensorial method. *Journal of Texture Studies* **15**: 227-245.
- De Freitas, Z., J.G. Sebranek, D.G. Olson y J.M. Carr, 1997a. Carrageenan effects on salt-soluble meat proteins in model systems. *Journal of Food Science* **62**: 539-543.
- De Freitas, Z., J.G. Sebranek, D.G. Olson y J.M. Carr, 1997b. Carrageenan effects on thermal stability of meat proteins. *Journal of Food Science* **62**: 544-547.
- Dea, I.C., 1993. Conformational origins of polysaccharide solution and gel properties, capítulo 2 en *Polysaccharides and their Derivates*, 3rd edition, editado por R Whistler y J N Bemiller, Academic Press, Inc., San Diego, pp.:21-52.
- Delben, F y S Stefancich, 1998. Interaction of food proteins with polysaccharides. *Glikman International Workshop on Structure Formation in Solutions and Gels of Food Polysaccharides*. Saratov, Russia. URL: <http://www.zastec.nl/crf/glikman/sar77>.
Fecha de actualización: 13/07/1998, fecha de acceso: 02/11/1998.

- Doi, E., N. Kitabatake, H. Hatta y T. Koseki, 1989. Relationship of SH groups to functionality of ovoalbumin, capítulo 15 en *Food Proteins*, editado por J.E. Kinsella & W.G. Soucie. American Oil Chemical Society, Champaign, 252-266.
- Donald, A.M., C.M. Durrani, R.A.L. Jones, A.R. Rennie y R.H. Tromp, 1995. Physical methods to study phase separation, capítulo. 6 en *Biopolymer Mixtures*, editado por S.E. Harding, S.E. Hill & J.R. Mitchell. Nottingham University Press, Wiltshire, pp. 99-116
- Doubler, J.L., C. Castelain, G. Lammas & J. Lefebvre, 1995. Rheological and Phase Separation, capítulo 15 en *Biopolimer Mixtures*, editado por S.E. Harding & J.R. Mitchel. Nottingham University Press, Wiltshire, 315-328.
- Ferry, J.D., 1948. Proteins Gels. *Advances in Protein Science* **4**: 1-76.
- Foegeding, E.A. y S.R. Ramsey, 1986. Effect of gums on low-fat meat batters. *Journal of Food Science* **51**: 33-36, 46.
- Foegeding, E.A. y S.R. Ramsey, 1987. Rheological and water-holding properties of gelled meat batters containing iota carrageenan, kappa carrageenan or xanthan gum. *Journal of Food Science* **52**: 549-553.
- Foegeding, E.A., E.L. Bowland y C.C. Hardin, 1995. Factors that determine the fracture properties and microstructure of globular protein gels. *Food Hydrocolloids* **9**: 237-249.

- Gornall, A.G., C.J. Bardawill y M.M. David, 1949. Determination of serum proteins by means of biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry* **177**: 751-766.
- Gray, P., 1964. *Handbook of Basic Microtechnique* (3rd. edition). McGraw-Hill, New York, pp. 26-29, 50-54.
- Hamman, D.D., 1991. Rheology: a tool for understanding thermally induced protein gelation, capítulo 15 en *Interactions of Food Proteins*, editado por N. Parris y R. Bradford, ACS Symposium series 454, American Chemical Society, Washington DC, pp. 212-227.
- Harding, S.E., S.E. Hill & J.R. Mitchel, 1995. Preface en *Biopolymer Mixtures*, editado por S.E. Harding & J.R. Mitchel. Nottingham University Press, Wiltshire, pp. v-viii.
- Hermansson, A.M., 1995. The importance of biopolymers in structure engineering, en *Food Macromolecules and Colloids*, editado por E. Dickson y D. Lorient. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 363-375.
- Hickson, D.W., C.W. Dill, R.G. Morgan, V.E. Sweat, D.A. Suter y Z.L. Carpenter, 1982. Rheological properties of two heat-induced protein gels. *Journal of Food Science* **47**: 783-785, 791.
- Kang, K.S. and D.J. Pettitt, 1993. Xanthan, gellan and rhamosan, capítulo 13 en *Industrial Gums: Polysaccharides and their Derivates* (3rd. edition), editado por R.L. Whistler & J.N. Bemiller. Academic Press, San Diego, pp. 341-397.

- Kasapis, S., 1995. Review: phase separated, glassy and rubbery states of gellan gum in mixtures with food biopolymers and co-solutes. *International Journal of Food Science and Technology* **30**: 693-710.
- Kim, B.Y., D.D. Hamman, T.C. Lanier y M.C. Wu, 1986. Effects of freezing-thaw abuse on the viscosity and gel-forming properties of surimi from two species. *Journal of Food Science* **51**: 951-956, 1004.
- Lamballerie, M, F. Chraïti, J. Culioli y A. Ouali, 1993. Gélification des protéines myofibrillaires bovines. *Sciences des Aliments* **13**: 237-247.
- Lan, Y.H., J. Novakofsky, R.H. McCusker, M.S. Brewer, T.R. Carr y F.K. McKeith, 1995a. Thermal gelation properties of protein fractions from pork and chicken breast muscles. *Journal of Food Science* **60**: 936-940, 945.
- Lan, Y.H., J. Novakofsky, R.H. McCusker, M.S. Brewer, T.R. Carr y F.K. McKeith, 1995b. Thermal gelation of pork, beef, fish, chicken and turkey muscles as affected by heating rate and pH. *Journal of Food Science* **60**: 742-747, 752.
- Lan, Y.H., R.H. McCusker, M.S. Brewer, T.R. Carr y F.K. McKeith, 1995c. Thermal gelation of myofibrils from pork, beef, fish, chicken and turkey. *Journal of Food Science* **60**: 941-945.
- Lanier, T.C., 1986. Functional properties of surimi. *Food Technology* **40**(3): 107-114, 124.

- Lavelle, C.V. y E.A. Foegeding, 1993. Gelation of turkey breast and thigh myofibrils: effects of pH, salt and temperature. *Journal of Food Science* **58**: 727-730, 760.
- Ledward, D A, 1990. protein-polysaccharide interactions, capítulo 8 en *Protein Functionality in Food Systems*, editado por N S Hietiarachchy y G R Ziegler, Marcel Dekker Inc, New York, pp.: 225-259.
- Lewis, M.J., 1987. *Physical Properties of Foods and Food Processing Systems*. Ellis Horwood Ltd., Chichester, pp. 137-145.
- Li, H., A.D. Errington y E.A. Foegeding, 1999. Isostrength comparison of large-strain (fracture) rheological properties of egg white and whey protein gels. *Journal of Food Science* **64**: 893-898.
- Lopes da Silva, J.A. y M.A. Rao, 1999. Rheological behaviour of food gel systems, capítulo 6 en *Rheology of Fluid and Semisolid Foods*, editado por M.A. Rao. Aspen Publications, Gaithersburg, pp. 319-368.
- Ma, L. Y G.V. Barbosa-Cánovas, 1997. Viscoelastic properties of xanthan gels interacting with cations. *Journal of Food Science* **62**(6): 1124-1128.
- Manson, J.A. y C.H. Sperling, 1976. *Polymers and Composite*. Plenum, New York. (citado por: Ziegler, G.R. y E.A. Foegeding, 1990. The gelation of proteins. *Advances in Food and Nutrition Research* **34**: 203-298).

- Montejano, J.G. y O.G. Morales, 1990. Variación en atributos de calidad de surimis individuales elaborados a partir de trucha, sardina, lenguado, lisa, jiniuario y carpa. *BIOTAM* **2**(3): 9-18.
- Montejano, J.G., D.D. Hamman y H.R. Ball, 1984. Mechanical failure characteristics of native and modified egg white gels. *Poultry Science* **63**: 1969-1974.
- Montejano, J.G., D.D. Hamman y T.C. Lanier, 1983. Final strength and rheological changes during processing of thermal induced fish muscle gels. *Journal of Rheology* **27**: 557-579.
- Montejano, J.G., O.G. Morales y R. Díaz, 1994. Propiedades reológicas de geles de surimi liofilizados de trucha (*Cyanoscion nothus*) y tilapia (*Orochromis nilotica*). *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos* **34**: 165-177.
- Moritaka, H., K. Nishinari, M. Taki y H. Fukuba, 1995. Effects of pH, potassium chloride and sodium chloride on the thermal and rheological properties of gellan gum gels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **43**: 1685-1689.
- Morris, V.J., 1985. Multicomponent Gels, en *Gums and Stabilisers for the Food Industry-3*, editado por G.O. Phillips, D.J. Wedlock & P.A. Williams. Elsevier Applied Science, London, pp. 87-99.
- Morris, V.J., 1990. Science, structure and applications of microbial polysaccharides, en *Gums and Stabilisers for the Food Industry-5*, editado por G.O. Phillips y D.J. Wedlock. IRL Press, Oxford, pp. 315-328.

- Ngapo, T.M., B. Wilkinson, R. Chong and D. Haisman, 1992. Gelation of bovine myofibrillar proteins by 1,5-gluconolactone. *Proceedings of the 38th International Congress in Meat Science and Technology*, Clermont-Ferrand, Francia.
- Nishinari, K, E. Miyoshi y T. Takara, 1996. Rheological and thermal studies of gel-sol transition of gellan gum. *Glickman International Workshop on Structure Formation in Solutions and Gels of Food Polysaccharides*. Saratov, Russia. URL: <http://www.zastec.nl/crf/glickman/sar56.htm>. Fecha de actualización: 13/07/1998, fecha de acceso: 02/11/1998.
- Peleg, M., 1976. Texture profile analysis parameters obtained by an Instron universal testing machine. *Journal of Food Science* **41**: 721-722.
- Peleg, M., 1983. The semantics of rheology and texture. *Food Technology* **37**(11): 54-61.
- Peleg, M., 2000. Comunicación personal.
- Pons, M, & S.M. Fiszman, 1996. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems. *Journal of Texture Studies* **27**: 597-624.
- Rodgers, G.W. y P. Wilding, 1990. Muscle proteins, capítulo 9 en *Food Gels*, editado por P. Harris. Elsevier Applied Science, Essex, pp. 361-400.
- Roff, C.F. y E.A. Foegeding, 1996. Dicationic-induced gelation of pre-denatured whey protein isolated. *Food Hydrocolloids* **10**: 193-198.

- Ross-Murphy, S.B., 1995a. Small deformation rheological behaviour of biopolymer mixtures, capítulo 5 en *Biopolymer Mixtures*, editado por S.E. Harding & J.R. Mitchel. Nottingham University Press, Wiltshire, pp. 85-98.
- Ross-Murphy, S.B., 1995b. Rheology of biopolymer solution and gels, capítulo 6 en *New Physico-Chemical Techniques for the Characterisation of Complex Food Systems*, editado por E. Dickson. Blackie A&P, Glasgow, pp. 139-156.
- Samant, S K, R S Singhal, P R Kulkarni y D V Rege, 1993. Protein-polysaccharide interactions: a new approach in food formulation. *International Journal of Food Science and Technology* **28**: 547-562.
- Samejima, K., B. Egelanddal y K. Fretheim, 1985. Heat gelation properties and protein extractability of beef myofibrils. *Journal of Food Science* **50**: 1540-1543, 1555.
- Sanderson, G.R., 1982. The interactions of xanthan gum in food systems. *Progress in Food and Nutrition Science* **6**: 77-87.
- Sanderson, G.R., 1990. The microbial properties and applications of microbial polysaccharides- A supplier's review, en *Gums and Stabilisers for the Food Industry-5*, editado por G.O. Phillips y D.J. Wedlock. IRL Press, Oxford, pp. 333-344.
- Sanderson, G.R., V.L. Bell, R.C. Clark & D. Ortega, 1987. The texture of gellan gum gels, en *Gums and Stabilisers for the Food Industry -4*, editado por G.O. Phillips, D.J. Wedlock & P.A. Williams. Elsevier Applied Science. London, pp: 219-229.

- Schoen, H.M., 1977. Functional properties and their measurement, capítulo 16 en: *Food Proteins*, J.R. Whitaker y S.R. Tannenbaum (editores), Avi Publishing Co., Westport, pp. 387-400.
- Shama, F. y P. Sherman, 1973. Evaluation of some textural properties of foods with the Instron universal testing machine. *Journal of Textural Studies* **4**: 344-353.
- Shand, P.J., J.N. Sofos y G.R. Schmidt, 1994. Differential scanning calorimetry of beef/kappa-carrageenan mixtures. *Journal of Food Science* **59**: 711-715.
- Sherman, P., 1982. Hydrocolloids solutions and gels. Sensory evaluation of some textural characteristics and their dependence on rheological properties. *Progress in Food and Nutrition Science* **6**: 269-284.
- Stanley, D.W. y M.A. Tung, 1976. Microstructure of food and its relation to texture, capítulo 8 en *Rheology and Texture in Food Quality*, editado por J.M. deMan, P.W. Voisey, V.F. Rasper y D.W. Stanley, Avi Publishing Co., Westport, pp.: 28-78.
- Sutherland, I W, 1998. Commercialised microbial exopolysaccharides- current polymers and future products. Glickman International Workshop on Structure Formation in Solutions and Gels of Food Polysaccharides. *Glickman International Workshop on Structure Formation in Solutions and Gels of Food Polysaccharides*. Saratov, Russia. URL: <http://www.zastec.nl/crf/glickman/sar49.htm>. Fecha de actualización: 13/07/1998, fecha de acceso: 02/11/1998..

- Szczesniak, A.S., M.A. Brandt y H.H. Friedman, 1963. Development of a standard rating scales for mechanical parameters of texture and correlation between the objective and sensory methods of texture evaluation. *Journal of Food Science* **28**: 397-404.
- Tang, J., M.A. Tung y Y. Zeng, 1997. Gelling properties of gellan solutions containing monovalent and divalent cations. *Journal of Food Science* **62**: 688-692, 712.
- Therkelsen, G.H., 1993. Carrageenan, capítulo 7 en *Polysaccharides and their Derivates* (3rd. edition), editado por R.L. Whistler & J.N. Bemiller. Academic Press Inc., San Diego, pp. 145-180.
- Tolstoguzov, 1997. Protein-polysaccharide interactions, capítulo 6 en *Food Proteins and Their Applications*, editado por S Damodaran y A Paraf, Marcel Dekker, Inc., New York, pp.: 171-198.
- Tolstoguzov, V.B., 1986. Functional properties of protein-polysaccharide mixtures, capítulo 9 en *Functional Properties of Food Macromolecules*, editado por J.R. Mitchel y D.A. Ledward. Elsevier Applied Science, Belfast, pp. 385-415.
- Tolstoguzov, V.B., 1991. Functional properties of food proteins and role of protein-polysaccharide interaction. *Food Hydrocolloids* **4**: 429-468.
- Ustonol, Z., Y.L. Xiong, W.J. Means y E.A. Decker, 1992. Forces involved in mixed pork myofibrillar protein and calcium alginate gels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* **40**: 577-580.

- Watase, M y K. Nishinari, 1993. Effect of potassium ions on the rheological and thermal properties of gellan gum gels. *Food Hydrocolloids* **7**: 449-456.
- Woodward, S.A. y O.J. Cotterill, 1986. Texture and microstructure of heat-formed egg white gels. *Journal of Food Science* **51**: 333-339.
- Xiong, Y.L. y S.P. Blanchard, 1994. Viscoelastic properties of myofibrillar protein-polysaccharide composite gels. *Journal of Food Science* **58**: 164-167.
- Xiong, Y.L., 1994. Myofibrillar protein from different muscle fiber types: implications of biochemical and functional properties in meat processing. *Critical Review in Food Science and Nutrition* **34**(3): 293-320.
- Zabik, M.E. y P.J. Aldrich, 1968. Gel strength of kappa-carrageenan as affected by cations. *Journal of Food Science* **33**: 371-377.
- Ziegler, G.R. y E.A. Foegeding, 1990. The gelation of proteins. *Advances in Food and Nutrition Research* **34**: 203-298.
- Ziegler, G.R. y J.C. Acton, 1984. Mechanisms of gel formation by proteins of muscle tissue. *Food Technology* **38**(5): 77-80, 82.

10. ANEXOS

INDICE

I	SUPERFICIES DE RESPUESTA: FUERZA DE GEL.....	I-1
II	ANÁLISIS DEL PERFIL DE TEXTURA DE GELES DE ALBUMINA	II-1
III	PENETRACIÓN DE GELES DE ALBÚMINA	III-1
IV	FRACTURA TORSIONAL.....	IV-1
V	PENETRACIÓN DE GELES DE RES Y CABRA.....	V-1

I SUPERFICIES DE RESPUESTA: FUERZA DE GEL

La Tabla I-1 recopila los resultados de los parámetros de las ecuaciones de las regresión con los respectivos coeficientes determinación y la significancia del modelo, además de la significancia de cada variable sobre la variable respuesta, fuerza de gel. Los coeficientes de regresión para las mezclas de polisacáridos se enlistan en la Tabla I-2.

Tabla I-1. Análisis de regresión. Coeficiente de determinación y niveles de significancia en las mezclas de proteína y polisacáridos en la determinación de la fuerza de gel

Mezcla*	Modelo		P>		
	P>	R ²	Proteína	Polisacárido	NaCl
ASB-KCG	0.1748	0.8252	0.0275	0.2751	0.9142
ASB-XNT	0.5173	0.8245	0.2861	0.7323	0.7323
ASB-GLN	0.3761	0.9100	0.2886	0.3217	0.3515
ACH-KCG	0.4775	0.8520	0.2818	0.5670	0.5670

Tabla I-2. Coeficientes de regresión de las ecuaciones lineales describiendo la fuerza de gel de las mezclas

Mezcla	β_0	β_1	β_2	β_3
ASB-KCG	2.263	0.327	0.000	0.123
ASB-GLN	0.865	0.386	-1.104	0.510
ASB-XNT	5.700	0.175	1.914	-0.812
ACH-KCG	2.195	0.334	1.712	-0.782

De manera general, se observó un comportamiento muy homogéneo en las superficies generadas con ASB y los polisacáridos, debido por su puesto a la pureza de esta proteína. En comparación, la ACH presento pequeñas inflexiones pero de manera no significativa en cuanto a la concentración de los componentes. La composición de proteínas de la albúmina de clara de huevo (principalmente albúmina, además de ovoalbúmina, ovomucina, entre otras) influencia el comportamiento debido al contenido de grupos sulfidrilo que podría interaccionar con la KCG, ya que de cierta manera los geles de ACH-KCG tuvieron valores mas altos que los de ASB-KCG a las mismas concentraciones. Estas interacciones estabilizan la red tridimensional formada (Figura I-1 y I-4). El incremento en la concentración de proteína y de polisacárido incrementa la fuerza de gel, y el incremento de la concentración de cloruro de sodio afecta más a la ACH que a la ASB, disminuyendo la fuerza del gel al aumentar la concentración. Este exceso de iones en el sistema cambia las cargas del conjunto de proteínas del huevo provocando un menor número de interacciones favorables ya sea entre estas o con la KCG en la formación del gel. No obstante, la falta de iones potasio hace pensar en un mejor desempeño de este hidrocoloide en un sistema con iones potasio más que con iones sodio. La adición de xantana es la que tiene un efecto mucho menos marcado sobre la superficie generada (Figura I-2). Sin embargo, las mezclas con gelana son las que obtienen menores valores de fuerza de gel y una pendiente mas marcada respecto a la concentración de polisacárido (Figura I-3). Esto podría explicarse en una mejor interacción entre los componentes a ciertos niveles, dependiendo de su estructura

química. La xantana al ser un agente espesante mas que gelificante, puede contribuir aumentando la viscosidad del sistema durante la gelificación. Por su parte, la gelana depende de varios factores para obtener un gel estable, y debido a las condiciones del sistema con un pH de 7 y altas concentración es de iones Cl^- y Na^+ , pudo verse disminuido en cuanto a su capacidad gelificante. aunque en las concentraciones utilizadas en esta tesis no se encontró diferencia significativa. La naturaleza globular de las albúminas hace pensar en una superficie cargada que la ser sometida a un calentamiento expone grupos funcionales que pueden interaccionar con el polisacárido de acuerdo a la carga del sistema (fuerza iónica y pH). El pH de las mezclas no se vio afectado por los componentes a pesar de no utilizar una solución amortiguadora para la disolución de estos.

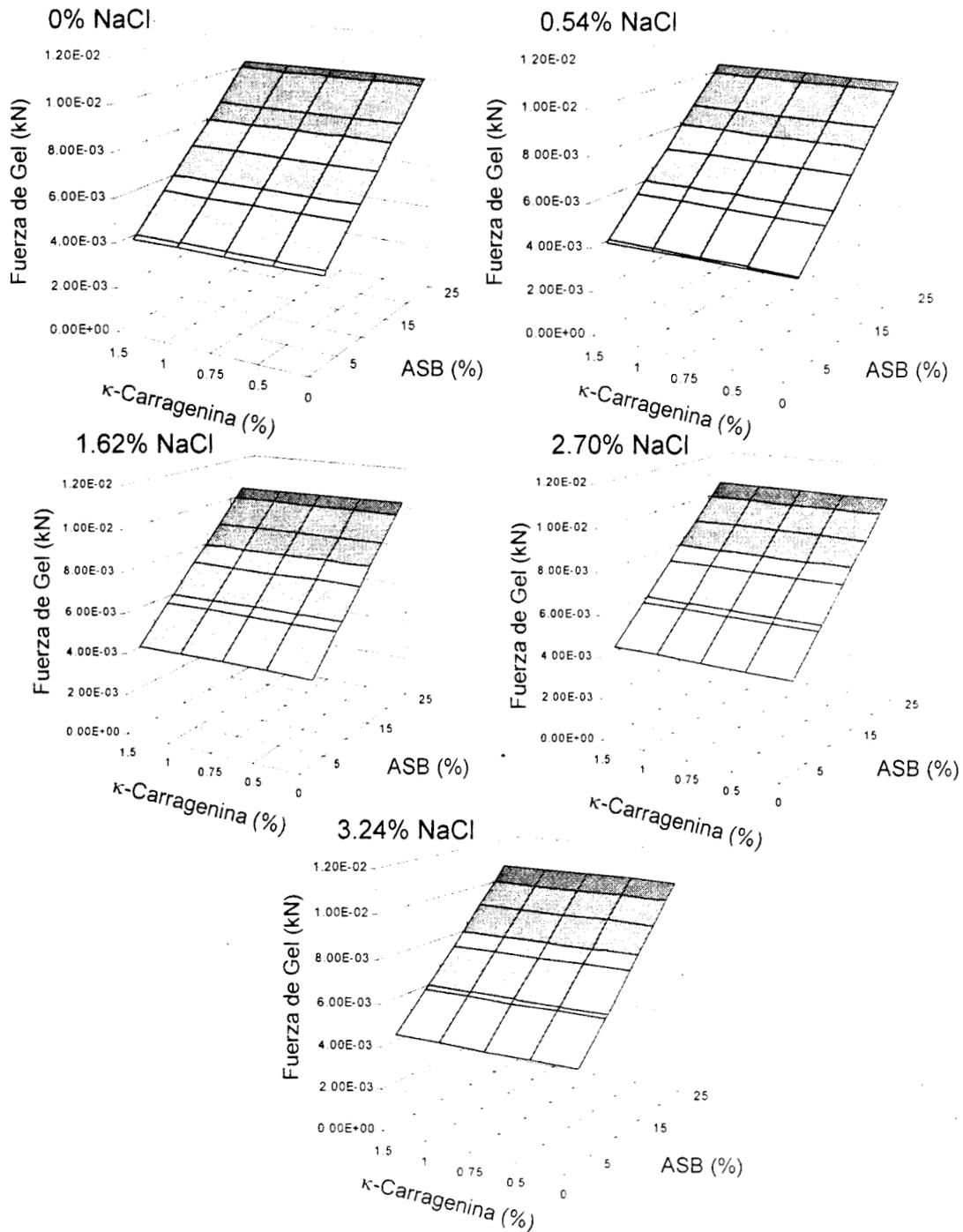


Figura I-1. Fuerza de gel para albúmina sérica bovina y κ -carragenina a diferentes niveles de sal.

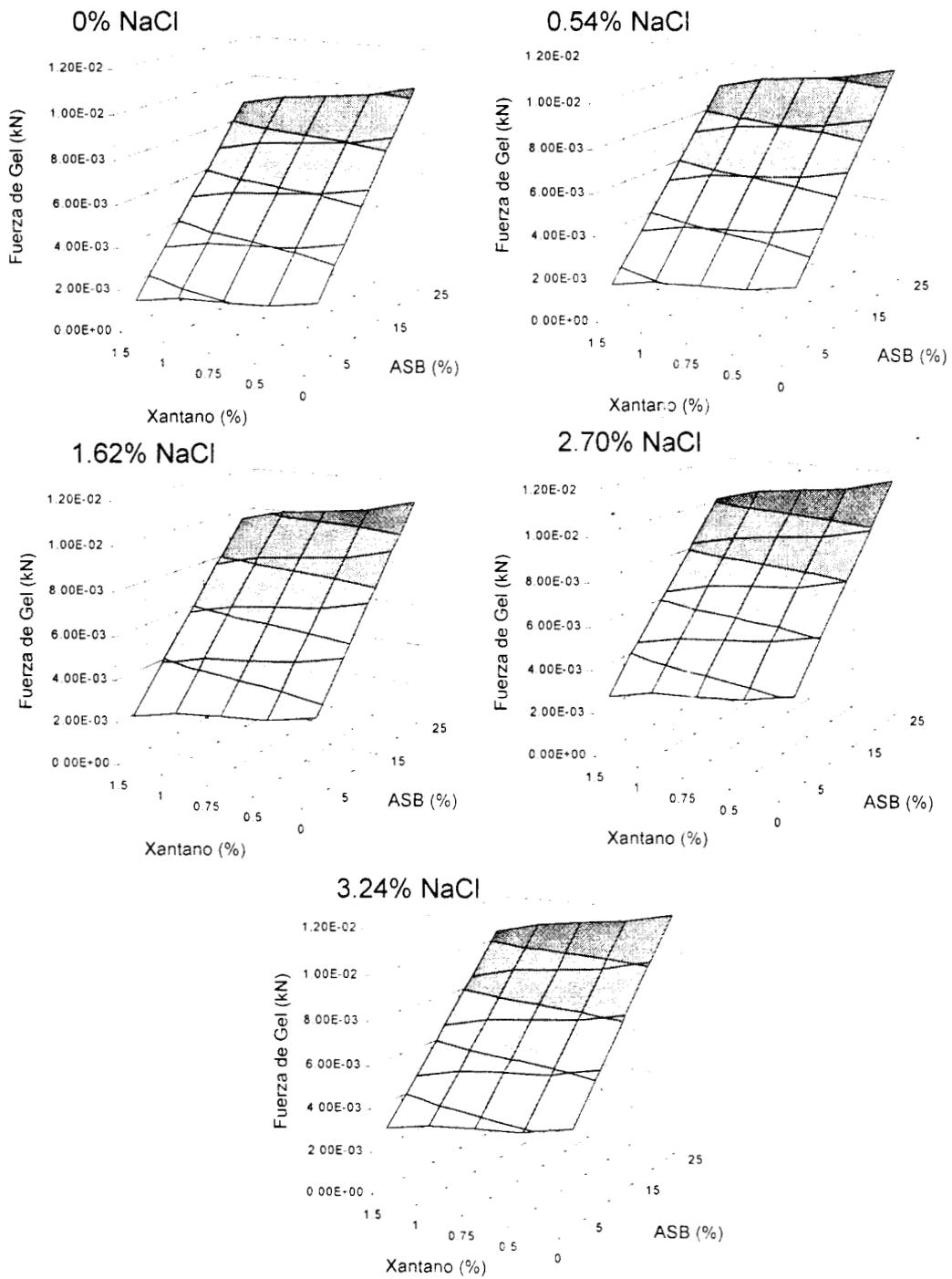


Figura I-2. Fuerza de gel para albúmina sérica bovina y xantana a diferentes niveles de sal.

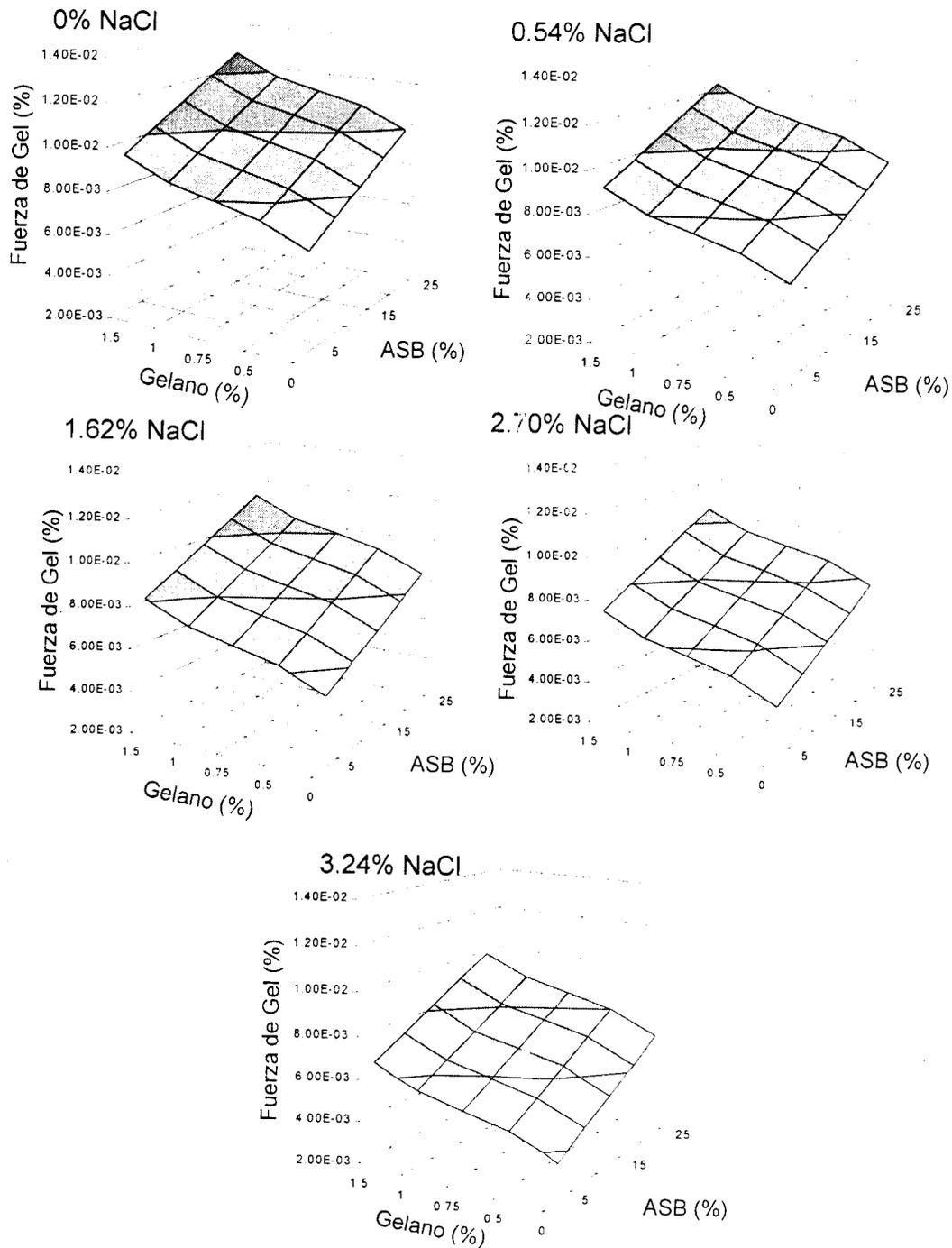


Figura I-3. Fuerza de gel para albúmina sérica bovina y gelana a diferentes niveles de sal.

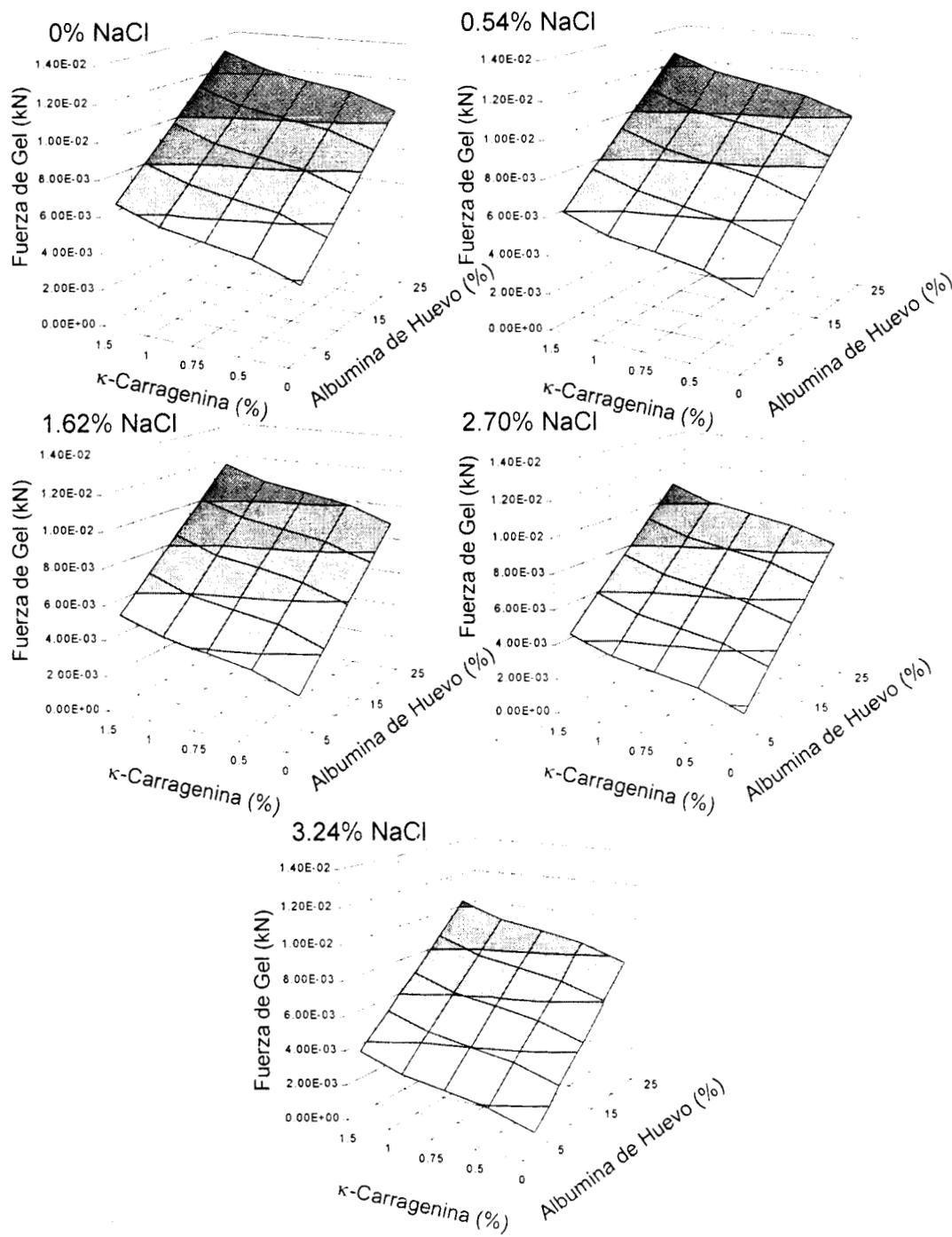


Figura I-4. Fuerza de gel para albúmina de clara de huevo y κ-carragenina a diferentes niveles de sal.

II ANALÍISIS DEL PERFIL DE TEXTURA DE GELES DE ALBUMINA

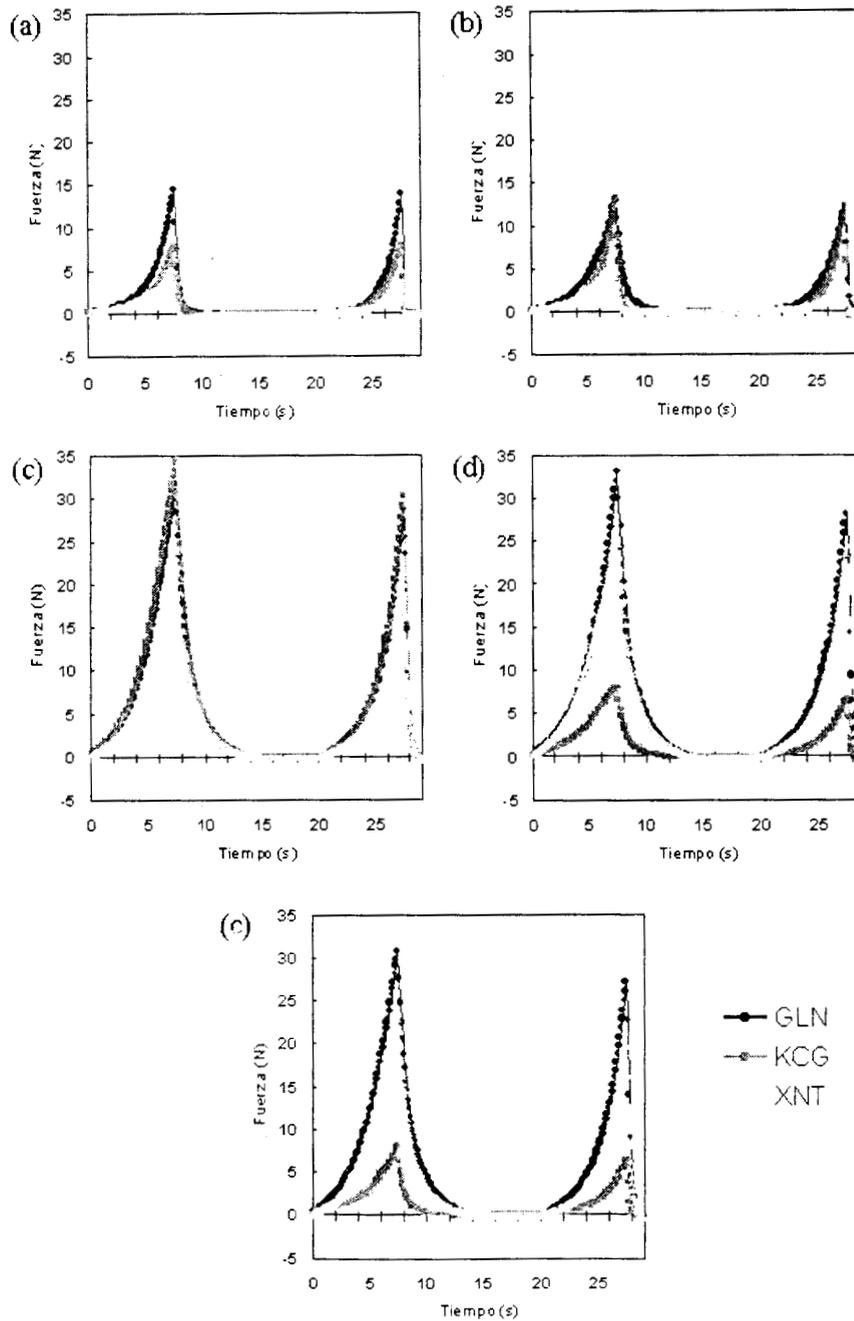


Figura II-1. Curvas de doble compresión de geles de ASB con: (a) calcio, (b) magnesio, (c) potasio, (d) sodio y (e) sin sales

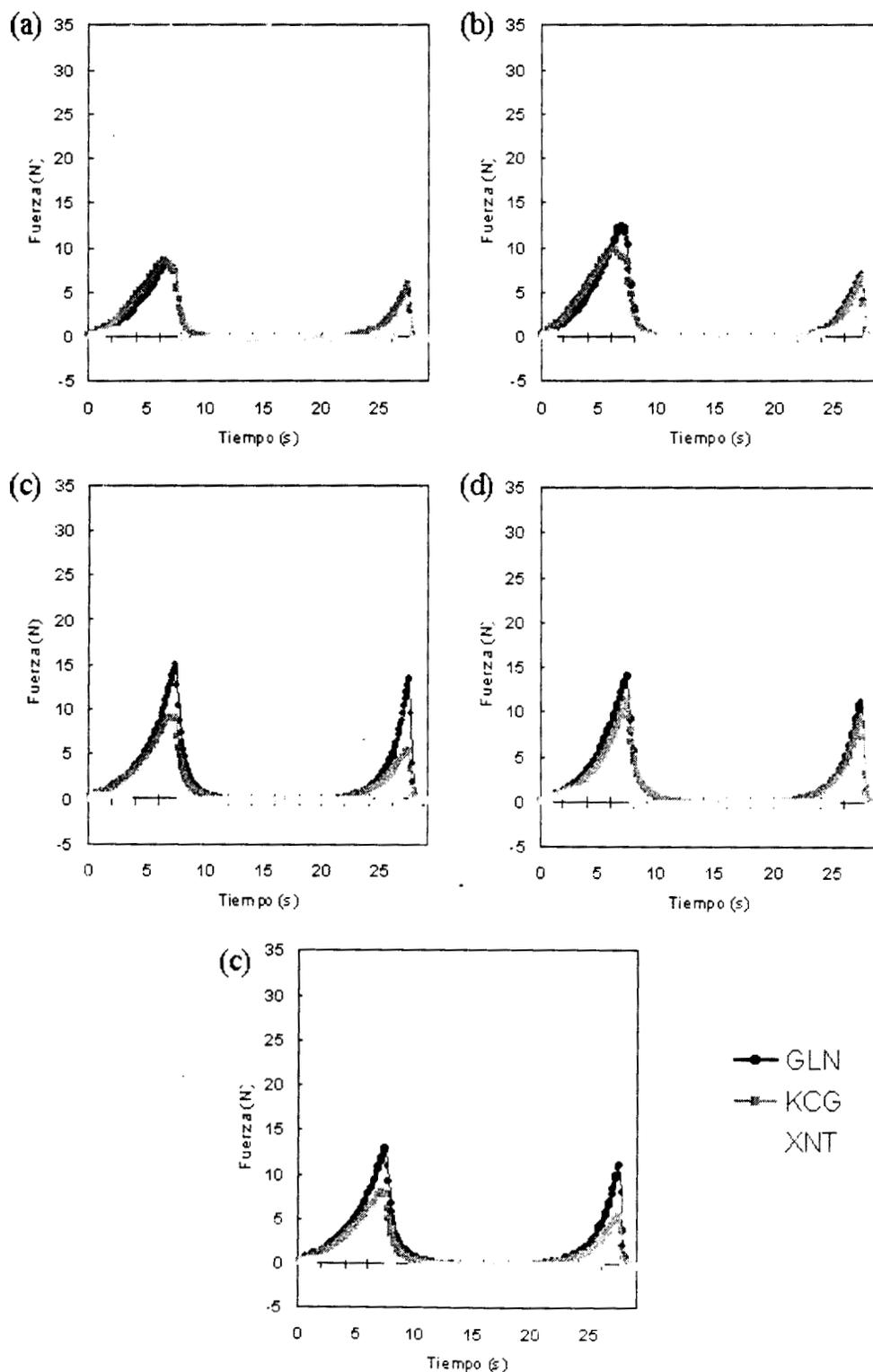


Figura II-2. Curvas de doble compresión de geles de ACH con: (a) calcio, (b) magnesio, (c) potasio, (d) sodio y (e) sin sales

◆ ASB-GLN ■ ASB-KCG ▲ ASB-XNT ● ACH-GLN ✕ ACG-KCG ○ ACH-XNT

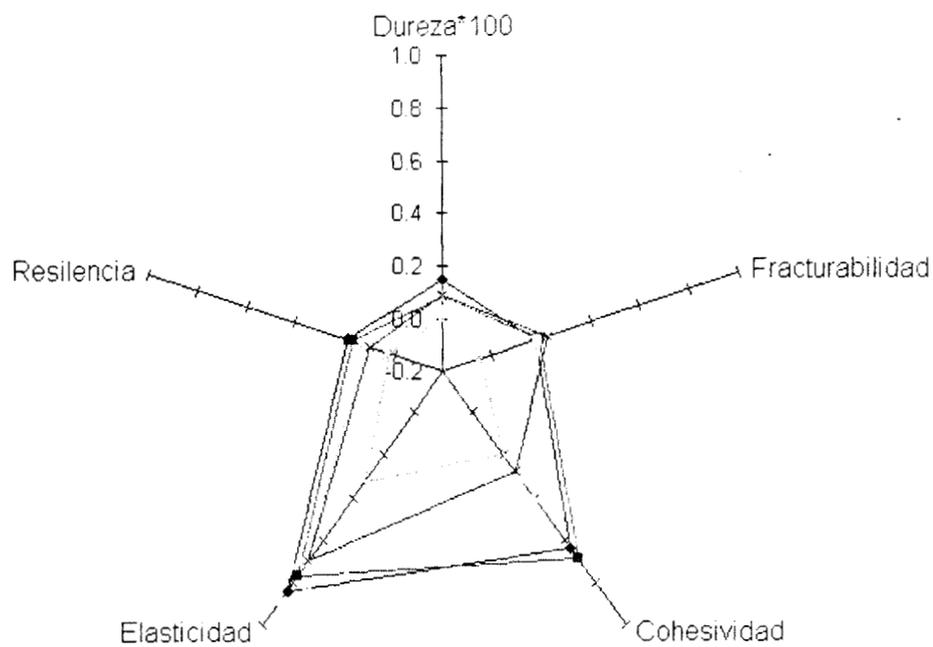


Figura II-3. Perfil descriptivo de los parámetros del análisis de perfil de textura de albúmina sérica bovina y de clara de huevo con κ -carragenina, gelana y xantana con cloruro de calcio.

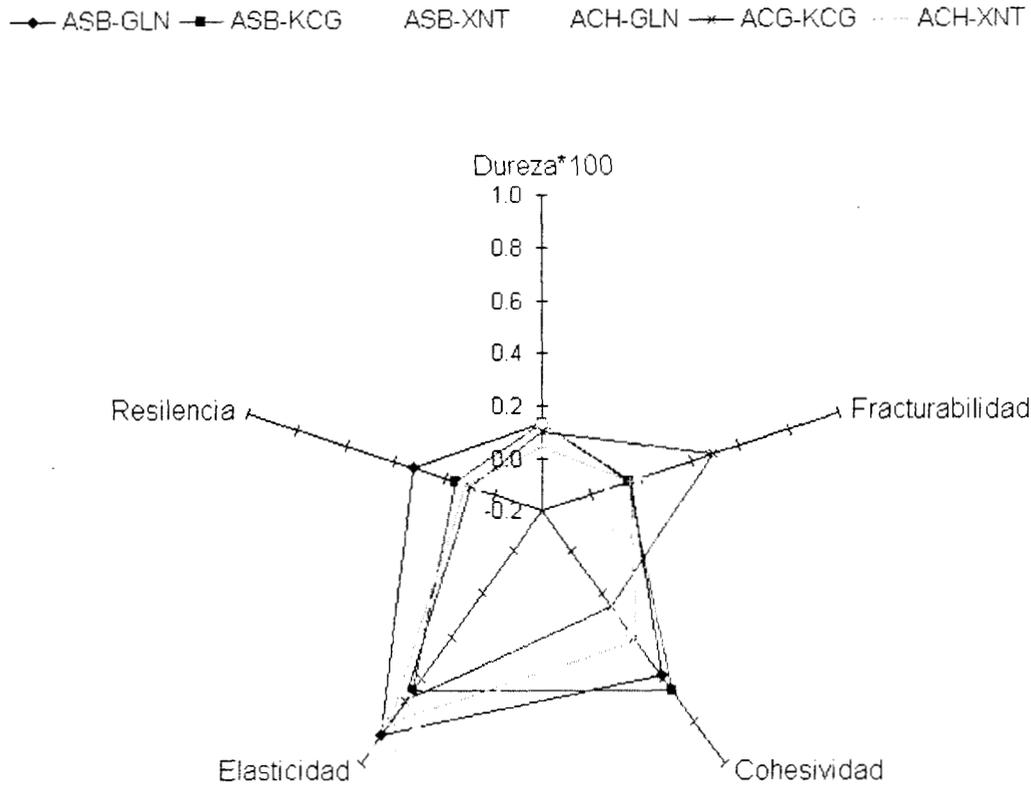


Figura II-4. Perfil descriptivo de los parámetros del análisis de perfil de textura de albúmina sérica bovina y de clara de huevo con κ -carragenina, gelana y xantana con cloruro de magnesio.

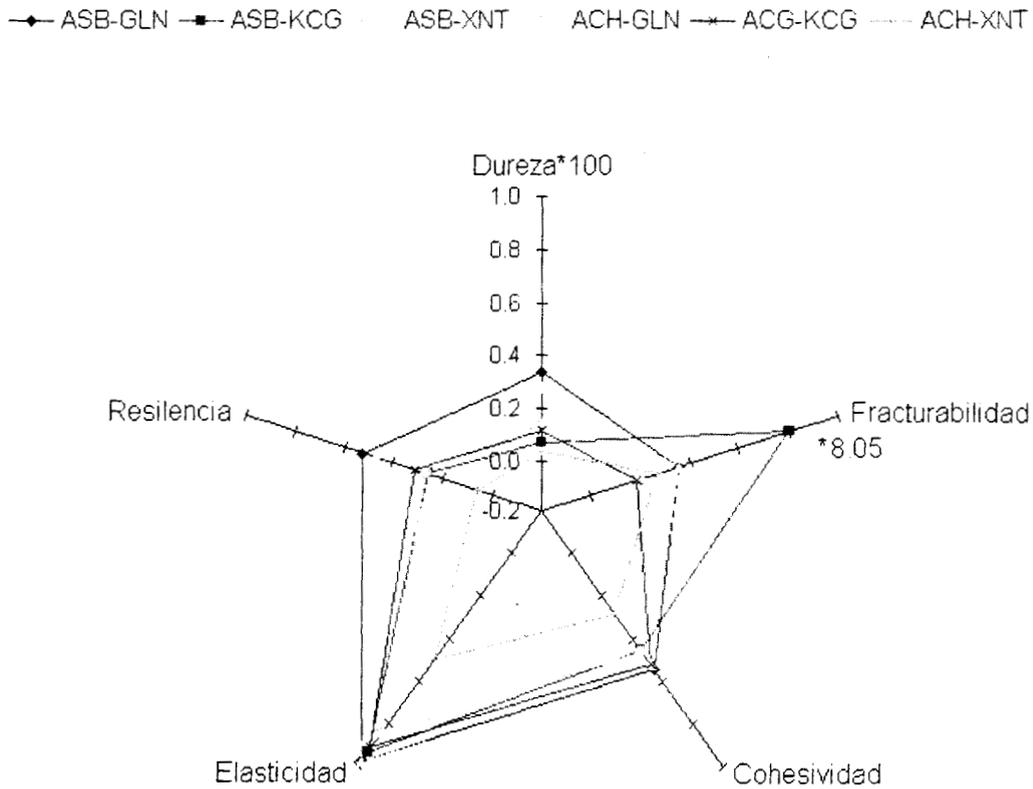


Figura II-5. Perfil descriptivo de los parámetros del análisis de perfil de textura de albúmina sérica bovina y de clara de huevo con κ -carragenina, gelana y xantana con cloruro de sodio.

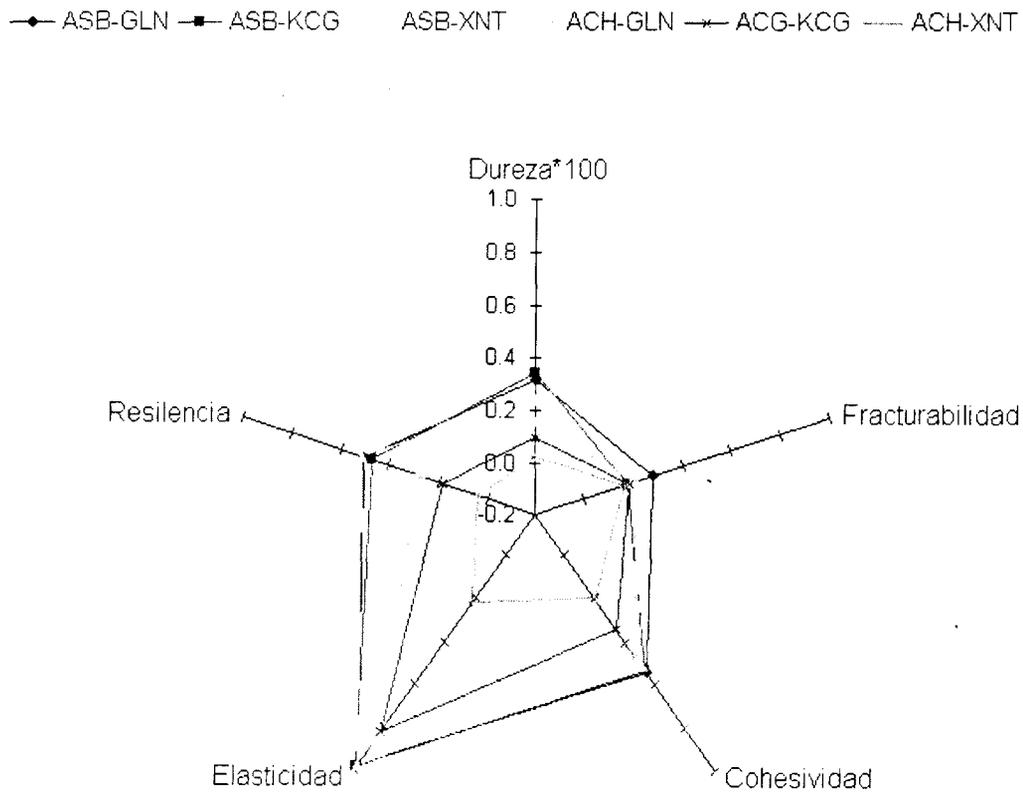


Figura II-6. Perfil descriptivo de los parámetros del análisis de perfil de textura de albúmina sérica bovina y de clara de huevo con κ -carragenina, gelana y xantana con cloruro de potasio.

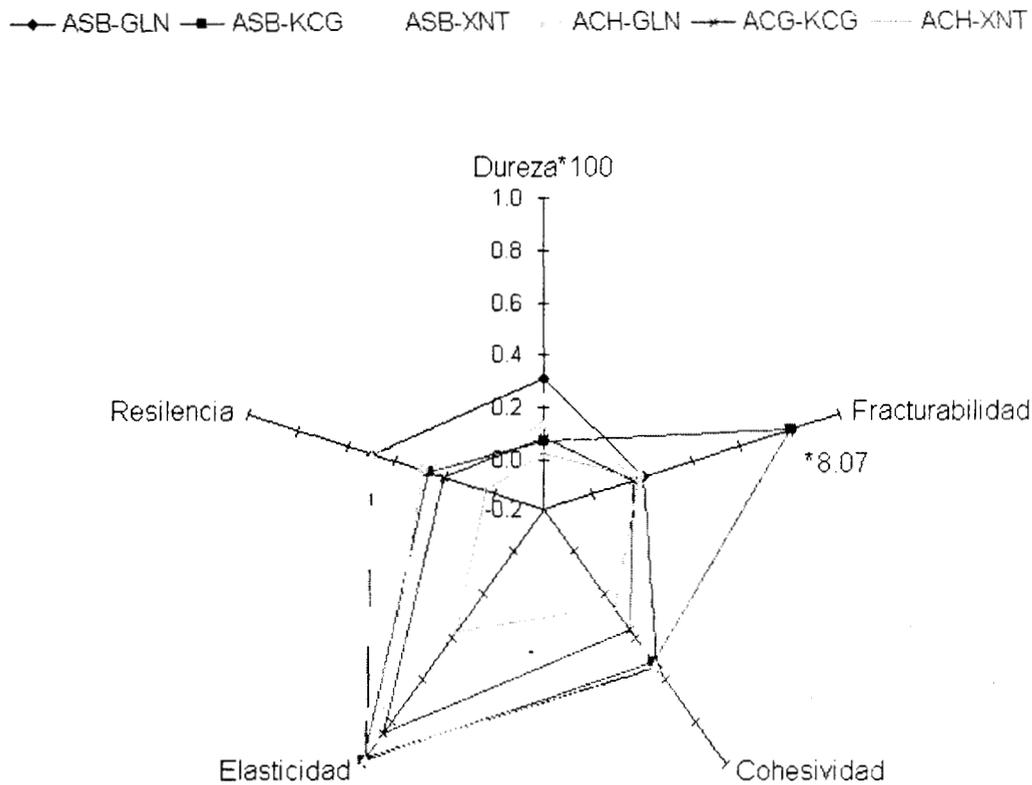


Figura II-7. Perfil descriptivo de los parámetros del análisis de perfil de textura de albúmina sérica bovina y de clara de huevo con κ -carragenina, gelana y xantana con sin sales.

Tabla II-1. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para la dureza de geles de ASB y ACH

Proteína		Ion		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media	Variable	Media*
ASB	1836.2 ^a	K ⁺	1978.2 ^a	Gelana	1897.9 ^a
ACH	792.5 ^b	Na ⁺	1569.8 ^{ab}	κ Carragenina	1147.7 ^b
		Sin	1415.0 ^{ab}	Xantana	897.4 ^b
		Mg ⁺⁺	887.5 ^b		
		Ca ⁺⁺	721.1 ^b		

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla II-2. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para cohesividad de geles de ASB y ACH

Proteína		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	0.5350 ^a	Gelana	0.4863 ^a
ACH	0.3430 ^b	κ Carragenina	0.4605 ^a
		Xantana	0.3702 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla II-3. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para elasticidad de geles de ASB y ACH

Proteína		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	0.9128 ^a	Gelana	0.8623 ^a
ACH	0.6810 ^b	κ Carragenina	0.8314 ^{ab}
		Xantana	0.6970 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla II-4. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para resiliencia de geles de ASB y ACH

Proteína		Ion		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	0.3297 ^a	K ⁺	0.3311 ^a	Gelana	0.3109 ^a
ACH	0.1494 ^b	Na ⁺	0.3151 ^a	κ Carragenina	0.2227 ^{ab}
		Sin	0.2985 ^a	Xantana	0.1852 ^b
		Mg ⁺⁺	0.1472 ^b		
		Ca ⁺⁺	0.1061 ^b		

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla II-5. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para adhesividad de geles de ASB y ACH

Proteína		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	-90.84 ^a	κ Carragenina	-123.16 ^a
ACH	-232.30 ^b	Gelana	-163.37 ^{ab}
		Xantana	-198.17 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla II-6. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para elasticidad instantánea (S_{ins}) de geles de ASB y ACH

Proteína		Ion		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	0.58 ^a	K ⁺	0.62 ^a	Gelana	0.58 ^a
ACH	0.34 ^b	Sin	0.60 ^a	κ Carragenina	0.48 ^{ab}
		Na ⁺	0.59 ^a	Xantana	0.32 ^b
		Mg ⁺⁺	0.29 ^b		
		Ca ⁺⁺	0.20 ^b		

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla II-7. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para Elasticidad Retardada (S_{ret}) de geles de ASB y ACH

Proteína		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	0.91 ^a	Gelana	0.86 ^a
ACH	0.68 ^b	κ Carragenina	0.83 ^{ab}
		Xantana	0.70 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla II-8. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para el módulo TPA de geles de ASB y ACH

Proteína		Ion	Polisacárido		
Variable	Media*	Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	247.85 ^a	K ⁺	259.84 ^a	Gelana	245.58 ^a
ACH	101.86 ^b	Na ⁺	217.06 ^{ab}	κ Carragenina	153.69 ^b
		Sin	189.07 ^{abc}	Xantana	125.29 ^b
		Mg ⁺⁺	117.20 ^{bc}		
		Ca ⁺⁺	91.12 ^c		

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

III PENETRACIÓN DE GELES DE ALBÚMINA

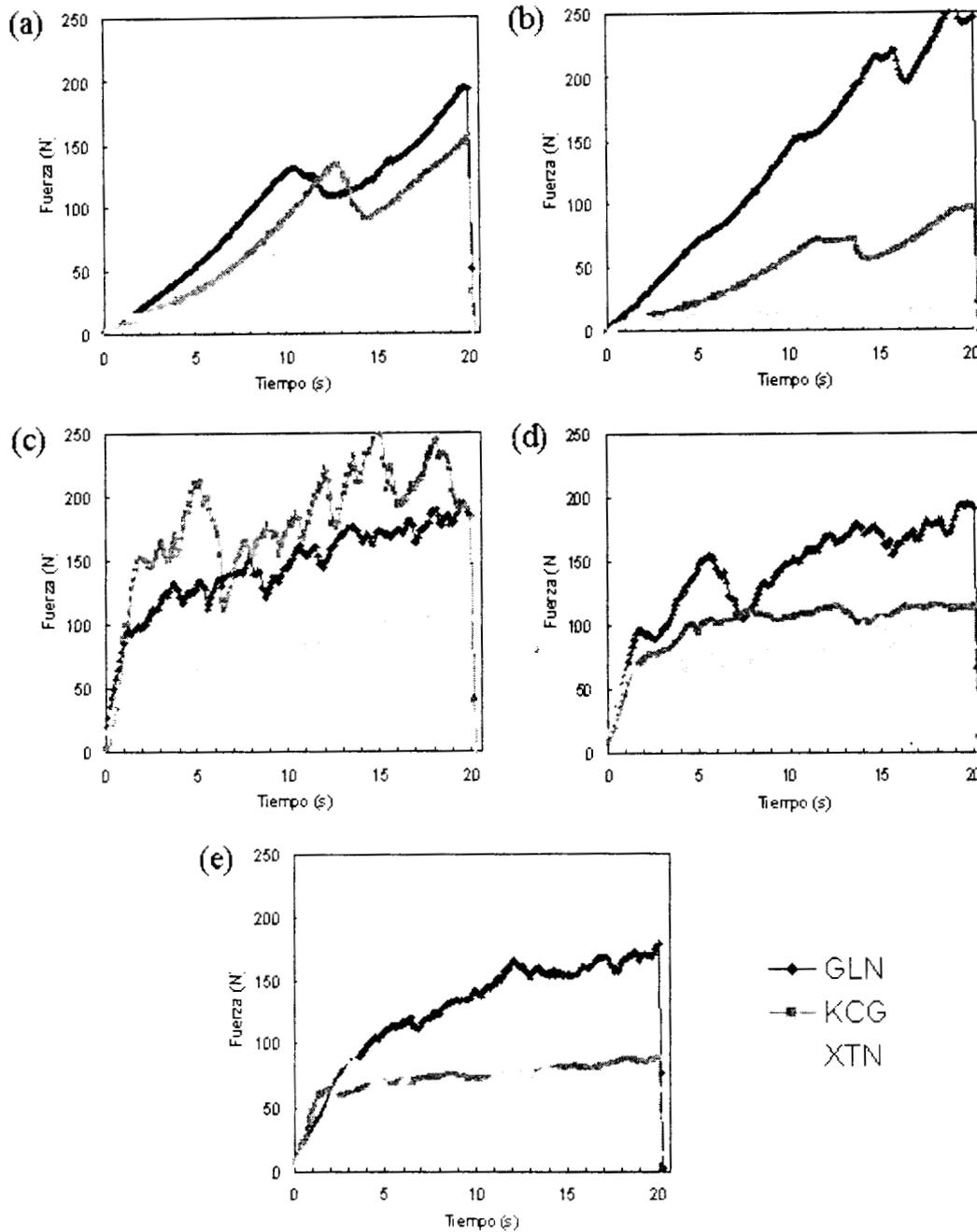


Figura III-1. Curvas de penetración de geles de ASB con: (a) calcio, (b) magnesio, (c) potasio, (d) sodio y (e) sin sales

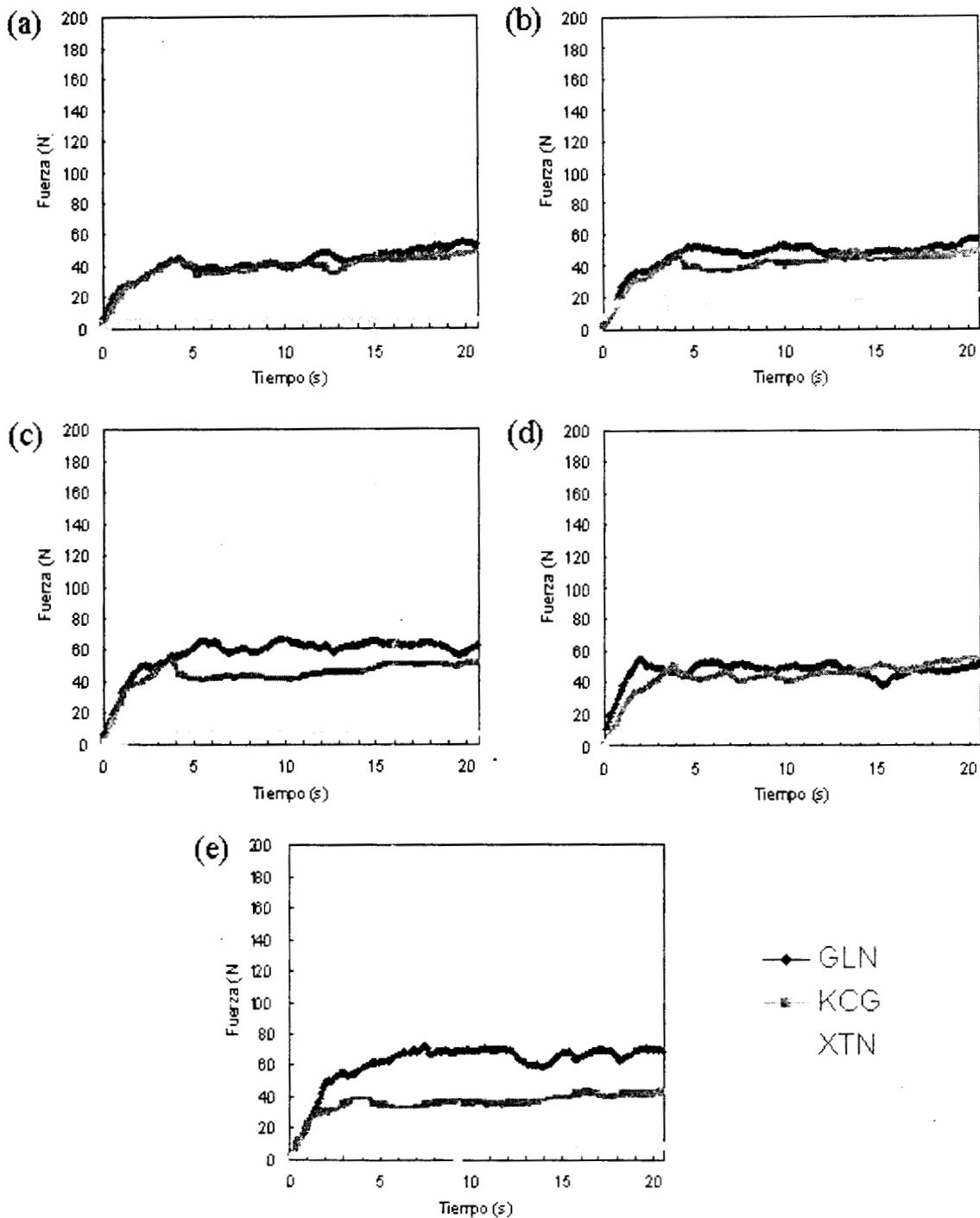


Figura III-2. Curvas de penetración de geles de ACH con: (a) calcio, (b) magnesio, (c) potasio, (d) sodio y (e) sin sal

Tabla III-1. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para Trabajo de Penetración en pruebas de penetración de geles de ASB y ACH

Proteína		Ion		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	18878 ^a	K ⁺	17749 ^a	Gelana	18620 ^a
ACH	7241 ^b	Na ⁺	14694 ^{ab}	κ Carragenina	14047 ^b
		Sin	12566 ^{ab}	Xantana	6512 ^c
		Mg ⁺⁺	10523 ^b		
		Ca ⁺⁺	9767 ^b		

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla III-2. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para Índice de Viscosidad en pruebas de penetración de geles de ASB y ACH

Proteína		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	1.307 ^a	Gelana	1.331 ^a
ACH	0.483 ^b	κ Carragenina	0.922 ^b
		Xantana	0.365 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

IV FRACTURA TORSIONAL

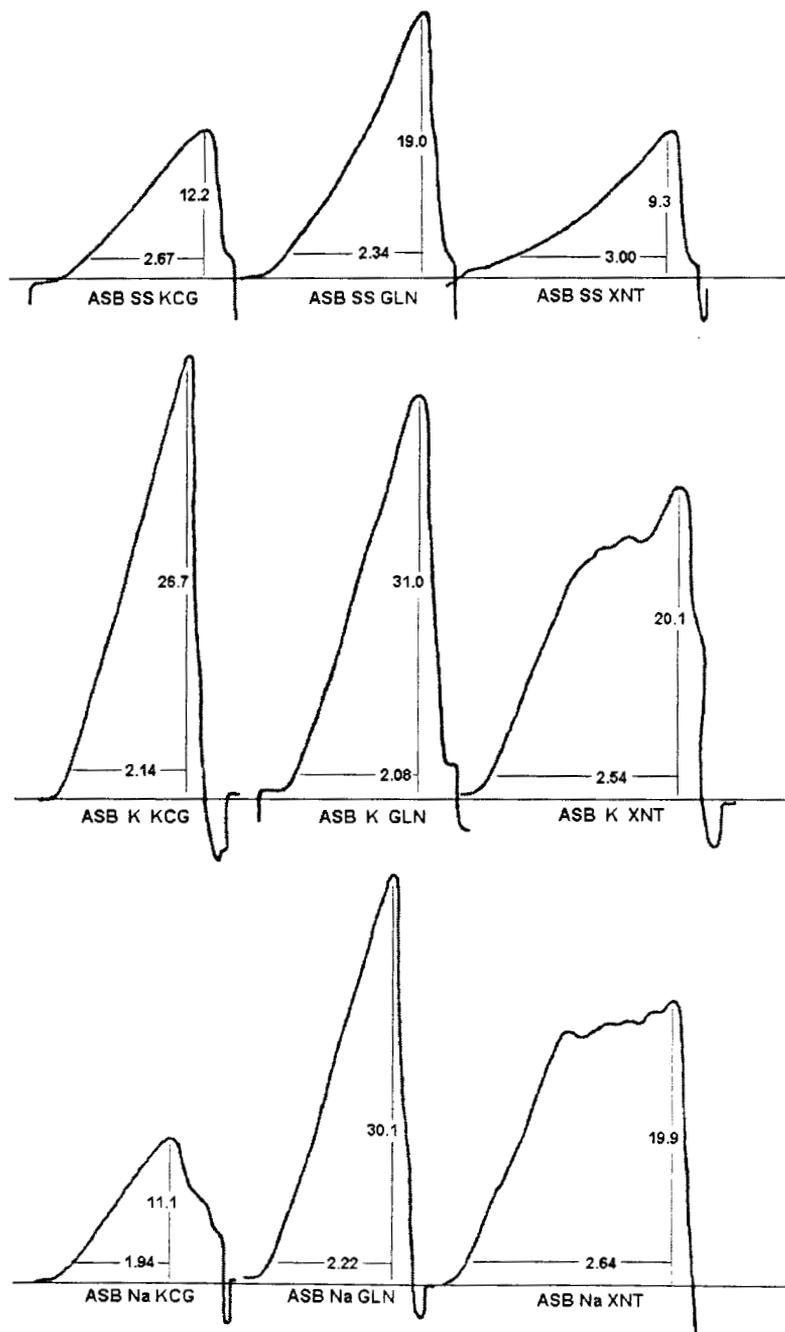


Figura IV-1. Curvas de torsión para las muestras de albúmina sérica bovina.

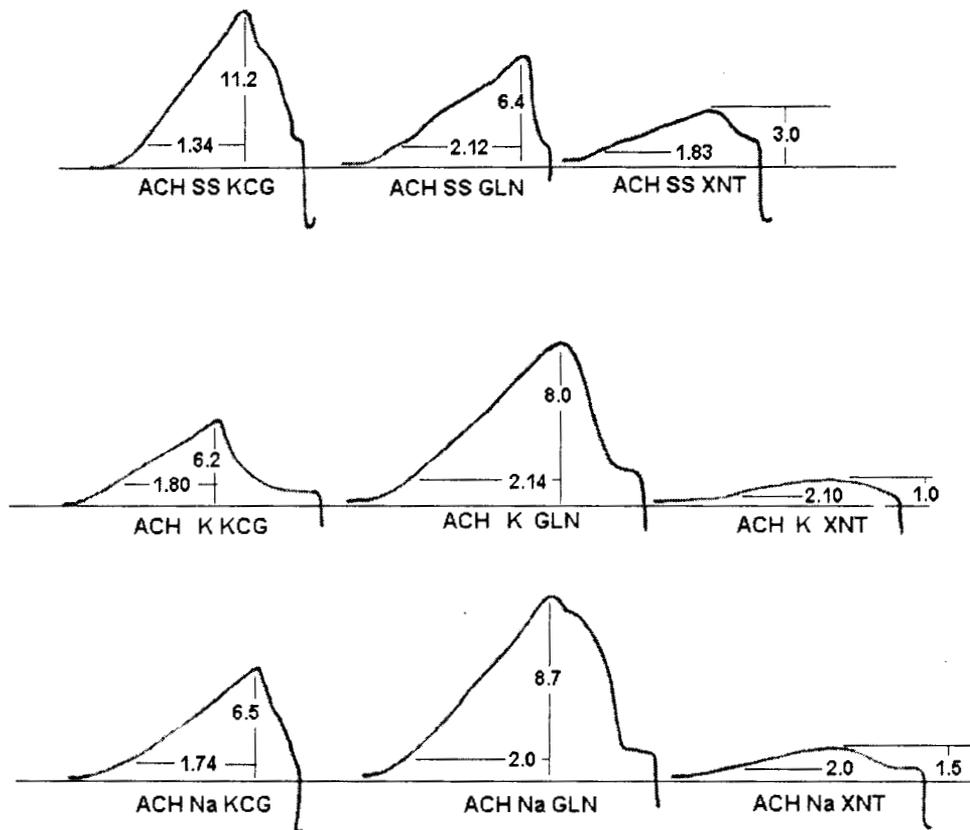


Figura IV-2. Curvas de torsión para las muestras de albúmina de clara de huevo.

Tabla IV-1. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para el esfuerzo cortante en pruebas de torsión de geles de ASB y ACH

Proteína		Ion		Polisacárido	
Variable	Media*	Variable	Media*	Variable	Media*
ASB	30392 ^a	K ⁺	24495 ^a	Gelana	23786 ^a
ACH	9235 ^b	Na ⁺	20477 ^{ab}	κ Carragenina	22678 ^a
		Sin	14469 ^b	Xantana	12793 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla IV-2. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para la deformación cortante en geles de ASB y ACH

Proteína	Media*	Polisacárido	Media*
ASB	1.8506 ^a	Xantana	1.8468 ^a
ACH	1.6807 ^b	κ Carragenina	1.7674 ^{ab}
		Gelana	1.6622 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

V PENETRACIÓN DE GELES DE RES Y CABRA

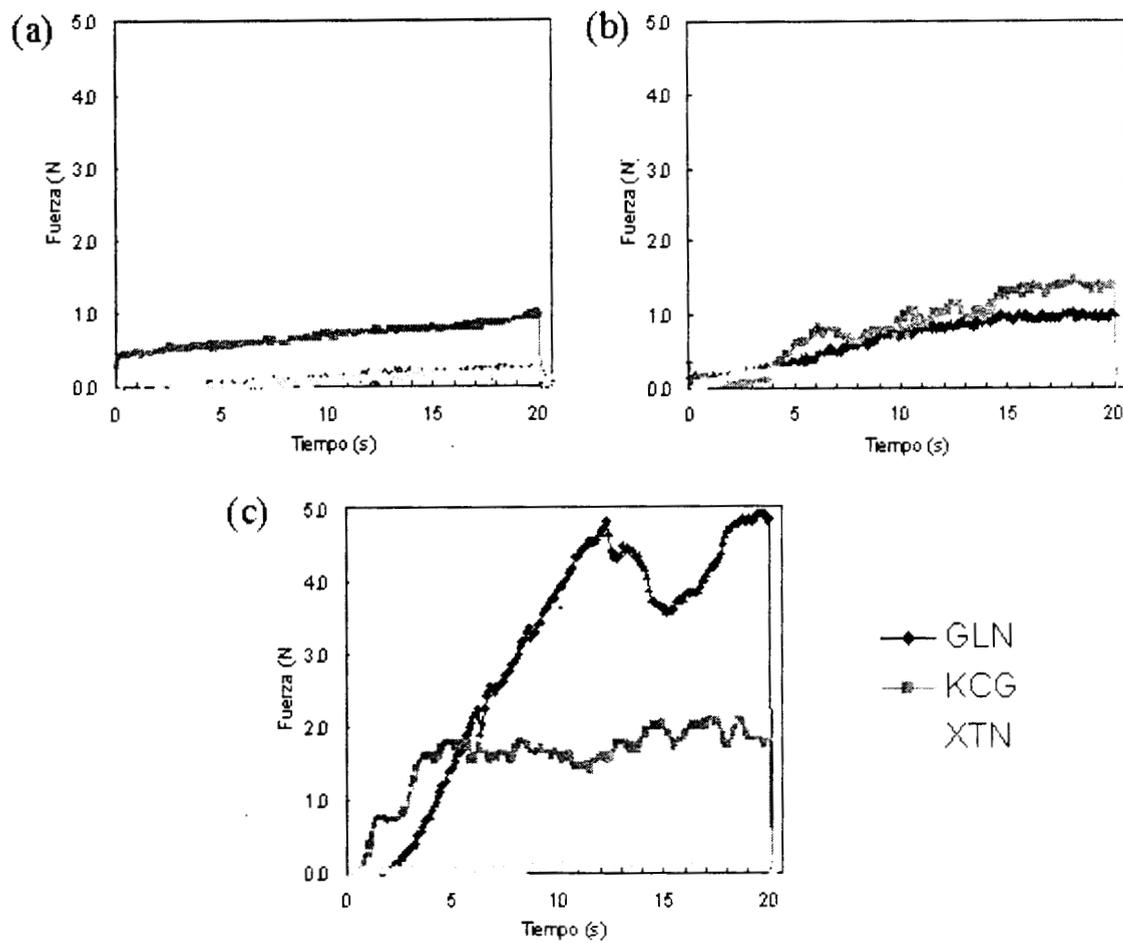


Figura V-1. Curvas de penetración de los geles de proteína muscular de res. (a) con sodio, (b) con potasio y (c) sin sales.

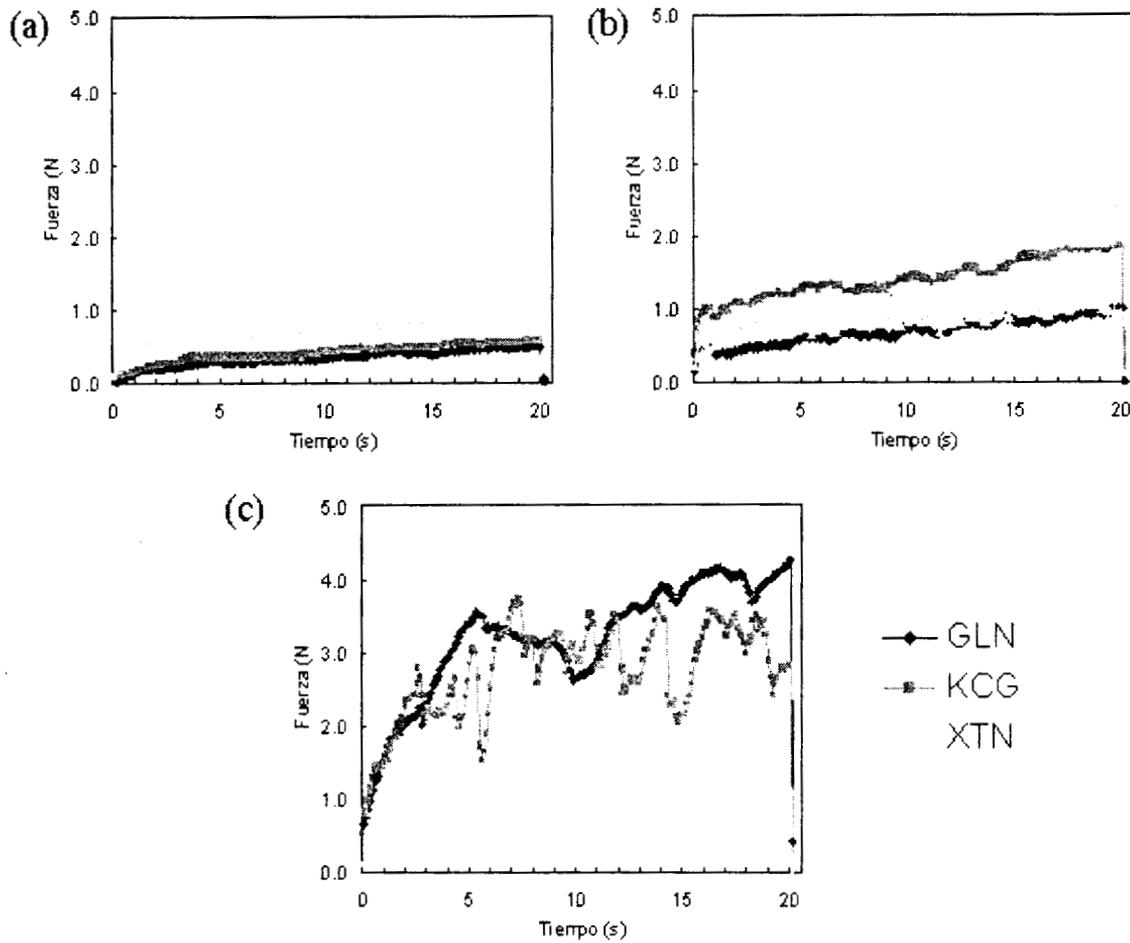


Figura V-2. Curvas de penetración de los geles de proteína muscular de cabra. (a) con sodio, (b) con potasio y (c) sin sales.

Tabla V-1. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para trabajo de penetración de geles de Res y Carne de cabra.

Ion	Media*
Sin	374.09 ^a
Na ⁺	162.01 ^b
K ⁺	79.60 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla V-2. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para índice de viscosidad en pruebas de penetración de geles de Res y Carne de cabra.

Ion	Media*	Polisacárido	Media*
Sin	0.02371 ^a	Gelana	0.02059 ^a
Na ⁺	0.01105 ^{ab}	κ Carragenina	0.01444 ^{ab}
K ⁺	0.00512 ^b	Xantana	0.00485 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla V-3. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para Elasticidad aparente en pruebas de penetración de geles de Res y Carne de cabra.

Especie	Media*	Ion	Media*
Cabra	198.42 ^a	Sin	238.98 ^a
Res	42.81 ^b	Na ⁺	77.15 ^b
		K ⁺	42.72 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

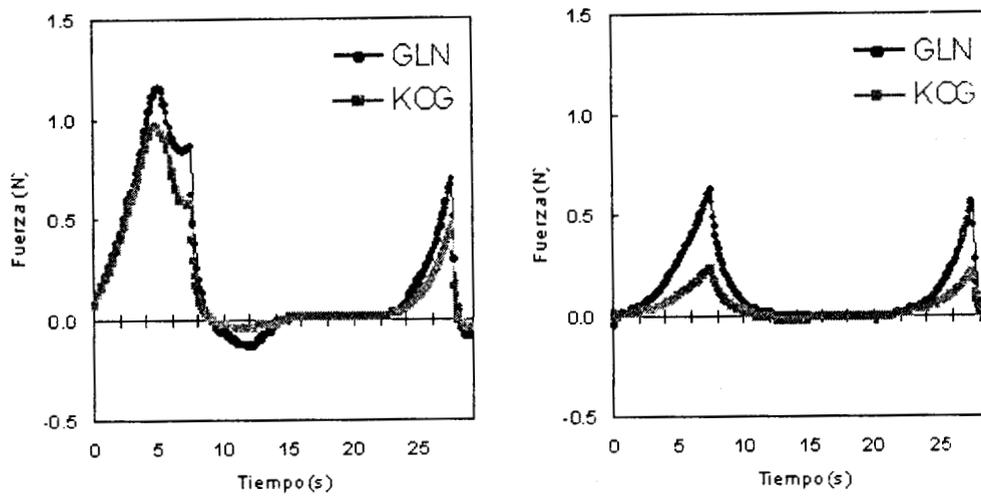


Figura V-3. APT para geles de proteína muscular de res (izquierda) y de carne de cabra (derecha) con κ carragenina y gelana.

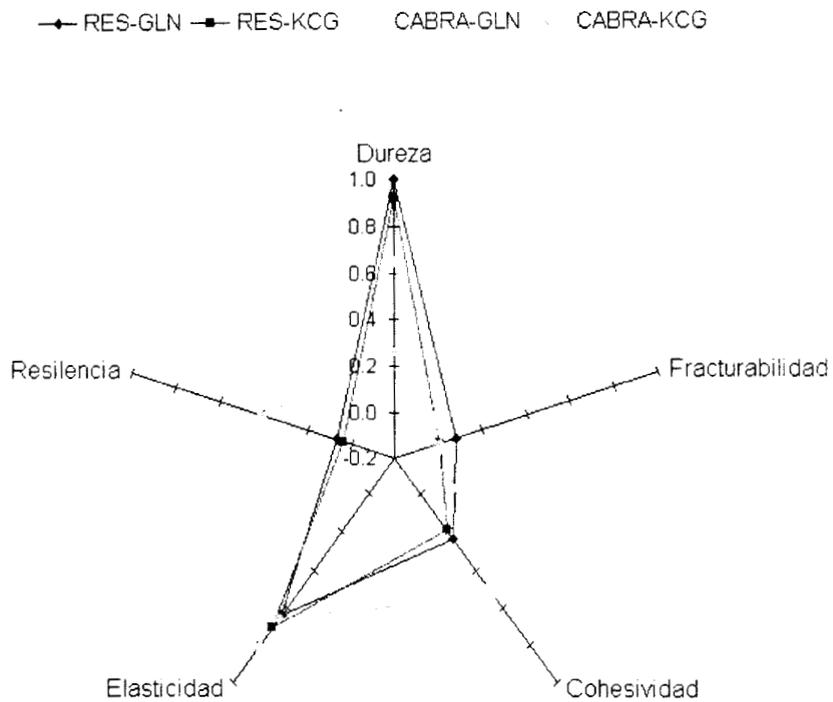


Figura V-4. Gráfica radial para las muestras de geles de cabra y res.

Tabla V-4. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para dureza en pruebas de APT de geles de res y carne de cabra.

Especie	Media*	Polisacárido	Media*
Res	108.86 ^a	Gelana	92.33 ^a
Cabra	46.19 ^b	κ Carragenina	62.72 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla V-5. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para fracturabilidad en pruebas de APT en geles de Res y Carne de cabra.

Especie	Media*	Polisacárido	Media*
Res	6.93 ^a	Gelana	4.83 ^a
Cabra	1.55 ^b	κ Carragenina	3.65 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla V-6. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para cohesividad en pruebas de APT en geles de Res y Carne de cabra.

Especie	Media*
Res	0.5087 ^a
Cabra	0.2215 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla V-7. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para resiliencia en pruebas de APT en geles de Res y Carne de cabra.

Especie	Media*
Res	0.4027 ^a
Cabra	0.0529 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Tabla V-8. Comparación múltiple de medias de Duncan (P>0.05) para adhesividad en pruebas de APT de geles de Res y Carne de cabra.

Especie	Media*	Polisacárido	Media*
Res	-24.296 ^a	Gelana	22.49 ^a
Cabra	-10.786 ^b	κ Carragenina	12.59 ^b

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes