

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE ENXEÑARÍA



Escola
Técnica
Superior
de Enxeñaría

TRABAJO FIN DE MÁSTER

MÁSTER EN INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOPROCESOS

OBTENCIÓN DE OLEOGELES DE ACEITE DE OLIVA
EMPLEANDO QUITOSANO DE DIFERENTE PESO
MOLECULAR

Álvaro Mosquera Lorenzo

Junio 2025

Agradecimientos

A mis tutores; Xurxo y Dani por su ayuda continua durante el total desenvolvimiento del proyecto y las largas charlas acerca de los oleogeles y el mundo de la investigación.

A mis compañeros de laboratorio del grupo *Tecnoloxías para o Desenvolvemento de Bioproductos Industrias*, por su enseñanza en lo relativo a procedimientos de laboratorio y reología y amenizar las largas tardes de trabajo.

A mi padre, madre y hermano por su apoyo incondicional durante toda mi etapa universitaria y en la vida.

A Andrea, por ser mi compañera, confidente y apoyo en la vida desde el inicio de esta etapa universitaria.

A todos aquellos amigos y familia que de alguna manera u otra me han ayudado a ser la persona que soy.

Por todo ello, gracias.

ÍNDICE

1	RESUMEN.....	7
2	INTRODUCCIÓN	9
2.1	Aceites y grasas en la industria alimentaria.....	9
2.2	Oleogeles	10
2.3	Quitosano.....	12
2.3.1	Propiedades físicas	14
2.3.2	Usos y aplicaciones	16
2.4	Bases de Schiff.....	16
2.4.1	Benzaldehído	18
2.4.2	Vainillina	18
2.4.3	4-Hidroxibenzaldehído.....	19
2.5	Fundamentos teóricos	21
2.5.1	Secado	21
2.5.2	Reología.....	25
3	OBJETIVOS	32
4	MATERIALES Y MÉTODOS	34
4.1	Reactivos.....	34
4.2	Preparación de disoluciones.....	34
4.2.1	Determinación de la humedad del quitosano.....	34
4.2.2	Determinación de las impurezas del quitosano	35
4.3	Viscosimetría capilar.....	35
4.4	Producción de oleogeles	37
4.4.1	Disoluciones para la obtención de oleogeles	37
4.4.2	Preparación emulsiones	38
4.4.3	Secado de la emulsión	40
4.4.4	Preparación del oleogel	42
5	Metodología analítica.....	43
5.1	Caracterización de oleogeles	43
5.1.1	Textura.....	43
5.1.2	Microscopía	45
5.1.3	Colorimetría.....	49
5.1.4	Capacidad de Retención de Aceite (OBC)	51
5.1.5	Reología.....	51
5.2	Planificación experimental	53
5.2.1	Estudios preliminares	53

5.2.2	Diseño experimental.....	54
5.2.3	Tratamiento estadístico.....	55
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
6.1	Estudios preliminares.....	58
6.1.1	Caracterización básica de los quitosanos empleados	58
6.1.2	Viscosimetría capilar	59
6.1.3	Selección del aldehído empleado	63
6.2	Diseño experimental	71
6.2.1	Quitosano de bajo peso molecular (CH-LW)	71
6.2.2	Quitosano de alto peso molecular (CH-HW)	88
7	CONCLUSIONES	107
8	REFERENCIAS	110
9	ANEXO I: SUPERFICIES DE RESPUESTA	117
9.1	Quitosano de bajo peso molecular (CH-LW).....	117
9.2	Quitosano de alto peso molecular (CH-HW).....	119

RESUMEN

1 **RESUMEN**

Las restricciones gubernamentales y una mayor conciencia por parte de la población en lo que respecta a una alimentación más saludable obliga a la industria alimentaria a la eliminación de grasas saturadas artificiales e insaturadas *trans* de forma paulatina, las cuales están asociadas a enfermedades cardiovasculares y a la diabetes, entre otros problemas de salud. En este contexto surgen los oleogeles como una solución que permite sustituir las grasas tradicionales y obtener elaboraciones culinarias sin que las propiedades organolépticas de estas se alteren. Básicamente, los oleogeles buscan imitar en textura, sensación en boca y comportamiento a las grasas. Esto se logra mediante la estructuración de aceites vegetales o animales más saludables, y que mejoran el perfil nutritivo de las elaboraciones en las que sean incluidos gracias a la acción de un gelificante. En el presente Trabajo Fin de Máster se pretende estudiar la influencia del uso de quitosano de bajo y alto peso molecular como gelificante sobre oleogeles elaborados a partir de aceite de oliva mediante el método indirecto o *emulsion template*. Para mejorar las propiedades de los quitosanos y favorecer la correcta estructuración del aceite de oliva en la matriz molecular se estudia el efecto del uso de distintos aldehídos (vainillina, benzaldehído o 4-hidroxibenzaldehído), los cuales provocan una reacción de Schiff con el quitosano, estabilizando así la red molecular.

Se estudió la influencia del tipo de quitosano empleado sobre los oleogeles elaborando un diseño experimental exponencial (2^3) para cada uno. Las variables independientes en las que se basan son la concentración final de quitosano en el oleogel; para alto peso molecular 0,8, 0,9 y 1%; mientras que para el bajo peso molecular 1, 2 y 3% y la relación O/W: 60/40, 55/45 y 50/50.

Se obtuvieron como resultados principales las características microscópicas de las emulsiones precursoras, y los parámetros fisicoquímicos más importantes de los oleogeles como son: color, textura y capacidad de retención de aceite. Estos resultados son analizados gracias a la aplicación de la metodología de Superficie de Respuesta. También se lleva a cabo un estudio reológico tanto de las emulsiones, como de los oleogeles finales, que permitió conocer sus estructuras y relacionarlo con sus características fisicoquímicas.

El 4-hidroxibenzaldehído resultó ser el mejor de los aldehídos, ya que su uso provocó cinéticas de secado más rápidas y mayores valores de retención de aceite frente a los otros compuestos estudiados. Los quitosanos empleados resultaron tener pesos moleculares muy diferentes, 204 y 2439 kDa para bajo y alto peso molecular, respectivamente. Esta gran diferencia dio lugar a solubilidades y viscosidades muy diferentes que influyen en las características del oleogel final.

Los oleogeles con quitosano de bajo peso molecular resultaron ser sensibles a la concentración de gelificante en el oleogel final, y no tanto a la relación O/W. Obtuvieron prácticamente valores de retención mayores del 90% en todos los casos y un rango de durezas muy amplio (1,26 a 12,13 N), lo que favorece a su aplicación en múltiples elaborados o procesados de la industria alimentaria.

Los oleogeles con quitosano de alto peso molecular obtuvieron comportamientos distintos, siendo en este caso mayor la influencia de la relación O/W en muchas de sus propiedades frente a la concentración final de gelificante. La baja solubilidad de este quitosano lastró su uso en la elaboración de los oleogeles, aún así algunos obtuvieron valores de retención de aceite mayores del 90%, pero en un menor rango del valor de dureza (0,84 a 2,20 N). A pesar de no ser tan versátiles, pueden ser empleados en ciertos nichos de la industria alimentaria. Por otro lado, derivado del estudio de estos oleogeles, se pone en manifiesto la necesidad de un mayor conocimiento sobre la relación entre el peso molecular del gelificante, la relación O/W y la concentración de éste en el oleogel.

INTRODUCCIÓN

2 INTRODUCCIÓN

2.1 Aceites y grasas en la industria alimentaria

Actualmente, en la industria alimentaria se encuentra normalizado el uso de aceites y grasas en todo tipo de procesados. Estos compuestos se componen en un 95% por triglicéridos (Puscas et al., 2020). Este grupo de compuestos se basa en la molécula del glicerol (Figura 1) la cual cuenta con tres grupos hidroxilo, por donde tres ácidos grasos establecen enlaces mediante un grupo carboxílico. Estos ácidos grasos pueden ser iguales o no, denominándose a estas conformaciones triglicéridos simples o compuestos (Lawson, 1995). El restante cinco por ciento de aceites y grasas empleadas en la industria alimentaria se componen de monoglicéridos, diglicéridos o ácidos grasos libres. En los dos primeros existen únicamente una o dos moléculas de ácidos grasos enlazadas a la de glicerol respectivamente (Figura 1). Estos son empleados en la formulación de emulsiones, como lo podrían ser las mayonesas. Por otro lado, los ácidos grasos libres son aquellos que no están enlazados a ninguna molécula de glicerol, estando presentes en aceites vegetales como el de soja. Todos estos compuestos se pueden encontrar a temperatura ambiente en estado sólido o líquido, estableciendo así, la clasificación no estricta de grasas y aceites respectivamente. En gran medida el estado de agregación dependerá de la propia química del compuesto, donde influirá en gran medida la longitud de la cadena del ácido graso y de si este es saturado (enlaces simples entre carbonos en la cadena) o insaturado (por lo menos contiene un enlace doble entre carbonos en la cadena). Los ácidos grasos son moléculas con una cadena de número variable de carbonos (de 4 a 22 de manera general) hidrogenados que cuentan en un extremo con un grupo carboxilo, lugar por donde se produce el enlace con el glicerol. Atendiendo al tipo de enlaces que sufren los carbonos en la cadena principal se puede encontrar ácidos grasos saturados, donde únicamente los carbonos cuentan con enlaces simples entre sí o ácidos grasos insaturados, los cuales presentan un doble enlace entre carbonos (monoinsaturados) o más (poliinsaturados) (Lawson, 1995).

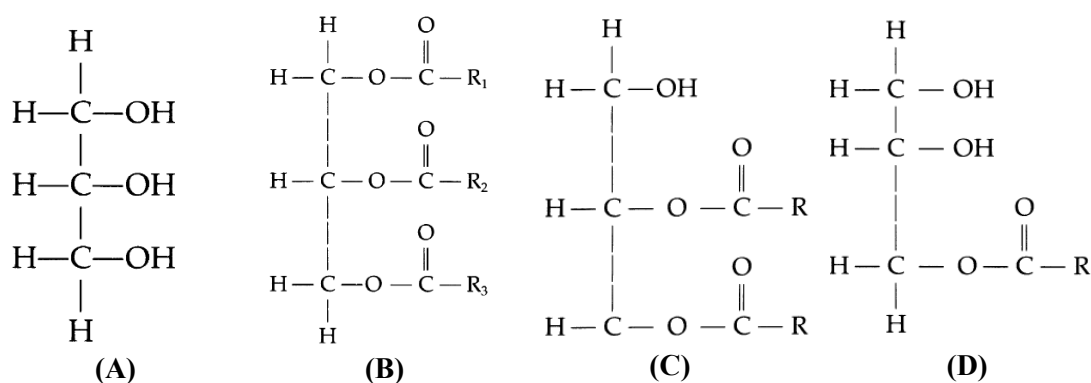


Figura 1. Estructuras moleculares de: A. Glicerol, B. Triglicéridos, C. Diglicéridos, D. Monoglicéridos. Fuente (Lawson, 1995)

El uso de estos aceites y grasas es esencial en la industria alimentaria para proporcionar productos con propiedades organolépticas mejoradas, como: textura, cremosidad o sabor (Zhu et al., 2024). Además, estos compuestos lipídicos son una parte esencial de la alimentación humana, puesto que son la principal fuente de energía, su consumo proporciona 9 kcal/g (Lawson, 1995). Sin embargo, una ingesta excesiva o empleo de grasas y aceites artificiales puede ser perjudicial para la salud. La ingesta de ácidos grasos saturados hidrogenados artificialmente o insaturados en su forma *trans* (isómero) elaborados a partir de los anteriores guardan relación directa con enfermedades cardiovasculares, diabetes o incluso infartos a temprana edad. Debido a esta

problemática, organizaciones como la OMS (Organización Mundial de la Salud) instaron a reducir la presencia de estas grasas en alimentos siendo dicha recomendación adoptada por muchos organismos gubernamentales. Por ejemplo, la Unión Europea (UE) mediante el Reglamento 2019/649 por el cual se modifica la legislación atendiendo a las grasas trans de origen artificial en alimentos procesados prohibió a partir del 1 de abril de 2021 la comercialización de cualquier alimento cuya composición cada 100 g supere los 2 g de grasa insaturada trans artificial, a excepción de aquellos productos que obtengan un mayor porcentaje debido a la procedencia animal (natural). Por otro lado, la FDA (*Food and Drug Administration USA*) categorizó en el 2015 las grasas o aceites hidrogenados artificialmente (saturados) como no seguros alimentariamente (Puscas et al., 2020).

Todas las pruebas reales que relacionan el consumo de estas grasas con enfermedades, así como, una legislación cada vez más restrictiva lleva a la industria a probar nuevas formas más saludables de elaboración de procesados. Sin embargo, actualmente aún se siguen empleando grasas saturadas, pero de origen natural para eludir las restricciones como puede ser el aceite de palma, cuyo uso está relacionado con un aumento del colesterol (Puscas et al., 2020). En esta idea de buscar productos más saludables, aparecen los oleogeles. Se postulan como una solución que intenta imitar las características físicas de las grasas trans y saturadas, para mantener las propiedades organolépticas de los alimentos intactas, pero con un perfil lipídico más saludable y nutritivo debido al uso de aceites vegetales (Silva et al., 2021).

El aceite de oliva virgen se considera actualmente uno de los aceites vegetales más saludables debido a su composición: 85-55 % ácido oleico, 20-5% de aceite insaturados o poliinsaturados, aparte de contar con otros compuestos minoritarios como los derivados de los polifenoles, los cuales son compuestos con gran carácter antioxidante e antiinflamatorio. Además, cuenta con beneficios a la salud comprobados científicamente como puede ser la prevención de diabetes, osteoporosis o enfermedades neurodegenerativas (Yilmaz & Demirci, 2021).

2.2 Oleogeles

El término oleogel hace referencia a un semisólido que consiste en una red molecular estructurada y ordenada, que es capaz de retener un aceite sin alteración de sus propiedades químicas y conservando una textura parecida a un gel (Peřta-Criřan et al., 2023). Los oleogeles poseen un comportamiento viscoelástico (Liu et al., 2024). Por otro lado, va implícito en la definición de oleogel el porcentaje del aceite total retenido con respecto al empleado en su formulación, siendo deseable que este valor no sea inferior al 90 %, para que pueda ser considerado su uso por la industria alimentaria reemplazando a las otras grasas mencionadas en anteriores apartados (Baraki et al., 2021). El compuesto encargado de crear la red tridimensional donde el aceite queda atrapado recibe el nombre de gelificante. La concentración de éste ha de ser baja en el oleogel, en otras industrias como la farmacéutica o cosmética se considera un buen gelificante aquel que no constituya más de un 0,5% en peso del producto final. Sin embargo, en la industria alimentaria este valor aún no se encuentra totalmente establecido debido a una mayor dificultad de encontrar gelificantes, ya que han de ser GRAS (*Generally Recognize as Safe*), hidrosolubles y económicos (Singh et al., 2017).

Los oleogeles se posicionan como los sustitutos de grasas saturadas o trans ya que debido a su estructura pueden comportarse físicamente como estas en términos de sensación en boca o cremosidad, pero con los beneficios nutricionales de ser constituidos por aceites vegetales o animales más saludables. Además, estos oleogeles ofrecen una gran versatilidad dentro del producto final donde sea integrado, ya que se puede controlar en su elaboración la estabilidad

térmica y también la liberación del aceite para que se realice cuando resulte oportuno (Perța-Crișan et al., 2023).

Los oleogeles se pueden clasificar atendiendo a su proceso de obtención. Existen principalmente dos vías de formulación de oleogeles, la vía directa y la vía indirecta. En la primera de ellas el gelificante es añadido directamente sobre la fase dispersa (aceite) bajo agitación a temperaturas superiores a su punto de fusión, para a continuación, enfriar la disolución. Durante esta etapa de agitación y posteriormente de enfriado en la mezcla ocurren diferentes fenómenos químicos que promueven la formación de redes moleculares tridimensionales que atrapan el aceite, como lo son: nucleación, cristalización y auto-agregación. Para ello en el método directo se emplean gelificantes de naturaleza lipofílica, cristalina o polimérica, ejemplos concretos serían; las ceras, ácidos grasos, ésteres y monoglicéridos. Aunque hay otros compuestos poliméricos derivados de la celulosa que son usados en el método directo, por ejemplo, la etilcelulosa. El fundamento de la generación de red molecular que atrape al aceite se basa en asociaciones poliméricas vía enlaces de hidrógeno. Para ello es preciso aumentar la temperatura del sistema por encima del punto de transición vítrea del polímero (~ 140 °C), lo que puede conllevar a problemas de oxidación temprana del aceite. Por otro lado, también es posible el uso de quitina, pero siendo necesario una gran agitación o alteración química para romper la estructura del polímero, recuperándose cuando la agitación termine, atrapando así el aceite (Liu et al., 2024; Patel & Dewettinck, 2016). En la Figura 2 se puede observar un esquema del método directo para la obtención de oleogeles.

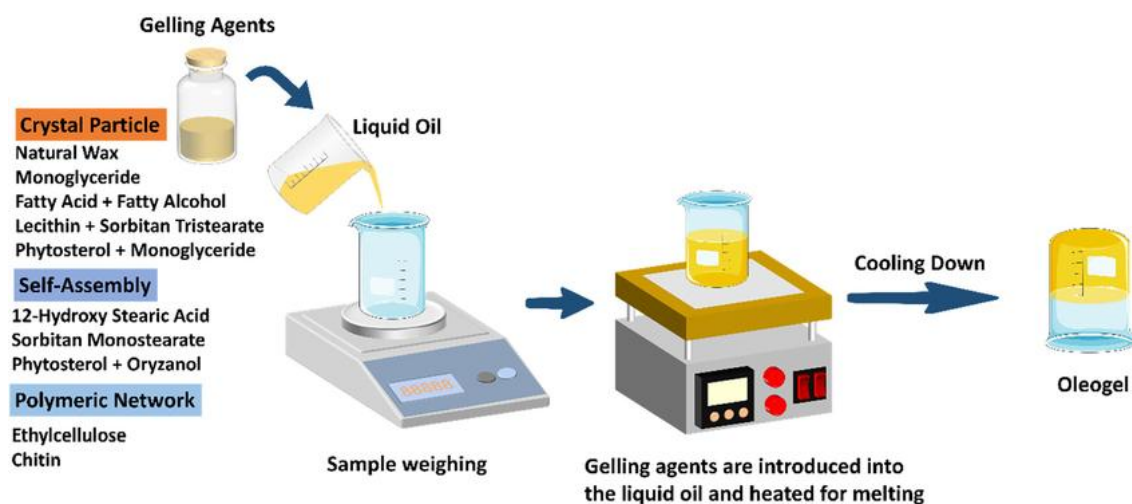


Figura 2. Esquema de la elaboración de oleogeles por el método directo. Fuente (Liu et al., 2024)

Por otro lado, el método indirecto consiste en el empleo de gelificantes hidrocoloides o biopolímeros hidrófilos. Este tipo de gelificantes en primer lugar se disuelven en la fase continua (fase acuosa) para formar posteriormente una emulsión bifásica con el aceite (fase dispersa). Comúnmente, a esta emulsión se le conoce como *oil-in-water emulsion* y al método indirecto como “*emulsion-template*” (Liu et al., 2024).

Para que el gelificante consiga establecer una red tridimensional donde atrapar el aceite es necesario eliminar el agua mediante un proceso de secado. Finalmente, el producto secado ha de ser triturado para conformar el oleogel. En la industria alimentaria, los gelificantes más estudiados son polisacáridos, polímeros de naturaleza proteica, lipídica o quitina y sus derivados como el quitosano (Liu et al., 2024). En la Figura 3 se puede observar un esquema de las etapas necesarias para elaborar un oleogel siguiendo el método “*emulsión-template*”.

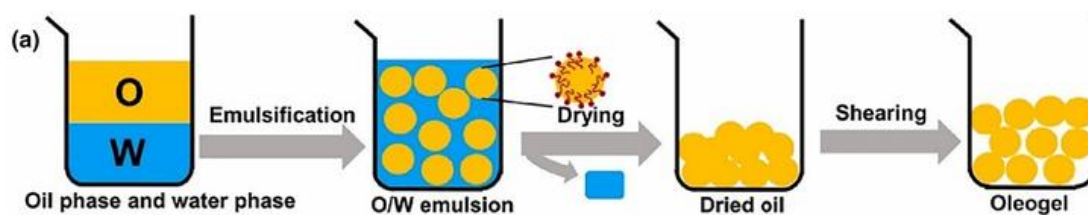


Figura 3. Esquema de la elaboración de oleogeles por el método indirecto. Fuente (Liu et al., 2024)

Por tanto, una de las principales diferencias que determinan la aplicación de un método u otro es el carácter hidrófilo y lipófilo del gelificante. Permitiendo por su solubilidad su dispersión en la fase dispersa. Aquellos gelificantes hidrófilos, que no sean afines (lipofóbicos) a su dispersión en la fase dispersa serán empleados en el método “*emulsion-template*” mientras que los lipófilos serán empleados en el método directo independientemente de su comportamiento en agua (Patel & Dewettinck, 2016).

El método empleado para producir oleogeles en el presente TFM es el “*emulsion-template*” que será desarrollado en apartados posteriores. A continuación, se describen los compuestos que constituyen los oleogeles propuestos, así como, las interacciones que existen entre los mismos.

2.3 Quitosano

El quitosano (CH, en adelante siguiendo su nomenclatura anglosajona) es un polímero lineal constituido por unidades monoméricas de D-glucosamina (N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucosa) y N-acetil-D-glucosamina (2-amino-2-desoxi-D-glucosa). Tiene su origen en el polímero de quitina formado únicamente por monómeros de N-acetil-D-glucosamina, por lo tanto, el CH es su derivado desacetilado. La quitina, de forma natural se encuentra en el exoesqueleto de los crustáceos, artrópodos, moluscos, insectos y también en ciertas especies de hongos. Por su contra el quitosano es difícil encontrarlo en la naturaleza, solamente identificado en algunos hongos (Aranaz et al., 2021; Perța-Crișan et al., 2023; Pillai et al., 2009).

En ambos polímeros, sus monómeros (Figura 4) forman largas cadenas gracias a enlaces β -1,4-glicosídicos, los cuales confieren estabilidad y rigidez a las macromoléculas. Cabe destacar dos conceptos claves en lo que respecta a este polímero; el grado de acetilación (GA) que se corresponde con el porcentaje de monómeros de N-acetil-D-glucosamina en el total de la cadena, mientras que el grado de desacetilación (GD) representa lo contrario, es decir, el porcentaje de monómeros de D-glucosamina en el total de la cadena. Para la caracterización del CH se emplea este último (Kou et al., 2021). Se define como CH a un polímero que cuenta con un 65% de GD como mínimo. Aunque existe cierta controversia con este tema, ya que en la distinta literatura se definen CH desde el 40 % de desacetilación (Kou et al., 2021; Pillai et al., 2009).

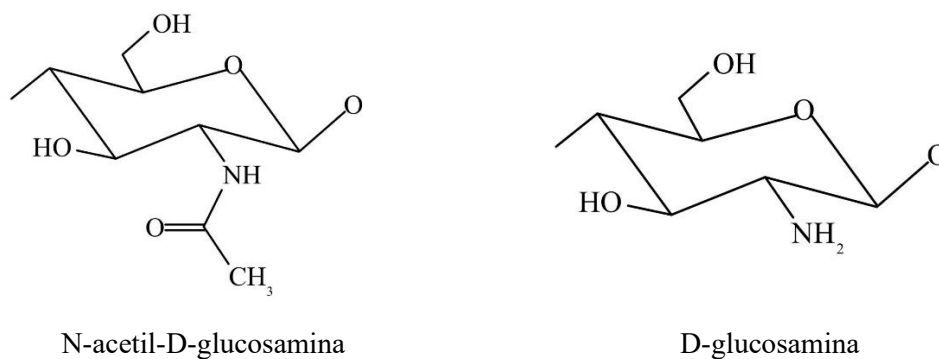


Figura 4. Estructura molecular de los monómeros que conforman el quitosano. Fuente
[Elaboracion Propia]

De manera general, la producción de CH se basa en la transformación de la quitina mediante un tratamiento químico o biológico. En la mayoría de los casos la materia prima empleada en la producción son restos de crustáceos dado a que su esqueleto contiene del orden del 30 al 50 % de quitina. Aunque diversas investigaciones y estudios económicos han concluido, que materias primas tanto animales o vegetales que contengan más de un 20% de quitina podrán desarrollar un proceso viable de obtención de CH. El empleo de residuos de crustáceos como materia prima de tiene un gran impacto a nivel medioambiental ya que mediante su valorización se fomenta la economía circular y se evita que todos los residuos terminen en vertederos o sean depositados en los océanos aumentando su contaminación. Además, este tipo de materia prima cuenta con gran disponibilidad (Kou et al., 2021). En los últimos años, la literatura acerca del CH está dirigiéndose hacia nuevas fuentes de obtención más directas, es decir, sin transformación de la quitina; como los hongos, además, permiten una mejor publicidad del polímero ya que se abriría a las demandas veganas al no proceder de un animal (Aranaz et al., 2021).

Se observa en la Figura 6 un esquema con las dos vías de obtención de CH (química y biológica). De manera resumida, la vía química consta de 3 etapas: desmineralización; donde se elimina el carbonato de calcio mediante la adición de un ácido, generalmente HCl, en segundo lugar, ocurre la desproteínización donde se elimina restos orgánicos mediante una disolución alcalina (normalmente NaOH) y finalmente la desacetilación empleando para ello una disolución de hidróxido de sodio al 40-50% (Figura 5) (Kou et al., 2021).

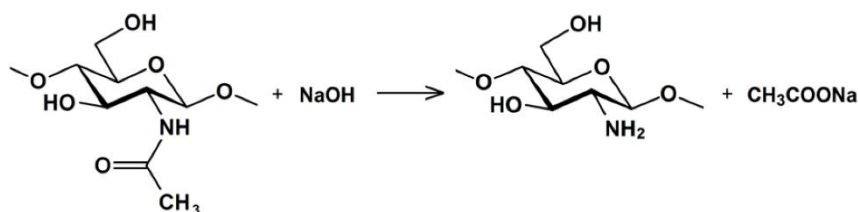


Figura 5. Mecanismos de reacción de la etapa de desacetilación. Fuente (Novikov et al., 2023)

Por otro lado, se encuentra la vía biológica, en ella se emplean métodos fermentativos o enzimáticos para desmineralizar y desproteínizar la materia prima, para finalmente conseguir la desacetilación mediante el uso de enzimas. Esta vía no es tan efectiva como la química ya que el CH obtenido es de bajo GD y contiene muchas proteínas y carbonato cálcico, por lo que es necesario aplicar un post-tratamiento químico para conseguir un CH de mayor calidad (Kou et al., 2021).

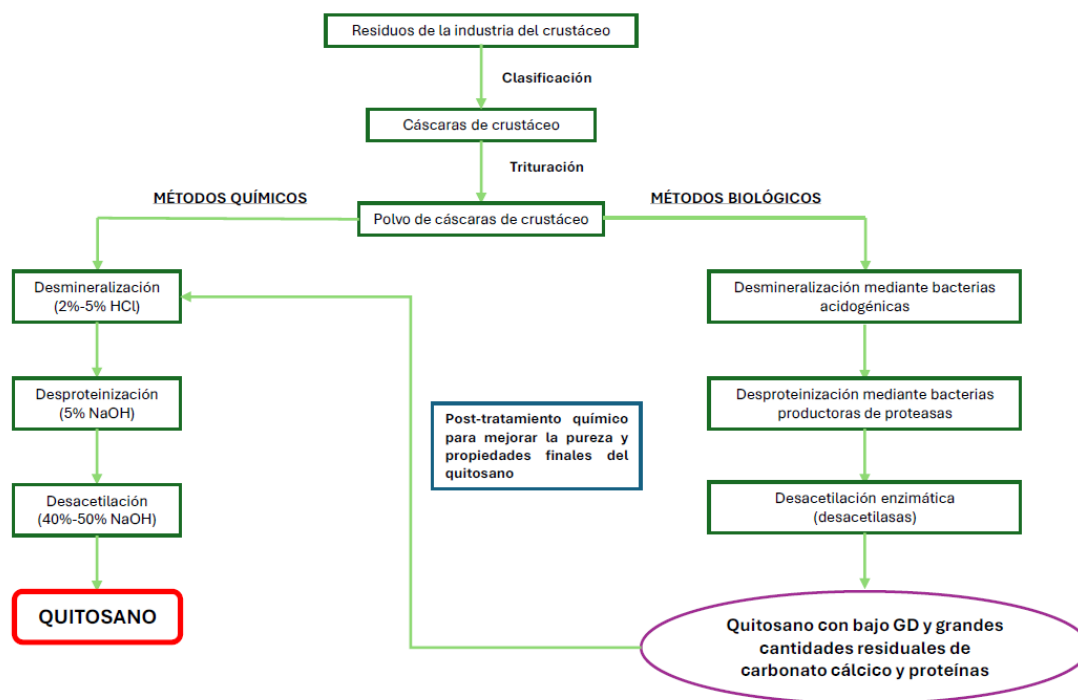


Figura 6. Esquema general de la obtención de quitosano. Fuente: elaboración propia a partir de (Kou et al., 2021)

Actualmente, las investigaciones y fuentes de información acerca del CH son numerosas, existiendo al menos 20 libros, 12000 publicaciones y 300 revistas bibliográficas inspiradas directamente en este compuesto. Poniendo en manifiesto el interés por este producto natural, biocompatible y no tóxico (GRAS), con propiedades como: mucoadhesiva, antiinflamatorio, antioxidante, antimicrobiano, antifúngico, antitumoral y precursor de la cicatrización de heridas. (Aranaz et al., 2021; Pillai et al., 2009).

2.3.1 Propiedades físicas

El CH es un polímero granulado en forma de polvo y de color blanco careciente de olor. Su estructura destaca por tener una gran cristalinidad marcada por un gran número de enlaces de hidrógeno, haciendo que el CH cuente de una gran rigidez (Jagadish et al., 2012).

Las propiedades físicas; como la solubilidad o la viscosidad (en disolución), entre otras, se ven muy influenciadas por el GD y su peso molecular (PM, en adelante). En cuanto al GD, el CH comercial se suele encontrar en el rango del 50 a 95%, aunque como anteriormente se citó, sería preferible definir un producto como CH (con los estándares actuales) a un polímero de quitina desacetilado como mínimo al 65%. Por otro lado, el PM puede variar en gran medida, pero lo estándar actualmente es en un rango de 10 a 1000 kDa aunque comercialmente también se pueden encontrar con otras especificaciones. De forma común se suele establecer también una clasificación del CH de manera cualitativa atendiendo al PM; bajo (CH-LW), medio (CH-MW) o alto (CH-HW), aunque los valores límite que determinarían cada categoría no se han definido (Kou et al., 2021; Pillai et al., 2009).

Existen otras propiedades físicas que también afectan al CH como son el grado de cristalinidad, posición de los monómeros desacetilados y pureza (Pillai et al., 2009). A continuación, se explicará como influyen todas estas características del CH a una de las propiedades físicas más importantes en la elaboración de un oleogel, la solubilidad.

2.3.1.1 Solubilidad

El CH es soluble en disolventes ácidos, por lo general, con un pH menor a 6. Esto se puede explicar desde el punto de vista de la constante de disolución ácida (K_a), normalmente empleada en valor logarítmico (pKa). El valor de esta propiedad que adquiere el CH es de 6,3, es decir, los grupos amino que existen en la molécula a bajo pH sufrirán un cambio de carga, se protonarán, haciendo al CH un polielectrolito catiónico soluble en agua. Este hecho sirve para explicar el por qué en disolvente con un pH mayor a 6 no es posible la solubilización del CH, ya que los mismos grupos amino se desprotonan evitando que el CH varíe su carga y se mantenga insoluble (Pillai et al., 2009).

La única manera de poder modificar el valor de pKa para variar la solubilidad del CH es con el GD, el PM y la forma de desacetilación de la quitina o la cristalinidad.

Cuanto mayor sea el GD, mayor será la solubilidad, debido a una menor presencia de monómeros N-acetil-D-glucosamina y una mayor de grupos amino, por lo que, disolver los monómeros de D-glucosamina únicamente sería cuestión de acidificar el medio. Esta es una de las razones por lo que la quitina, a pesar de sus grandes cualidades, no es tan empleada, ya que al ser prácticamente insoluble dificulta su manejo en la industria, por lo tanto, el CH es preferido. Éste mantiene muchas de las propiedades de la quitina y cuenta con mayor solubilidad, lo que permite su uso en la formulación de infinidad de productos. Diversas investigaciones concluyen que a mayor peso molecular, independientemente del valor del GD, la solubilidad disminuye, seguramente por las interacciones de la cadena polimérica consigo misma, dificultando el ataque de los protones (Aranaz et al., 2021). Ejemplo de esto, CH con pesos moleculares menores a 30 kDa son capaces de solubilizarse en agua sin adicionar ácidos (Kou et al., 2021).

Por otro lado, únicamente es posible obtener un CH soluble cuando su GD es igual o mayor al 50%, debido a la cristalinidad de la estructura; hasta este valor el polímero permanece semejante al de quitina (Pillai et al., 2009). La solubilidad también depende de las formas poliméricas de la quitina del que se parte para obtener CH. En concreto, existen tres formas, β , α y γ , la diferencia entre las mismas reside en la estructura de las cadenas adyacentes del polímero entre sí. En el caso de la β -quitina las cadenas se encuentran de forma paralela, promoviendo enlaces por puente de hidrógeno, mientras que en la α -quitina, las cadenas también se encuentran por capas, pero no necesariamente en posición paralela. La γ -quitina es una variante de la α -quitina y su estructura molecular es semejante. Estas características sumadas a los numerosos enlaces de hidrógeno que se forman en sus estructuras provocan que la solubilidad de la quitina sea muy baja, siendo esto crítico, cuando el CH generado provenga de la α -quitina, la cual tiene un carácter prácticamente insoluble (Pillai et al., 2009).

Otros estudios han descrito que la distribución de los grupos residuales de N-acetil han de encontrarse en una disposición aleatoria para mejorar la solubilidad del CH (Pillai et al., 2009). Esto se debe probablemente a que al no encontrarse de forma periódica es más difícil su interacción y por ello, la estructura general del polímero pierda rigidez. Además, una menor cantidad de puentes de hidrógeno inter- e intra-moleculares permite que sea más fácilmente atacada por un disolvente ácido.

En conclusión, la mejor estrategia de solubilización del CH se basa en la correcta elección de un disolvente ácido. Se destacan los ácidos orgánicos, como pueden ser ácido acético, fórmico o láctico. Por otro lado, la agitación y el aumento de temperatura incrementan la solubilidad, pero se ha de tener especial cuidado con este último parámetro, ya que se puede ocasionar la degradación del CH, al igual que a concentraciones de ácido altas, véase, ácido acético al 10% (Pillai et al., 2009). Finalmente, también se ha de prestar atención al origen de la quitina, ya que, si se ha tratado correctamente, será posible obtener un quitosano con mejores propiedades de solubilidad y así poder emplearlo en distintos productos de alto valor añadido.

2.3.2 Usos y aplicaciones

En el presente subapartado se presentan de manera breve los usos y aplicaciones que tiene el CH en la actualidad, y aquellos, que son prometedores y con respaldo de investigaciones.

Anteriormente se han comentado las buenas propiedades con las que cuenta el CH, haciéndolo muy atractivo como parte de la formulación de medicamentos, siendo aceptado por las distintas agencias gubernamentales como excipiente. Diversos estudios apuntan que gracias a su actividad antioxidante y antiinflamatoria podría ser útil para luchar contra enfermedades como; Alzheimer, Parkinson, Huntington y ELA (Esclerosis Lateral Amiotrófica). También dentro de la industria farmacéutica, gracias a la facilidad que tiene para formar redes que pueden capturar otros compuestos, como principios activos, el quitosano es un excipiente para el transporte de medicamentos (Aranaz et al., 2021).

El CH también presenta utilidades en el tratamiento de aguas residuales gracias a su carácter de adsorción de metales y fácil desorción de estos. Mediante su empleo el tratamiento de aguas con metales pesados se abaratan costos, se sostienen las eficacias y medioambientalmente es sostenible debido a su biodegradabilidad y circularidad. Cabe destacar que diversos autores, exploraron este uso con CH modificados mediante reacciones de Base de Schiff (posteriormente se explicarán) dando mejores resultados (Thien et al., 2017).

Otro ámbito interesante de uso es la catálisis bioquímica, es decir, debido a las mismas propiedades interesantes del CH para la elaboración de oleogeles, la retención de microorganismos o enzimas en reactores biocatalíticos resulta prometedor (Aranaz et al., 2021).

Actualmente, y como se remarca en el presente trabajo, el CH es un compuesto muy interesante para la industria alimentaria y la formulación de oleogeles partiendo de distintos tipos de aceites. En este ámbito cabe destacar los trabajos de los autores (Brito et al., 2022; Xu et al., 2018; Zhu et al., 2024) los cuales sientan las bases del estado del arte actual de la producción de oleogeles. Otros usos en la industria alimentaria se centran en la producción de films para el recubrimiento de alimentos como frutas o vegetales, ya que serían envases naturales con propiedades antifúngicas y antibacterianas que ayudarían a prevenir la pérdida de calidad y eliminaría en gran parte el uso de sustancias químicas a modo de conservantes (Pillai et al., 2009).

2.4 Bases de Schiff

La formulación de los oleogeles propuestos en el presente estudio conlleva la reacción entre un aldehído y el CH (Figura 7) para mejorar la capacidad de retención de la fase dispersa (aceite). Concretamente, la reacción se da entre el grupo amino (NH_2) del CH y el grupo carbonilo (CHO) del aldehído (Jagadish et al., 2012), para dar un producto caracterizado por contener grupos imina ($\text{C}=\text{N}$), que no afecta a la estructura de la cadena del polímero, pero mejora las propiedades fisicoquímicas del CH (Karaer & Kaya, 2015; Zhu et al., 2024).

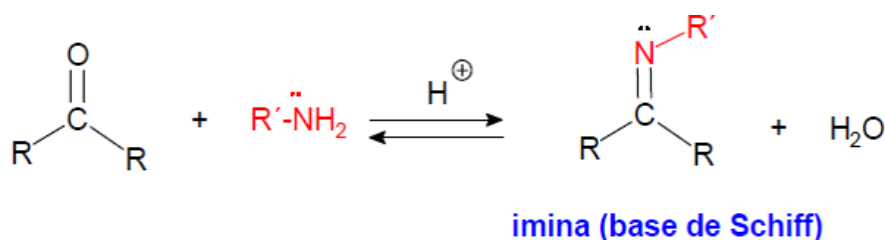


Figura 7. Esquema del mecanismo de la reacción de Schiff . Fuente (Liceo AGB, 2025)

Este tipo de reacciones ayuda a la elaboración del oleogel, ya que forma un entramado con el CH consiguiendo una red donde atrapar el aceite y retenerlo de manera reversible. Será necesario controlar cuidadosamente la concentración de aldehído añadido, ya que una mayor cantidad conllevará un mayor grado de extensión de la reacción, pudiendo provocar que la red formada sea muy rígida y no permita el libre movimiento impidiendo la retención correcta del aceite. Finalmente, se puede afirmar que la utilización de estos aldehídos provoca que los oleogeles tengan un carácter de auto-ensamblaje (Xu et al., 2018).

Diversas investigaciones han plasmado el uso de distintos aldehídos para su reacción con el CH, obteniéndose datos importantes como la extensión de la reacción y en qué condiciones se favorece. En el presente trabajo, la formulación de oleogeles se realizará mediante el método “*emulsión-template*” por tanto, los compuestos que intervienen en la reacción se ponen en contacto por primera vez durante la preparación de la emulsión. (Marin et al., 2012) estudiaron las reacciones de Schiff empleando distintos aldehídos tanto en presencia de agua (análogo a la etapa de creación de una emulsión) y en ausencia de la ella (análogo a la etapa de secado del oleogel). Las conclusiones indican que la reacción tiene su máxima conversión en el secado (~80-90%), mientras que en presencia de agua en el medio se alcanzan rangos entre el 1-12%, por tanto, la etapa de secado será crítica a la hora de obtener un oleogel con gran estabilidad y retención de aceite. Estos mismos autores también constataron que la conversión se veía favorecida por las altas temperaturas y vacío. En este tipo de reacciones también se ha comprobado que, en función del aldehído empleado, el producto puede cambiar de color, respecto del original, y, por tanto, afectar al color de un hipotético oleogel final. Este hecho podría tener una influencia significativa dentro de la Industria alimentaria, pues podría afectar a la decisión de compra de los consumidores.

Finalmente, otra característica de interés de las reacciones de Schiff radica en que los productos obtenidos (en mayor/menor extensión) siempre son grupos imina que son reversibles, lo cual es una característica interesante en los oleogeles, de cara a su posterior absorción en el cuerpo (Marin et al., 2012).

En el presente TFM se estudiarán tres aldehídos para la elaboración de oleogeles; benzaldehído (BH), vainillina (VN) y 4-hidroxibenzaldehído (4H). A continuación, se presentan sus principales propiedades fisicoquímicas, así como, las posibles implicaciones que tendría su uso en un oleogel final dentro de la industria alimentaria. La selección de un aldehído u otro se basó en la principal bibliografía existente, así como, una serie de estudios preliminares que se detallarán en el apartado 5.2.1.

2.4.1 Benzaldehído

El BH es un compuesto aromático cuya estructura molecular se muestra en la Figura 8. A temperatura ambiente es un líquido incoloro con un olor y sabor fuerte a almendras. Se encuentra ampliamente distribuido en plantas (Brühne & Wright, 2011).

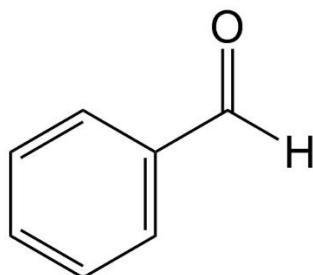


Figura 8. Estructura molecular del benzaldehído. Fuente (Cosmos, 2025)

Su grupo aldehído puede reaccionar con grupos amino presente en el CH para formar Bases de Schiff (Thien et al., 2017). Cabe destacar que debido a la ausencia de grupos hidroxilo en el anillo aromático no será capaz de formar enlaces de hidrógeno con el CH, fenómeno que, si ocurre con el uso de otros aldehídos (Marin et al., 2012), como se explicará posteriormente.

La reacción entre BH y el CH ha sido estudiada desde muchos puntos de vista, por ejemplo, (Marin et al., 2012) determinaron el grado de extensión de la reacción y su colorimetría. En cuanto a la conversión de los grupos amino del CH en imina debido a la Base de Schiff destacar que se obtienen valores muy bajos en torno al 8% cuando el medio de reacción usado contiene agua, siendo el usado por los autores semejante al que se podría dar durante la realización de la emulsión en el método “*emulsión-template*”. Sin embargo, estos autores llevaron a cabo la eliminación del agua, tal y como ocurriría en la etapa de secado, encontrándose que la conversión de dicha reacción aumentaba, pero únicamente hasta el 13%. También comprobaron que durante la reacción no existe un cambio de color en el transcurso de esta, distinto a lo que ocurre con el uso de otros aldehídos como la VA o el 4H.

Actualmente, este aldehído se produce mediante dos procesos: hidrólisis del cloruro de bencilideno o vía oxidación de tolueno (Brühne & Wright, 2011).

El BH es un compuesto GRAS (*Generally Recognized as Safe*), usado ampliamente en la industria alimentaria, esta característica se encuentra recogida en el *Flavor & Extract Manufacturers Association* (FEMA) asociación que categoriza aquellas sustancias permitidas y recomendadas junto con una ficha técnica de sus características. También está registrado el perfil de sabores que puede desarrollar en un alimento, como almendra amarga, azúcar tostado, cereza, malta o pimienta asada.

2.4.2 Vainillina

El compuesto 3-metoxi-4-hidroxibenzaldehído (Figura 9), o comúnmente denominado, vainillina es un aldehído que puede ser encontrado en la naturaleza, teniendo su mayor presencia en la vainilla. Es un compuesto sólido cristalino (en forma de polvo) a temperatura ambiente y con un ligero color amarillo (Havkin-Frenkel, 2018).

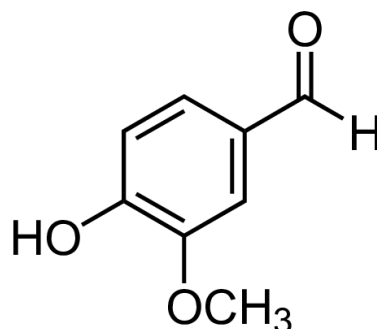


Figura 9. Estructura molecular de la vainillina. Fuente (Gulsia, 2020)

Aunque se puede extraer naturalmente (de la vainilla), debido a su alta demanda se han desarrollado dos rutas de obtención, una a partir del guayacol, un derivado del petróleo y otra a partir de la lignina, pero estos procesos actualmente no son medioambientalmente sostenibles, aunque si económicamente rentables (Havkin-Frenkel, 2018). En los últimos años se está trabajando en buscar nuevas rutas biotecnológicas de síntesis, pero no se han implantado a nivel industrial debido a las dificultades que tiene el proceso (Kaur & Chakraborty, 2013).

Al igual que en el caso del BH, la VA reacciona con el grupo amino del CH para formar una base de Schiff. Además de esta reacción principal, debido a que la VA presenta un grupo hidroxilo, este interaccionará con la cadena del CH creando puentes de hidrógeno con otros grupos hidroxilo o amino. Esta característica adicional de la VA consigue que la red creada con el CH para atrapar el aceite tenga un comportamiento reversible, es decir, que en determinadas condiciones el aceite pueda ser liberado (Xu et al., 2018).

Los autores (Marin et al., 2012) que han estudiado las reacciones de Schiff de forma general para intentar categorizarlas según su grado de extensión (conversión), emplenado metodología diversa como colorimetría y espectrofotometría (FTIR, IR, etc.). Para la VA, se informa de valores de conversión en presencia de agua del 11,9%, hasta un valor máximo en ausencia de agua del 57%, caracterizado el producto final por un fuerte color amarillo.

La vainillina también es una sustancia GRAS por la FEMA, siendo su único perfil de sabores la vainilla.

2.4.3 4-Hidroxibenzaldehído

El 4-hidroxibenzaldehído o P-hidroxibenzaldehído (Figura 10) es un compuesto orgánico sólido (en forma de polvo) blanco. Posee un ligero olor aromático. Si bien se puede encontrar en algunas plantas, por lo general es sintetizado a partir de compuestos fenólicos como el alcohol o-hidroxibencílico (Kirk-Othmer, 1998).

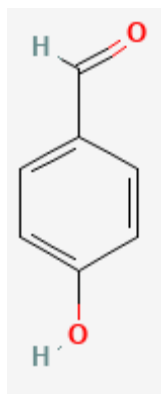


Figura 10. Estructura molecular del 4-hidroxibenzaldehído. Fuente (National Centre for Biotechnology Information, 2025)

Al igual que en el caso anterior de la VA el 4H posee de un grupo hidroxilo libre el cual puede crear puentes de hidrógeno con el CH durante la reacción de Schiff lo que crea un entramado molecular más estructurado, que va a retener mejor y en mayor cantidad la fase dispersa en el oleogel.

Los autores (Jagadish et al., 2012) compararon la extensión de la reacción de este aldehído frente a la VA empleando para ello un medio de reacción semejante al que se empleará en el presente trabajo; CH disuelto en ácido acético con un pH final de 4 y el aldehído disuelto en etanol ya que la solubilidad de estos en agua es baja. Concluyeron que el grado de extensión de la sustitución del grupo amino por el grupo imina en el CH empleando el 4H fue del 59 % frente al 63 % obtenido con la VA. Estos resultados se obtuvieron en medio acuoso, sin una posterior etapa de secado que potencialmente, pudiese mejorar la conversión de la reacción.

En esta línea, (Karaer & Kaya, 2015) estudiaron también la reacción del CH frente al 4H bajo un sistema de propiedades parecidas al del método “*emulsión template*” obteniendo una sustitución de los grupos amino del CH del 45,5 % frente al 56% cuando se empleó VA.

Por último, (Zhu et al., 2024) realizaron un estudio de elaboración de oleogeles de aceite de soja con CH como gelificante utilizando el método “*emulsión-template*”. Lo novedoso de este estudio fue la comparación de varios sistemas variando el aldehído utilizado, en él se compara entre otros el 4H con la VA, obteniéndose oleogeles semejantes. De los diversos resultados que obtuvieron cabe destacar el OBC (*Oil Binding Capacity* o retención de aceite) del sistema realizado con el 4H es mayor ligeramente frente a la VA. Esto sugiere que tampoco existe una relación directa del OBC, una de las propiedades más importantes de los oleogeles, con el grado de conversión de la reacción. Aunque sí es necesario que exista la reacción para potenciar el OBC. Sin embargo, si la extensión de la reacción es mayor de lo necesario se podrá observar el fenómeno de rigidez de la red descrito por (Xu et al., 2018) y explicado anteriormente. Por tanto, la selección de un aldehído u otro se ha de en más argumentos que una conversión, como por ejemplo el OBC. Esto se desarrollará más en apartados posteriores.

El 4H es un compuesto GRAS, según la FEMA, por tanto, es apto para su uso en la industria alimentaria. El perfil de sabores que puede desarrollar en su uso sería el tostado.

2.5 Fundamentos teóricos

Se expone en el presente apartado los principios teóricos de manera breve que soportan los estudios del proceso de secado y la caracterización reológica.

2.5.1 Secado

El secado es una de las operaciones unitarias más empleadas en el sector de la alimentación. Consiste en la eliminación parcial o total del contenido en agua u otra sustancia volátil de un sólido. Existen diversos métodos como: métodos físicos de prensado y centrifugación o por contacto térmico (McCabe et al., 2007). En lo que respecta al presente TFM únicamente se trabajará con un método de secado térmico, por tanto, será el desarrollado en este apartado.

Mediante la aplicación de calor a un sólido húmedo como es un oleogel se consiguen dos fenómenos distintos: la transferencia de materia del contenido de agua hasta la superficie de dicho sólido, y, por otro lado, la evaporación del contenido en agua y/o volátiles presentes en dicha superficie que se rige por la transmisión de calor. Este aporte de energía es muy elevado, aproximadamente al 10-15% de la energía empleada dentro de la industria se corresponde con operaciones de secado (Mujumdar, 2014; Onwude et al., 2016).

El secado de sólidos húmedos consta de tres etapas de forma general. En la primera el agua superficial del sólido es eliminada. Esta etapa se encuentra influenciada principalmente por las variables externas al sólido, es decir, temperatura y humedad exterior o caudal y sentido del aire. También la geometría del sólido a secar juega un papel importante. El transporte de materia existente se debe a la difusión del vapor generado por el líquido volátil al aire, y este transporte se da en la interfase entre dos compuestos que han de ser inmiscibles entre sí (Mujumdar, 2014).

A medida que transcurre la transferencia de materia en la superficie del sólido y el aire ambiente, comienza un fenómeno de transmisión de energía desde el exterior al interior del sólido, generándose así un gradiente de temperaturas y humedad que promueve la transferencia de materia a la superficie. Dependiendo del tipo de sólido o tipo de secado empleado esta transferencia de masa se puede deber a distintos fenómenos, como fuerzas capilares o por difusión derivada de los gradientes desde el interior del sólido y la superficie (Inyang et al., 2018; Mujumdar, 2014). Esta etapa tiene mayor dificultad para disminuir el contenido en humedad, por lo que, para aumentar su eficiencia si el sólido a secar lo permite, se deberían emplear condiciones de secado más severas (mayor temperatura o velocidad del aire). Si el sólido es sensible a las altas temperaturas o simplemente sus propiedades se verían modificadas y no fuese lo deseado, únicamente se podría aumentar el tiempo de residencia en el secadero para obtener el grado de secado deseado. La velocidad de secado también dependerá del tipo de sólido; poroso o no, higroscópico o no. Generalmente los sólidos con un secado más rápido serán aquellos no higroscópicos donde la humedad no se encuentre absorbida y porosos, donde existan múltiples canales por donde el agua puede transferirse a la superficie (Mujumdar, 2014). En el caso de los oleogeles objeto del presente TFM el carácter higroscópico es despreciable y poseen una estructura porosa que permite la difusión de la humedad.

Para este tipo de sólidos existen dos maneras de secado: mediante la evaporación de líquido, alcanzando su punto de ebullición o mediante vaporización, empleando aire caliente que en contacto con la superficie del sólido se enfría permitiendo asimilar la humedad existente. La elección de un tipo de secado u otro recae directamente en las propiedades del sólido, si es termosensible la primera opción ha de ser descartada. También es necesario valorar si compensa

la gran necesidad de energía para evaporar al líquido volátil frente a la vaporización, que emplea menor energía, pero da lugar a un proceso más lento (Mujumdar, 2014).

En la Figura 11 se muestra el perfil típico de un proceso de secado para los parámetros de humedad, velocidad de secado y temperatura dentro de la industria alimentaria.

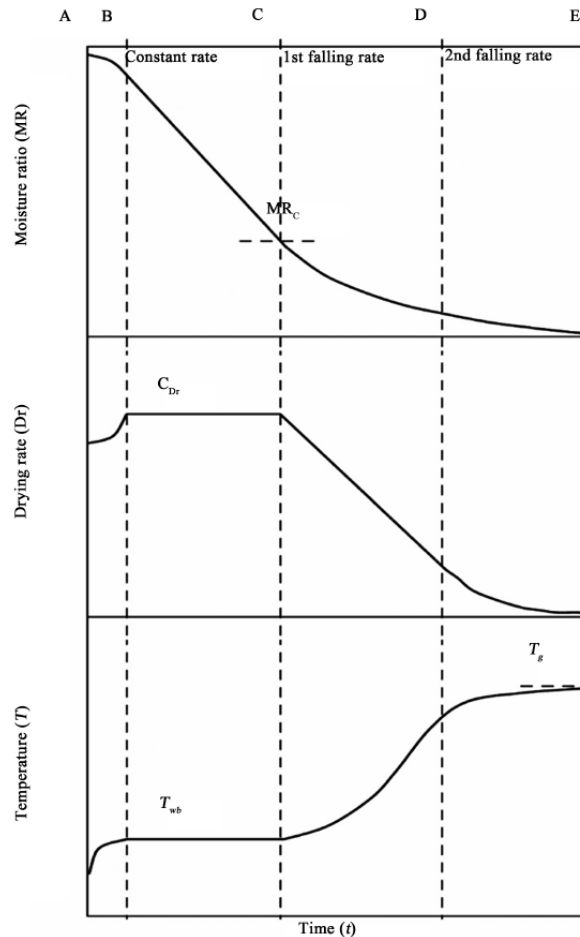


Figura 11. Perfil típico desarrollado durante el secado de alimentos para los parámetros de humedad, cinética de secado y temperatura. Fuente (Inyang et al., 2018)

Al inicio de secado la temperatura de la superficie del sólido húmedo se encuentra lejos de la temperatura ambiente, por tanto, en segmento A-B se produce un aumento de la cinética de secado, así como de la temperatura y la humedad comienza a decrecer, pero de manera no constante. El punto B representa el instante donde se alcanza el equilibrio entre la temperatura ambiente y la superficie del sólido, comenzando así una etapa donde el proceso de secado es constante, tanto en su cinética como en el grado de descenso de humedad. Esto se debe a que la superficie del sólido saturada de agua permite la difusión directamente al ambiente, siendo este es el fenómeno limitante en este período. Cuando en la superficie del sólido la humedad sea baja y comience la transferencia de materia por un mecanismo conductivo asociado al gradiente de concentración de humedad desde el interior hasta la superficie, la velocidad de secado deja de ser constante. Esto se corresponde con el punto humedad crítica (MR_c en la Figura 11). A partir de este instante comienza la primera caída de la velocidad de secado. En este periodo la superficie deja de estar saturada y comienza la difusión del agua en el interior hasta que la superficie del sólido queda completamente seca. En esta fase el proceso de secado se ve ralentizado, pero si el

sólido no es termosensible se debe aumentar la temperatura (tal y como se muestra en la Figura 11) para que este descenso de la cinética no sea tan pronunciado. En algunos casos el final del secado concluiría al final de esta etapa (Punto D según la Figura 11) pero algunos sólidos pueden experimentar una segunda zona de descenso de la velocidad de secado (Rango D-E según la Figura 11). En esta segunda caída la velocidad de secado depende únicamente de la difusividad del agua por el interior del sólido hasta la superficie, por tanto, influirá significativamente en esta etapa la porosidad del sólido, así como, su carácter higroscópico. En aquellas zonas más interiores del producto a secar el fenómeno que rige el transporte de energía es la conducción ya que la influencia del aire caliente de la superficie es despreciable, y, por tanto, aumentar la temperatura más no traería consigo ningún beneficio, únicamente ineficiencia energética. El proceso de secado llegará al final cuando se alcance la humedad de equilibrio, que se puede definir como el punto donde la humedad del sólido y el vapor de agua que desprende al ambiente por la vaporización adquieren las mismas presiones parciales de vapor y, por tanto, imposibilita el fenómeno de difusión (Inyang et al., 2018; Mujumdar, 2014).

Existen principalmente tres mecanismos de transporte de energía: conducción, convección y radiación. Se puede clasificar el tipo de secado al que es sometido una muestra atendiendo al tipo de mecanismo de transporte de energía predominante que rige el proceso. En el caso del presente TFM las emulsiones fueron secadas en un secadero por convección forzada.

Los secaderos que utilizan como mecanismo predominante de transporte de energía la convección, emplean usualmente aire caliente, sin embargo, se podrían utilizar otros gases dependiendo del sólido como por ejemplo nitrógeno para evitar riesgo de atmósferas explosivas. El mecanismo se basa en hacer circular el gas caliente (gracias a un ventilador) de manera paralela sobre la superficie del sólido seco produciendo la vaporización continua de la humedad, siguiendo los fenómenos explicados anteriormente (Figura 11) (Mujumdar, 2014). Por otro lado, emplear un gas caliente provoca la necesidad de un gran conocimiento del proceso para evitar pérdidas de energía innecesarias (Etuk et al., 2017). Este tipo de procesos de secado son ampliamente empleados en la industria alimentaria, siendo dispuestos los sólidos en capas finas (Mujumdar, 2014).

2.5.1.1 Modelización de la cinética de secado

La modelización de las cinéticas de secado es indispensable para optimizar la etapa de secado de cualquier producto, para tanto promover el ahorro energético del proceso como mejorar sus propias propiedades. A nivel industrial el conocimiento de las cinéticas de secado es determinantes para el diseño de los secaderos. Como se comentó anteriormente existen diversos factores que afectan directamente a la etapa de secado y, por tanto, a su cinética, como son: la temperatura, la humedad relativa, la velocidad del aire de secado, así como, la geometría y espesor de la muestra a secar y que, por tanto, han de ser optimizadas rigurosamente (Onwude et al., 2016).

Generalmente los modelos empleados para describir las cinéticas de secado en la industria alimentaria, por ejemplo, en los casos de vegetales o frutas, son los modelos de capa fina (*thin layer*) (Onwude et al., 2016). Diversos autores han empleado distintas aproximaciones para obtener ecuaciones que verifiquen y describan los procesos de secado de una manera robusta. Los más usados son aquellos denominados métodos semi-teóricos. Estos se fundamentan en describir la variación de la humedad presente en el sólido a lo largo del tiempo. Para ello es preciso definir la relación de humedad (MR) como la Ecuación 1 (Babalís et al., 2006).

$$MR = \frac{X - X_{eq}}{X_0 - X_{eq}} \quad [1]$$

Donde,

- X , se corresponde con la humedad en un instante determinado (kg agua/kg sólido seco).
- X_{eq} , es la humedad de equilibrio (kg agua/kg sólido seco).
- X_0 , es la humedad existente a t igual a 0 en el sólido (kg agua/kg sólido seco).

Para poder relacionar la variación de humedad con el tiempo se emplea la solución integrada de la Ley de Newton de enfriamiento (Ecuación 2) asumiendo que únicamente la variación de humedad es debida al tiempo. Para tener en cuenta los fenómenos de transporte de materia y transmisión de calor mediante los cuales también generan un cambio en la humedad se añade la constante del modelo cinético de secado, k (1/tiempo). Esta primera solución se denomina modelo de Newton o modelo de Lewis (Ecuación 3) (Babalís et al., 2006).

$$\frac{dM}{dt} = -k \cdot (M - M_{eq}) \quad [2]$$

$$MR = e^{-k \cdot t} \quad [3]$$

Donde,

- MR , es la relación de humedad o *moisture ratio* debido a su terminología inglesa (kg agua/kg sólido seco). Representa la fracción másica de agua restante en el sólido a un determinado tiempo.
- M , es la humedad (kg agua/kg sólido seco).
- t , es el tiempo (min).

Para verificar la validez del ajuste de cualquier modelo sobre la cinética de secado se ha de realizar un pequeño análisis estadístico, que se fundamente en determinar varios parámetros como: el coeficiente de bondad del modelo [ϕ , Ecuación 4 (Moreira et al., 2017)] donde cuanto mayor sea el valor que tome mejor será el ajuste, el coeficiente de regresión lineal [R^2 , Ecuación 5, (Moreira et al., 2017)] y el error cuadrático medio [ECM, Ecuación 6, (Inyang et al., 2018)]. El ajuste del modelo también se considerará bueno cuando estos dos últimos coeficientes tomen valores cercanos a 1 o a 0 respectivamente (Lama et al., 2024).

$$\phi = \frac{R^2}{RMSE \cdot MRD} \quad [4]$$

$$R^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (X_{exp} - \bar{X})^2 - \sum_{j=1}^n (X_{exp} - X_{cal})^2}{\sum_{j=1}^n (X_{exp} - \bar{X})^2} \quad [5]$$

$$ECM = \frac{1}{n} \cdot \sum_{j=1}^n (X_{exp} - X_{cal})^2 \quad [6]$$

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (X_{exp} - X_{cal})^2}{n - K}} \quad [7]$$

$$MRD = \frac{1}{n} \cdot \sum_{j=1}^n \left| \frac{(X_{exp} - X_{cal})}{X_{exp}} \right| \quad [8]$$

Donde,

- $RMSE$, es la raíz del error cuadrático medio. [Ecuación 7, (Moreira et al., 2017)].

- MRD, es la desviación relativa media [Ecuación 8, (Moreira et al., 2017)].
- X_{exp} , es la humedad obtenida de manera experimental.
- X_{cal} , es la humedad calculada por el modelo de Newton.
- $\bar{X}$, es la humedad experimental media del sistema.
- n , es valor numérico del recuento total de datos de humedad obtenidos de manera experimental.
- K , es el número de parámetros que tiene el modelo. En el caso de la Ecuación 3, K es igual a 1.

2.5.2 Reología

La reología se define como aquella rama de la ciencia que estudia y explica los fenómenos de deformación y flujo de que sufre la materia y como sus respuestas ante fuerzas de tensión (*stress*) o de deformación (*strain*) (Mezger, 2006; Steffe, 1996).

Atendiendo a la forma de estudio de las propiedades reológicas de la materia, sobre todo en lo referente a soluciones líquidas y a semi-sólidos se establece la clasificación de instrumentos en tubo (viscosimetría) y rotacionales (reometría) (Steffe, 1996). En el presente TFM se estudiarán gracias a la reología los pesos moleculares de los distintos quitosanos, así como, el comportamiento de las emulsiones y oleogéles.

2.5.2.1 Viscosimetría

Mediante estudios viscosimétricos es posible obtener la viscosidad de líquidos o disoluciones. Estos ensayos se llevan a cabo en instrumentos de tipo tubo, siendo los principales: capilares de vidrio, capilares de alta presión o tipo tubería (Figura 12) (Steffe, 1996). En lo que respecta al presente TFM se utilizaron capilares de vidrio, en concreto capilares tipo U o de Ubbelohde.

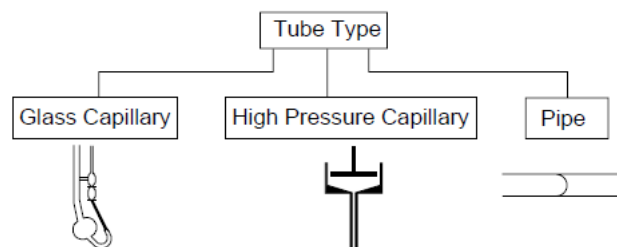


Figura 12. Tipos de instrumentación para ensayos de viscosimetría. Fuente (Steffe, 1996)

La finalidad de un viscosímetro capilar es obtener datos de viscosidades como la cinética (ν , mm²/s), que se define como el cociente entre la viscosidad dinámica (η_d , Pa) y la densidad del fluido (ρ) (Kulicke & Clasen, 2004).

$$\nu = \frac{\eta_d}{\rho} \quad [9]$$

A su vez la viscosidad dinámica, es el resultado del cociente entre el esfuerzo cortante (σ) y la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$) (Ecuación 10). Ambos términos se pueden definir a partir de la Figura 13. En ella se presenta un esquema de un fluido a través de dos placas paralelas, donde la superior tiene una velocidad, u , mientras que la inferior está estática, es decir no tiene velocidad. Por tanto, el primer término hace referencia a la fuerza por unidad de superficie que ejerce la placa superior

sobre el fluido para tener una velocidad, u . Mientras que el segundo término hace referencia a la diferencia de velocidad existente entre las láminas con un determinado grosor que se forman en el fluido por el perfil de velocidades (Kulicke & Clasen, 2004).

$$\eta_d = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} \quad [10]$$

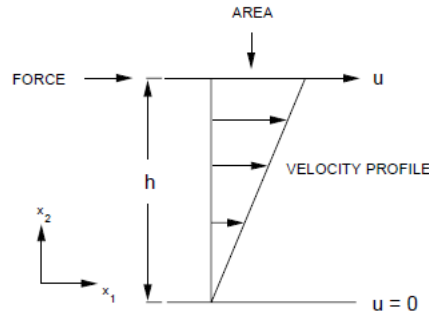


Figura 13. Modelo de fluido entre dos placas paralelas. Fuente (Steffe, 1996)

La viscosimetría capilar relaciona el tiempo (t) que tarda un fluido de volumen conocido en pasar a través del capilar entre dos zonas delimitadas, por la acción de su propio peso y la fuerza de la gravedad con la viscosidad cinemática mediante la Ecuación 11. Cada capilar se encuentra debidamente calibrado y cuenta con una longitud y radio definidas que permiten relacionar el tiempo de paso con su viscosidad cinemática. En el apartado 4.3 se describirá en mayor detalle los capilares empleados (Kulicke & Clasen, 2004; Mezger, 2006).

$$v = k \cdot (t - \vartheta) \quad [11]$$

Donde, k es la constante del capilar (tiempo^{-1}) y ϑ factor de corrección de la energía cinemática.

La obtención de la viscosidad cinemática se relaciona en cierta medida con la viscosidad intrínseca ($[\eta]$, Ecuación 12) gracias a una serie de relaciones, como son las viscosidades: específica (η_{sp} , Ecuación 13), relativa (η_{rel} , Ecuación 14), reducida (η_{red} , Ecuación 15) (Steffe, 1996).

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \left[\frac{\eta_{sp}}{C} \right] \quad [12]$$

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 \quad [13]$$

$$\eta_{rel} = \frac{\eta}{\eta_s} \quad [14]$$

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{C} \quad [15]$$

Donde, C es la concentración de la disolución (g/dL), η es la viscosidad la disolución de concentración C y η_s es la viscosidad del disolvente. En estas dos últimas se emplearían los datos obtenidos de v en los distintos ensayos. Finalmente, $[\eta]$ puede ser empleada para la obtención del peso molecular de un polímero como el quitosano gracias a la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (M-H-S) (Ecuación 16), donde relaciona dicho parámetro con el peso molecular viscosimétrico (da Costa et al., 2017).

$$[\eta] = K \cdot M_v^\alpha \quad [16]$$

Donde, K y α son parámetros adimensionales denominados constantes viscosimétricas asociados a la relación existente entre el disolvente empleado y el polímero estudiado, así como, a las propiedades fisicoquímicas de este. Con el cómputo total de las relaciones entre la viscosidad cinemática y la intrínseca se puede obtener esta última mediante extrapolación gráfica de distintos modelos (da Costa et al., 2017). En el presente TFM se emplearán de manera conjunta los modelos de Huggins [Ecuación 17 (Huggins Vol & Maurice Huggins, 1942)] y Kraemer [Ecuación 18 (Kraemer & Du, 1938.)] y, por otro lado, el modelo de Fedors [Ecuación 19 (Fedors, 1979)].

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + K' \cdot [\eta]^2 \cdot C \quad [17]$$

$$\frac{\ln(\eta_r)}{C} = [\eta] + K'' \cdot [\eta]^2 \cdot C \quad [18]$$

$$\frac{1}{2 \cdot (\eta_r - 1)} = \frac{1}{C \cdot [\eta]} - \frac{1}{C_{max} \cdot [\eta]} \quad [19]$$

Donde, K' y K'' son las constantes adimensionales de los modelos de Huggins y Kraemer y C_{max} se corresponde con la concentración máxima de polímero en la disolución dentro del régimen diluido, siendo este último concepto muy importante a la hora de aplicación de dichos modelos. Esto es así porque realmente en la viscosimetría se está valorando el volumen hidrodinámico de la cadena polimérica que se relaciona directamente con su tamaño y la viscosidad intrínseca y para hacerlo correctamente es necesario que no existan interacciones intramoleculares (Doderó et al., 2020). Por tanto, los tres modelos han de ser aplicados con disoluciones que se encuentren dentro del régimen diluido (da Costa et al., 2017). Sin embargo, el modelo de Fedors permite que el sistema se encuentre en el régimen semi-diluido siempre y cuando la viscosidad relativa se encuentre en el rango entre 1 y 100 (Fedors, 1979).

Cabe destacar, que es posible estudiar la bondad de la elección del disolvente empleado con el polímero, para ello se han de cumplir las siguientes premisas (da Costa et al., 2017).

- $K' < 0,5$ y $K'' < 0$ verifica la dificultad para la interacción entre cadenas del mismo polímero y una buena interacción entre el disolvente y la cadena molecular.
- $K' - K'' < 0,5$ verifica el carácter soluble del polímero en el disolvente evitando la interacción entre moléculas.

2.5.2.2 Reometría

Los estudios de reometría se realizan en instrumentos rotacionales, al contrario que en los estudios viscosimétricos, se pueden obtener datos de propiedades reológicas con dependencia del tiempo y no solo valores de viscosidad. En la Figura 14 se puede observar los distintos instrumentos rotacionales empleados en ensayos de reometría. En el caso del presente TFM se seleccionó el plato paralelo (Steffe, 1996).

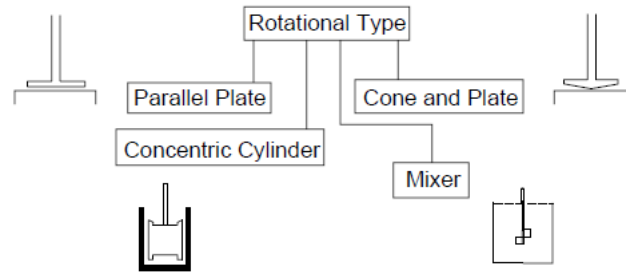


Figura 14. Tipos de instrumentos para ensayos de reometría. Fuente (Steffe, 1996)

Las respuestas generadas en los estudios de reometría se encuentran entre dos comportamientos; uno que describe el comportamiento ideal de los líquidos (viscoso) y otro el ideal de los sólidos (elástico). Por tanto, las muestras que se encuentren entre dichos extremos tendrán ambos comportamientos siendo uno predominante sobre otro, es decir, se trata de un material con carácter viscoelástico (Mezger, 2006).

Existen dos tipos de ensayos diferentes: rotacionales y oscilatorios. El primero de ellos se realizan con una velocidad angular constante, son usados para determinar los comportamientos de los líquidos ideales. Los más representativos dentro de este grupo de ensayos son las curvas de flujo, donde se estudia la viscosidad frente al esfuerzo de cizalla. Por otro lado, se encuentran los ensayos oscilatorios, los cuales son objeto de estudio en el presente TFM. En este caso los ensayos se llevan en condiciones variables de deformación (γ) o esfuerzo cortante (σ) de manera armónica (senoidal). Se emplean para estudiar el carácter viscoelástico de los materiales. En lo referente a oleogeles son idóneos ya que permiten el estudio de estructuras internas, como puede ser la red conformada por el quitosano (Steffe, 1996).

Para explicar la variación armónica de la deformación o esfuerzo cortante sobre la muestra es necesario atender al esquema que forman los platos paralelos, donde el material se dispondrá en el espacio comprendido entre los dos. El de abajo no contará con movimiento (estático), mientras que el superior cuenta con movilidad en el plano horizontal (Figura 15). La distancia entre platos, se denomina gap (h). Cuando el ensayo se inicia y el plato superior se mueve produce esfuerzo de cizalla sobre la muestra la cual mostrará cierto ángulo de deflexión (ϕ). En este instante se han de cumplir dos hipótesis (Mezger, 2006; Steffe, 1996).

- La deformación que experimenta la muestra ha de ser uniforme en todos sus puntos.
- La muestra no sufre fenómenos de deslizamiento en los puntos de contacto con los planos.

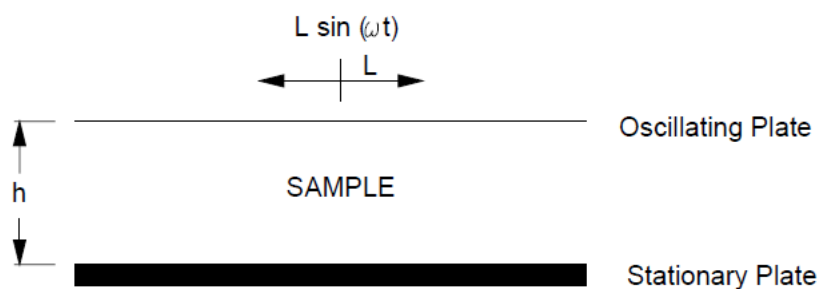


Figura 15. Modelo de platos paralelos. Fuente (Steffe, 1996)

Si se verifican estos dos supuestos, la deformación que sufre la muestra se corresponde con la funcional senoidal presentada en la Ecuación 20.

$$\gamma(t) = \gamma_A \cdot \text{sen}(\omega \cdot t) \quad [20]$$

Donde, γ_a se corresponde con la amplitud de la función que a su vez se corresponde con la deformación (%) y ω es la velocidad angular (rad/s) (Mezger, 2006). Por otro lado, cuando el material de estudio se comporta de manera viscoelástica, se puede definir la función senoidal referente al esfuerzo cortante de respuesta (Ecuación 21) (Steffe, 1996).

$$\sigma(t) = \sigma_A \cdot \text{sen}(\omega \cdot t + \delta) \quad [21]$$

Donde, σ_a se corresponde con la amplitud de la función mientras que δ se corresponde con el ángulo de desfase referente a la función de la deformación. Otra forma de expresar la función de respuesta (esfuerzo cortante) debido a una deformación se puede expresar mediante la Ecuación 22. Donde G'' se corresponde con el módulo viscoso (Pa, Ecuación 23) y G' el módulo elástico (Pa, Ecuación 24) siendo estos dos parámetros los resultados principales que se pueden extraer de los ensayos oscilatorios. (Steffe, 1996) .

$$\sigma = G' \cdot \gamma + \left(\frac{G''}{\omega} \right) \cdot \dot{\gamma} \quad [22]$$

$$G'' = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \cdot \text{sen}(\delta) \quad [23]$$

$$G' = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \cdot \cos(\delta) \quad [24]$$

La Ecuación 24 representa el módulo elástico (G'), que se puede definir como el parámetro que mide la energía almacenada por el material durante la deformación y determina el comportamiento elástico. La energía acumulada podrá ser devuelta completamente (comportamiento elástico ideal) volviendo al estado inicial del material o parcialmente (no ideal). Por otro lado, la Ecuación 23 representa al módulo viscoso (G'') este se define como el parámetro que mide durante el proceso de esfuerzo cortante la energía empleada en deformar el material, siendo en todo caso perdida al final. Por tanto, G'' engloba el fenómeno del comportamiento viscoso de un material representando la deformación irreversible que sufren. Como anteriormente se comentó, los materiales reales después de una deformación generan una respuesta respecto al esfuerzo cortante que siempre contará con la componente correspondiente al módulo elástico y otra al viscoso. El comportamiento predominante del material se corresponderá con el módulo con mayor valor (Mezger, 2006).

Los dos módulos característicos se relacionan mediante la Ecuación 25, que se denomina factor de amortiguamiento (*damping factor*). Este permite conocer el carácter viscoelástico del material, así como, que comportamiento predomina (elástico o viscoso) atendiendo a su valor (Mezger, 2006; Steffe, 1996). Pudiéndose dar los siguientes casos:

- $\tan(\delta) > 1$: implica que G' es menor a G'' , por tanto, el carácter viscoso es el predominante. Si el material es viscoso ideal, el valor del factor de amortiguamiento obtendría valores de ∞ .

- $\tan(\delta) = 1$: describe que ambos módulos tienen el mismo valor, indicando un punto de gel. Este fenómeno se da cuando el material está sufriendo un cambio de comportamiento.
- $\tan(\delta) < 1$: implica que G' es mayor a G'' , por tanto, el carácter elástico es el predominante. Si el material fuese elástico ideal, el valor del factor de amortiguamiento sería de 0.

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad [25]$$

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

El objetivo principal que persigue el presente TFM es estudiar la influencia del uso de quitosano de bajo o alto peso molecular como gelificante estabilizado con un aldehído vía reacción de Schiff en la elaboración de oleogeles de aceite de oliva mediante el método indirecto.

El estudio del efecto sobre el oleogel en el uso de un quitosano u otro se basará en el estudio a nivel microscópico de las emulsiones precursoras y los parámetros característicos de los oleogeles: color, textura, retención de aceite y sus características reológicas.

Para lograr el objetivo principal se definen los siguientes objetivos específicos:

1. Obtención del peso molecular viscosimétrico para los quitosanos de bajo y alto peso molecular.
2. Estudio de la influencia del peso molecular y el grado de desacetilación de cada quitosano en su solubilidad.
3. Estudio de las reacciones de Schiff entre el quitosano y la vainillina, el benzaldehído y el 4-hidroxibenzaldehído y su influencia sobre la cinética de secado y capacidad de retención de aceite del oleogel.
4. Estudio del efecto de la concentración del quitosano de bajo (3, 2 y 1%) y alto (1, 0,9 y 0,8%) peso molecular sobre producto final y sus características.
5. Evaluación de la influencia de la relación O/W (60/40, 55/45 y 50/50) en los oleogeles y sus parámetros característicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

4 MATERIALES Y MÉTODOS

En el presente apartado se describirán todos los materiales y metodologías seguidas en la parte experimental del actual TFM. Finalmente, se expondrá el diseño experimental del trabajo donde se indicarán las variables que fueron estudiadas en la elaboración de los oleogeles: concentración de CH en el oleogel ([CH]) y la relación másica entre la fase dispersa (aceite) y la fase continua (acuosa) con respecto al total de la emulsión, conocida como O/W por sus siglas en inglés.

Por otro lado, también se estudiará la variable cualitativa, peso molecular del CH (bajo o alto). De esta manera se estudiarán dos variables cuantitativas como factores independientes para cada tipo de CH frente a una serie de parámetros dependientes que permiten caracterizar los oleogeles como son microscopia de la emulsión, reología tanto de la emulsión como del oleogel, propiedades texturales, color y la capacidad de retención de aceite. Más adelante se desarrollarán la metodología analítica empleada para obtener los valores de dichos factores dependientes. Cabe destacar que cada tipo de CH conformará un sistema de estudio independiente frente al otro.

Los CH empleados en el presente TFM fueron caracterizados mediante metodología de viscosimetría capilar, para obtener el peso molecular de los polímeros y poderlo relacionarlo con sus propiedades y las del oleogel.

4.1 Reactivos

Los reactivos empleados durante el presente TFM han sido:

- Dos tipos de quitosanos clasificados según su peso molecular; bajo (85 % GD, 96 mPa·s), alto (79 % GD y 1325 mPa·s) suministrados por Sigma Aldrich Inc. USA.
- Tres aldehídos distintos para su uso en las reacciones de base de Schiff: benzaldehído (≥ 99 %), vainillina (≥ 99 %) y 4-hidroxibenzaldehído (98 %) suministrados por Sigma Aldrich.USA.
- Ácido acético glacial ($\geq 99,7$ %) suministrado por PanReac AppliChem ITW Reagents, Monza, Italia.
- Etanol (96 % v/v) suministrado por Scharlau, Barcelona, España.
- Acetato de sodio (≥ 90 %) suministrado por PanReac AppliChem ITW Reagents Monza, Italia.
- Aceite de oliva virgen extra (Aceites Abril, Ourense, España).

4.2 Preparación de disoluciones

Las disoluciones empleadas en el presente TFM se usaron para la caracterización del CH (viscosimetría capilar) o la elaboración de oleogeles. Para la obtención de disoluciones con concentración exacta, se calculó la humedad y las impurezas contenidas en los distintos CH empleados.

4.2.1 Determinación de la humedad del quitosano

Se empleó un método gravimétrico, donde la muestra (0,5 g), de cada uno de los CH se pesaron en una balanza de precisión $\pm 0,1$ mg (A&D Weighing, HR-120, Tokio, Japón) e introdujeron en una estufa de vacío (Thermo Scientific, Heraeus Vacutherm VT 6025, MA, USA) durante 24 horas a una temperatura de 70 °C y 100 mbar de vacío hasta llegar a un peso constante ($< 0,05$ %

de humedad). Posteriormente, las muestras se atemperaron en un desecador para finalmente pesarlas y obtener el porcentaje de humedad siguiendo la Ecuación 26.

$$X\% = 1 - \frac{m_f}{m_0} \quad [26]$$

Donde, m_0 es el peso inicial de la muestra de CH y m_f es el peso de la muestra después del secado.

4.2.2 Determinación de las impurezas del quitosano

Para cada tipo de CH empleado se obtuvieron las impurezas. Para ello cada disolución fue filtrada a vacío en un sistema de filtro Buchner-kitasato, siendo el medio filtrante papel de filtro (Whatman 0,45 μm) previamente deshumidificado y pesado. El contenido retenido (impurezas) en el papel, se introdujo en la estufa de vacío durante 24 h a 70°C y 100 mbar de vacío y finalmente se llevó hasta peso constante. Se calculo el porcentaje de impurezas del quitosano mediante la Ecuación 27.

$$\%impurezas = 1 - \frac{q_f}{q_o \cdot (1 - X\%)} \quad [27]$$

Donde, q_o es la masa de quitosano empleada en la disolución y q_f es la masa final retenida en el papel de filtro después del secado.

En los posteriores apartados, se abordará de una manera más detallada como ha sido la elaboración de cada tipo de disolución dependiendo del método experimental realizado.

4.3 Viscosimetría capilar

La obtención del peso molecular viscosimétrico se basa en los fundamentos teóricos desarrollados en el apartado 2.5.2. Con el fin de obtener la viscosidad cinemática de las distintas diluciones de CH preparadas se empleó un viscosímetro de Ubbelohde (AVS 350, Schott-Geräte, GmbH, Alemania). Equipado con un baño termostático con agitación (P Selecta, Digiterm 100, Barcelona, España) para mantener una temperatura constante durante el ensayo. Se emplearon dos tipos de tubos capilares (Xylem Analytics Germany GmbH, I o 0C, Washington DC, USA). Se puede observar la totalidad del montaje experimental en la Figura 16.

Los distintos capilares se reciben con certificados de calibración donde se especifica el valor de la constante, K. Se muestra en la Tabla 1 las constantes de los capilares según su tipo, empleadas para el cálculo de la viscosidad cinemática siguiendo la Ecuación 11.

Tabla 1. Constantes del capilar Ubbelohde empleadas

Tipo I	0,00990711 mm ² /s ²
Tipo I	0,00983600 mm ² /s ²
Tipo 0C	0,00329600 mm ² /s ²

De acuerdo con el manual del fabricante los capilares empleados constan de 4 partes diferenciadas: tubo con capilar, tubo de ventilación, tubo de llenado y reservorio, a mayores cuenta con dos marcas que delimitan el volumen de paso del líquido en la prueba, es decir, controlan el tiempo que tarda la muestra en pasar a través de la bola de medición, siendo este el dato resultado de la prueba.

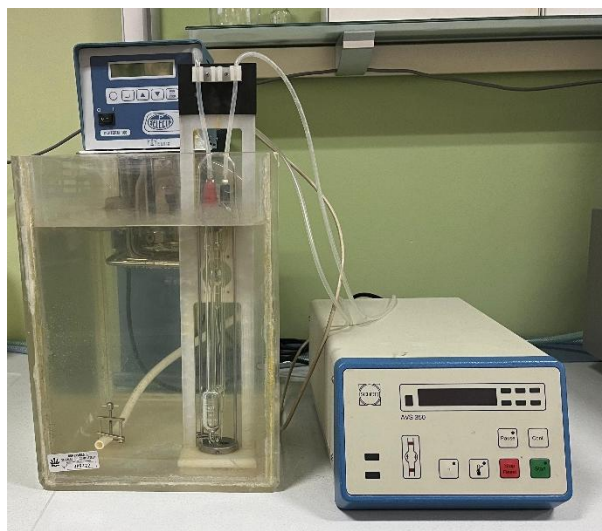


Figura 16. Montaje experimental para los ensayos de viscosimetría capilar

Para cada tipo de CH se realizan 6 ensayos, en cada uno, se tomaron 5 datos de tiempo que permiten calcular el peso molecular viscosimétrico. Además de las 4 diluciones realizadas por cada disolución madre también se estudió el tampón solo y la disolución madre de 1 g/L.

Las disoluciones madres de los distintos CH se realizaron en un disolvente específico que se encuentra relacionado con las constantes de la ecuación de M-H-S tal y como se especificó en el apartado 2.5.2.1. En el caso del presente TFM se seleccionaron los valores para estas constantes siguiendo la metodología propuesta por (Rinaudo et al., 1993), que indican el uso de tampón ácido acético (0,3 M) / acetato de sodio (0,2 M). En función del CH empleado los valores de las constantes serán diferentes debido al GD. Una vez preparado el tampón se comprueba su pH, mediante un pH-metro (Hanna Instruments, HI2002, Woonsocket RI, USA). El pH del tampón para las concentraciones de ácido y sal anteriormente indicadas fue de 3,89. Con este tampón se preparó para cada CH una disolución madre de 1 g/L.

Por otro lado, dependiendo del CH empleado el método de disolución varió ligeramente tal y como se explica a continuación:

- La disolución del CH-LW se llevó a cabo durante 2 horas a 50 °C y a una velocidad de agitación de 500 rpm. Posteriormente, se filtró y se determinó el contenido en impurezas descrito con el fin de corregir la concentración final de la disolución madre. Esto es especialmente importante ya que el método de viscosimetría capilar es muy sensible a pequeños cambios en la concentración de las muestras.
- La disolución del CH-HW se llevó a cabo durante 24 horas, añadiendo en la primera hora únicamente la mitad del CH necesario a disolver a 70 °C y bajo una agitación a 500 rpm. Transcurrido la primera hora se adicionó el resto del CH necesario también disolviéndose en las mismas condiciones de agitación y temperatura. Al final de las dos primeras horas la temperatura se bajó hasta 50 °C, manteniendo la agitación de 500 rpm hasta llegar a cumplir 24 horas. Finalmente, se filtró y conocido el dato de impurezas se corrigió la concentración. Para aumentar la velocidad de filtrado (cuello de botella del proceso) ya que las disoluciones de CH son más viscosas a medida que aumenta el PM, se incrementó la temperatura de la disolución a los 70°C durante los primeros 15 minutos de filtrado.

De forma que la disolución pueda fluir más rápido a través del filtro, acortándose en gran medida esta etapa (~ 30 minutos).

Finalmente, para aplicar el método de viscosimetría capilar se prepararon las diluciones a partir de la disolución madre en volúmenes de 25 mL, siendo las concentraciones finales las mostradas en la Tabla 2.

Según el manual de instrucciones del viscosímetro de Ubbelohde la elección de un capilar u otro se basa en el ajuste de Hagenbach-Couette el cual indica si la incertidumbre de la corrección de la energía cinética sobre el de un tiempo obtenido es asumible o no. En el caso del capilar Tipo I cualquier dato de tiempo menor a 90 segundos no debe ser seleccionado mientras que para el Tipo 0C se considerará un mal dato por debajo de 160 segundos. Esto indirectamente, restringe el uso del capilar Tipo I con mayor diámetro y por tanto mayor velocidad de paso a través de él a disoluciones más viscosas y el capilar Tipo OC con menor diámetro a disoluciones menos viscosas. En la Tabla 2 se detalla para cada dilución y tipo de quitosano el capilar empleado.

Tabla 2. Relación de las concentraciones estudiadas para cada CH y el tipo de capilar empleado

Bajo peso molecular		Alto peso molecular	
Solo tampón	Tipo 0C	Solo tampón	Tipo 0C
0, 019 g/dL	Tipo 0C	0,0032 g/dL	Tipo I
0,038 g/dL	Tipo 0C	0,0064 g/dL	Tipo I
0,057 g/dL	Tipo I	0,0097 g/dL	Tipo I
0,076 g/dL	Tipo I	0,012 g/dL	Tipo I
0,096 g/L	Tipo I	0,016 g/dL	Tipo I

Los coeficientes empleados en de la ecuación de M-H-S se corresponden con los obtenidos por (Rinaudo et al., 1993), se muestran en la Tabla 3. Los valores se seleccionaron teniendo en cuenta el GD de los CH empleados (CH-LW: 85 % y CH-HW: 79%) atendiendo a su cercanía con los empleados por estos autores.

Tabla 3. Coeficientes seleccionados para la aplicación de la Ecuación de M-H-S. Fuente (Rinaudo et al., 1993)

GD (%)	K	α
79	0,076	0,76
88,5	0,074	0,76

4.4 Producción de oleogeles

En el presente TFM, se han utilizado como base la metodología llevada a cabo por los autores (Brito et al., 2022; Xu et al., 2018; Zhu et al., 2024) con una serie de cambios para adecuarlos al uso de distintos tipos de CH.

4.4.1 Disoluciones para la obtención de oleogeles

Para la producción de oleogeles son necesarias dos disoluciones diferentes; la fase continua (acuosa) con el gelificante (CH) y, por otro lado, el aldehído disuelto en etanol ya que los tres aldehídos estudiados (BH, VA y 4H) poseen baja solubilidad en agua (6,95 g/L a 25 °C; 9 g/L a 20 °C y 13,8 g/L a 30 °C, respectivamente).

Las disoluciones se prepararon de la misma manera que para la determinación del peso molecular por viscosimetría capilar, solamente variando el disolvente empleado.

- Para la disolución del CH-LW el disolvente empleado fue ácido acético al 1% (p/p). El protocolo de disolución ya fue previamente descrito (apartado 4.3). Empleando este procedimiento el CH-LW después de su disolución no fue posible detectar impurezas.
- Para la disolución del CH-HW fue necesario disminuir el pH del medio. Para ello se aumentó la concentración de ácido acético al 5%. La razón se debe al aumento de los grupos amino en la larga cadena del CH-HW lo que hace necesaria una mayor concentración de protones. El protocolo de disolución seguido ya fue descrito previamente (apartado 4.3).

La cantidad de CH añadido en cada disolución varió en función de la concentración deseada en el oleogel. En la Tabla 4, se muestran las distintas disoluciones realizadas (concentración de CH (%)) en función del tipo de CH, concentración en el oleogel final ([CH]) y la relación O/W, de acuerdo con el diseño experimental descrito en el apartado 5.2.2.

Tabla 4. Concentración de CH (%) en las disoluciones realizadas para cada tipo de oleogel estudiado

[CH] O/W	CH-HW			CH-LW		
	0,8 %	0,9 %	1 %	1%	2%	3%
60/40	1,47	-	1,82	1,82	-	5,70
55/45	-	1,34	-	-	3,02	-
50/50	0,98	-	1,22	1,2	-	3,80

A modo de comprobación, después de preparar las disoluciones de CH, se realizó una medida de pH de la disolución para confirmar que se encontraba por debajo de 6, para evitar la precipitación del CH tal y como se explicó en el apartado 4.3.

Las disoluciones de los aldehídos se realizaron justo antes de la formación de la emulsión con etanol al 96% y bajo agitación. Cuando se empleó la VA, se llevó a cabo la disolución en un matraz aforado ámbar, para evitar la dimerización de la VA en presencia de luz y un alcohol, que da lugar a deshidrovainillina (Havkin-Frenkel, 2018).

La cantidad en gramos de aldehído empleada en la elaboración del oleogel y, por tanto, en la disolución viene predeterminada por la masa de CH añadida, manteniéndose en todos los casos la relación 1,3 mol aldehído por mol de monómero de CH.

4.4.2 Preparación emulsiones

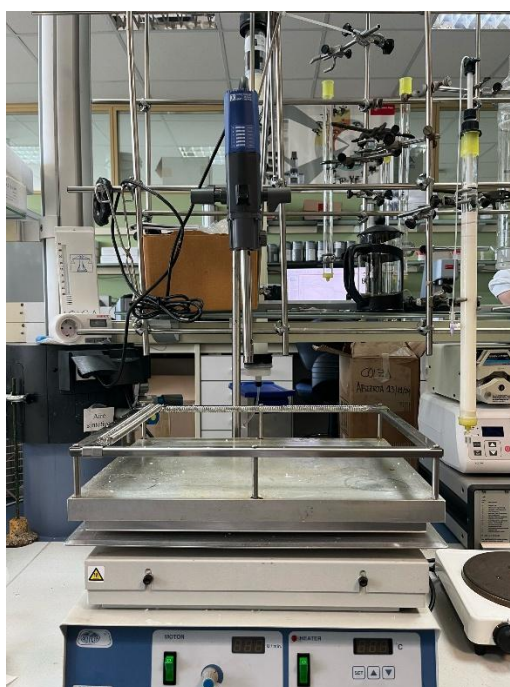
El método de obtención de oleogeles empleado en el presente TFM se denomina “*emulsion-template*”, en él es necesario la creación de una emulsión donde el gelificante hidrófilo y lipofóbico se encuentre en una fase continua (acuosa) frente a la fase dispersa aceite. Como se comentó con anterioridad la relación másica existente entre la fase dispersa y la continua respecto al total de la emulsión se denomina *oil in water*, O/W, por sus siglas en inglés. Será una de las variables objeto de estudio. Por tanto, la formulación de las emulsiones es distinta para cada sistema estudiado, sin embargo, el procedimiento para su obtención es igual.

En la Tabla 5 se muestra la composición en gramos empleada para cada tipo de emulsión realizada atendiendo únicamente a la variable O/W. Cada emulsión se realizó por triplicado.

Tabla 5. Composición másica (g) de las emulsiones estudiadas atendiendo a la variable O/W

Relación O/W	50/50	60/40	55/45
Disolución quitosano	22,5	18	20,25
Aceite	25	30	27,5
Disolución aldehído	2,5	2	2,25
Total	50	50	50

Para la elaboración de una emulsión, se precisó un montaje experimental compuesto por un agitador orbital (P Selecta, Rotaterm, Barcelona, España) que cuenta con regulación de velocidad y placa calefactora, un dispositivo de dispersión por trituración (IKA, Ultra-Turrax T 25 basic, Staufen, Alemania) y una bureta de 50 mL (Figura 17).

**Figura 17. Montaje experimental para la elaboración de emulsiones**

La preparación de una emulsión comienza con una etapa de homogeneización de la disolución de CH, para ello se dispone la masa de CH correspondiente a cada caso (Tabla 5) en un vaso de precipitados sobre el orbital a una velocidad de 150 rpm y a una trituración del Ultra-Turrax de 9500 rpm durante 30 segundos. Esta etapa es clave para obtener una correcta emulsión.

Una vez transcurrido los 30 segundos se adiciona el aceite sobre la disolución CH mediante la bureta durante 1 minutos y 10 segundos, manteniendo las mismas velocidades de agitación hasta el final del proceso. Una vez el aceite se añadió completamente se dejó emulsionar el sistema durante 3 minutos, para finalmente añadir la disolución de aldehído gracias a una pipeta Pasteur.

Con todos los componentes de la emulsión adicionados dependiendo del CH empleado el protocolo sufre una ligera variación. En el caso del CH-LW ambas agitaciones se mantuvieron hasta que se cumplieron los 8 minutos desde el principio de la adición del aceite. Por el contrario,

cuando se empleó el CH-HW el proceso de emulsión solamente duró 6 minutos desde el comienzo de la adición del aceite.

Cabe señalar que una vez añadida la disolución del aldehído el Ultra-Turrax fue movido de su posición (verticalmente) de manera continua para mejorar el proceso de emulsificación. Finalizado el tiempo de agitación asignado a cada CH ya se puede considerar el contenido del vaso de precipitados como una emulsión. Este se transvasó a un frasco ISO y se mantuvo en reposo 24 horas antes de su estudio y de la etapa de secado. Este tiempo ayuda a que el aldehído comience a reaccionar con el CH, aunque como se indicó en el apartado 2.4. la conversión de esta en presencia de agua es baja.

De forma excepcional, el sistema experimental de alto peso molecular S2A (posteriormente se desarrollará en el apartado 6.2.2) el proceso de emulsión solo duró 3 minutos debido a que se produjeron fenómenos de agregación. La diferencia de tiempos de emulsión entre CH de distintos PM se debió básicamente al rango de concentraciones empleado, la longitud de su cadena polimérica, pH y viscosidad que fomentan cambios en el potencial ζ . Este coeficiente se puede definir como la densidad de carga eléctrica de las gotas retenidas en la emulsión (Klinkesorn, 2013).

4.4.3 Secado de la emulsión

Para obtener un oleogel a partir de una emulsión es necesaria la extracción de agua para que el gelificante atrape únicamente el aceite en la red molecular. Además, en el caso del presente TFM potenciada por la reacción del aldehído con el CH. Para ello se empleó un secadero convectivo (ACS Angelantoni, Challenge 250, Massa Martana, Italia) que se muestra en la Figura 18.



Figura 18. Secadero convectivo Angelantoni Challenge 250 y disposición de las placas con emulsión durante el proceso de secado

Se dispuso de las emulsiones en placas Petri (Figura 18), en una capa de 12 mm de espesor uniforme. Para ello, es necesario conocer el volumen que debía ocupar la emulsión en la placa de Petri y la densidad de las emulsiones para calcular fácilmente la masa a añadir. El espesor de la emulsión en la placa es un parámetro crítico en la cinética de secado, tal y como describen los autores (Lama et al., 2024).

Se obtuvo la densidad de las emulsiones cuando se empleó un distinto gelificante (CH-LW o CH-HW). Dada la alta viscosidad de algunas de las emulsiones, se estimó la densidad con una exactitud y repetibilidad suficiente empleando una pipeta repetidora Ripette ® (Figura 19), que permite adicionar de manera repetida un mismo volumen sin la necesidad de ser recargada después de cada uso. Por tanto, con un simple método gravimétrico se pudo relacionar con el volumen y obtener la densidad. Se realizó el proceso por triplicado para minimizar el error en la medición.



Figura 19. Piperta repetidora Ripette ®. Fuente (Scharlab, 2025)

En total para asegurar una suficiente producción de oleogeles para su correcto estudio se tomaron 90 g por emulsión en placas de Petri. En la Tabla 6 se muestra la masa añadida a cada tipo de placa Petri usada (de distinto diámetro (Φ)) para mantener el espesor de la capa de emulsión y las distintas densidades calculadas.

Tabla 6. Masa de emulsión (g) por placa según diámetro (Φ) y densidades para cada CH

	CH-LW	CH-HW
$\Phi = 96 \text{ mm}$	8,26	8,21
$\Phi = 110 \text{ mm}$	10,84	10,8
Densidad (g/L)	951,19	946,18

Las condiciones del secado fueron de 70 °C con una humedad relativa del 10% y una velocidad de 2 m/s (Lama et al., 2024). El tiempo total de secado ascendió a 3 horas. Este valor se obtuvo después de una serie de estudios preliminares realizados a los sistemas del diseño experimental, esto será abordado en detalle en el apartado 6.1.3.1.

Para la obtención de los datos necesarios para el estudio de las cinéticas de secado de las distintas emulsiones se realizó durante el secado (a los sistemas de estudio que aplicase) un método gravimétrico donde de manera alterna se extraía una placa (de un total de dos estudiadas) del secadero cada 5 minutos para ser pesada. Cabe destacar que el primer dato se obtuvo una vez transcurridos 7 minutos desde la introducción de las placas en el secadero para alcanzar las condiciones de estado estacionario. De esta manera los distintos datos de peso permitirán conocer la evolución del contenido en humedad de las emulsiones a lo largo del tiempo. Por otro lado, los datos obtenidos una vez transcurrido una hora de secado, se registraron cada 30 minutos ya que la cinética de secado se ralentiza.

El secado de la emulsión ya convertida en oleogel se consideró finalizado cuando el contenido en humedad de cada placa fuese igual o menor al 2% siguiendo la Ecuación 28 y constante al menos durante un periodo de 30 minutos dentro del secadero. Cabe destacar que previamente se pesaron todas las placas Petri vacías para saber en todo momento cual es el peso real de la emulsión a lo largo del tiempo del ensayo.

$$X (\%) = \frac{m_i - m_s}{m_s} \cdot 100 \quad [28]$$

Siendo,

- m_i : la masa de emulsión contenida en la placa en un instante de tiempo i .
- m_s : la masa en base seca teórica de la emulsión contenida en la placa. Este dato se puede obtener empleando la Ecuación 29.

$$m_s = m_i \cdot (1 - W) \quad [29]$$

Donde, W es la fracción másica de los componentes volátiles en la emulsión (agua, ácido acético y etanol). Para este cálculo se despreció la cantidad de aceite que pueda volatilizarse ya que será prácticamente nulo debido a la temperatura de secado (70°C).

Una vez alcanzado el secado deseado las placas fueron retiradas del secadero convectivo y envueltas en una película de propileno de uso alimentario para evitar la absorción de humedad del ambiente. Las placas se dejaron reposar durante 24 h antes de la etapa de triturado a temperatura ambiente y en ausencia de luz con el fin de evitar la posible oxidación del aceite.

4.4.4 Preparación del oleogel

El último paso en la preparación de un oleogel es el proceso de triturado. Esta etapa consiste en extraer el oleogel seco formado en las placas con la ayuda de una espátula y depositarlo en un vaso de precipitados para someterlo a una etapa de homogeneización empleando el Ultra-Turrax. La trituración se llevó a cabo a 9500 rpm en periodos de 30 segundos, hasta que se observa que el oleogel tiene una apariencia uniforme y sin grandes masas particuladas. Se emplearon periodos cortos de 30 segundos ya que si fueran mayores se podría romper la estructura formada por el CH y el aldehído debido al aumento de temperatura derivado de la agitación y al propio esfuerzo de cizalla al que se vería sometido.

Con la finalidad de conservación y posterior estudio, se empleó una cubitera donde se disponen los oleogeles en cubos de 5 g cada uno, tal y como se muestra en la Figura 20. Esta cubitera se cubre con film de plástico y se deja reposar en nevera ($\sim 4^\circ\text{C}$) durante 24 h antes de cualquier ensayo. Con esto se consigue evitar la oxidación del aceite y mejorar el ensamblaje de la red molecular del oleogel con el objetivo de potenciar las propiedades del oleogel.



Figura 20. Disposición de los oleogeles terminados en cubiteras

La realización de todas las etapas necesarias para la producción de cada sistema de estudio implicó un total de cuatro días consecutivos.

5 Metodología analítica

A continuación, se explicará la metodología analítica seguida para el estudio de los parámetros característicos de los oleogel.

5.1 Caracterización de oleogel

La caracterización de los oleogel es un proceso crucial a la hora de valorar las aplicaciones que podrá tener el producto. Mediante este análisis y estudio del oleogel es posible obtener las propiedades y comprender su comportamiento. Esta información aparte de ser necesaria para la formulación de productos, también lo es para seguir innovando y mejorando las propiedades del oleogel.

El estudio de un oleogel destinado a la industria alimentaria ha de tener en cuenta factores como: propiedades fisicoquímicas, sensoriales y organolépticas, estabilidad temporal del oleogel y frente la oxidación. Estos factores han de ser estudiados mediante ensayos que verifiquen su comportamiento estructural y microestructural, reológico, de estabilidad y funcionalidad (Perça-Crişan et al., 2023).

5.1.1 Textura

La textura en alimentos se puede definir como la respuesta generada por los distintos estímulos físicos sobre los sentidos táctiles o, en otras palabras, la respuesta generada por el cuerpo humano cuando existe contacto con un alimento (Bourne, 2002).

El estudio de la textura del oleogel se realiza según un análisis TPA (*Texture Profile Analysis*). Este puede ser definido como la recreación de dos masticaciones, imitándose así la acción de una mandíbula, sobre un trozo de muestra de tamaño semejante a un bocado de comida. Del ensayo es posible extraer una curva de variación de la fuerza con el tiempo. De esta curva se derivan el cálculo de una serie de parámetros los cuales pueden ser extrapolados a la recepción sensorial del alimento por una persona. En la Figura 21 se puede observar una curva fuerza-tiempo típica extraída de un ensayo TPA, así como el conjunto sus parámetros texturales más importantes (Bourne, 2002).

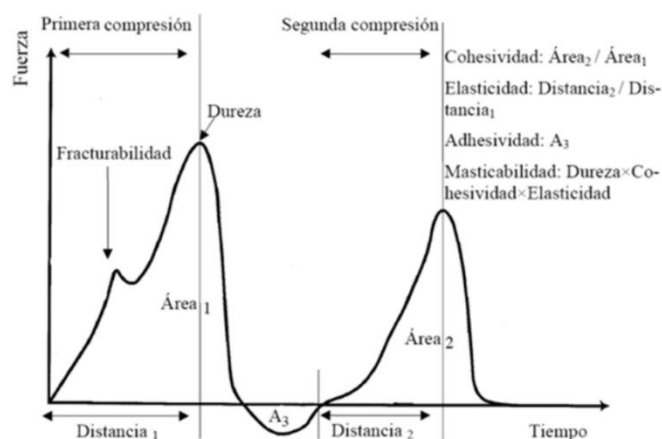


Figura 21. Esquema de la curva fuerza - tiempo derivada de un ensayo TPA. Fuente (Vela, 2020)

A partir de la Figura 21, pueden definir los parámetros texturales a estudiar de la siguiente manera (Bourne, 2002):

- Dureza: se corresponde con la fuerza máxima a la que se somete a la muestra en el primer mordisco (área 1). La dureza se puede definir como la fuerza necesaria para deformar el alimento (Talens Oliag, 2017).
- Fracturabilidad: se corresponde con el primer máximo (relativo) destacado en la primera masticación (área 1). La fragilidad se define como la fuerza necesaria para romper un alimento en trozos (Talens Oliag, 2017).
- Cohesividad: se corresponde con la división de los valores de Área 2 entre Área 1. La cohesividad se define como el grado de deformación al que puede ser sometido un alimento antes de romperse (Talens Oliag, 2017).
- Adhesividad: se corresponde con el valor del Área 3. Este parámetro se define como la fuerza necesaria para lograr separar un alimento de la superficie en la que se encuentra en contacto (Talens Oliag, 2017).
- Elasticidad: se corresponde con la altura que recupera el alimento en el tiempo comprendido desde que finaliza la primera mordida y comienza la segunda. Se puede calcular como $Distancia\ 2 / Distancia\ 1$ (Talens Oliag, 2017).

Por último, se pueden calcular dos parámetros que derivan de los parámetros iniciales obtenidos, como son (Bourne, 2002):

- Gomosidad: se obtiene como el producto de los valores de dureza y cohesividad.
- Masticabilidad: se calcula mediante el producto de la gomosidad por la elasticidad.

El ensayo TPA se llevó a cabo en un analizador de textura (Stable Micro System, TA.XTPlus, Surrey, UK) (Figura 22) configurado con el Software Exponent Connect (Stable Micro System, Surrey, UK). La metodología y parámetros para el análisis se basa en los estudios (Brito et al., 2022) con ligeras modificaciones para adaptarlo a los sistemas de estudio.

Para cada sistema se emplearon 3 cubos de oleogel de 5 g con un diámetro de 19,507 mm y una altura variable que fue medida en cada caso empleando un calibre, siendo este dato introducido en el *software* para cada ensayo.

Se empleó una sonda de 25 mm de diámetro de aluminio (P/25). Las especificaciones de esta sonda permiten una compresión máxima equivalente a 100 kg y una tensión de 10 kg, siendo este tipo de sondas ideales para materiales semi-sólidos, de acuerdo con la guía proporcionada por el portal web de (Stable Micro Systems, 2025).

El software fue configurado para que la distancia de compresión sobre la muestra se corresponda con el 50% del total de la altura del oleogel, con unas velocidades: pre-ensayo 2mm/s, ensayo 1 mm/s y post-ensayo 2 mm/s. La fuerza de activación fue de 0,1 N. El software *Exponent Connect* registra durante el ensayo las curvas de tensión-deformación, posteriormente, para transformar las gráficas en resultados numéricos cuantificables, empleando una MACRO preinstalada, es decir, una acción preconfigurada del programa que ejecuta diversos cálculos simultáneamente para otorgar los resultados deseados.



Figura 22. Analizador de textura TA.XTPlus

5.1.2 Microscopía

El estudio de microscopía únicamente fue posible de aplicación sobre la emulsión, dado a que en el oleogel no era posible la visualización de ninguna estructura con la configuración de la tecnología disponible.

Los parámetros obtenidos fueron el tamaño de gota retenida (aceite) y el número de gotas retenido (NG). Con estos parámetros es posible predecir la calidad del oleogel, ya que existe una relación directa de estos dos valores con las características del oleogel final (OBC, dureza etc.). Este aspecto será tratado en mayor extensión en el apartado 6.2.

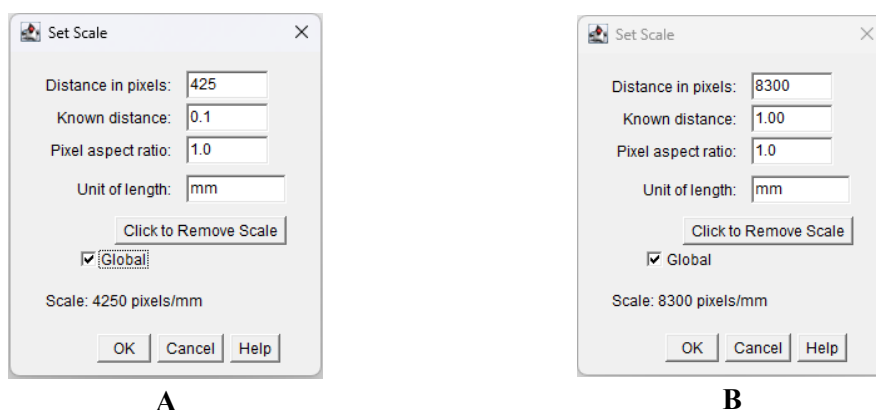
Se empleó un microscopio óptico (Zeiss, Axioskop 40, Jena, Alemania, Figura 23) en conexión con una cámara digital de 20 MP (Kern Optics, ODC 841, Ebingen, Alemania) para capturar las imágenes estudiadas. Para su obtención, se emplearon aumentos ópticos x10 y x20, sobre una muestra de emulsión dispuesta en un porta muestras y tapado por un cubreobjetos. Para conseguir un estudio representativo por cada emulsión estudiada se utilizaron seis muestras y se capturaron un total de cuatro fotos por porta muestras. Las emulsiones fueron estudiadas veinticuatro horas después de su preparación.



Figura 23. Microscopio óptico Axioskop 40

Se realizó el tratamiento de las imágenes obtenidas mediante el uso del Software libre ImageJ (National Institutes of Health, USA). Este programa analiza las gotas o partículas contenidas en la imagen con el fin de tener diversos resultados como el tamaño de gota (área, perímetro etc.) y el recuento total de gotas. Se aplicó el siguiente procedimiento para obtener los distintos resultados.

En primer lugar, para la estudiar los parámetros geométricos de las gotas, es decir, aquellos asociados a una unidad de longitud, fue necesario calibrar la escala de imagen. Para ello se emplea la distancia equivalente a cierto número de píxeles dado un aumento. En la Figura 24 se pueden observar el calibrado de escalas para los aumentos usados en el presente TFM x10 y x20.



A

B

Figura 24. Menú para el calibrado de imágenes ImageJ. A. Aumento x10, B. Aumento x20

El empleo de un aumento u otro viene determinado por la calidad de las imágenes obtenidas, es decir, para conseguir una imagen susceptible de ser estudiada las gotas han de estar en un único plano y tener cierto tamaño para que el software sea capaz de tratarlas. En la Figura 25 se puede observar una imagen de un sistema (en concentro para S1B).

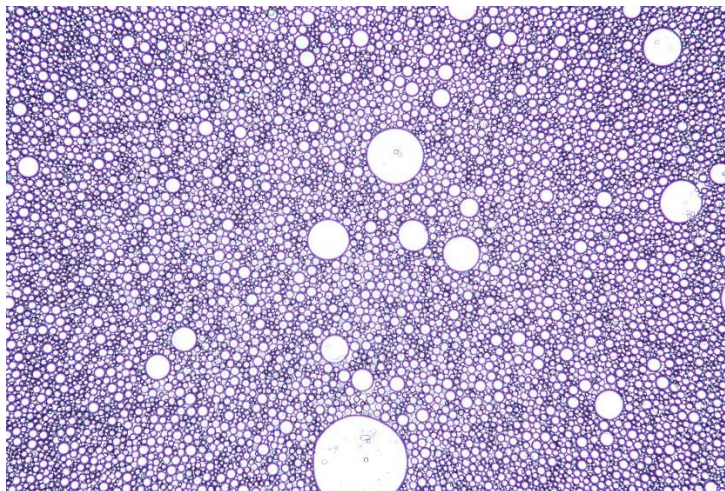


Figura 25. Imagen obtenida de la emulsión del sistema S1B con un aumento x10

Los siguientes tratamientos se realizaron para mejorar el reconocimiento de las gotas por parte del software. En primer lugar, se variaron los parámetros de iluminación y sombras para aumentar el contraste de la imagen, y, por tanto, entre las gotas retenidas y la fase acuosa. El formato de salida de las fotografías es RGB, es decir, a color, pero el programa ImageJ únicamente analiza las imágenes en un formato de blanco y negro. Por tanto, se migró las imágenes a un formato 8-bit, que permite su visualización en una escala de grises, blanco y negro.

Dado que las fotografías tienen mucho ruido, se aplicó un filtro de banda, que suaviza la imagen, es decir, filtra las grandes y pequeñas estructuras corrigiendo el sombreando para aplanarlas con respecto al total de la imagen. Este filtrado no suprime ningún elemento de la imagen, por tanto, las características de las gotas permanecen inalteradas (ImageJ Wiki, 2025). En la Figura 26 se muestra la configuración empleada para la aplicación del filtro de Banda para el cómputo total de las imágenes.

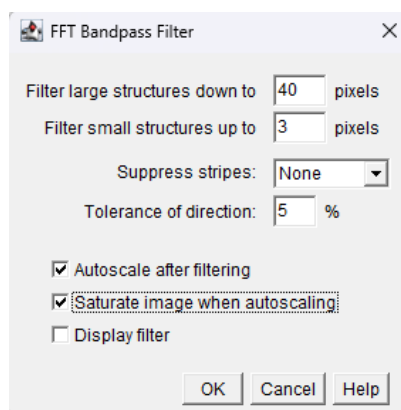


Figura 26. Configuración del Filtro de Bandas para las imágenes obtenidas

Con la imagen aplanada cromáticamente y en una escala de grises (Figura 27) se procede a la aplicación del *thresholding* o umbralización. Esta herramienta divide la totalidad de los píxeles existentes en la imagen en 2 grupos, de tal manera, que el programa pueda distinguir 2 zonas. Esto se aplicará para que el programa pueda reconocer las gotas, debido a la agrupación de los píxeles de un grupo en formas geométricas circulares.

En la Figura 27 se muestra la configuración del umbral para la imagen usada de ejemplo. La zona de umbral siempre se puede identificar gracias a la presencia de algún pico en el gráfico de distribución de píxeles por escala de grises. Este pico se corresponde a su vez a los píxeles que se encuentran contenidos dentro de una gota retenida de gran tamaño que serían los más cercanos a los asociados con la fase continua de la emulsión por la aplicación del filtro de bandas, el cual reduce la diferencia entre zonas. Una vez dividida la foto en grupos de 2 píxeles se invierte en colores (Figura 27) para que las gotas sean blancas y la fase continua negra, para posteriormente realizar el conteo de gotas y el estudio de su geometría.

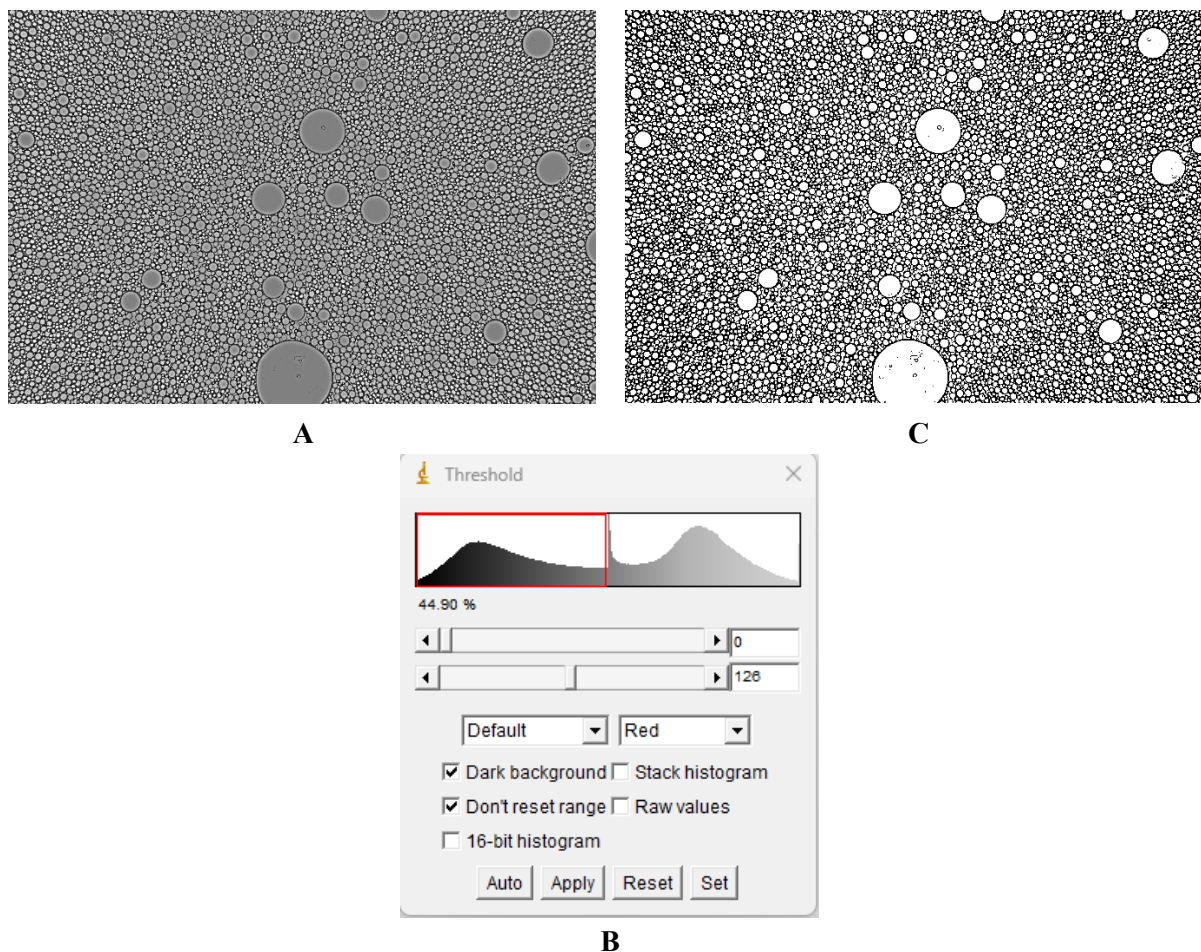


Figura 27. A. Imagen en escala de grises, B. Configuración de umbralización, C. Imagen a blanco y negro

Finalmente, se ha de seleccionar en el software que es lo que se desea estudiar (herramienta *Set Measurements*, Figura 28) y la configuración de cómo ha de ser ese estudio (herramienta *Analyze particles*, Figura 28). En esta última se restringió del recuento de gotas las que tenga una superficie mayor a 250.000 píxeles², ya que se consideraron áreas donde la fase dispersa no ha sido atrapada. Por otro lado, se consideró como gota aquella agrupación de píxeles del grupo blanco (*show outlines*) cuya circularidad sea mayor al 35% (*circularity*), ya que debido al uso de cubreobjetos las gotas pudieron ser alteradas. Además, también se excluyeron aquellas gotas que no se encontraban íntegramente en la imagen ya que podrían afectar al resultado final.

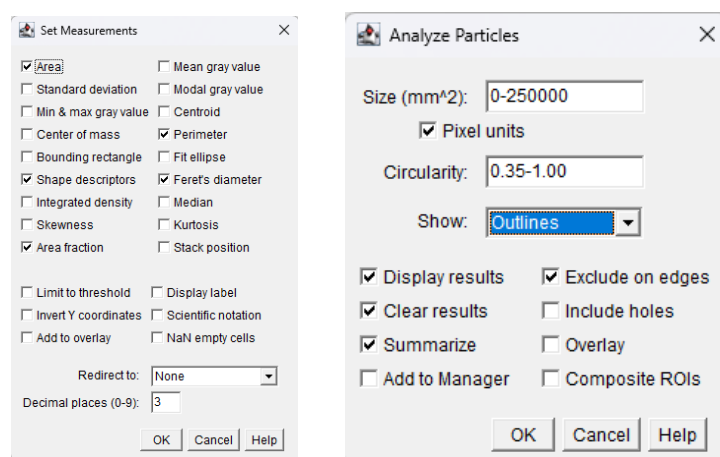


Figura 28. Configuración del análisis de gotas

El software generará una serie de archivos de texto con extensión csv que recopila los resultados. En lo referente al estudio del tamaño de gota ImageJ ofrece la posibilidad de presentarlos como un histograma de frecuencia. Para cada emulsión se seleccionó la muestra más representativa (parámetros estudiados más cercanos a la media) y se generó dicho histograma.

5.1.3 Colorimetría

El color es uno de los parámetros que caracterizan un oleogel, este tiene gran influencia sobre todo en la selección de alternativas a las grasas tradicionales por parte del consumidor.

Como se ha explicado en la sección 2.4., el CH reacciona con los distintos aldehídos formando bases de Schiff las cuales pueden tomar un color característico que puede variar de intensidad dependiendo de su extensión de reacción. Además, el color también se puede ver afectado por el paso del tiempo (Zhu et al., 2024).

Para obtener una medida cuantitativa del color se empleó un colorímetro (Konica Minolta LTD., CR-400, Osaka, Japón Figura 29) donde su respuesta se encuentra configurada en el modelo cromático CIELAB. Las coordenadas tricromáticas de este espacio son (Hill et al., 1997; Zhu et al., 2024):

- L^* : luminosidad, con un valor de respuesta se encuentra calibrado entre 0 y 100.
- a^* : índice de rojo, donde valores positivos del parámetro indica una coloración roja, mientras que valores negativos indica colores verdosos. El valor de la respuesta no se encuentra definido en ningún rango.
- b^* : índice de amarillo, donde valores positivos del parámetro indica una coloración amarilla, mientras que valores negativos indica tonos azulados. Nuevamente los valores de respuesta no se encuentran definidos en ningún rango.



Figura 29. Colorímetro CR-400

De manera general, en la Figura 30 se pueden observar la definición de las coordenadas colorimétricas del espacio CIELAB.

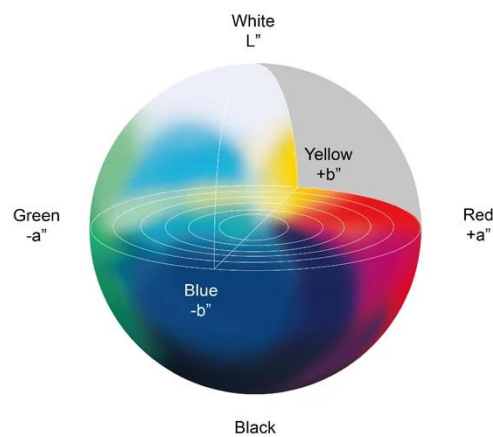


Figura 30. Coordenadas tricolorimétricas del espacio CIELAB. Fuente (Benq, 2018)

Por otro lado, también se calcularon los valores correspondientes al tono (*hue angle*, h^*) y al croma (*chroma*, C^*), coordenadas derivadas. Se calculan empleando las Ecuaciones 30 y 31 respectivamente. El primero representa la capacidad de distinguir un color de otro dentro de la gama cromática. Mientras que el segundo se describe el aislamiento del color predominante sobre otros (pureza) (Barragán-Martínez et al., 2022).

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad [30]$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad [31]$$

Las muestras de oleogel son tratadas transcurridas 24 horas desde su elaboración. Antes de la toma de datos se esperó 15 minutos para que el oleogel se atemperara y el color no se viese influenciado por el posible aceite suelto solidificado debido a la temperatura de refrigeración (4 °C). Antes de cada medida el colorímetro fue calibrado con el blanco proporcionado por el fabricante ($L^* = 92,6$, $a^* = 0,3133$, $b^* = 0,3195$).

5.1.4 Capacidad de Retención de Aceite (OBC)

La retención de aceite o OBC (*Oil Binding Capacity*) es la capacidad de un oleogel de capturar el aceite en la red molecular formada por el gelificante. Este parámetro es uno de los más importantes, ya que la definición de un producto como oleogel o no dependerá de si esta variable alcanza valores altos (deseable $\geq 90\%$).

Se utilizó la metodología descrita por (Meng et al., 2018). Para obtener los datos necesarios para el cálculo de este parámetro se centrifugaron las muestras en viales Eppendorf con 1 g en una centrífuga (Lan Technics, HW12 15000rpm, Navarra, España, Figura 31) durante veinticinco minutos a 13.500 rpm. Finalizada la centrifugación se dejaron reposar los viales en posición invertida durante 10 minutos para asegurar la total separación del aceite no retenido del semi-sólido. Transcurrido el tiempo se retiró el aceite sobrenadante de la muestra (no retenido) y se pesó del contenido remanente en los viales. Se empleó la Ecuación 32 para el cálculo del OBC.

$$OBC = \left[1 - \left(\frac{m_1 - (m_2 - m)}{m_1} \right) \right] \cdot 100 \quad [32]$$

Siendo; m la masa del vial (recipiente), m_1 la masa del vial con el oleogel y m_2 la masa del vial después de la centrifugación tras retirar el aceite liberado. (Zhu et al., 2024). Se realizaron las medidas por triplicado.



Figura 31. Centrífuga de Eppendorfs

5.1.5 Reología

Para su realización se empleó un reómetro (Anton Paar, Physica MRC 301, Graz, Austria) (Figura 32) configurado con una geometría de plato plano (cilíndrico) paralela de 50 mm de diámetro. Se

estableció una temperatura de trabajo constante de 25 °C controlada por un sistema de calefacción Peltier ($\pm 0,01$ °C) y un baño termoestático (Lauda, Ecoline Staredition E 100, Alemania) (Figura 32).

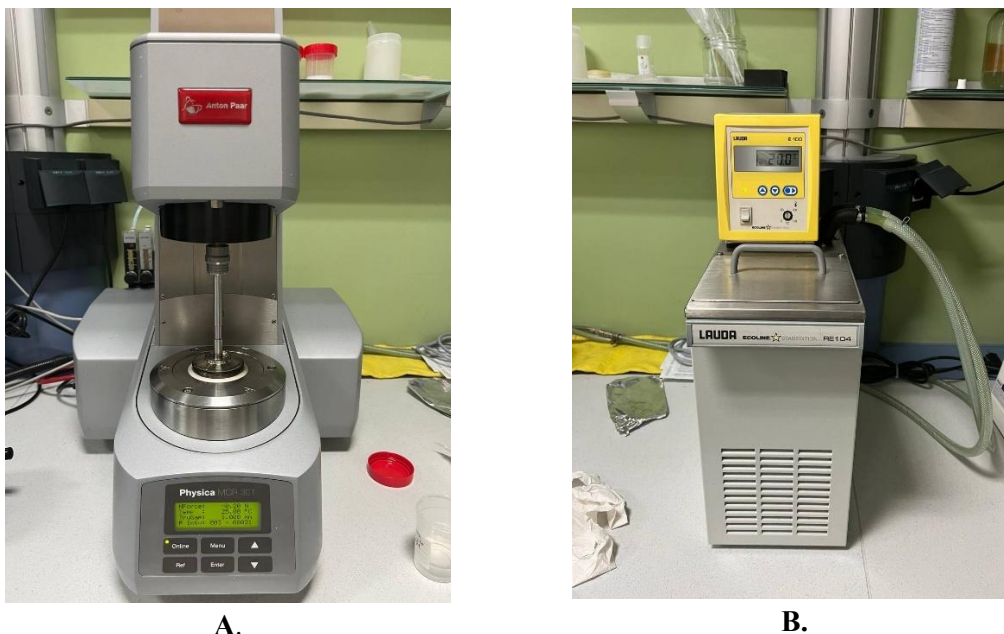


Figura 32. Montaje experimental para reometría. A. Reómetro Physica MRC 301, B. Baño termoestático Ecoline Staredition

La distancia entre los platos donde se sitúa la muestra, comúnmente denominada “gap”, se ajustó a 1 mm en el caso de las emulsiones y a 1,5 mm en el caso de los oleogeles. La cantidad de muestra empleada en cada estudio pudo ser diferente, ya que el único requisito necesario para obtener resultados fiables es que no exista ausencia de material entre la superficie de la geometría y el Peltier. Para los ensayos de las emulsiones se empleó parafina para sellar el contenido existente en el gap y evitar la evaporación de los compuestos más volátiles (agua, ácido acético y etanol), fenómeno que puede interferir en los resultados obtenidos. Para configurar los ensayos se empleó el software RheoCompass™ (Anton Para, Graz, Austria).

Los ensayos realizados durante el TFM han sido oscilatorios, siendo estos los más adecuados para el estudio de materiales viscoelásticos como los oleogeles (Mezger, 2006).

A continuación, se explica el protocolo llevado a cabo tanto para las emulsiones como para los oleogeles.

5.1.5.1 Barrido de deformación

Se trata de un ensayo oscilatorio que permite conocer el rango lineal viscoelástico (LVR) de la muestra, para ello se ha de someter el sistema de estudio a una variación en la deformación o *strain* a frecuencia y temperatura constantes. Para identificar el rango LVR se ha de atender a la zona donde los valores del módulo elástico (G') y viscoso (G'') permanecen constantes ($\sigma \leq 10\%$ respecto al primer valor obtenido) (Mezger, 2006).

En la Tabla 7 se muestran los valores configurados para el estudio de las emulsiones y oleogeles en el barrido de deformación.

Tabla 7. Parámetros operacionales del barrido de deformación para emulsiones y oleogeles

	Deformación (%)	Frecuencia (Hz)	Temperatura (°C)
Emulsión	0,01 - 1000	1	25
Oleogel	0,01 - 10	1	25

Antes del comienzo del barrido se dejó un tiempo de 15 minutos de reposo para la emulsión y de 5 minutos para el oleogel. Ambos estudios se ejecutaron 24 horas después de la preparación de la muestra.

5.1.5.2 Espectro mecánico

Este ensayo oscilatorio permite conocer el comportamiento de la muestra de forma dependiente al tiempo mediante un barrido de frecuencia (*frequency sweep*) manteniendo constantes los valores de deformación y temperatura. Cabe destacar que el ensayo se ha de llevar a cabo dentro del LVR, de ahí la necesidad de ejecutar un barrido de deformación previo al presente ensayo (Mezger, 2006).

El estudio del comportamiento de la muestra se apoya nuevamente en los valores de G' y G'' . Donde la variable dependiente que tenga un mayor valor a una determinada frecuencia describirá el tipo de comportamiento predominante de la muestra; elástico o viscoso.

En la Tabla 8 se muestran los parámetros seleccionados para llevar a cabo el barrido de frecuencia para las muestras de emulsión u oleogel. El estudio se llevó a cabo a continuación del barrido de deformación, únicamente permitiendo un periodo de reposo de 5 minutos para todos los tipos de muestras estudiadas.

Tabla 8. Parámetros operacionales del barrido de frecuencias para emulsiones y oleogeles

	Deformación (%)	Frecuencia (Hz)	Temperatura (°C)
Emulsión	1	0,01-100	25
Oleogel	0,01	0,1-100	25

5.2 Planificación experimental

La planificación experimental realizada para alcanzar los objetivos del presente TFM se divide en dos apartados. Un primer estudio para la caracterización de los CH empleados junto la selección del aldehído y la realización de dos diseños experimentales, uno por tipo de CH.

5.2.1 Estudios preliminares

Para poder construir un diseño experimental que permitiese obtener conclusiones válidas sobre la elaboración de oleogeles, es necesario caracterizar correctamente los gelificantes empleados, CH-LW y CH-HW. Para ello, se realizaron una serie de estudios para obtener la humedad del CH, su contenido en sólidos insolubles, así como, sus pesos moleculares. Su realización se llevó a cabo en acuerdo a lo explicado en el apartado 4.2.

Se realizaron una serie de estudios preliminares para encontrar la mejor ruta de solubilización y optimizar el proceso de elaboración de oleogeles. En primer lugar, se empleó el método seguido por (Xu et al., 2018). En caso de que la solubilización no se viese completa se intentó buscar una ruta alternativa siguiendo estos pasos hasta lograrlo:

1. Aumento del tiempo de disolución de 2 horas a 24 horas.

2. Adición por etapas el CH necesario. La mitad del total al inicio para evitar saturar al sistema y la otra mitad transcurrido un tiempo determinado, por ejemplo 1 hora.
3. Someter a la disolución a *shocks* térmicos. Véase pasar de la temperatura original de 50 °C a 70 °C durante un periodo de tiempo no superior a las 2 horas para evitar la posible desnaturalización del CH.
4. Aumentar la concentración de ácido acético en el disolvente incrementando la presencia de protones en el sistema, en todo caso, nunca se superó un contenido del 10% en peso para evitar la desnaturalización del CH.
5. Empleo de ultrasonidos en periodos no mayores a 15 min.

Con estas pruebas fue posible acotar el rango de variación de la concentración de CH final en el oleogel a la hora de establecer la configuración del diseño experimental, tal y como se explicará posteriormente en el apartado 5.2.

Otra variable muy importante en la formulación de los oleogeles con CH y que tiene gran peso es el aldehído usado para la formación de la Base de Schiff. Existe un gran volumen de información acerca de estos compuestos en lo referente a su mecanismo de reacción, pero no aplicado a la obtención de oleogeles. Actualmente el aldehído más empleado es la VA, sin cuestionarse en demasía su sustitución. En el presente TFM se han llevado a cabo un pequeño estudio para poner en cuestión el uso de la VA y definir si el uso de otro aldehído podría ser beneficioso para la producción de los oleogeles e incluso a la economía del proceso. La principal variable que se tendrá en cuenta resultado de estas pruebas será el OBC, ya que este parámetro es el que mejor define un oleogel. También se estudió como influye el tipo de aldehído empleado en la cinética de secado del sistema y la colorimetría. Variables con gran peso, ya que un menor tiempo de secado conlleva un ahorro energético importante, sobre todo si se desea escalar la producción a nivel industrial. Por otro lado, la obtención de un oleogel con un color muy diferente al tono normal del aceite de oliva puede llevar a rechazo por parte de los consumidores.

Estos dos sistemas consistieron en elaborar oleogeles, de aceite de oliva empleando CH-HW, a dos niveles de concentración; muy baja (0,5 %) y alta (1%), refiriéndose a este gelificante en concreto. Para cada sistema se utilizaron los 3 aldehídos citados en el presente documento; BH, VA y 4-H. El proceso de obtención de dichos oleogeles se rigió por la metodología explicada en el apartado 4.4.

Al usar estos dos niveles de concentración se pretendió estudiar la influencia de la reacción, ya que a menor concentración de CH se podrá observar de forma más aislada el efecto de la reacción en el sistema, es decir, comprobar si un déficit de gelificante puede verse compensado por la reacción del aldehído.

Se empleó CH-HW debido a la dificultad de su manejo originada por su menor solubilidad frente al CH-LW y una gran viscosidad de sus disoluciones. Estos hechos ralentizan en gran medida la etapa de filtración. Por tanto, con estos dos estudios preliminares, se acota en mejor medida el rango de variación de concentración del CH-HW en el oleogel final, así como, obtener de manera preliminar la influencia de dicha variable sobre el OBC.

5.2.2 Diseño experimental

Con el fin de elaborar una estrategia para estudiar la producción de oleogeles de aceite de oliva con CH de alto y bajo PM se construyeron dos diseños experimentales basados en las siguientes variables:

- Dos variables cuantitativas; concentración de CH en el oleogel final ([CH]) y relación másica entre fase dispersa y acuosa, O/W.
- El PM de los CH; alto y bajo, como variable cuantitativa.

Para cada variable cuantitativa se elaboró un diseño experimental factorial de tres niveles atendiendo a las dos variables cuantitativas (2^3). Ambos diseños son independientes. En la Tabla 9 se muestra la matriz de diseño con las equivalencias entre las variables codificadas y los valores reales y en la Tabla 10 se puede observar la matriz de experimentos. Se realizaron cuatro réplicas reales de los que los puntos centrales de cada diseño con el fin de obtener el error del modelo.

Tabla 9. Matriz de diseño experimental con la correspondencia de las variables codificadas

Variable codificada	Variable real	Valor variable codificada	Valor real	
			Bajo peso molecular	Alto peso molecular
X_1	O/W	$X_1=-1$		60/40
		$X_1=0$		55/45
		$X_1=1$		50/50
X_2	[CH]	$X_2=-1$	1%	0,8 %
		$X_2=0$	2%	0,9 %
		$X_2=1$	3%	1 %

Tabla 10. Matriz de experimentos para ambos diseños experimentales

Bajo Peso Molecular				Alto Peso Molecular		
Sistema	X_1	X_2		Sistema	X_1	X_2
S3B	-1	-1		S1A	-1	-1
S2B	-1	1		S2A	-1	1
S1B	1	-1		S3A	1	-1
SPB	1	1		S4A	1	1
SC1B, SC2B, SC3B, SC4B	0	0		SC1A, SC2A, SC3A, SC4A	0	0

Los distintos puntos centrales se realizaron de manera aleatoria para poder observar la replicabilidad de los sistemas con el fin de obtener un modelo representativo.

A partir de los resultados obtenidos de la realización de los diseños experimentales fue posible estudiar la influencia de las variables independientes en la elaboración de los oleogeles propuestos.

5.2.3 Tratamiento estadístico

Se estudió la influencia de la relación O/W (X_1) y [CH] (X_2) sobre los parámetros característicos de los oleogeles (F_n) mediante la Metodología de Superficie de Respuesta (RSM por su escritura inglesa). Derivado de los resultados de los distintos parámetros primarios (NG, color, dureza y OBC) se obtuvo para cada uno un modelo polinómico de primer orden lineal con interacciones (Ecuación 33), mediante una regresión lineal con una significación (α) seleccionada del 0,05 (Koocheki et al., 2009). Para ello, se empleó el software *IBM SPSS Statistics* (IBM, Armonk NY, USA). Para la representación de estos modelos de manera gráfica se empleó el software *Statgraphics* (Statgraphics Technologies Inc., The Plains VA, USA).

$$F_n = a_0 + a_1 \cdot X_1 + a_2 \cdot X_2 + a_{12} \cdot X_{12} \quad [33]$$

Donde,

- a_1 , es el coeficiente constante.
- a_1 y a_2 , son los coeficientes lineales asociados a cada variable codificada (X_1 o X_2 respectivamente).
- a_{12} , es el coeficiente lineal asociado a la interacción entre variables codificadas (X_1 y X_2).

Mediante un análisis de regresión lineal ANOVA para un intervalo de confianza del 95 % ($\alpha=0,05$) se obtuvo: la significancia de los coeficientes lineales y de los modelos, así como su coeficiente R^2 . Dado a que cada dato se obtuvo de manera triplicada como mínimo para muestras distintas, con esta misma regresión se presentan los resultados como media $\pm$ desviación para todos los parámetros característicos del oleogel. También se estudiaron las diferencias significativas entre medias mediante el Test de Duncan para una significancia (α) del 0,05. Nuevamente estos análisis se realizaron con el software *IBM SPSS Statistics* (Zhu et al., 2024).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente apartado, se pretende exponer de manera ordenada todos los resultados obtenidos en los distintos experimentos, desde la caracterización de los CH y estudios preliminares, hasta los sistemas estudiados del diseño experimental.

El conjunto de datos obtenidos será analizado para demostrar la veracidad o no de las hipótesis propuestas, así como, determinar el grado de cumplimiento de los objetivos establecidos en el presente TFM.

6.1 Estudios preliminares

6.1.1 Caracterización básica de los quitosanos empleados

La caracterización de los gelificantes propuestos (CH-LW y CH-HW) es esencial, ya que su comportamiento influye en gran medida en las propiedades de los oleogeles. Por tanto, se determinó la humedad y contenido de impurezas de los distintos CH (Tabla 11) mediante un método gravimétrico.

Tabla 11. Contenido en humedad e impurezas de los CH empleados

	Humedad (%)	Impurezas (%)
CH-LW	5,94	0
CH-HW	10,92	1,27

Se destaca la ausencia de impurezas del CH-LW, lo que permitió eliminar la etapa de filtración y trabajar en un mayor rango de concentraciones de CH, tal y como se muestra en el diseño experimental del apartado 5.2.2. Los CH empleados tienen un GD de 85 % (LW) y 79 % (HW). Indicando que en el caso del LW o los monómeros acetilados del polímero se han solubilizado totalmente o que el tamaño de partícula no es el suficiente para que se quede retenido en el filtro Whatmann 0,45 μm .

Para dar veracidad a la primera afirmación sería necesario conocer el origen de la quitina empleada, así como el método de desacetilación. La quitina precursora debió tener una mayor presencia de β -quitina mucho más reactiva y proclive a la desacetilación que el isómero α fenómeno descrito por (Pillai et al., 2009; Rinaudo, 2006). Esta mayor presencia de β -quitina se pudo deber al tipo de materia prima ya que según la especie de animal precursora será distinta o simplemente un tratamiento previo a la desacetilación. La estructura cristalina amorfa de la β -quitina permite la obtención de un CH soluble cuando su GD es de al menos el 50%. Mientras que la α -quitina presenta un mayor carácter cristalino que le confiere una red molecular más robusta no permitiendo la solubilización independientemente del GD además de ofrecer resistencia a la desacetilación (Pillai et al., 2009). Por otro lado, la influencia del tamaño de partícula se puede despreciar ya que durante el estudio microscópico de las emulsiones (apartado 6.2.1.2.) no se observó ninguna estructura particulada. En el caso del CH-HW existe cierto contenido en impurezas o contenido insoluble (1,27%). Esto pudo deberse a la materia prima empleada con compuestos residuales inorgánicos, presentes en los exoesqueletos de crustáceos o simplemente a una peor solubilidad del compuesto por un menor contenido en β -quitina.

El estudio de solubilidad del CH-LW verificó que el protocolo descrito por (Xu et al., 2018) permitía una disolución total del polímero en 2 horas a 50 °C y 500 rpm en 1% de ácido para el total de las muestras independientemente de las concentraciones empleadas (1,2 % y 3,8%).

Definiéndose de esta manera tanto el protocolo de disolución empleado, como el rango de concentraciones de estudio para este polímero en el presente TFM.

En el caso del CH-HW se concluyó que el protocolo empleado para la disolución del CH-LW no era suficiente. Por tanto, se realizaron y analizaron todas las etapas descritas en el apartado 5.2.1. Siendo el tratamiento con ultrasonidos la única etapa que no reportó una mejora en el proceso de disolución, por tanto, se descartó su realización. De esta manera, también quedó definido el protocolo de disolución del CH-HW, explicado anteriormente en mayor detalle en el apartado 4.2.

El CH-HW cuenta con un GD menor al CH-LW, 79% frente al 85% respectivamente, y además un mayor PM, 2439 kDa frente 204 kDa. Siendo estos dos últimos datos obtenidos gracias a la metodología de viscosimetría capilar, desarrollada en el apartado 6.1.2. Estas características explican que el CH-HW tenga una peor solubilidad que el CH-LW, siendo descrita esta tendencia en la literatura. Los autores (Rinaudo, 2006; Sannan et al., 1975) concluyen que un aumento del GD mejora la solubilidad, y, por otro lado, (Pillai et al., 2009; Qin et al., 2002) establecieron una relación directa con el aumento del PM del CH y peor solubilidad, fenómenos también descritos en el presente TFM. (Rinaudo, 2006) destaca que si se trabaja con CH con las mejores características para una buena solubilización (pequeño PM, alto GD y procedente de la β -quitina) solo es cuestión de añadir a la disolución la cantidad necesaria de protones que igualen la concentración de grupos amino, $[\text{NH}_2]$, para su total solubilización. Por tanto, se podría afirmar, que en el caso del CH-HW se logra solubilizar lo máximo posible y que las impurezas restantes podrían ser cadenas con bajo GD o alto PM así como, una gran presencia de monómeros de α -quitina. Para tratar de solucionar esto y confirmar la presencia o no de α -quitina se podría tratar las impurezas remanentes del CH-HW con una disolución de HCl (7 M) para transformar este isómero en β -quitina y finalmente desacetilarlo con el protocolo descrito en el apartado 2.3. Aunque en el presente caso la implicación de tiempo necesaria no compensaría el aumento de producción de oleogéles.

6.1.2 Viscosimetría capilar

Mediante la metodología explicada en el apartado 4.3. se realizaron dos ensayos para conocer el peso molecular viscosimétrico (M_w) de los CH empleados y así poder explicar mejor la diferencia de comportamientos.

Se obtuvieron distintos valores de tiempo (t , s) que permitieron calcular la viscosidad cinemática (ν , mm^2/s) empleando la Ecuación 11. Con ello se consiguen posteriormente las viscosidades: relativa (η_{rel} , Ecuación 14), específica (η_{sp} , Ecuación 13) y reducida (η_{red} , Ecuación 15).

Previamente a obtener el M_v empleando la ecuación de M-H-S (Ecuación 16) es necesario calcular los valores de la viscosidad intrínseca ($[\eta]$ g/dL). Para ello, se emplearon los métodos de Huggins y Kraemer (Ecuaciones 17 y 18 respectivamente) y Fedors (Ecuación 19).

Este tipo de estudios se realizan en el régimen diluido, es decir, aquel rango de concentraciones donde las moléculas del polímero (CH en este caso) actúen de manera independiente (Dodero et al., 2020). Ya que la viscosimetría capilar se basa en la medida del volumen hidrodinámico (véase, $[\eta]$) y las dimensiones de la cadena molecular del polímero (da Costa et al., 2017).

En el caso del CH esto es especialmente importante ya que actúa como un polielectrolito en disolución, donde las fuerzas de repulsión entre cargas pueden generar una deformación en la estructura típica de varilla de los polisacáridos modificando su volumen hidrodinámico y por tanto alterando el resultado de los estudios viscosimétricos (Dodero et al., 2020).

Para comprobar que las diluciones preparadas para llevar a cabo la viscosimetría (Tabla 2) se encontraban dentro del rango diluido se verificó la linealidad existente entre las variaciones de la viscosidad y la concentración de la disolución (da Costa et al., 2017; Dodero et al., 2020). Para ello se representa en la Figura 33 la η_{sp} frente la concentración (C, g/dL) en escala logarítmica.

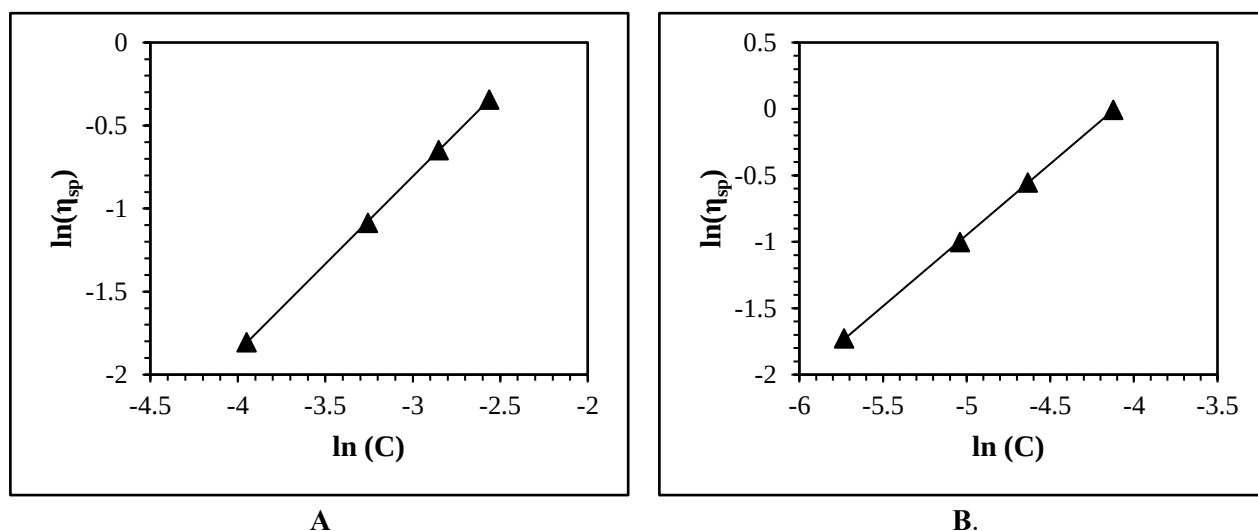


Figura 33. Verificación del régimen de trabajo para A. CH-LW y B. CH-HW

Observando la Figura 33 se puede determinar que las diluciones empleadas tanto para el CH-LW como CH-HW se encuentran dentro del régimen diluido. Por tanto, no existen interacciones entre las moléculas que puedan modificar el volumen hidrodinámico y alterar el resultado final de la viscosimetría. Cabe precisar en este punto que las diluciones con concentraciones 0,012 g/dL (CH-HW) y 0,096 g/dL (CH-LW) no fueron empleadas puesto que sus resultados mostraban otra tendencia (diferente pendiente).

Comprobado que el rango de trabajo se corresponde con el régimen diluido es posible obtener la $[\eta]$ como la intersección de la linealización de las ecuaciones de Huggins (Ecuación 17) y Kraemer (Ecuación 18). Los valores de K' y K'' que se corresponden con las pendientes de cada ecuación respectivamente. Se muestran en la Figura 34 y Figura 35 la aplicación gráfica de los modelos para el CH-LW y CH-HW respectivamente junto a sus regresiones lineales.

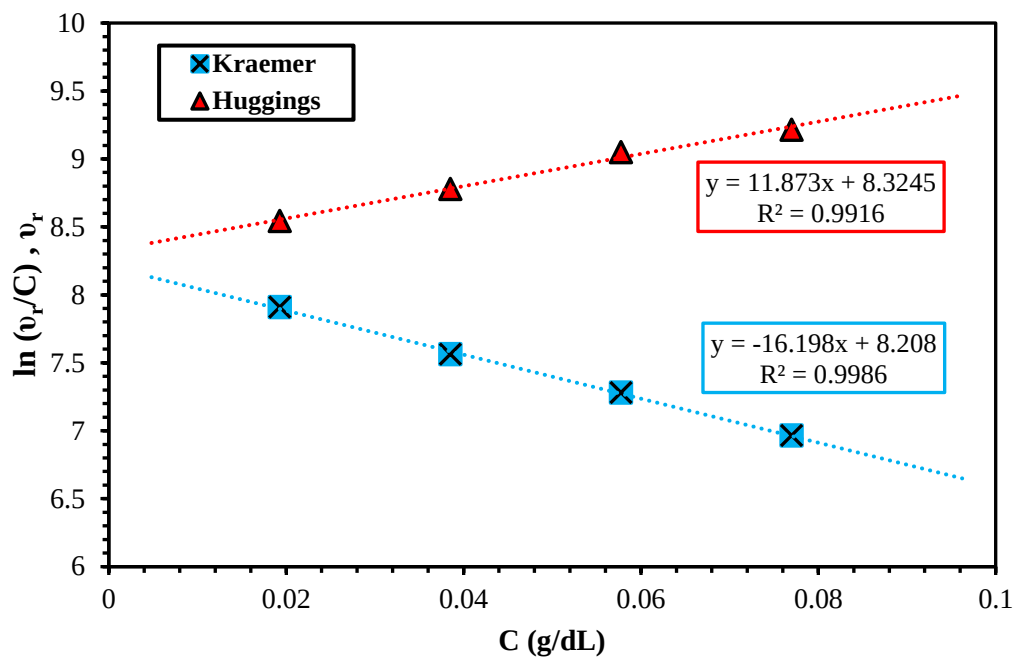


Figura 34. Linealización de las Ecuaciones de Huggins y Kraemer para el CH-LW

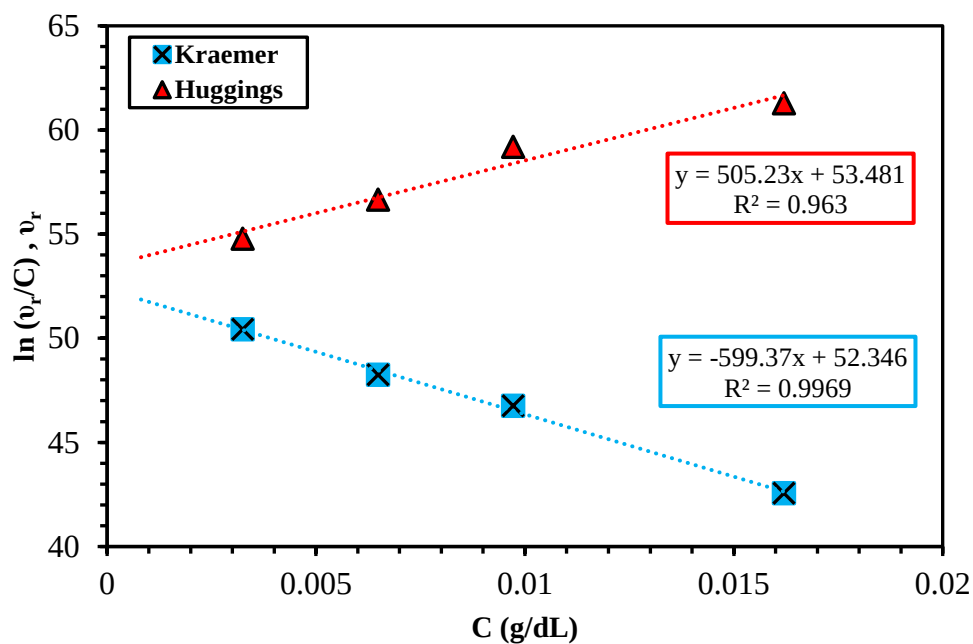


Figura 35. Linealización de las Ecuaciones de Huggins y Kraemer para el CH-HW

La ecuación de Fedors puede ser utilizada tanto en régimen diluido como semi-diluido, siendo el único requisito que las viscosidades relativas se encuentren en un valor entre 1 a 100 (Fedors, 1979). En la Figura 36 (CH-LW) y Figura 37 (CH-HW) se muestra el resultado de aplicar la Ecuación 19. Empleando las regresiones lineales mostradas se obtiene tanto la $[\eta]$ (pendiente) como la concentración límite ($C_{\max}$, g/dL) antes de la existencia de interacciones entre moléculas (ordenada en el origen).

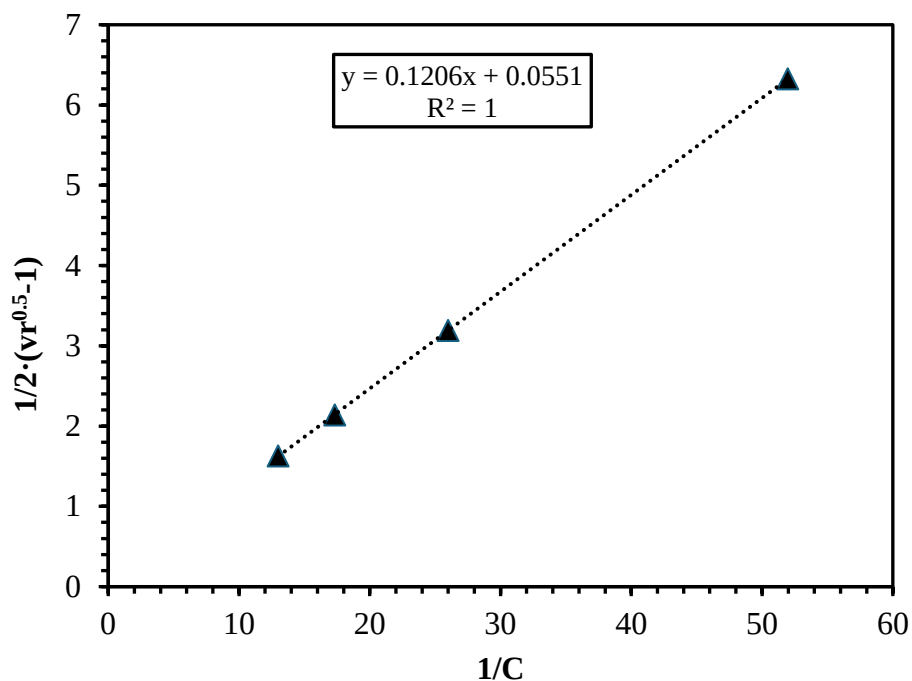


Figura 36. Linealización de la Ecuación de Fedors para CH-LW

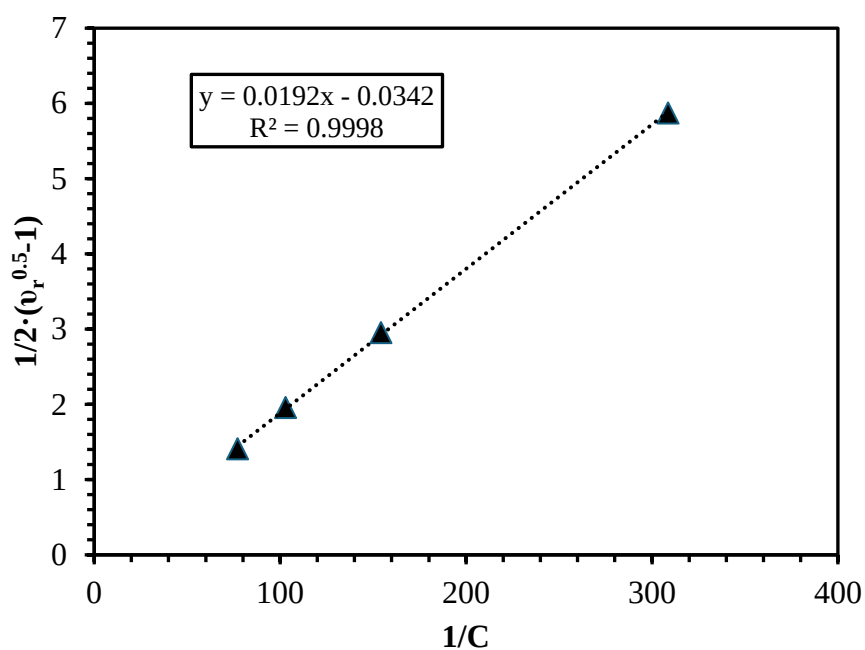


Figura 37. Linealización de la Ecuación de Fedors para CH-HW

Finalmente, se calcula mediante la ecuación de M-H-S (Ecuación 16) los valores del M_v para los métodos de Huggins/Kraemer y Fedors. Los valores empleados de las constantes K y α en la Ecuación M-H-S son los descritos por (Rinaudo et al., 1993), se muestran en la Tabla 3 los valores seleccionados atendiendo al GD de los CH.

En la Tabla 12 se presentan la totalidad de los parámetros obtenidos del empleo de las ecuaciones de cada método, así como, los valores asociados de peso molecular viscosimétrico a cada uno.

Tabla 12. Resultados de la viscosimetría capilar para CH-LW y CH-HW

	Método Huggins/Kraemer				Método Fedors		
	K'	K''	$[\eta]$ (dL/g)	M_w (kDa)	C_{max} (g/dL)	$[\eta]$ (dL/g)	M_w (kDa)
CH-LW	0,171	-0,240	8,27	204	2,18	8,28	205
CH-HW	0,176	-0,218	52,91	2439	0,561	52,14	2392

Se puede afirmar que el disolvente empleado es adecuado ya que en los sistemas de estudio existe una alta interacción entre disolvente y polímero y una interacción débil entre moléculas. Esto se puede deducir de los valores de K' menores a 0,5 y los de K'' negativos (Tabla 12), siendo esta tendencia es reportada por (Montes et al., 2021). Por otro lado, la resta de $K'-K''$ en ambos casos es menor a 0,5 lo cual también indica buena solubilización del CH y la capacidad del disolvente de evitar la interacción entre moléculas debido a su gran polaridad (da Costa et al., 2017).

Los valores de la $[\eta]$ entre ambos métodos únicamente difieren en un 0,12% en el caso del CH-LW y en un 1,45% para el CH-HW. Por tanto, no existen diferencias significativas en el cálculo de esta variable indistintamente del modelo empleado. Esto puede deberse al gran grado de dilución de las muestras empleadas. Atendiendo al parámetro C_{max} (Tabla 12) las concentraciones más altas empleadas; 0,0162 y 0,076 g/ dL para CH-HW y CH-LW respectivamente, son mucho más bajas a dichos valores. Autores como (Doderio et al., 2020) han descrito que a medida que la concentración de las muestras se acerca al valor de C_{max} y por tanto al régimen semi-diluido los modelos de Huggins y Kraemer pierden robustez frente al modelo Fedors.

Por último, el M_v calculado para cada CH proporciona una explicación para entender la diferencia de solubilidades, siendo más difícil la disolución del CH-HW. Observando la diferencia del PM frente a la diferencia en los GD (85% CH-LW y 79 % CH-HW) se podría afirmar que prácticamente el primer factor es la razón de la diferencia de comportamientos entre polímeros. Por otro lado, los valores obtenidos entre métodos nuevamente son muy próximos tanto para el CH-LW como para el CH-HW, siendo las diferencias del 0,48 % y 1,92 % respectivamente.

6.1.3 Selección del aldehído empleado

Como se ha explicado en el apartado 5.2.1. la elección de un aldehído u otro se basará principalmente en los resultados obtenidos en la cinética de su secado y OBC. Para completar el estudio preliminar se realizó una comparación de la colorimetría desarrollada por los distintos oleogeles, sin embargo, está no será una característica diferenciadora para la selección de un aldehído u otro.

6.1.3.1 Cinética de secado

Se realizó el secado de las emulsiones a una temperatura de 70 °C con una humedad relativa constante del 10% y una velocidad de aire de 2 m/s. Se consideró el producto seco cuando el contenido en humedad es menor al 3 % (Brito et al., 2022).

En las Figura 38 y Figura 39 se presenta la evolución de la humedad sobre el sólido seco frente al tiempo para los oleogeles con concentraciones de CH de 0,5 y 1% en el producto final para

cada aldehído respectivamente. Esto permitió seleccionar la duración de la etapa de secado para realizar los posteriores diseños experimentales alcanzando siempre los requerimientos de humedad mínima. Se puede observar que transcurridas 2 horas en ambos casos todos los oleogeles cumplen con el requisito de una humedad menor al 3%, sin embargo, existen diferencias en su proceso, porque se obtuvieron distintas velocidades.

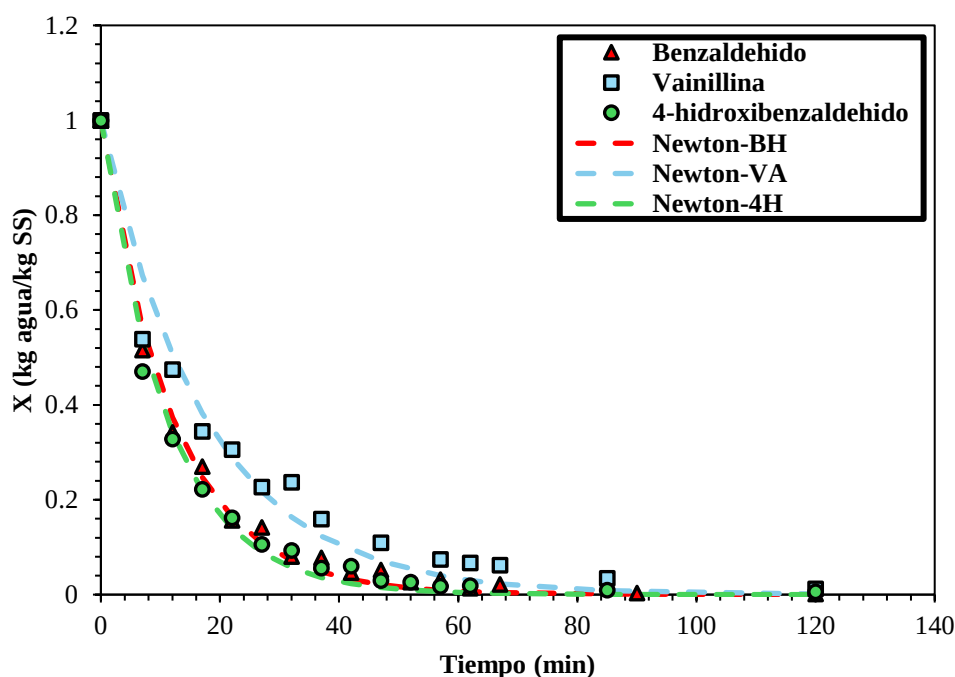


Figura 38. Humedad frente al tiempo para los oleogeles con $[CH]=0,5\%$ conjunto a la modelización de la cinética de secado por el Modelo de Newton para cada aldehído

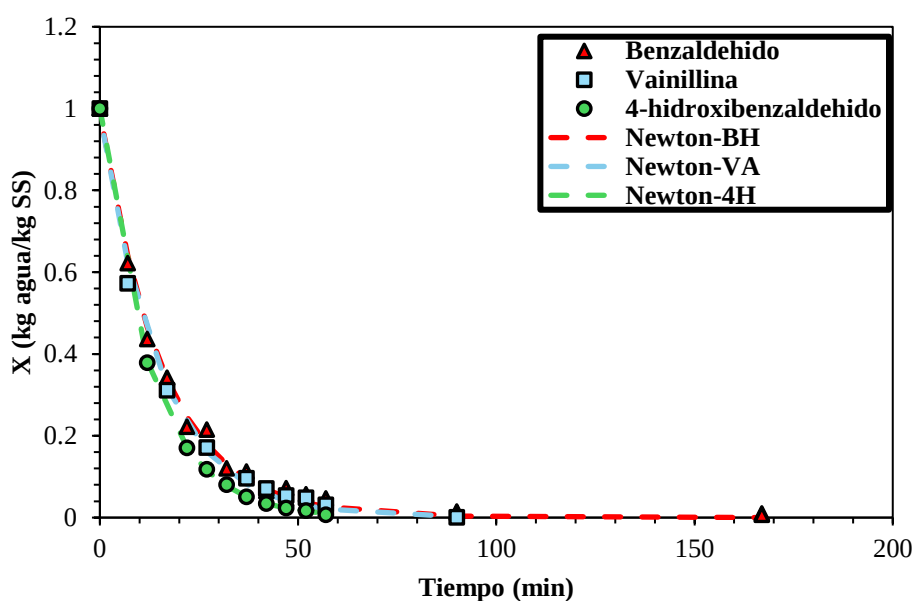


Figura 39. Humedad frente al tiempo para los oleogeles con $[CH]=1\%$ conjunto a la modelización de la cinética de secado por el Modelo de Newton para cada aldehído

Para una concentración de CH de 0,5% (Figura 38) se obtuvo la humedad objetivo para los aldehídos BH, VA y 4H a los 52, 85 y 47 min respectivamente, mientras que cuando la concentración de CH es del 1%, el tiempo mínimo de secado asciende a 57, 90 y 90 min para el BH, la VA y el 4H respectivamente. Esta diferencia de tiempos confirma que existe una relación directa entre el aumento de concentración del gelificante (CH) en el producto final y el tiempo de secado necesario. Esta relación también es descrita previamente por (Lama et al., 2024). La explicación aportada es que una mayor concentración de CH se genera una red más compleja y de mayor extensión con los aldehídos lo que provoca que la fase acuosa sea más fuertemente retenida y exista una mayor resistencia a la difusión cara la superficie de la placa y evaporarse desde la fase sólida. Otro fenómeno que reportaron los autores (Lama et al., 2024) es la aparición de una costra de oleogel seco debido a la evaporación inicial del agua superficial, el cual genera una disminución de la velocidad de secado. La aparición de esta capa superficial se puede observar fácilmente en la Figura 38 y la Figura 39 donde el descenso de la humedad al inicio cuenta con una gran pendiente, pero a medida que pasa el tiempo y esta capa se endurece y crece en profundidad dificultando la difusión del agua a través de la emulsión y evitando su evaporación se suaviza. Este fenómeno también se verá potenciado por la reacción del CH con los aldehídos, es decir, a medida que la reacción transcurre se generará cada vez una red más rígida debido a los múltiples enlaces formados y puentes de hidrógeno que también dificultan la evaporación del agua. Estos fenómenos explican las diferencias entre las cinéticas de secado de cada oleogel, siendo los elaborados con VA los que presentan una cinética de secado más lenta frente a los que emplean 4H o BH. Este fenómeno se ve acentuado para los oleogeles con una concentración de CH de 0,5 %. Para estudiar este fenómeno de manera más rigurosa se presentan en la Figura 40 y Figura 41 la velocidad de secado (dX/dt , kg agua/kg sólidos secos $\cdot$ min⁻¹) frente a la humedad.

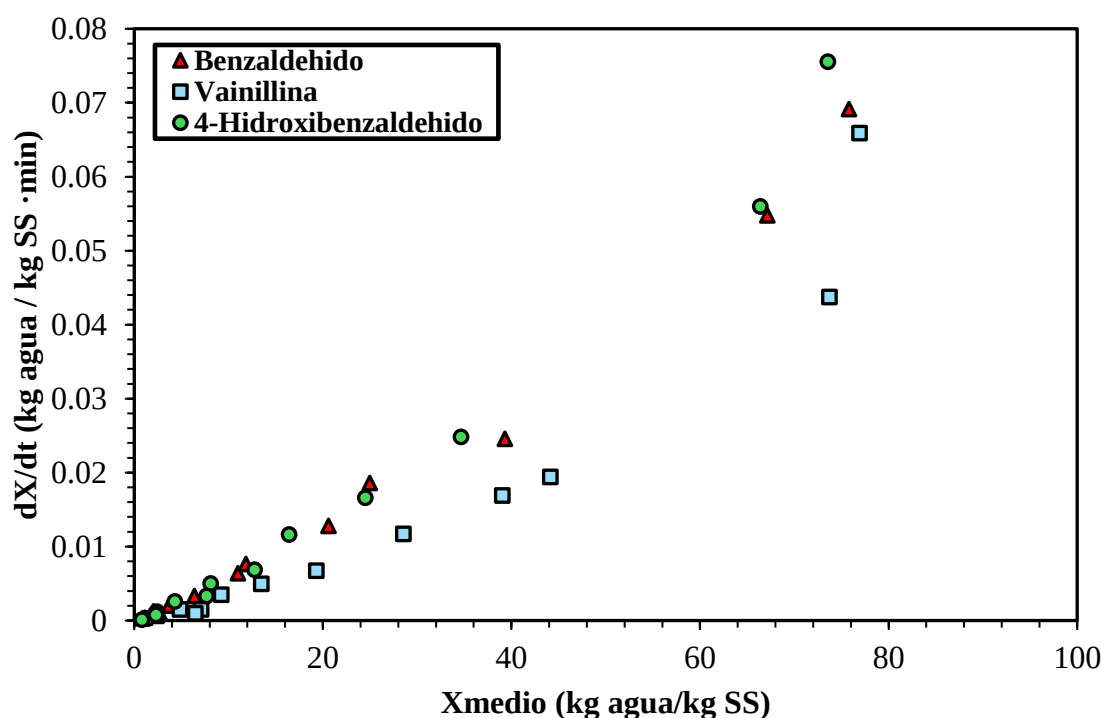


Figura 40. Velocidad de secado frente humedad media para los oleogeles con $[CH]=0,5\%$

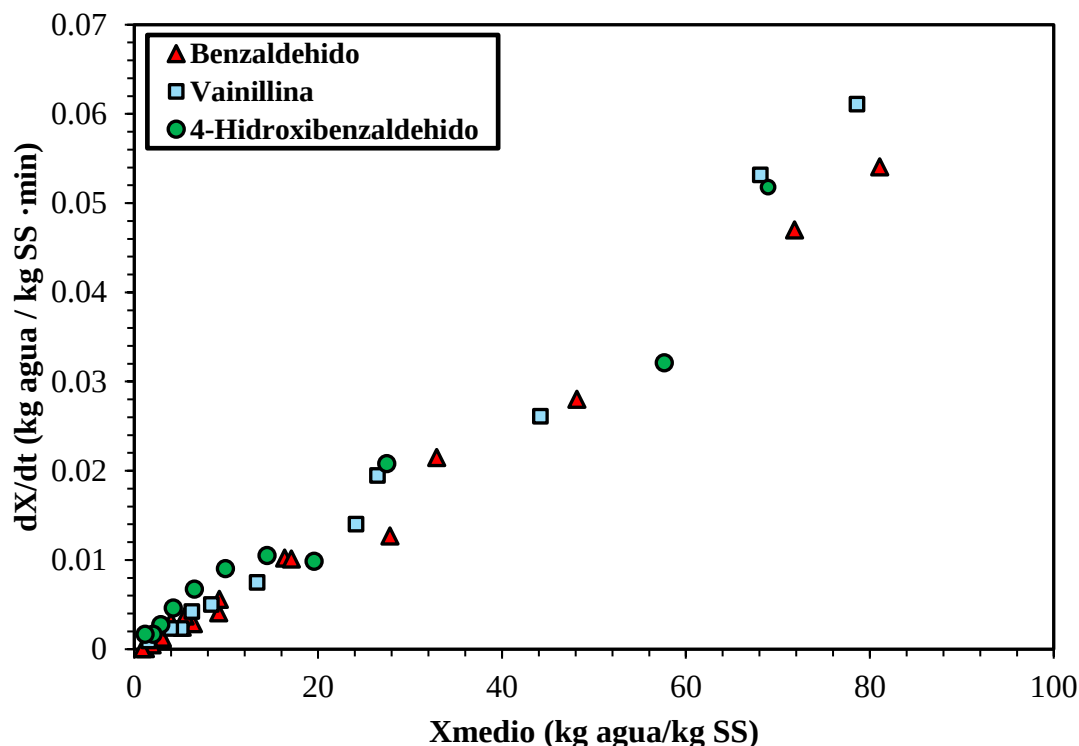


Figura 41. Velocidad de secado frente humedad media para los oleogeles con [CH]= 1%

(Karaer & Kaya, 2015) mediante microscopía electrónica de barrido confirmaron que el producto de una reacción de Schiff presenta una estructura conformada por capas porosas con una superficie lisa. Por tanto, en estos poros son el lugar por donde presuntamente ocurre la difusión del agua durante el secado. Esto indica que la de reacción entre el CH y el aldehído, el producto formado y la extensión de esta generará diferencias en la estructura, facilitando o no el paso del agua durante el secado, consecuentemente promoviendo el atrapamiento del aceite. Durante el secado de los oleogeles con una concentración del 0,5% de CH (Figura 40) la velocidad de secado cuando se emplea VA es menor, concordando con la formación de una red molecular más compacta frente a la que se formaría con el 4H o el BH, limitando la difusividad del agua frente a lo que ocurriría con los otros dos aldehídos. Esta red molecular más compacta se debe a los enlaces que pueden generar los grupos libres. Esto es debido a que la VA después de reaccionar mediante el mecanismo de principal de reacción (Base de Schiff) con el CH, cuenta con un grupo hidroxilo y otro metoxi libres que pueden crear puentes de hidrógeno con otros grupos iguales o con grupos amino (Xu et al., 2018). El 4H también puede generar este tipo de enlaces con su único grupo hidroxilo libre tras la reacción (Marin et al., 2012), pero la extensión de sus reacciones es menor como estudiaron (Jagadish et al., 2012; Karaer & Kaya, 2015). Obtuvieron unas conversiones máximas del 63 % para la VA y de 59% para el 4H, en sistemas parecidos a los que se dan durante la etapa de secado del presente TFM. Por tanto, es esperable que el secado de oleogeles empleando 4H sea más rápido que con la VA. Por otro lado, el BH cuando reacciona con el CH no dispone de ningún grupo funcional libre para generar enlaces de hidrógeno con la cadena, por tanto, constituye la cadena menos fuerte de las tres estudiadas. Sin embargo, como se reporta en la Figura 40 las diferencias de estructuras no provocan diferencias significativas en el proceso de secado de los oleogeles elaborados con 4H o BH.

Las cinéticas de secado de los sistemas con un 1% de CH en el producto final (Figura 41) no mostraron diferencias. Pudiéndose deber a que con esta concentración de CH el sistema no es tan influenciado por la reacción, formando de por sí una red bastante compacta y, por tanto, disminuyendo la velocidad de secado. Esto demuestra que es posible obtener un oleogel empleando menor cantidad de gelificante siempre y cuando exista una correcta monitorización de la reacción. Esta ha de estabilizar la red molecular del CH vía puentes de hidrógeno existentes cuando se emplea un aldehído con grupos hidroxilo libres después de la reacción de Schiff, como lo son la VA y el 4H.

A pesar de que en todos los casos descritos en este apartado se consiguió secar la emulsión en menos de 2 horas con un contenido inferior de humedad al 3%, se consideró dejar las placas en el secadero hasta las 3 horas. Esto se debe a que (Marin et al., 2012) describen que las reacciones de Schiff alcanzan su máximo de conversión (equilibrio) a las 2 horas en ausencia de agua y además siendo promovida la reacción por altas temperaturas.

A partir de los datos experimentales, se modelizan las cinéticas de secado para cada uno de los oleogeles de acuerdo con el Modelo de Newton (apartado 2.5.1.1.).

A partir de los datos de humedad a lo largo del tiempo se realizó un ajuste mediante la Ecuación 3 y se calculó: la constante de velocidad de secado, K , el coeficiente de regresión lineal al cuadrado, R^2 (Ecuación 5), el coeficiente de bondad del modelo, ϕ (Ecuación 4) y el error cuadrático medio, ECM (Ecuación 6). En la Figura 38 ($[CH] = 0,5\%$) y Figura 39 ($[CH] = 1\%$) se presentan las modelizaciones conjunto a los valores reales de la humedad para la totalidad de los oleogeles estudiados. Todos los modelos han obtenido un R^2 mayor al 0,97 por tanto, se pueden considerar buenos ajustes capaces de dar explicación a los resultados del secado de los oleogeles. El modelo con mayor bondad (ϕ) entre los datos experimentales y los cálculos resultó ser el correspondiente al sistema elaborado con 4H a una $[CH]$ del 1 %, siendo el peor el sistema análogo en concentración de CH para la VA. En cuanto al ECM el que menor valor obtiene vuelve a ser el sistema elaborado con el 4H y la mayor concentración de CH. Se muestra el cómputo total de resultados en la Tabla 13.

Tabla 13. Constante de la cinética de secado para cada sistema estudiado y parámetros estadísticos R^2 , ϕ y ECM

	CH	K (1/s)	R^2	ϕ	ECM
BH	0,5%	0,001369	0,9949	108,61	0,018
	1%	0,001061	0,9924	147,09	0,020
VA	0,5%	0,000942	0,9783	55,95	0,038
	1%	0,001128	0,9924	34,99	0,020
4H	0,5%	0,001494	0,9944	90,95	0,019
	1%	0,00083	0,9977	205,21	0,014

6.1.3.2 Colorimetría de los oleogeles

Las medidas de color de los distintos oleogeles fueron realizadas transcurridas 24 horas desde su trituración y almacenamiento a 4°C. Antes de cada medición se atemperaron las muestras a temperatura ambiente durante 15 minutos. Este tiempo de espera es importante, ya que debido a las bajas temperaturas (4 °C) el aceite de oliva se encuentra en estado sólido y, por tanto, su color se ve afectado, alterando los resultados de la prueba. Se muestran en la Tabla 14 las coordenadas cromáticas del espacio CIELAB correspondientes a cada oleogel.

Tabla 14. Coordenadas cromáticas del espacio CIELAB y el color real para los distintos oleogeles elaborados con cada aldehído a diferentes concentraciones.

	CH	L*	a*	b*	*
BH	0,5%	30,38 ± 5,14	4,17 ± 0,77	17,44 ± 3,80	
	1%	30,35 ± 5,08	6,07 ± 1,06	14,27 ± 3,19	
VA	0,5%	27,64 ± 3,69	2,11 ± 0,46	7,5 ± 1,25	
	1%	32,60 ± 4,61	2,39 ± 0,42	11,71 ± 1,95	
4H	0,5%	35,04 ± 3,50	0,57 ± 0,22	11,68 ± 1,74	
	1%	33,95 ± 3,21	1,62 ± 0,49	12,81 ± 1,23	

* color aproximado obtenido por conversión del espacio CIELAB a RGB, solo en una pantalla calibrada coincide con precisión al medido por el colorímetro y al color real

Los valores de luminosidad (L*) (Tabla 14) permanecieron muy próximos entre los distintos oleogeles, aumentando cuando el aldehído empleado fue el 4H. En todos los casos el valor de esta coordenada estuvo por debajo de 50, por tanto, ninguno de los oleogeles mostró una luminosidad pronunciada (Barragán-Martínez et al., 2022).

Los valores de las coordenadas a* y b* fueron positivos indicando la tendencia hacia tonos rojos y amarillos. En el caso de los oleogeles con BH el tono rojizo fue más predominante que en los oleogeles con VA y 4H. El efecto de la concentración de CH para todos los aldehídos empleados produjo un aumento de las coordenadas a* y b*. Sin embargo, cuando el aldehído empleado es el BH y aumenta la concentración CH el tono rojizo disminuye.

Que todos los oleogeles presenten tonos rojizos y amarillos pero que el valor de sus coordenadas tricromáticas y la cromaticidad (Tabla 15) no tengan valores iguales denota la presencia de distintos tipos de entrecruzamientos (bases de Schiff) de las cadenas del CH reaccionado en los oleogeles. Este fenómeno fue reportado por (Zhu et al., 2024) en la elaboración de oleogeles con aceite de canola empleando CH como gelificante y diferentes aldehídos como la VA y el 4H.

Tabla 15. Cromaticidad y tono para cada olegel elaborado con los distintos aldehídos y concentraciones

	[CH] (%)	C*	h*
BH	0,5	17,93 ± 3,94	1,33 ± 0,02
	1	15,50 ± 3,35	1,16 ± 0,01
VA	0,5	7,79 ± 1,24	1,29 ± 0,06
	1	11,96 ± 1,82	1,36 ± 0,07
4H	0,5	11,69 ± 1,10	1,52 ± 0,05
	1	12,91 ± 1,15	1,43 ± 0,05

Por otro lado, prácticamente en todos los oleogeles estudiados, el valor de las coordenadas L*, a* y b* se incrementó con el aumento de la concentración de CH y aldehído ya que la relación entre ambos reactivos permanece siempre constante. También esta tendencia se pudo deber a cambios en la estructura de la red ya que es más compacta o a la falta de aceite en el producto final, porque el oleogel estudiado tiene la misma masa final (5 g). Para ello fue necesario disminuir la cantidad de aceite añadida en favor de aumentar la del gelificante y el aldehído. Autores como (Yilmaz & Ögütçü, 2014) estudiaron oleogeles de aceite de oliva gelificados con cera de abeja y cera de girasol, obtuvieron parámetros colorimétricos distintos en todos los casos siendo lo más variable la coordenada a* y mostrando oleogeles con tonos verdosos. Esto puso en manifiesto que el gelificante es el factor más importante en la colorimetría ya que realmente el aceite se observa

estando atrapado a través del gelificante, y salvo que sea incoloro, no mostrará la colorimetría de la fase dispersa correctamente.

En lo que respecta al tono, h^* , los resultados obtenidos son muy próximos, lo cual limita el detectar grandes diferencias a simple vista. En la Figura 42 ($[CH] = 0,5\%$) y en la Figura 43 ($[CH] = 1\%$) se muestra una foto de los oleogeles elaborados para las pruebas de la selección del aldehído.



Figura 42. Oleogeles elaborados con $[CH] = 0,5\%$ y A. VA, B. 4H y C. BH

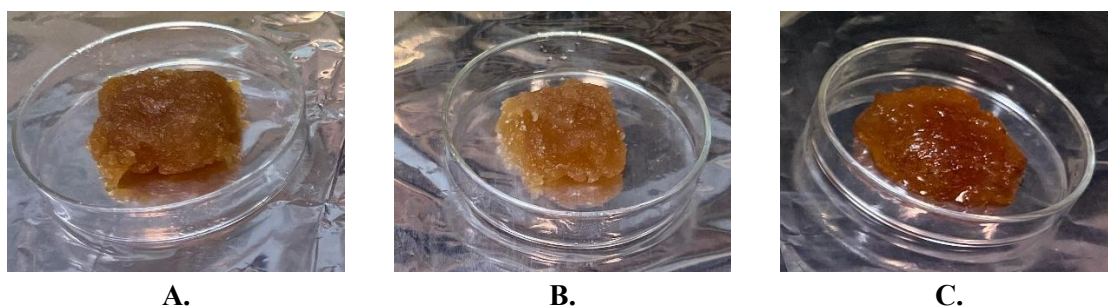


Figura 43. Oleogeles elaborados con $[CH] = 1\%$ y A. VA, B. 4H y C. BH

6.1.3.3 Capacidad de retención de aceite

El OBC es uno de los parámetros más importantes de un oleogel, ya que indirectamente la definición del mismo parte de esta característica. La aplicación del método centrífugo explicado en el apartado 5.1.4 junto a la Ecuación 32 generó los resultados que se muestran en la Figura 44.

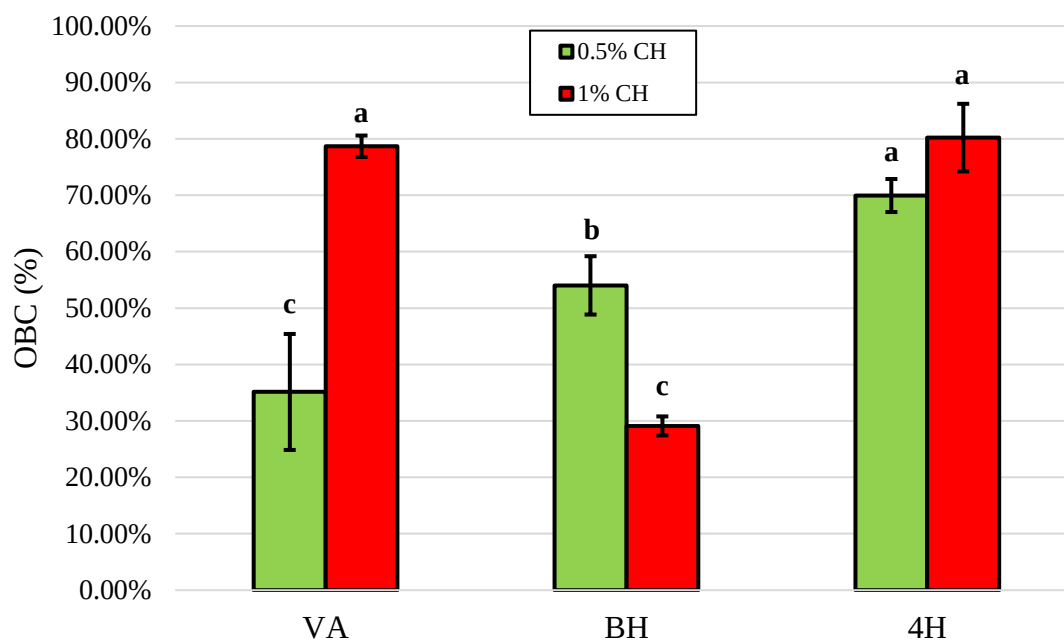


Figura 44. OBC para los oleogeles con [CH] : 0,5 y 1% para cada aldehído (VA, BH y 4H). Diferentes letras (a,b,c) implica según el Test de Duncan diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$).

En el caso de los oleogeles con una concentración de CH del 0,5% el uso del 4H reportó el mejor valor de OBC (70%) seguido del BH (54 %) y la VA (29 %). El oleogel realizado con el último aldehído durante la centrifugación colapso, es decir, liberó gran cantidad de aceite atrapado y el CH reaccionado con la VA se acumuló en el fondo del Eppendorf. Esto se debe a una gran extensión en la reacción que ocasionó que la estructura molecular tuviese excesiva rigidez, generada por los múltiples enlaces de hidrógeno formados entre los grupos hidroxilo y metoxi libres en la VA. Este tipo de comportamiento evitó el atrapamiento del aceite por falta de flexibilidad en la red molecular, fenómeno también descrito por (Xu et al., 2018).

Cuando la concentración del CH se aumentó al 1% nuevamente el uso de 4H reportó el mejor valor de OBC seguido de la VA y por último el BH. El oleogel realizado con este último aldehído también experimentó el mismo fenómeno de colapso que con el uso de VA en el anterior caso, durante la centrifugación. Pudo deberse en este caso a que el aumento de concentración de CH y la baja extensión de reacción que caracteriza a este aldehído [13 % (Marin et al., 2012)] la estructura del CH-HW de tan larga cadena no es capaz de entrecruzarse eficazmente y, por tanto, atrapa débilmente al aceite.

En ninguno de los oleogeles estudiados se alcanzó un OBC mayor del 90 %, pero se observó una tendencia creciente con un aumento en la concentración de CH. Por otro lado, es posible concluir que una extensión de reacción del CH con el aldehído muy grande o pequeña provoca una disminución del OBC debido a la rigidez o a la ausencia de entrecruzamientos eficaces en la cadena molecular. En este caso, siendo más ventajoso utilizar un aldehído, como el 4H, el cual garantice la creación de puentes de hidrógeno que entrecrucen eficazmente la cadena molecular permitiendo aun cierta flexibilidad que ayude atrapar y retener el aceite. Además, el 4H generó cinéticas de secado más rápidas para obtener una humedad por debajo del 3% en base seca. Siendo esto muy importante ya que la operación de secado es una de las operaciones básicas que más

energía requieren a nivel industrial, por tanto, de cara a una escalabilidad del proceso a nivel industrial esta característica es esencial (Lama et al., 2024). Por tanto, estos factores (OBC y cinética de secado) indican que el aldehído empleado para la realización de los diseños experimentales ha de ser el 4H.

6.2 Diseño experimental

En el presente apartado se presentan los resultados extraídos de la realización de los dos diseños experimentales presentados en el apartado 5.2.2. Los resultados obtenidos serán tratados a lo conforme en el apartado 5.2.3.

6.2.1 Quitosano de bajo peso molecular (CH-LW)

Para el estudio de la influencia del uso como gelificante de CH-LW (variable independiente cualitativa) se realizaron los sistemas mostrados en la Tabla 10. Para el sistema S2B ($[CH] = 3\%$, $O/W = 60/40$) no se muestran los resultados debido a que no fue posible lograr una emulsión. En el proceso de emulsificación en ningún momento se consiguió una única fase homogénea estable. Aproximadamente cinco segundos después de finalizar el proceso de emulsificación con las cantidades detalladas en la Tabla 5, se observó una separación entre fases tal y como se muestra en la Figura 45. Pudiendo esto deberse a fenómenos de *depletion flocculation* o floculación por agotamiento.



Figura 45. Emulsión del sistema S2B donde se observa separación de fases por floculación por agotamiento

El CH se considera un buen estabilizador de emulsiones *oil in water*, en base a dos parámetros, como son:

El HLB (Balance hidrofílico-lipofílico) que describe el tipo de emulsiones resultantes (*oil in water* o *water in oil*) dependiendo del emulsificante utilizado. Este parámetro toma valores en el rango 1 a 40, en el caso del CH se sitúa entre 34 y 36,7 dependiendo de sus características (GD y PM principalmente). Estos valores aseguran la obtención de emulsiones *oil in water* estables en vez de *water in oil* tal y como describieron los autores (Klinkesorn, 2013).

Por otro lado, se encuentra el EAI (Índice de Actividad Emulsificante) que define el área de gotas estabilizadas (superficie emulsión) por gramo de emulsificante empleado. Este índice permite estudiar las diferencias entre las emulsiones generadas con CH atendiendo a cambios en su concentración, PM o su GD (Klinkesorn, 2013). Este índice se relaciona con las variables estudiadas gracias a la realización de los diseños experimentales planteados en el presente TFM.

Por ejemplo, el EAI se ve incrementado ligeramente por el aumento en el PM (pudiendo ser despreciable), sin embargo, a partir de CH de 600 kDa este parámetro decrece rápidamente (36,91 a 29,38 m²/g). Esto se debe a que el CH con bajo PM se adsorbe de manera más compacta en la superficie de las gotas proporcionando estabilidad al sistema (Klinkesorn, 2013). Por tanto, en el caso del uso del CH-LW con un PM calculado anteriormente de 204 kDa no debería existir problemas a la hora de obtener la emulsión del sistema S2B.

Otro parámetro que afecta en la formación y estabilidad de las emulsiones es el GD, y en el caso del CH-LW usado en el presente TFM fue del 85%. Se han reportado emulsiones *oil in water* estables con CH de GD parecidos. Ejemplo de esto son los autores (Del Blanco et al., 1999), quienes estudiaron emulsiones con CH (PM desconocidos) y un GD en el rango del 73 al 95 %, empleando como fase dispersa aceite de girasol en una relación O/W de 20/80. Todas las emulsiones ensayadas resultaron estables, no existiendo aceite residual en las emulsiones que utilizan CH con un GD entre 73 a 88%, mientras que a partir de este último valor si reportaron gotas de aceite residual en la superficie de la emulsión.

Por tanto, la no capacidad de emulsificación del sistema S2B podría deberse a la concentración de CH en el sistema y/o a su relación O/W. (Klinkesorn, 2013) describe la aparición del fenómeno de floculación por agotamiento cuando dos gotas estabilizadas se encuentran adsorbidas a la misma cadena de CH, creando así una especie de puente molecular. En esta situación las gotas de aceite pueden interaccionar debido a que no existe repulsión entre las mismas al no estar separadas por una capa independiente de CH. Si esto ocurre en gran número de gotas, estas se juntarán y las fases de la emulsión se separarán (Figura 45). Este tipo de comportamientos se han observado en sistemas que superaron cierta concentración crítica de CH, la cual no puede ser cuantificada fácilmente ya que dependerá del PM y el GD (Klinkesorn, 2013).

El sistema SPB ([CH] = 3%, O/W = 50/50) que es igual al S2B salvo en la relación O/W (50/50 frente 60/40 respectivamente), si se logró una emulsión. A pesar de que la concentración final de CH en ambos oleogeles es la misma (3%) en la emulsión precursora esto no es así, siendo mayor en el caso de S2B. (Klinkesorn, 2013) reportó que las emulsiones que emplean CH pueden ser menos estables cuanto menor sea el tamaño de las gotas de aceite retenidas, dado que se favorece la aparición de floculación. El tamaño de gota depende de la concentración de CH en la emulsión, ya que a mayor concentración mayor dispersión del aceite por la red molecular y consecuencia de ello, menor tamaño de gota. Esta afirmación en un principio es válida siempre y cuando la cantidad de aceite añadida al sistema permanezca inalterada. En el caso de estos dos sistemas (SPB y S2B) la relación O/W cambia, por tanto, es necesario un entendimiento mayor de cómo influye esta segunda variable. Es posible pronosticar la disminución del tamaño de gotas observando el comportamiento de los sistemas S1B y S3B posteriormente explicados en el apartado 6.2.1.2. Estos dos sistemas con la misma concentración de CH en el oleogel final (1%) también difieren en la relación O/W, siendo de 50/50 y 60/40 respectivamente, siendo el tamaño de gota menor en el sistema S3B. Por tanto, extrapolando esto a los sistemas de estudio SPB y S2B puede ser que el tamaño de gota del sistema SPB sea mayor y, por tanto, dando una emulsión más estable evitando el fenómeno de floculación observado en el sistema S2B.

Es necesario un mayor entendimiento de la relación O/W en la elaboración de emulsiones y oleogeles ya que en la distinta literatura no se ha estudiado de manera extensa y particular esta variable. De ahí que en el presente TFM esta sea una de las variables estudiadas para comprender en mayor medida su influencia en la elaboración de oleogeles para su posterior optimización.

Se muestran los oleogeles obtenidos mediante el uso de CH-LW como gelificante en la Figura 46. Únicamente se presenta un sistema central cualquier debido a su gran reproducibilidad.

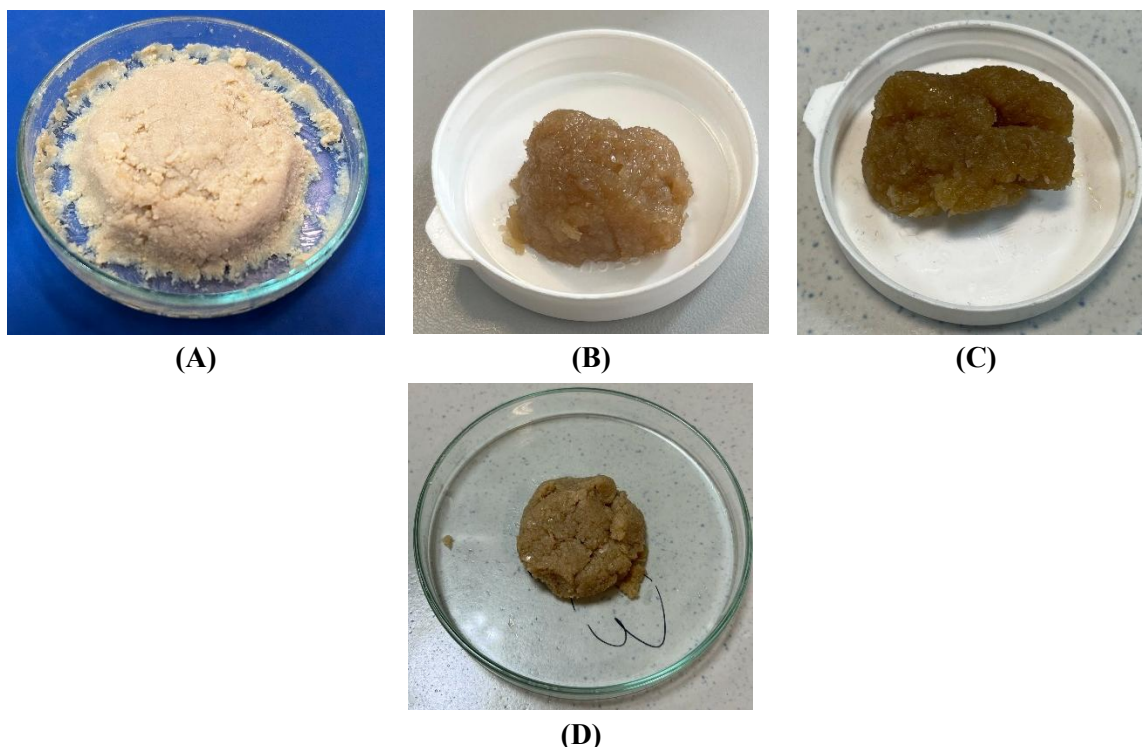


Figura 46. Oleogeles elaborados con CH-LW. (A) SPB, (B) S1B, (C) S3B, (D) SCB

6.2.1.1 Modelización

Mediante el análisis estadístico de los resultados explicado en el apartado 5.2.3 se obtuvieron los modelos matemáticos de los sistemas que emplearon como gelificante el CH-LW para las diferentes variables dependientes (Tabla 16).

Tabla 16. Modelos lineales de primer orden para los parámetros característicos de los oleogeles elaborados con CH-LW

F_n	Modelo	α	R^2
L^*	$54,543 + 9,915 \cdot [CH]$	$<0,001$	0,871
a^*	$1,226 - 0,350 \cdot [CH] + 0,835 \cdot [O/W]$	$<0,001$	0,911
b^*	$18,495 + 2,807 \cdot [CH] - 1,048 \cdot [O/W]$	$<0,001$	0,677
h^*	$1,501 + 0,038 \cdot [CH] - 0,059 \cdot [O/W]$	$<0,001$	0,966
C^*	$18,306 + 2,346 \cdot [CH]$	$<0,001$	0,590
Dureza	$4,542 + 2,983 \cdot [CH] + 2,152 \cdot [O/W] + 2,453 \cdot [CH] \cdot [O/W]$	$<0,001$	0,907
OBC	$96,798 + 8,398 \cdot [CH] - 5,367 \cdot [CH] \cdot [O/W]$	$<0,001$	0,898

La totalidad de los modelos mostrados en la Tabla 16 fueron significativos ($\alpha < 0,05$) para todas las variables dependientes estudiadas y salvo los correspondientes a b^* y C^* con un coeficiente R^2 mayor a 0,87, por tanto, tienen gran robustez a la hora de explicar los resultados obtenidos.

Todos los modelos consideran la variable $[CH]$ como significativa ($\alpha < 0,05$), es decir, que su variación provoca cambios en las propiedades del oleogel. En la construcción de los modelos se han tenido en cuenta solamente los coeficientes asociados a las variables de estudio que tuviesen

un α menor de 0,05 ya que si esto no se cumpliera la variación de dicha variable independiente no provocaría cambios significativos en la propiedad del oleogel. Por otro lado, la relación O/W únicamente influyó en las coordenadas colorimétricas a^* , b^* y C^* y en la dureza. Los modelos para las variables de dureza y OBC tienen en cuenta además las interacciones entre variables independientes.

6.2.1.2 Microscopía

Se analizaron las distintas emulsiones correspondientes a los sistemas de estudio que emplearon como gelificante CH-LW salvo la del sistema SPB, ya que una vez transcurridas 24 horas desde su formación se transformó en un sólido (Figura 47). La razón de este comportamiento es desconocida, aunque se puede ver influenciado por la reacción del CH (con la mayor concentración estudiada) con el aldehído. Sin embargo, la extensión de esta reacción debería ser baja como se comentó en apartados anteriores debido a la presencia de agua.

A pesar de haberse convertido en un sólido fue posible captar imágenes de su microestructura con un aumento x40 (Figura 47) gracias a un filtro polarizado. Sin embargo, el gran número de gotas y su pequeño tamaño no hicieron posible analizarlas con el Software ImageJ y por tanto obtener resultados que concluir.

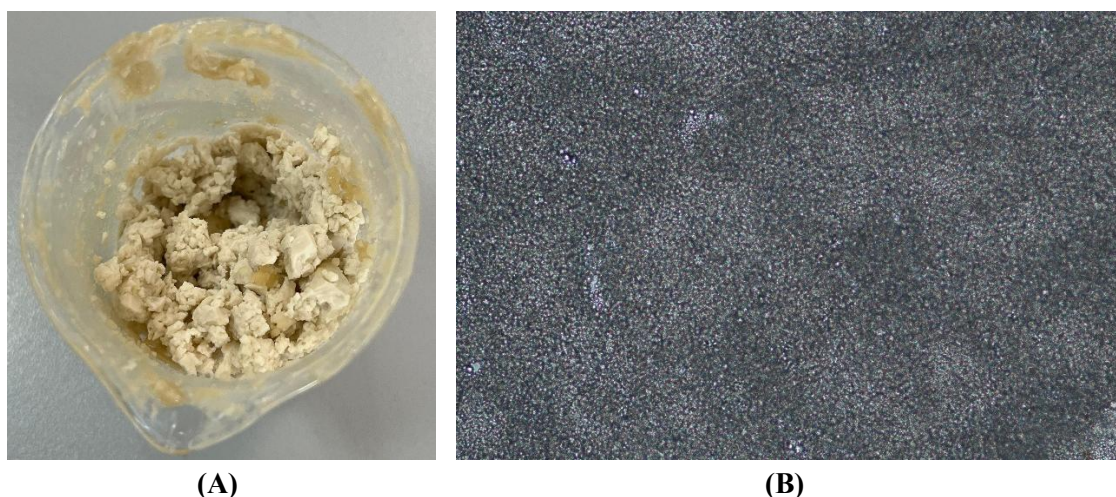


Figura 47. (A) Emulsión SPB solidificada, (B) Imagen a microscopio óptico x40 de la emulsión de SPB

Se obtuvo el NG para las emulsiones correspondientes a los sistemas S1B, S3B y SCB (Figura 48), así como, el perímetro medio de las gotas (Tabla 17) y la distribución del tamaño de gotas en forma de histograma (Figura 49).

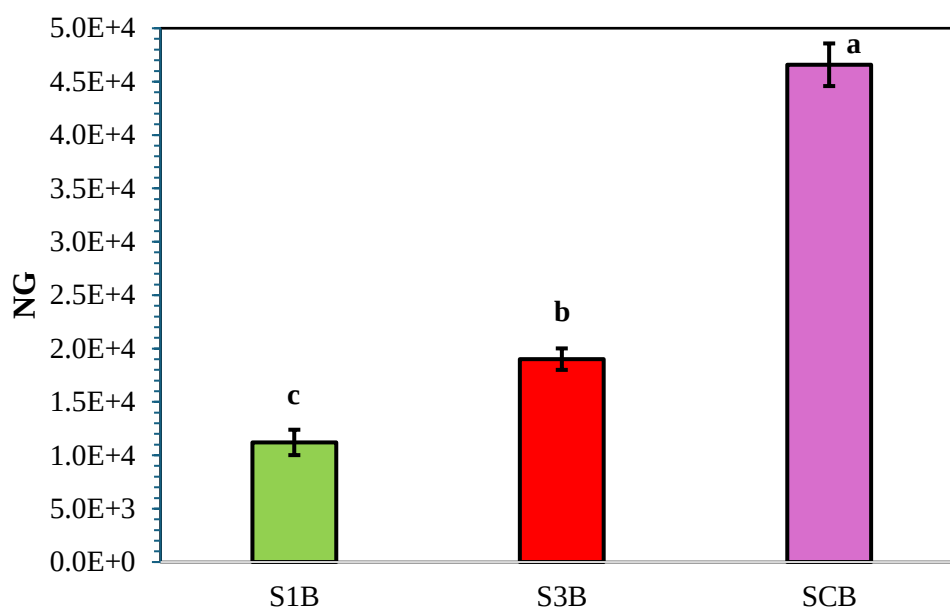


Figura 48. Número de Gotas para las emulsiones de los sistemas S1B, S3B y SCB. Diferentes letras (a,b,c) implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

El NG se incrementó al aumentar la relación O/W para una concentración constante, como es el caso de los sistemas S1B y S3B. Dado que las tres emulsiones fueron estables, por lo menos durante 24 horas que es el tiempo de reposo antes de iniciar la etapa de secado se puede afirmar que la concentración de CH se encuentra fuera del límite comentado con anterioridad a partir del cual se produciría el fenómeno de floculación. Por otro lado, el NG también aumenta a medida que la concentración de CH se incrementa en el sistema. Este aumento fue considerable ya que entre los sistemas S1B y S3B ($[CH] = 1\%$) y la media de los sistemas centrales SCB ($[CH] = 2\%$) el número de gotas aumentó en más del doble ($\times 2,42$ exactamente). Por otro lado, si se pudiesen analizar el número de gotas del sistema SPB (Figura 47) también se apreciaría un gran aumento.

Estos resultados están directamente relacionados con el tamaño de gotas (Tabla 17). A mayor cantidad de gotas menor es el perímetro de las gotas, por tanto, su tamaño se reduce de manera proporcional al aumento de la relación O/W hacia la fase oleosa y la concentración de CH. El autor (Klinkesorn, 2013), describen a esta tendencia como un aumento de dispersión del aceite que provoca tamaños de gota más pequeños a mayor concentración de CH en la emulsión. En este caso, la variación de la variable O/W también tiene un gran peso dentro de los sistemas con misma concentración de CH (S1B y S3B).

Tabla 17. Perímetro de las gotas de la fase oleosa retenida para las emulsiones S1B, S3B y SCB

Sistema	Perímetro (mm)
S1B	$0,026 \pm 0,015$
S3B	$0,015 \pm 0,009$
SCB	$0,011 \pm 0,005$

La distribución del tamaño de gota representada en la Figura 49 muestra una forma parecida en los histogramas de frecuencia para las emulsiones estudiadas. Existe una baja variabilidad en el tamaño de gotas dado a que el recuento de gotas muestra valores próximos para rangos de

perímetros cercanos entre sí en una pequeña región de la escala de tamaños (eje X). Estos resultados podrían explicar la razón por la que las emulsiones obtenidas son estables, ya que las gotas al ser de tamaños parecidos estarán estabilizadas por una masa similar de emulsificante, y, por tanto, podrán tener una repulsión con fuerzas similares evitando un solapamiento entre ellas y su floculación o agregación.

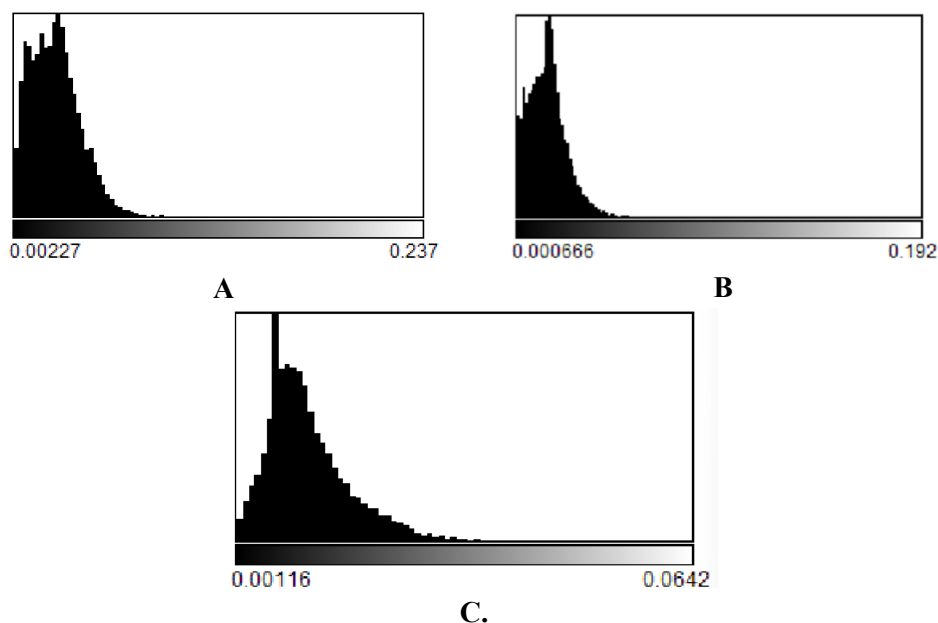


Figura 49. Histogramas de frecuencia para el tamaño de gota de la fase dispersa en: (A) S1B, (B) S3B y (C) SCB

6.2.1.3 Colorimetría

Se muestran las coordenadas colorimétricas primarias del espacio CIELAB en la Tabla 18 y tono y la cromaticidad en la Tabla 19 para los oleogeles elaborados con CH-LW.

Tabla 18. Coordenadas colorimétricas en el espacio CIELAB y color real para los oleogeles elaborados con CH-LW. Letras diferentes en la misma columna (a,b,c,d) implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	L*	a*	b*	*
SPB	62,46 ± 1,16 ^a	1,67 ± 0,08 ^b	20,20 ± 0,73 ^a	
S1B	43,05 ± 1,83 ^c	2,41 ± 0,26 ^a	14,64 ± 0,93 ^c	
S2B	-	-	-	
S3B	44,22 ± 6,11 ^c	0,70 ± 0,27 ^d	16,68 ± 2,94 ^{bc}	
SC1B	55,21 ± 1,46 ^b	1,10 ± 0,10 ^c	17,79 ± 1,15 ^{ab}	
SC2B	55,31 ± 0,86 ^b	1,30 ± 0,92 ^c	19,10 ± 0,10 ^{ab}	
SC3B	56,10 ± 0,48 ^b	1,32 ± 0,12 ^c	18,48 ± 0,33 ^{ab}	
SC4B	55,59 ± 0,51 ^b	1,23 ± 0,09 ^c	18,69 ± 0,78 ^{ab}	

* color aproximado obtenido por conversión del espacio CIELAB a RGB, solo en una pantalla calibrada coincide con precisión al medido por el colorímetro y al color real

Los oleogeles obtenidos muestran una coordenada L^* mayor a 50 pudiéndose considerar luminosos según lo indicado por (Barragán-Martínez et al., 2022). En el caso de los sistemas S1B y S3B el valor de L^* estuvo por debajo de 50. La variación de este parámetro se atribuye al cambio en la concentración de CH, siendo directamente proporcional. Esto también lo indica el modelo obtenido para L^* (Tabla 16), ya que, el único coeficiente individual significativo que forma parte de la ecuación es la concentración de CH. Este tipo de comportamientos en los oleogeles también fueron previamente reportados por (Lama et al., 2024). Los sistemas con diferentes concentraciones de CH mostraron diferencias significativas ($\alpha < 0,05$), de tal modo que no se encontraron diferencias entre sistemas donde únicamente se modificó el O/W ni tampoco entre los sistemas centrales ($\alpha > 0,05$), en los cuales se pudo observar una gran reproducibilidad.

La totalidad de los oleogeles adquirieron tonos rojizos y amarillos dado a que tanto la coordenada a^* como b^* son positivas. Debido a que la coordenada b^* es varias veces mayor, el tono predominante en los oleogeles es el amarillo.

Mediante las ecuaciones de los modelos de las coordenadas a^* y b^* se puede concluir que el incremento de la tonalidad rojiza es inversamente proporcional al aumento de concentración de CH y de aceite en el sistema, mientras que para la tonalidad amarilla el incremento es directamente proporcional al aumento en la concentración de CH y de aceite en el sistema. En el caso de la coordenada a^* la variable que mayor peso tiene en su variación es la relación O/W mientras que en el caso de la coordenada b^* existe un mayor peso atribuible a la variación de la concentración de CH.

Para la coordenada a^* todos los sistemas son significativamente distintos ($\alpha < 0,05$) mientras que en el caso de la coordenada b^* no ocurre lo mismo ($\alpha > 0,05$), el sistema SPB y los sistemas centrales no guardan diferencias significativas entre sus medias ($\alpha > 0,05$).

Por otro lado, la cromaticidad de los oleogeles estudiados depende únicamente de la concentración de CH, siendo directamente proporcional a un aumento de este. A pesar de que se use el mismo gelificante y aldehído, la red molecular es distinta debido a una distinta presencia de gelificante que provoca diferentes niveles de entrecruzamientos fenómeno previamente descrito por (Brito et al., 2022; Xu et al., 2018). Esto también sugiere que en cada sistema la extensión de reacción es distinta.

Finalmente, la variación de la tonalidad depende tanto de cambios en la concentración de CH como en la relación O/W. Esta dependencia fue directamente proporcional al incremento de la concentración de CH y aceite en el sistema. Sin embargo, en el modelo para el tono (Tabla 16) se observó una mayor influencia de los cambios en la concentración del gelificante que de la relación O/W. Las medias son significativamente diferentes para todos los sistemas ($\alpha < 0,05$), salvo en el caso de los puntos centrales y el sistema SPB con el SC3B.

Tabla 19. Cromaticidad y tono de los oleogeles elaborados con CH-LW. Letras diferentes en la misma columna (a,b,c,d) implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	C*	h*
SPB	20,26 $\pm$ 0,73 ^a	1,48 $\pm$ 0,005 ^c
S1B	14,83 $\pm$ 0,46 ^c	1,40 $\pm$ 0,005 ^d
S2B	-	-
S3B	16,69 $\pm$ 2,95 ^{bc}	1,52 $\pm$ 0,01 ^a
SC1B	17,82 $\pm$ 1,15 ^{ab}	1,50 $\pm$ 0,005 ^b
SC2B	19,14 $\pm$ 0,19 ^{ab}	1,49 $\pm$ 0,005 ^b
SC3B	18,52 $\pm$ 0,34 ^{ab}	1,49 $\pm$ 0,005 ^{bc}
SC4B	18,73 $\pm$ 0,51 ^{ab}	1,50 $\pm$ 0,000 ^b

6.2.1.4 Estudio TPA

Las propiedades texturales de los alimentos son esenciales ya que impactan directamente sobre el producto final y, por tanto, sobre la experiencia sensorial del consumidor (Nadulski, 2000). En el presente TFM se estudiaron los parámetros de dureza, cohesividad, elasticidad y adhesividad (Tabla 20).

Tabla 20. Parámetros del análisis TPA para los oleogeles elaborados con CH-LW. Letras diferentes (a,b,c,d) en la misma columna implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	Dureza (N)	Cohesividad (%)	Elasticidad (mm)	Adhesividad (N·s)
SPB	12,12 $\pm$ 2,49 ^a	21,85 $\pm$ 2,75	0,39 $\pm$ 0,18	-1,18 $\pm$ 0,46 ^b
S1B	1,25 $\pm$ 0,06 ^d	25,98 $\pm$ 4,45	0,34 $\pm$ 0,03	-0,29 $\pm$ 0,10 ^a
S2B	-	-	-	-
S3B	1,86 $\pm$ 0,29 ^{cd}	29,38 $\pm$ 3,02	0,45 $\pm$ 0,02	-0,35 $\pm$ 0,08 ^a
SC1B	3,67 $\pm$ 0,55 ^{bc}	24,44 $\pm$ 6,13	0,29 $\pm$ 0,07	-0,46 $\pm$ 0,05 ^a
SC2B	4,82 $\pm$ 1,23 ^b	22,36 $\pm$ 2,89	0,65 $\pm$ 0,08	-0,55 $\pm$ 0,19 ^a
SC3B	5,13 $\pm$ 1,25 ^b	24,30 $\pm$ 2,38	0,59 $\pm$ 0,26	-0,34 $\pm$ 0,28 ^a
SC4B	4,58 $\pm$ 0,25 ^b	23,79 $\pm$ 2,96	0,61 $\pm$ 0,12	-0,52 $\pm$ 0,14 ^a

Los valores de dureza de los oleogeles elaborados con CH-LW mostraron un amplio rango, con valores desde 1,26 a 12,13 N. Esto demuestra la gran versatilidad del gelificante que permitió obtener diferentes especificaciones de productos que podrían ser orientados hacia distintas elaboraciones culinarias. El modelo generado de superficie de respuesta para la variable de la dureza (Tabla 20) depende tanto de la concentración de CH como de la relación O/W, teniendo un mayor peso la primera de las variables. La dureza aumenta proporcionalmente al aumentar la concentración de CH y al disminuir de la relación O/W, es decir, a menor cantidad de aceite. Estas tendencias se pueden observar en la superficie de respuesta (Figura 50) obtenida a partir de la ecuación del modelo.

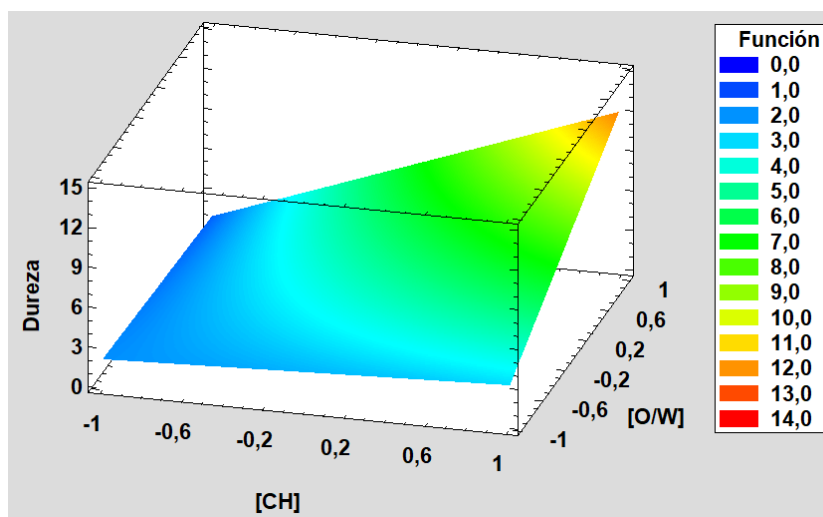


Figura 50. Superficie de Respuesta para la variable de dureza para oleogeles elaborados con CH-LW

Las variaciones de dureza se atribuyen al CH pues al aumentar su presencia en el oleogel más compacta y extensa será la red molecular que estructura, lo cual también fue descrito por (Lama et al., 2024). Por otro lado, la dependencia de la dureza con la variable O/W no se encuentra estudiada de manera extensa en la distinta literatura. Sin embargo, se puede extrapolar de los resultados obtenidos en el presente TFM que el aumento de aceite en el sistema provocará una disminución de la dureza pudiendo deberse a un menor grado de compactación en la red molecular ya que el aceite ocupa un mayor espacio intramolecular. Aunque esta tendencia en la dureza se verá amortiguada en cierto grado por una ligera mayor cantidad de CH en el sistema ya que para mantener la concentración constante a mayor cantidad de aceite es necesario aportar más gelificante. Generalmente, un aumento de gelificante cualquiera en un oleogel independientemente del método utilizado (directo o indirecto) conlleva un aumento en la dureza, siendo esta tendencia verificada por autores como (Yilmaz & Ögütçü, 2014).

Por otro lado, los sistemas con una concentración de CH del 1 % (S1B y S3B) no mostraron valores de dureza significativamente diferentes ($\alpha > 0,05$) entre sí, pero sí frente al sistema SPB ($\alpha < 0,05$). Los sistemas centrales mostraron valores medios sin diferencias significativas mostrando una gran reproducibilidad lo cual generó un modelo robusto. En el caso del sistema S3B únicamente con el sistema SC1B no existieron diferencias significativas en los valores medios de dureza en el oleogel ($\alpha > 0,05$).

La cohesividad de los oleogeles estudiados varió en un pequeño rango desde 21,84 a 29,39 %. Se observa una ligera tendencia a aumentar a medida que la concentración de CH en el sistema disminuye, así como, con una disminución de aceite, es decir en aquellos oleogeles más blandos. En un principio en una red más compacta y, por tanto, de mayor dureza el sistema no permitirá una deformación excesiva antes de su ruptura debido a las fuerzas de repulsión moleculares que aumentan la rigidez en detrimento de la flexibilidad. Este comportamiento fue previamente descrito por (Farooq et al., 2023).

A pesar del rango de variación de la concentración de CH no se encontraron diferencias significativas entre los valores medios de cohesividad ni elasticidad.

La elasticidad varió entre valores de 0,296 a 0,659 mm, no observándose ninguna tendencia clara con las variaciones de concentración de CH ni de la relación O/W. Aunque los oleogeles del sistema SPB, que fueron los de mayor dureza mostraron una baja elasticidad, mientras que aquellos sistemas con durezas medias aumentan su elasticidad. Esto concuerda con lo descrito por (Brito et al., 2022), donde la elasticidad y cohesividad es inversamente proporcional a la dureza, trabajando con oleogeles de aceite de oliva elaborados con CH como gelificante estabilizado mediante vainillina.

La adhesividad se define como la fuerza necesaria para lograr separar un alimento de una superficie (Talens Oliag, 2017). Los valores de adhesividad se encontraron en el rango de -1,18 a -0,32 N·s. La adhesividad se ve influenciada tanto por la concentración de CH como por la relación O/W teniendo un mayor peso la primera variable independiente. A mayor presencia de CH en el sistema la adhesividad aumenta tal y como lo hace si también aumenta la relación O/W cara la fase oleosa. Únicamente se encontraron diferencias significativas para la adhesividad ($\alpha < 0,05$) entre el sistema SPB y los demás, siendo para el resto no significativas entre ellas ($\alpha > 0,05$).

Por tanto, es posible establecer, que una mayor presencia de CH en el sistema y una relación O/W favorable a la fase acuosa, la dureza del sistema aumentará en detrimento de la cohesividad y elasticidad. Sin embargo, la adhesividad será directamente proporcional a un aumento de la dureza.

Otro parámetro importante de los oleogeles es la extensibilidad, descrita por (Brito et al., 2022), como una de las más deseadas para las grasas y por ende también para los oleogeles dado que busca sustituirlas. Esta característica también es inversamente proporcional a la dureza, por tanto, los sistemas con un mayor contenido en aceite y menor concentración de CH serán más proclives a tener una mayor extensibilidad, siendo la de mayor valor la del S1B y la menor la del SPB. Los oleogeles pueden tener distintos usos en la industria alimentaria en función de sus características, por ejemplo, (Brito et al., 2022) afirman que aquellos oleogeles con alta dureza resultan útiles en la industria cárnica para dotar de firmeza a los productos finales. Así, la dureza de 12,12 N mostrada por el sistema SPB podría ser comparable con productos cárnicos como la ternera (14,84 N) o con los procesados de pollo (*nuggets* 10,86 N) (Wee et al., 2018).

Por otro lado, aquellos que tengan una alta extensibilidad pueden ser empleados directamente como sustitutivos de las margarinas como describen (Yilmaz & Ögütçü, 2014). Este estudio busca comparar margarinas comerciales con los oleogeles a partir de aceite de oliva con cera de abeja o girasol como gelificante.

Otro ejemplo más directo de aplicaciones para los oleogeles son las estudiadas por (Ziarno et al., 2023) los cuales también estudian grasas artificiales para sustituir mantequillas comerciales, que tienen una dureza en torno 1,02 a 3,27 N, que son valores similares a los obtenidos por los oleogeles S1B (1,257 N) y S3B (1,861) del presente TFM.

6.2.1.5 Capacidad de retención de aceite

Todos los oleogeles elaborados con CH-LW como gelificante obtuvieron un OBC por encima del 90 % salvo en el caso del sistema S3B (Tabla 21). Según la ecuación del modelo (Tabla 16) el valor del OBC aumenta proporcionalmente con el incremento de la concentración de CH en el sistema, esta gran influencia también se puede observar en la superficie de respuesta de la Figura 51. En ella la región del extremo de las variables codificadas 1 (OBC) y -1 (O/W) no cuenta con

ningún dato, puesto que los valores que devuelve la función serían mayores a cien y carecería de sentido físico.

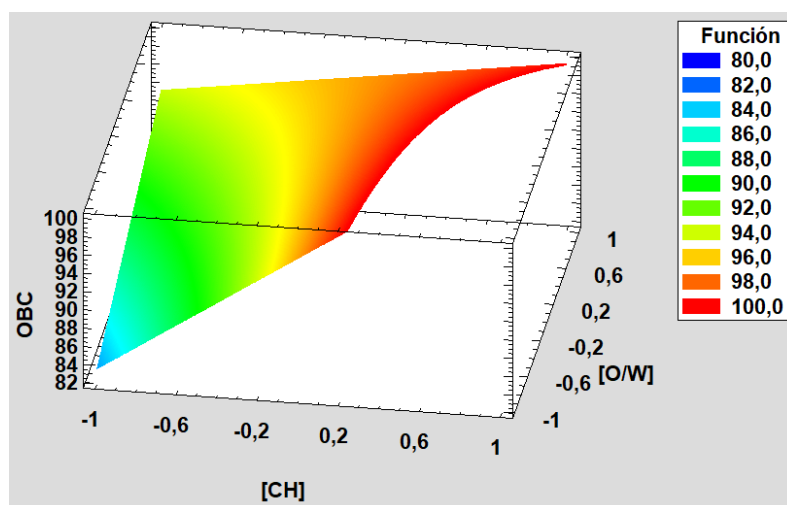


Figura 51. Superficie de respuesta para la variable de OBC en oleogel elaborados con CH-LW

Los autores (Jiang & Bai, 2022) obtuvieron una tendencia similar frente a la variación de la concentración de gelificante mediante la elaboración distintos oleogel de aceite de triglicéridos de cadena media mediante el método indirecto utilizando hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) o pectina como gelificantes. Por otro lado, los autores (Yilmaz & Ögütçü, 2014) reportaron una tendencia diferente en la elaboración de oleogel por el método directo, no observando un efecto de la concentración de gelificante en el OBC final. Esto puede deberse a que trabajaron en un régimen de concentraciones alto, de 3% a 7% de cera de abeja o girasol, obteniendo siempre un OBC mayor o igual al 99%. Este rango de concentraciones no resulta ventajoso si se desea escalar el proceso a nivel industrial, puesto que el exceso de gelificante empleado produce un aumento del coste de producción y se reduce el contenido en aceite del producto final. En el presente TFM se puede observar en que a partir del 2% de CH en el oleogel la ganancia en el OBC no resulta significativa, por lo que no se justificaría un mayor uso de gelificante. Sin embargo, esta reducción de gelificante penalizará en las propiedades de textura o color, por tanto, la formulación del oleogel ha de consistir en un balance entre sus propiedades atendiendo a su aplicación final.

No todos los sistemas centrales obtuvieron medias sin diferencias significativas ($\alpha > 0,05$), ya que los sistemas SC1B y SC3B difieren entre sí, al igual que los sistemas que constituyen un extremo (SPB, S1B y S3B) ($\alpha < 0,05$). Entre los sistemas S1B y SC1B y, por otro lado, SPB con SC2B, SC3B y SC4B no se aprecian diferencias estadísticas ($\alpha > 0,05$).

Tabla 21. Valores de OBC para los oleogeles elaborados con CH-LW. Letras diferentes (a,b,c,d) implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	OBC
SPB	$99,45 \pm 0,94^a$
S1B	$93,41 \pm 1,97^c$
S2B	-
S3B	$82,92 \pm 2,23^d$
SC1B	$94,55 \pm 2,02^{bc}$
SC2B	$97,32 \pm 1,71^{ab}$
SC3B	$98,51 \pm 0,19^a$
SC4B	$96,82 \pm 1,02^{ab}$

En el caso de los sistemas SPB, SC2B, SC3B y SC4B se alcanzó un OBC mayor al 95% indicando una gran estabilidad en la red molecular, lo que provoca una óptima retención del aceite, incluso en situaciones de esfuerzo tal y como describen (Brito et al., 2022). Los resultados obtenidos en el presente TFM concuerdan con (Zhu et al., 2024) quienes indicaron un OBC mayor 95% en la elaboración de oleogeles de aceite de soja empleando como gelificante CH (300 kDa, GD > 85%) estabilizado con 4H.

Por otro lado, la ecuación del modelo también se ve influenciada por la interacción de la concentración de CH y la relación de O/W. Implicando que si la concentración de CH varía en el sistema (aumentándose) y a la vez también existe un descenso en la relación O/W el OBC aumentará. Este coeficiente relativo a la interacción entre variables independientes tiene una menor influencia en los sistemas.

6.2.1.6 Estudio reológico

Se realizó el barrido de deformación para las emulsiones (Figura 52) explicado en el apartado 5.1.5. La emulsión del sistema SPB no pudo ser estudiada debido a su fragilidad, pues al someterse al barrido de deformación la muestra presentaba gran fracturabilidad por su carácter sólido y, por ello, el espacio comprendido entre el plato estacionario y oscilante no quedaba cubierto completamente, generando resultados poco fiables. Se exponen los resultados de las emulsiones y oleogeles de los sistemas centrales como uno solo, que fue promediado como la media de los cuatro. Esto se hace ya que la reproducibilidad fue muy buena lo que conllevó a obtener desviaciones despreciables, permitiendo extraer conclusiones robustas.

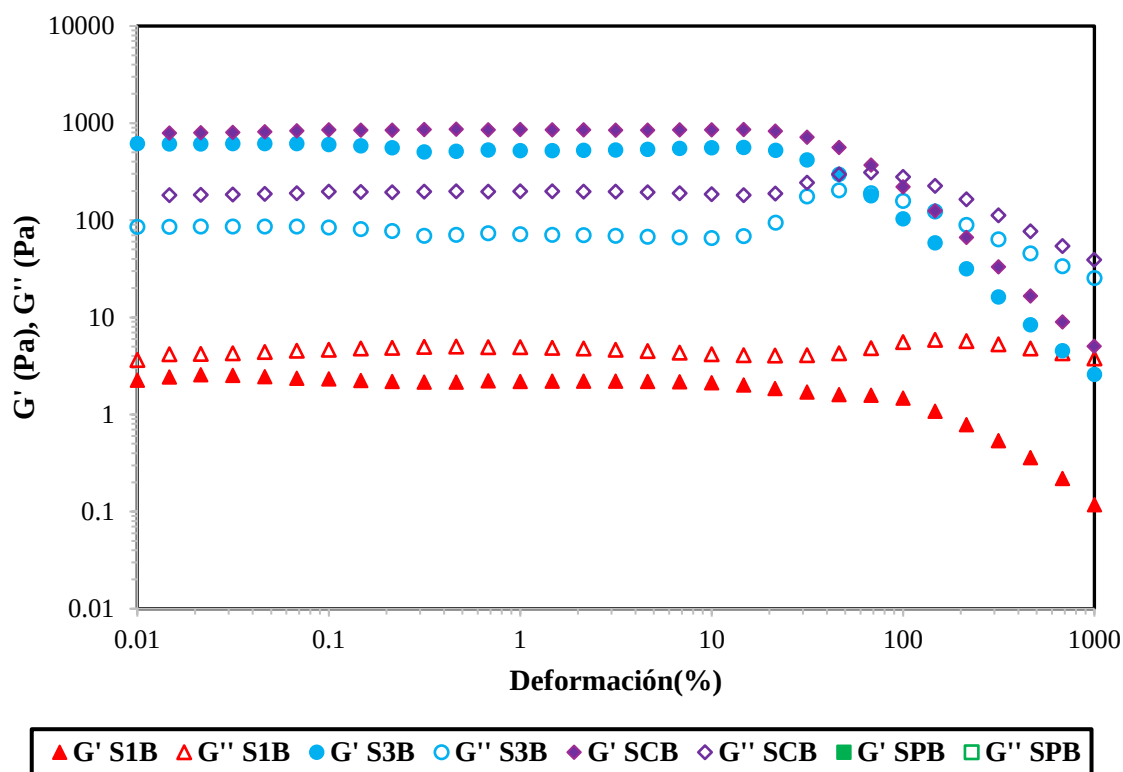


Figura 52. Barrido de deformación para las emulsiones elaboradas con CH-LW

Todas las emulsiones estudiadas se encontraron dentro del LVR (Figura 52) para un valor de deformación igual o menor a 1%, por lo que este punto fue el empleado para los ensayos de barrido de frecuencia. Aunque realmente el punto de fluencia, valor de deformación a partir del cual los módulos no son lineales, se encuentra sobre el 10 %, no es interesante trabajar en este punto ya que no genera ningún beneficio de estudio y durante el barrido de frecuencia podrían surgir problemas si se emplea, como abandonar la zona viscoelástica a frecuencias menores a 1 Hz.

Para los sistemas S3B y SCB los valores de G' fueron mayores a G'' dentro del rango LVR, indicando un comportamiento de gel y cierta rigidez debida a la red molecular formada por el CH. Además, los módulos G' y G'' de SCB fueron mayores a los respectivos del sistema S3B lo que concuerda con la presencia de una estructura más compacta, ya que el punto central cuenta con una mayor concentración de CH en su formulación (2% frente a 1%). También ambos sistemas, cuando los módulos abandonan el *plateau* y superan la región viscoelástica, muestran la aparición de un punto de gel. Esto ocurre cuando los módulos obtienen el mismo valor ($G'=G''$), una vez excedida la deformación correspondiente al punto de gel el comportamiento viscoso se convierte en el dominante. Esto también puede indicar un colapso de la protoestructura conformada por el CH y el 4H debido a la alta deformación, lo que permite que la muestra fluya. Estos comportamientos en emulsiones también han sido reportados por (Meng et al., 2018), aunque empleando HPMC como gelificante.

Por otro lado, el sistema S1B muestra un comportamiento distinto a los anteriores. Durante todo el barrido de deformación G'' fue mayor a G' presentando dicha emulsión el comportamiento de un líquido. Esto puede deberse a que la estructura del CH en este caso aún no es lo suficientemente fuerte, pero este comportamiento se invertirá cuando se alcance la máxima conversión gracias a

reacción con el 4H durante el secado. Además, cuando la emulsión abandona el rango viscoelástico, G' decrece rápidamente. Esto indica que cualquier estructura estabilizante se habría fracturado, pudiendo así la muestra fluir con más facilidad, lo que conlleva asociado un aumento de G'' . Este tipo de comportamiento es típico en emulsiones o dispersiones con estructuras moleculares débiles (Mezger, 2006).

También se realizó un barrido de frecuencias para las emulsiones, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 53 que se complementa con la Tabla 22, donde se muestra los valores de los módulos viscoso y elástico, así como el factor de amortiguamiento a 1 Hz.

Durante el barrido de frecuencia (Figura 53) las emulsiones mostraron el mismo comportamiento respecto a G' y G'' que en el barrido de deformación. Consecuentemente el factor de amortiguamiento toma valores mayores a 1 ($G'' > G'$) para el sistema S1B mientras que para los sistemas S3B y SCB el valor es menor a la unidad ($G' > G''$). Además, la emulsión S3B obtuvo una mayor diferencia de valores entre módulos, indicando que dicho sistema tiene el comportamiento sólido más predominante. Esto parece contrario con lo anteriormente expuesto, ya que el sistema S3B únicamente contiene un 1% de CH en su formulación frente a los sistemas centrales del diseño experimental con un 2%, por tanto, sería esperable que la protored molecular conformada por las emulsiones SCB fuese más robusta implicando un mayor comportamiento elástico predominante frente viscoso. Sin embargo, estos dos sistemas difieren en la relación O/W, pudiendo ser esta la causa raíz. Esta hipótesis se puede confirmar con el barrido de frecuencia del oleogel, cuando la reacción entre el CH y el aldehído haya ocurrido con gran extensión y, por tanto, las redes moleculares se conformen de manera definitiva. Además, en el caso de las emulsiones de dichos sistemas, el módulo elástico de SCB fue mayor al de S3B, indicando una mayor presencia de estructura molecular derivada de una mayor concentración de CH en la formulación del oleogel. Sin embargo, la red molecular previa a la reacción es más frágil.

Tabla 22. Módulo elástico (G') y viscoso (G'') y factor de amortiguamiento de las emulsiones y oleogeles elaborados con CH-LW a 1 Hz. Las desviaciones del sistema central se corresponde con el error del modelo siendo aplicable a cualquier sistema.

	Emulsión			Oleogel		
	G' (Pa)	G'' (Pa)	Tan (δ)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Tan(δ)
SPB	-	-	-	$9,86 \cdot 10^5$	$1,08 \cdot 10^5$	0,10
S1B	1,28	5,21	4,06	$8,28 \cdot 10^4$	7644,6	0,092
S2B	-	-	-	-	-	-
S3B	316,44	85,526	0,27	$8,68 \cdot 10^4$	7432,3	0,085
SCB	375,01	186,10	0,50	$2,13 \cdot 10^5$	$2,49 \cdot 10^4$	0,117
Error	$\pm 55,43$	$\pm 47,63$	$\pm 0,11$	$\pm 2,71 \cdot 10^4$	$\pm 5985,89$	$\pm 0,014$

Como se muestra en el barrido de frecuencia (Figura 53), ambos módulos en el caso de las tres emulsiones tienen dependencia con la frecuencia. Se pueden dividir las emulsiones en dos grupos atendiendo al comportamiento que mostraron; por un lado, los sistemas S3B y SPB y por otro el sistema S1B. Las emulsiones derivadas de S3B y SCB, aparte de tener un módulo elástico predominante durante todo el barrido, tienen una pendiente positiva. Este tipo de comportamientos indican la presencia de una estructura molecular entrelazada ("*cross-linking*") aunque de manera débil, por ejemplo, por la falta de una reacción (Mezger, 2006). Nuevamente (Meng et al., 2018) reportan dicha tendencia con sus emulsiones.

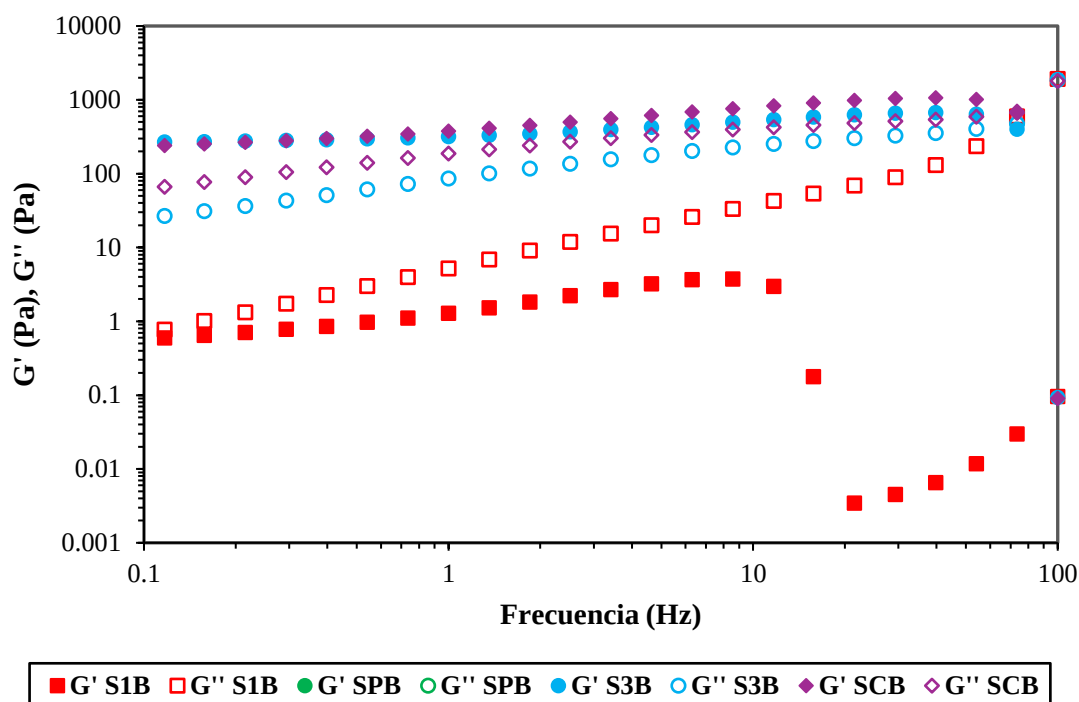


Figura 53. Barrido de frecuencia para las emulsiones elaboradas con CH-LW

Por otro lado, la respuesta del sistema S1B muestra una gran dependencia de la frecuencia, donde la diferencia entre G'' y G' se incrementa a lo largo del barrido y también cuentan con pendiente positiva. Por tanto, a bajas frecuencias ambos módulos se encuentran próximos, pero con un aumento de frecuencia la estructura mínimamente robusta que existe se deforma hasta su fractura y el sistema fluye. Además, el módulo elástico sufre un descenso repentino indicando que cualquier estructura existente se fracturó y que seguramente el sistema abandona la zona viscoelástica. Para confirmar esto último sería necesario realizar un nuevo ensayo LVR a una frecuencia cercana a 10 Hz.

Se realizaron los mismos barridos para los oleogeles, donde la Figura 54 muestra el barrido de deformación y la Figura 55 el barrido de frecuencia. En el caso de los oleogeles la región viscoelástica se redujo, siendo el punto de fluencia análogo a una deformación del 1%. Posteriormente el barrido de frecuencias se realizó a una deformación del 0,01% para asegurar la ausencia de problemas durante su ejecución.

En este caso si fue posible estudiar el sistema SPB ya que el oleogel se comportaba como tal. En el barrido de deformación todos los sistemas obtuvieron resultados dentro de lo esperado, donde el módulo elástico es predominante frente al viscoso. Este comportamiento también es reportado por (Meng et al., 2018). Los oleogeles con una mayor concentración de CH y relación O/W más favorable a la fase acuosa obtuvieron mayores valores de G' y G'' . Se confirmó también que la etapa de secado y el consecuente fortalecimiento de la red molecular por la reacción del CH con el 4H el oleogel derivado del sistema S1B se comportó como un sólido ($G' > G''$) para toda la región LVR.

Cabe destacar que los sistemas S1B, S3B y SCB una vez abandonan la región LVR sufren un punto de gel. Sin embargo, el sistema SPB cuando abandona el *plateau* sufre de un elevado grado de fracturabilidad y, por tanto, no es posible obtener datos fiables fuera de dicha región. Esto se

puede deber a que la gran estructura molecular formada por el CH tiene un gran carácter rígido y poco flexible.

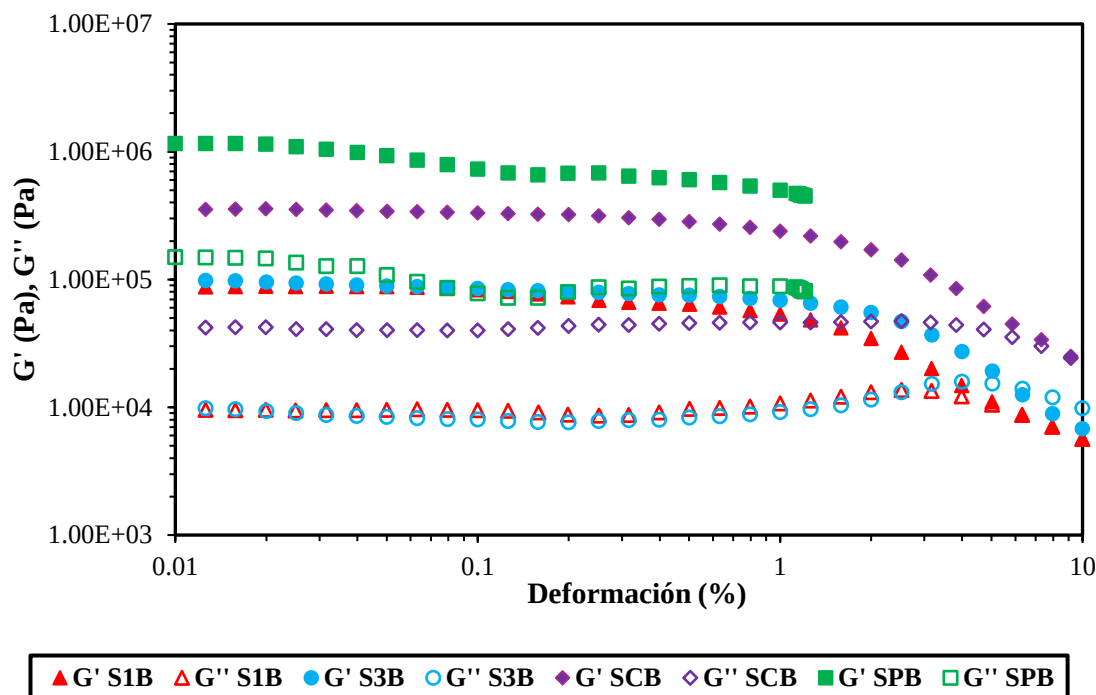


Figura 54. Barrido de deformación para los oleogeles elaborados con CH-LW

Por otro lado, del barrido de frecuencia resultan los valores de los módulos elástico y viscoso y el factor de amortiguamiento a 1 Hz de la Tabla 22. Nuevamente se observa la misma tendencia que en el barrido de deformación; el módulo elástico es mayor al viscoso y estos incrementan su valor con un aumento de la concentración de CH y una disminución de la fase aceitosa en la relación O/W, aunque esta última variable apenas genera influencia. En este caso, no se encontraron diferencias significativas entre los valores del factor de amortiguamiento situándose todos en un rango entre 0,085 y 0,116. De todas maneras, presentan cierta tendencia al aumento de su valor según se incrementa el valor de los módulos. Además, estos resultados confirman lo hipotetizado anteriormente, el sistema SCB presenta una mayor diferencia entre módulos frente al S3B ya que una mayor concentración de CH conlleva una estructura molecular más compacta, y consecuentemente a un comportamiento sólido más predominante.

El espectro mecánico de todos los oleogeles mostró poca dependencia frente a la frecuencia, esto es así ya que exhiben una ligera pendiente en los módulos G' y G'' a lo largo del barrido. Además, la diferencia entre módulos permanece prácticamente constante, es decir, los módulos devuelven un perfil paralelo entre sí. Esto indica que en todos los casos un oleogel con una estructura fuerte, la cual puede soportar fuerzas externas. Estos resultados concuerdan con lo reportado por (Zhu et al., 2024) con oleogeles de aceite de soja también elaborados con CH y 4H.

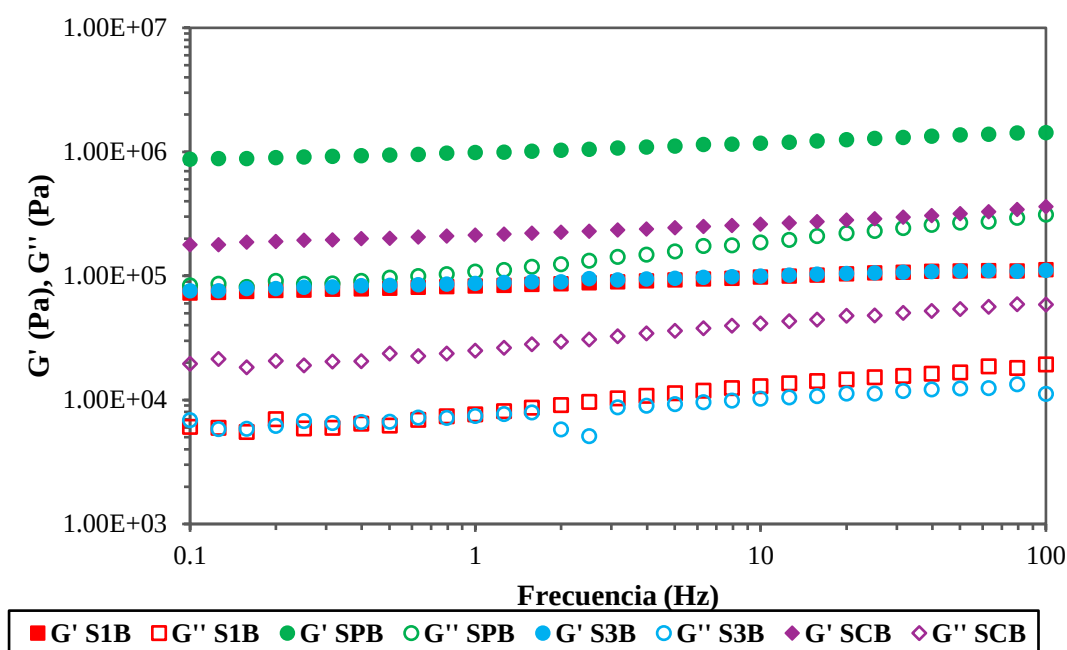


Figura 55. Barrido de frecuencia para los oleogeles elaborados con CH-LW

6.2.1.7 Relación entre parámetros

En el presente subapartado se pretende discutir de forma global el efecto que tiene la variación de la concentración de CH y la relación O/W en el oleogel final sobre todos los parámetros fisicoquímicos estudiados.

Un aumento de concentración de CH en los sistemas se relaciona con un aumento de la dispersión del aceite en la fase continua para las emulsiones, dando como resultado un aumento en el número de gotas y una disminución en su tamaño. El comportamiento reológico de la emulsión podrá ser esencialmente el de un sólido ($G' > G''$) cuando la concentración de CH sea al menos del 1%. A medida que este valor se supera, la estructura se vuelve más compacta y el comportamiento de gel es reforzado. De forma proporcional los módulos G' y G'' aumentan durante la fase de secado. El OBC será mayor cuanto mayor sea el módulo elástico y esta relación también se mantiene con la dureza y adhesividad, lo que ocasiona a su vez una pérdida de la cohesividad, elasticidad y extensibilidad, tendencias también reportadas por (Meng et al., 2018) con HPMC como gelificante o (Zhu et al., 2024). En cuanto a la apariencia de los oleogeles un aumento de CH provoca un aumento de la luminosidad y del tono amarillo mientras el índice de rojo disminuye generando un color más distinguible. Esto se ve reflejado como un aumento en el valor de la cromaticidad.

La selección de una concentración de CH mayor del 1% en el oleogel ha de estar debidamente justificada, ya que con dicho valor se obtiene la premisa de un OBC mayor o igual del 90%. Utilizar mayores concentraciones sólo sería necesario si se requiere obtener un oleogel con distintas características texturales o colorimétricas, pero no para obtener un mejor oleogel.

Por otro lado, la influencia de la relación O/W queda en un segundo plano frente a la concentración de CH para todos los sistemas estudiados. Esta variable independiente influye en: la colorimetría (a^* y h^*), el NG, el tamaño de gota del aceite en la emulsión y en las propiedades

texturales, pero solo en el caso de las variables a^* , h^* y el tamaño de gotas retenidas tiene una mayor influencia que la concentración de quitosano. A pesar de no influir de una manera tan notable en las características del oleogel, su variación sí puede ocasionar una pérdida de estabilidad en las emulsiones y, por tanto, impedir la obtención del producto final (véase el caso del sistema S2B). Por ello, no ha de despreciarse esta variable independiente. En cualquier caso, siempre que la estabilidad de la emulsión precursora lo permita, sería beneficioso establecer una relación O/W lo más favorable posible hacia la fase aceitosa, pues esto aumentará el rendimiento en lo que se refiere a la obtención de productos con mayor masa de aceite. Sin embargo, a parte del límite de la estabilidad, también se encuentra el de la solubilidad del gelificante en la fase continua, que puede resultar limitante.

También se pudo confirmar la existencia de un límite técnico en la elaboración de oleogeles de aceite de oliva empleando CH-LW como gelificante y 4H como agente estructurante cuando la concentración de CH sea del 3% y la relación O/W del 60/40. En línea con esto, nunca fue posible disolver el CH-LW para obtener un oleogel con una concentración final mayor al 3%. Se podría superar este límite con un CH de igual PM al del LW con un mayor GD sin llegar a superar el 88% o con uno con menor PM y un GD igual o menor al 88%. Con esa especificación de gelificante sería posible aumentar las probabilidades de conseguir solubilizarlo en la fase continua para una concentración final de CH en el oleogel mayor al 3% o para una relación O/W, por ejemplo, de 70/30, la cual precisa de una fase continua más concentrada. Sin embargo, la gran viscosidad que presentan estas disoluciones generaría un cuello de botella en la producción del oleogel debido a su difícil manejo, dificultando también así una posible escalabilidad a nivel industrial.

6.2.2 Quitosano de alto peso molecular (CH-HW)

En el presente subapartado se presenta el análisis de los resultados obtenidos de la realización de los oleogeles (Tabla 10) con CH-HW como gelificante. Cabe destacar que en la distinta literatura no existen prácticamente estudios con CH de tan altos PM como el usado en el presente TFM (2439 kDa). Realmente esta especificación se encuentra fuera de lo común, ya que los CH se comercializan en un rango entre 4 a 2000 kDa (Mun et al., 2006). El análisis de cómo influye el CH-HW en el oleogel es importante, ya que de obtenerse ventajas supondría un cambio de paradigma sobre la investigación actual de este tipo de productos.

Todos los sistemas realizados con CH-HW pudieron ser estudiados, aunque para lograrlo fue necesario cambiar ligeramente las condiciones experimentales del sistema S3A ([CH]: 1%, O/W: 60/40). La razón se debió a que después del proceso de emulsificación donde se observaron fenómenos de agregación que dieron lugar a la separación de fases (Figura 56).

A diferencia con el sistema S2B (CH-LW) que tampoco pudo realizarse debido al mismo problema de separación entre fases, en este caso, durante el proceso de emulsificación si se generaba una emulsión estable, sin embargo, al finalizar, transcurridos 10 minutos, ocurría el fenómeno de agregación. Dado a que el comportamiento apareció a una distinta concentración que en el caso del CH-LW, este se puede explicar por el PM y el GD del CH-HW.



Figura 56. Emulsión del sistema S3A con separación de fases por fenómenos de agregación

(Mun et al., 2006) estudiaron las implicaciones que estas dos variables tienen sobre emulsiones *oil in water* empleando CH. En primer lugar, observaron que la tendencia a la aparición de la floculación por agregación se ve acentuada por el aumento del PM del CH. Dado que el CH-HW empleado en el presente TFM tiene un PM diez veces superior al CH-LW esta hipótesis se confirma ya que dicho fenómeno se produce a una concentración más baja. Esto también confirma que la concentración que admite la emulsión de CH es más baja. (Mun et al., 2005) describen para este tipo de emulsiones la concentración de saturación: punto en el cual el total de gotas retenidas en la emulsión se encuentran rodeadas por una capa de emulsificante. Teóricamente, cuantas más capas existan mayor estabilidad será conferida a la emulsión, sin embargo, pueden producirse fenómenos de floculación por agregación cuando la concentración de gotas sea muy alta (O/W: 60/40), ya que la probabilidad de que las gotas se encuentren retenidas a la vez por la misma capa aumenta, generando puentes moleculares que favorecen el movimiento de la fase dispersa y, por tanto, la agregación de las gotas. Este fenómeno coincide con lo ocurrido cuando se trabajó con el CH-LW anteriormente explicado.

Por otro lado, durante el proceso de emulsificación se observó un gran aumento de la temperatura, derivada de la fricción generada por el homogeneizador de alta velocidad (Ultra-Turrax) y una alta viscosidad inicial del sistema. En un principio este aumento de la temperatura favorece la emulsificación tal y como describen (Chen & Tao, 2005), por la disminución de la tensión interfacial y la viscosidad. Sin embargo, el cambio de temperatura fue muy alto y su gran variación desestabilizó al sistema. (Sousa et al., 2022) también reportaron que este rápido aumento de la temperatura conlleva a la pérdida de estabilidad en emulsiones *oil in water*, debido al incremento de movilidad en la fase dispersa generada por la disminución de la viscosidad y una mayor diferencia de densidad entre ambas fases, lo cual promueve el contacto entre las gotas de aceite retenidas y su agregación.

Por tanto, la aparición de fenómenos de agregación de la fase dispersa en el sistema S3A seguramente se deba, no solamente a un factor sino al elevado PM del CH-HW promoviendo la aparición temprana de la concentración de saturación aumentando las probabilidades de floculación por agregación si existe una gran presencia de aceite y al incremento repentino de la temperatura debido a la fricción sometida sobre la estructura molecular durante el proceso de emulsificación.

Para solventar esto se acortó el proceso de emulsificación a 3 minutos según el protocolo descrito en el apartado 4.4.2. Este tiempo se corresponde con el tiempo mínimo para adicionar todos los componentes. Se mantuvo el mismo nivel de agitación con el Ultra-Turrax. Una reducción en la agitación conlleva un aumento más lento de la temperatura del sistema, pero no generara una mayor estabilidad de la emulsión (Sousa et al., 2022). En ese periodo de tiempo fue posible observar una emulsión homogénea donde el aumento de temperatura aún no había provocado un gran cambio en la viscosidad del sistema.

Con este tipo de fenómenos es posible concluir de forma temprana en el periodo de experimentación que la utilización de un CH u otro conlleva a la obtención de oleogeles distintos a pesar de ser el mismo compuesto (en lo que respecta a los monómeros que conforman al polímero). Se presentan en la Figura 57 la totalidad de los oleogeles elaborados con el CH-HW. En este caso, a simple vista, es posible determinar que existe una menor variabilidad en la apariencia de los oleogeles frente cuando se empleó como gelificante CH-LW (Figura 46).

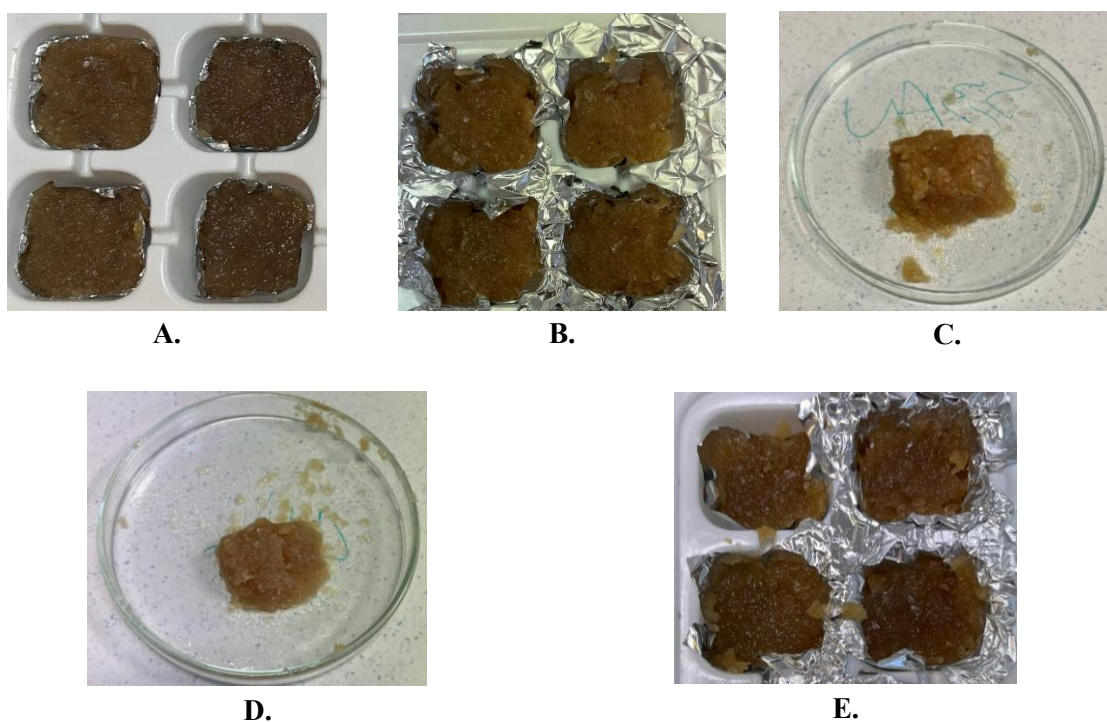


Figura 57. Oleogeles elaborados con CH-HW. (A) S1A, (B) S2A, (C) S3A, (D) S4A, (E) SCA

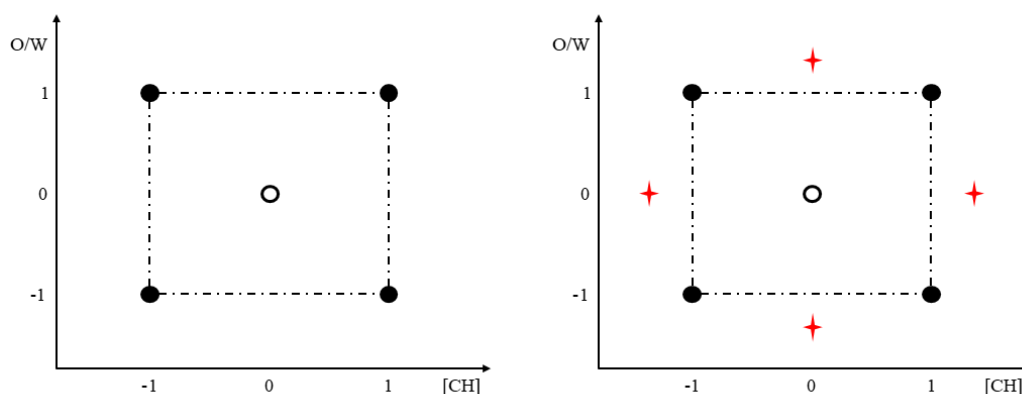
6.2.2.1 Modelización

Se construyeron los modelos lineales de primer orden (Tabla 23) para los resultados obtenidos de la realización de oleogeles con CH-HW. En el caso del presente diseño experimental fue posible la obtención del modelo para la variable referente al número de gotas retenidas en la emulsión (NG) ya que todos los sistemas realizados pudieron ser estudiados a nivel microscópico.

Tabla 23. Modelos lineales de primer orden para los parámetros característicos de los oleogeles elaborados con CH-HW

F_n	Modelo	Sig.	R^2
NG	$1209,208 + 288,667 \cdot [CH] + 466,167 \cdot [O/W] - 125,833 \cdot [CH] \cdot [O/W]$	<0,001	0,832
L*	$30,492 - 3,248 \cdot [CH] \cdot [O/W]$	0,014	0,244
a*	$2,167 + 0,403 \cdot [O/W]$	0,09	0,275
b*	$10,537 - 1,797 \cdot [O/W] - 2,145 \cdot [CH] \cdot [O/W]$	0,004	0,414
h*	$1,348 - 0,054 \cdot [O/W]$	0,032	0,193
C*	$10,909 - 1,748 \cdot [O/W] - 2,107 \cdot [CH] \cdot [O/W]$	0,002	0,455
Dureza	$1,430 - 0,275 \cdot [CH] \cdot [O/W]$	0,031	0,194
OBC	$76,688 - 4,090 \cdot [CH] \cdot [O/W]$	0,266	0,056

Como se muestra en la Tabla 23 todos los modelos fueron significativos ($\alpha < 0,05$) salvo los correspondientes a las variables dependientes h^* y OBC. Para ambos parámetros los valores que toman en los sistemas centrales (SC1A, SC2A, SC3A y SC4A), que se expondrán posteriormente, son mínimos, incrementándose siempre con la variación de la concentración de CH o la relación O/W. Por tanto, la existencia de este tipo de comportamientos denotaría la presencia de curvatura en la superficie de respuesta y los modelos propuestos lineales de primer orden no tienen en cuenta los efectos cuadráticos de las variables siendo de este modo menos robustos. En orden de solucionar esta problemática debería extenderse el diseño experimental, a un diseño central compuesto (Figura 58) para obtener modelos cuadráticos de segundo orden (Box et al., 2008). Aunque en el presente TFM no se ha realizado dicha extensión, ya que lo que interesa en el caso del OBC es su maximización y dado a que la falta de significación proviene de que el punto central es un mínimo carecería de sentido su realización. Para solucionar esta situación en lo referente al OBC y h^* únicamente se debería realizar un diseño experimental central compuesto para tener en cuenta los efectos cuadráticos existentes, pero centrado en otra zona de estudio, algo que por falta de tiempo no fue posible llevar a cabo.

**Figura 58. Comparación entre el diseño experimental exponencial realizado (izquierda) y el diseño central compuesto propuesto (derecha)**

Por otro lado, únicamente el modelo correspondiente al NG obtuvo un coeficiente R^2 alto, de 0,832 indicando que es un modelo robusto a la hora de explicar los resultados al contrario que para el resto de las variables.

La totalidad de modelos salvo el referente al NG en la emulsión no tienen en cuenta el efecto de la concentración de CH sobre los sistemas. Esto muestra una gran diferencia con lo expuesto anteriormente en los modelos resultantes del uso de CH-LW, donde prácticamente todos consideraban la influencia de la concentración de CH en el oleogel de significativa. En este caso, la interacción entre las variables independientes genera la mayor influencia en los sistemas, siendo significativa en los modelos de los parámetros NG, L^* , a^* , b^* , C^* , dureza y OBC. La relación O/W de forma independiente solo aporta diferencias significativas según los modelos en las variables de NG, a^* , h^* y C^* .

6.2.2.2 Microscopia

En este caso, ninguna emulsión sufrió problemas asociados a la separación de fases, cambio de apariencia o de estado como en el caso del sistema SPB anteriormente explicado. En la Tabla 24 se presentan los resultados del NG y del tamaño de las gotas (perímetro) en las distintas emulsiones que conforman el diseño experimental.

Tabla 24. NG y perímetro de gota para las emulsiones de los sistemas elaborados con CH-HW. Diferentes letras (a, b, c, d, e) implican diferencias entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	NG	Perímetro (mm)
S1A	502 $\pm$ 18 ^c	0,1054 $\pm$ 0,013
S2A	1331 $\pm$ 50 ^c	0,064 $\pm$ 0,004
S3A	1686 $\pm$ 17 ^b	0,066 $\pm$ 0,003
S4A	2012 $\pm$ 56 ^a	0,062 $\pm$ 0,003
SC1A	1061 $\pm$ 31 ^d	0,077 $\pm$ 0,005
SC2A	1061 $\pm$ 22 ^d	0,085 $\pm$ 0,003
SC3A	983 $\pm$ 83 ^d	0,072 $\pm$ 0,006
SC4A	1040 $\pm$ 36 ^d	0,078 $\pm$ 0,006

El NG (Tabla 24) de la emulsión varía entre 502 y 2012, siendo el incremento en el NG proporcional a un aumento de la concentración de CH en el sistema y de la fase acuosa en la relación O/W, como se observa fácilmente en la superficie de respuesta de la Figura 59. La variación de la relación entre la fase dispersa y continua tuvo un mayor peso, como indica la ecuación del modelo obtenido (Tabla 23), donde el coeficiente referente a la relación O/W es de mayor valor que el correspondiente a la concentración de CH en el oleogel y a la interacción de ambas variables independientes. Entre todos los sistemas las medias fueron significativamente diferentes ($\alpha < 0,05$), únicamente no encontrándose diferencias significativas entre los sistemas centrales, indicando así, una gran reproducibilidad de esta característica.

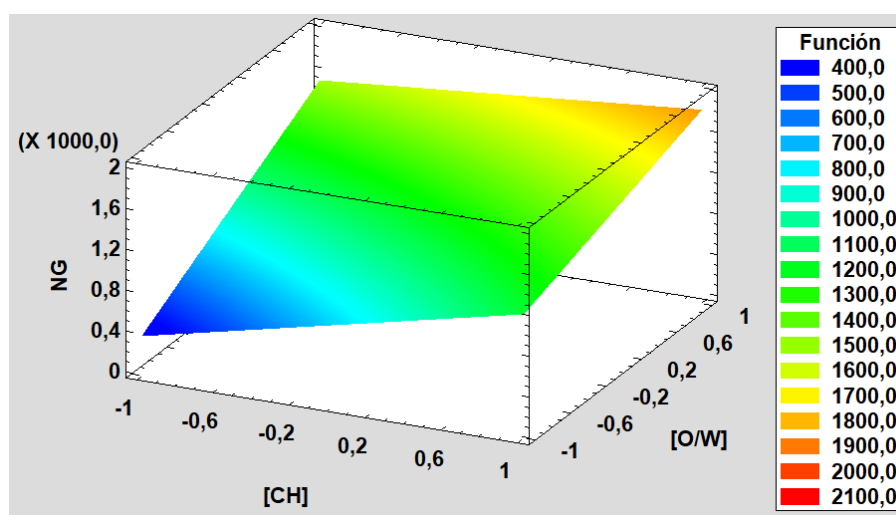


Figura 59. Superficie de Respuesta para la variable del NG para las emulsiones precursoras de los sistemas elaborados con CH-HW

Los sistemas elaborados tanto con CH-LW como con CH-HW concuerdan en que el NG aumenta con una mayor concentración de CH, por tanto, se verifica nuevamente lo descrito por (Klinkesorn, 2013). Es decir, un aumento de gelificante provoca un incremento de la dispersión del aceite en la red molecular generando un mayor número de gotas. Sin embargo, los CH empleados discrepan en el efecto de la relación O/W, mientras que para el CH-HW el número de gotas se ve favorecido por la disminución del aceite en el sistema, para el CH-LW se observa el efecto contrario. Este fenómeno puede ser causado por la tensión interfacial entre la fase dispersa y la continua. El CH-HW cuenta con un menor GD que el CH-LW, por tanto, los monómeros no desacetilados e hidrofóbicos con mayor presencia pueden verse absorbidos en una etapa primaria del proceso de emulsificación en la superficie de la fase dispersa como ha descrito (Klinkesorn, 2013). Este hecho causa una disminución de la tensión interfacial provocando un aumento del tamaño de la gota. Por otro lado, (Payet & Terentjev, 2008) hipotetizaron que una mayor concentración de CH en una emulsión conlleva a una disminución de la tensión interfacial entre fases, puesto que los monómeros no desacetilados absorbidos en la superficie de la fase dispersa lastrarán el contacto de fases, siendo necesario un aumento superficial de la zona de contacto para obtener el mismo efecto y, por tanto, aumentando el tamaño de gota. Esta hipótesis la intentaron confirmar mediante la realización de emulsiones O/W empleando CH entre 100 a 300 kDa con un GD del 80 %, siendo las concentraciones en la emulsión del 0,05 al 2% wt. Del estudio concluyeron que este fenómeno puede ser despreciable frente la gran diferencia de viscosidad entre la fase continua y dispersa, aunque la estabilidad de la emulsión dependerá del tipo de CH empleado. Sin embargo, el estudio cuenta con ciertas limitaciones pues los autores reconocen que en la formulación de dichas emulsiones emplearon parafinas, mientras que, si se empleasen aceites vegetales, como aceite de oliva, que, si sufren interacciones con el CH, la disminución de la tensión interfacial si tendría mayor influencia en el sistema (Payet & Terentjev, 2008).

Dado a que el CH-HW cuenta con un PM de 2439 kDa y un menor GD (79%) la reducción de la tensión interfacial será mayor pudiendo ser la causa raíz de la discrepancia de comportamientos frente el CH-LW. Además, la disminución del NG se observa cuando la relación O/W se inclina a la fase oleosa, por tanto, la adicción de más aceite incrementará las interacciones con el CH.

Por tanto, la relación O/W de 60/40 para el CH-HW es un límite para la elaboración de los oleogels a concentraciones iguales o mayores al 1% de CH en el oleogel final.

Sería necesario la realización de un mayor número de sistemas para confirmar este comportamiento. Además, encontrar la causa principal de este comportamiento es esencial, puesto que las propiedades de los oleogels se han visto influenciadas, cambiando el comportamiento de estos respecto a los elaborados con el CH-LW.

El perímetro de las gotas varió entre 0,064 y 0,1054 mm, siendo la disminución del tamaño directamente proporcional al aumento del número de gotas y, por tanto, al incremento de la concentración de CH en el oleogel y una relación O/W favorable a la fase acuosa. Nuevamente, cuando se empleó CH-LW y se varió la relación O/W ocurría lo contrario, es decir, el perímetro de las gotas se vio incrementado cuando la presencia de aceite era menor en el sistema, esto parece indicar que la discrepancia de resultados surge del cambio de tensión interfacial.

En la Figura 60 se presentan las distribuciones del tamaño de gota en forma de histograma de frecuencia para todos los sistemas. Aquellos con una relación O/W de 50/50 cuentan con una menor variabilidad frente a aquellos sistemas con una relación de 55/45 o 60/40. También, un aumento de CH en el sistema genera una mayor variabilidad de tamaños de gota en la emulsión. En comparación con las emulsiones realizadas con CH-LW, las obtenidas del uso de CH-HW pueden ser más inestables por la una mayor variabilidad en el tamaño de gotas. Esto se debe a que un reparto más disperso indica que no todas las gotas se encuentran envueltas de la misma forma por el gelificante, siendo las fuerzas de repulsión diferentes entre sí, lo que genera fenómenos de agregación como los anteriormente explicados. En cualquier caso, el total de las emulsiones fueron estable desde su elaboración hasta el secado.

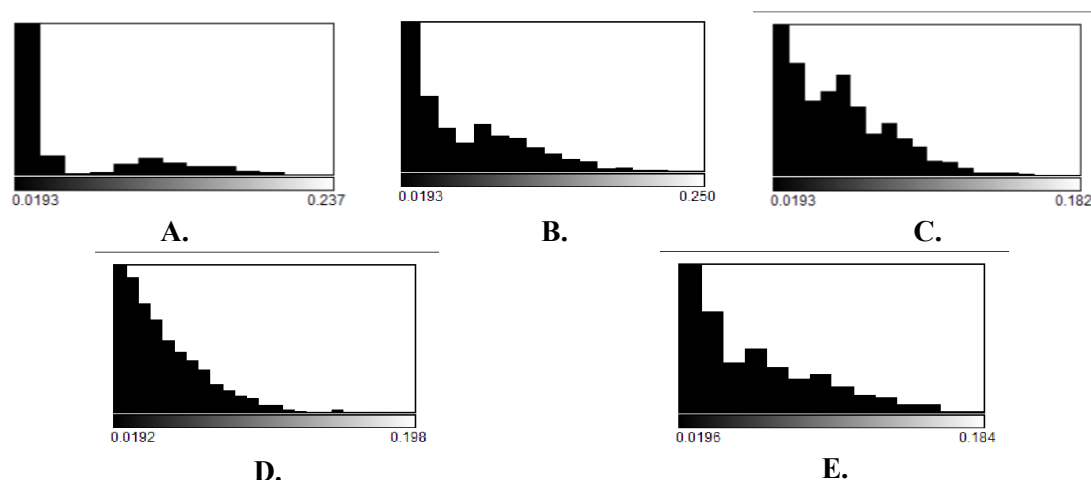


Figura 60. Histogramas de frecuencia para el tamaño de gota de la fase dispersa en: (A) S1A, (B) S2A, (C) S3A, (D) S4A y (E) SCA

6.2.2.3 Colorimetría

Se obtuvieron las coordenadas tricromáticas que describen el color de los oleogels (Tabla 25). Ningún oleogel obtuvo una luminosidad pronunciada [$L^* < 50$ (Barragán-Martínez et al., 2022)]. La tendencia de variación de esta coordenada se debe a la interacción entre las variables de la

concentración de CH y la relación O/W, siendo esto también descrito matemáticamente en la ecuación del modelo obtenido (Tabla 23).

Tabla 25. Coordenadas colorimétricas en el espacio CIELAB y color real para los oleogeles elaborados con CH-HW. Letras diferentes en la misma columna (a, b, c, d, e, f) implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	L*	a*	b*	*
S1A	30,32 ± 1,09 ^{cd}	1,34 ± 0,076 ^d	12,49 ± 0,64 ^b	
S2A	39,32 ± 0,85 ^a	1,77 ± 0,34 ^{cd}	16,72 ± 0,44 ^a	
S3A	35,61 ± 0,74 ^b	2,53 ± 0,15 ^{ab}	13,19 ± 0,052 ^b	
S4A	31,62 ± 0,83 ^c	2,19 ± 0,16 ^{bc}	8,83 ± 0,61 ^c	
SC1A	26,39 ± 0,88 ^c	2,34 ± 0,24 ^b	8,45 ± 0,84 ^c	
SC2A	28,94 ± 0,78 ^d	1,78 ± 0,42 ^{cd}	8,67 ± 1,40 ^c	
SC3A	24,95 ± 0,65 ^f	2,98 ± 0,53 ^a	7,66 ± 0,11 ^c	
SC4A	26,76 ± 0,49 ^e	2,37 ± 0,20 ^b	8,26 ± 0,20 ^c	

* color aproximado obtenido por conversión del espacio CIELAB a RGB, solo en una pantalla calibrada coincide con precisión al medido por el colorímetro y al color real

En este caso no existe una relación directa con el aumento de concentración de CH y un incremento en la luminosidad, fenómeno que si ocurría con el uso de CH-LW y que está de acuerdo con lo descrito por (Lama et al., 2024). Este comportamiento es anómalo, pero podría explicarse por el color natural que posee el polímero antes de su uso, el cual es de tonalidad parda. Normalmente, los CH se presentan con un tono blanco, ya que la última etapa de su producción sufre un blanqueamiento (“*bleaching*”) el cual si era fácilmente deducible en el caso del CH-LW.

Por otro lado, los sistemas S1A y S4A a pesar de contar con distintas concentraciones de gelificante no mostraron diferencias significativas en sus medias ($\alpha < 0,05$), mientras que los otros dos extremos S2A y S3A si se alcanzaron diferencias significativas ($\alpha > 0,05$). También en este caso, los sistemas centrales únicamente no tienen diferencias significativas en los casos de SC1A y SC4A ($\alpha > 0,05$), indicando una menor reproducibilidad de la luminosidad y por tanto su modelo obtendrá un mayor error en futuras predicciones.

En todos los casos las coordenadas a* y b* fueron positivas describiendo la tonalidad de los oleogeles como rojiza y amarilla. Esta última será la predominante ya que la coordenada b* es aproximadamente 7-10 veces mayor que a*, exhibiendo de esta manera un comportamiento análogo a los sistemas elaborados con CH-LW. La coordenada a* solo se ve influenciada por la relación O/W, de forma que se incrementa el tono rojizo cuanto menor sea la presencia de aceite (S3A y S4A). Esta tendencia también se puede observar de una manera estadística, donde los sistemas que conforman un extremo del diseño experimental no exhiben diferencias significativas ($\alpha < 0,05$) en sus medias si comparten la misma relación O/W, es decir S1A y S2A y, por otro lado, S3A y S4A, con la excepción ($\alpha > 0,05$) de S2A y S4A donde no se cumple ya que cuentan con distinta relación O/W. Por otro lado, en los sistemas centrales prácticamente todos exhibieron diferencias significativas ($\alpha > 0,05$) excepto SC1A y SC4A indicando como en el caso de la coordenada L* una baja reproducibilidad. También existen similitudes entre las medias ($\alpha > 0,05$) de los sistemas extremos con los centrales, por ejemplo, S3A y SC3A o SC4A.

La tendencia del comportamiento de la coordenada b* es más difícil de relacionar con las variables operacionales del diseño de forma clara por su variabilidad. Se ve afectada por la relación O/W de manera opuesta al caso anterior, es decir, a mayor presencia de aceite, mayor será el tono amarillento. Por otro la interacción de ambas variables independientes (Tabla 23), indica que el tono amarillo se incrementa a O/W favorables a la fase acuosa si existe una alta

concentración de CH, pero a una relación O/W favorable a la fase aceitosa el índice de amarillo b^* aumenta con la menor concentración CH si se compara con el ensayo con la concentración de CH más alta. De todas maneras, se obtiene el valor máximo de b^* en el sistema S2A ([CH]: 1% y O/W: 60/40) y el mínimo para los sistemas centrales ([CH]: 0,9% y O/W: 55/45). Estadísticamente la coordenada b^* sufre una menor variabilidad donde los sistemas extremos S1A y S3A no cuentan con diferencias significativas ($\alpha > 0,05$) aunque los otros dos extremos si alcanzaron diferencias estadísticamente significativas entre sí y con los dos anteriores ($\alpha < 0,05$). Al contrario que en los casos de la luminosidad y la coordenada a^* , b^* exhibió gran reproducibilidad puesto que la totalidad de las medias de los sistemas centrales no presentaron diferencias significativas ($\alpha < 0,05$).

Los sistemas S3B y S2A ([CH]: 1% y O/W: 60/40), así como, el S2B y S4A ([CH]: 1% y O/W: 50/50) a pesar de tener la misma concentración final de CH y relación O/W adquieren valores distintos en las coordenadas tricromáticas L^* , a^* y b^* así como, en el C^* (Tabla 26). Este fenómeno tal y como se explicó anteriormente, indica la presencia de redes moleculares distintamente entrelazadas en los oleogeles, y, por ello, comportamientos diferentes entre el CH-HW y CH-LW, lo cual provocará que las demás propiedades estudiadas difieran.

Tabla 26. Croma y tono de los oleogeles elaborados con CH-HW. Letras diferentes en la misma columna (a, b, c, d) implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	C^*	h^*
S1A	$12,71 \pm 0,6^b$	$1,46 \pm 0^a$
S2A	$16,81 \pm 0,45^a$	$1,46 \pm 0,02^a$
S3A	$13,23 \pm 0,075^b$	$1,38 \pm 0,01^b$
S4A	$9,10 \pm 0,60^{cd}$	$1,32 \pm 0,023^{cd}$
SC1A	$8,77 \pm 0,87^{cd}$	$1,30 \pm 0,01^d$
SC2A	$9,41 \pm 0,34^c$	$1,37 \pm 0,05^{bc}$
SC3A	$8,23 \pm 0,27^d$	$1,19 \pm 0,058^c$
SC4A	$8,81 \pm 0,24^{cd}$	$1,29 \pm 0,017^d$

La coordenada derivada C^* tiene un comportamiento similar al de b^* . Aumenta al disminuir la fase acuosa en el sistema, sin embargo, debido a que el término de la interacción entre variables dependientes tiene un mayor efecto significativo (Tabla 26) la relación no es lineal. Por tanto, la cromaticidad presenta mayores valores en los oleogeles de los sistemas de los extremos del diseño experimental, únicamente hay discrepancia en los sistemas S4A y SC2A. El mayor valor ligeramente se obtuvo en el sistema S2A (máximo relativo), que se corresponde con la mayor concentración de CH estudiada y la relación O/W más favorable a la fase oleosa (60/40). La reproducibilidad de esta variable es alta dado que tres oleogeles de los puntos centrales no mostraron diferencias significativas en sus medias ($\alpha > 0,05$). Por otro lado, los sistemas extremos S1A y S3B estadísticamente no presentaron diferencias significativas ($\alpha > 0,05$) mientras que los demás si ($\alpha < 0,05$).

El tono (h^*) de los oleogeles únicamente se vio influenciada por el cambio de la relación O/W, aumentado conforme la presencia de aceite es mayor en el sistema (O/W: 60/40). La reproducibilidad del tono no es alta puesto que todos los sistemas centrales cuentan con diferencias significativas entre si ($\alpha > 0,05$), salvo SC1A y SC4A. Los sistemas que representan los extremos del diseño experimental solo cuentan con similitudes en los casos de S1A y S2A

($\alpha > 0,05$), mientras que los demás entre sí y con los anteriores exhiben diferencias significativas ($\alpha < 0,05$).

En el caso de los oleogeles derivados del diseño experimental que empleó CH-HW (Figura 57) presentaron menores cambios en la apariencia visual respecto de aquellos que usaron como gelificante el CH-LW.

6.2.2.4 Estudio TPA

Los parámetros del análisis TPA: dureza, cohesividad, elasticidad y adhesividad se muestran en la Tabla 27.

Tabla 27. Parámetros texturales del análisis TPA para los oleogeles elaborados con CH-HW. Letras diferentes en la misma columna (a, b, c, d, e) implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	Dureza (N)	Cohesividad (%)	Elasticidad (mm)	Adhesividad (N·s)
S1A	$0,84 \pm 0,95^e$	$31,39 \pm 1,50^c$	$0,49 \pm 0,06$	$-0,30 \pm 0,09$
S2A	$1,61 \pm 0,05^{bc}$	$26,95 \pm 2,18^c$	$0,37 \pm 0,04$	$-0,51 \pm 0,16$
S3A	$1,70 \pm 0,36^b$	$32,40 \pm 3,47^c$	$0,60 \pm 0,13$	$-0,52 \pm 0,05$
S4A	$1,38 \pm 0,33^{bc}$	$29,51 \pm 4,50^c$	$0,48 \pm 0,18$	$-0,35 \pm 0,22$
SC1A	$0,94 \pm 0,16^{de}$	$31,77 \pm 3,01^c$	$0,45 \pm 0,11$	$-0,31 \pm 0,07$
SC2A	$1,29 \pm 0,18^{cd}$	$38,57 \pm 4,60^b$	$0,57 \pm 0,04$	$-0,38 \pm 0,22$
SC3A	$2,20 \pm 0,19^a$	$47,67 \pm 1,24^a$	$0,42 \pm 0,31$	$-0,29 \pm 0,14$
SC4A	$1,49 \pm 0,11^{bc}$	$39,34 \pm 1,51^b$	$0,53 \pm 0,03$	$-0,33 \pm 0,06$

Se obtuvieron oleogeles con un rango de dureza entre 0,84 y 2,20 N, siendo este intervalo más reducido frente a los resultados obtenidos con los oleogeles con CH-LW. El modelo obtenido para la dureza describe únicamente la interacción entre la concentración de CH y la relación O/W como significativa y no los efectos principales, por tanto, describir su comportamiento es más difícil. El aumento de la dureza se puede deber, bien a una disminución de la concentración de CH conjunto a una relación O/W favorable a la fase acuosa o a un aumento de las dos variables dependientes, como se observa en la superficie de respuesta de la Figura 61.

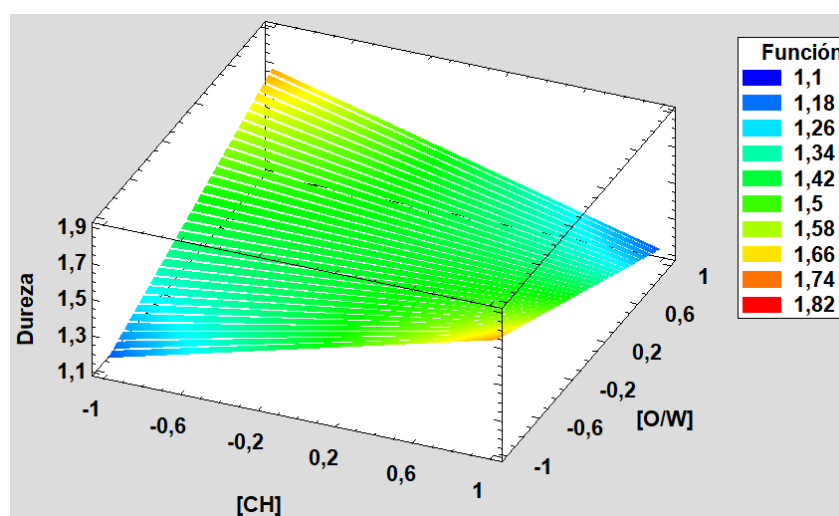


Figura 61. Superficie de Respuesta para la variable de dureza para los oleogeles elaborados con CH-HW

Sin embargo, se obtuvieron resultados contradictorios, el sistema S3A ([CH]:0,8%, O/W: 50/50) mostró una dureza de 1,70 N frente al sistema S4A ([CH]:1%, O/W: 50/50) con una dureza de 1,38 N. Anteriormente en el apartado 6.2.1.4 se afirmó que el incremento de la dureza se debe a un aumento de gelificante (red molecular más densa y estructurada), como es el caso de los oleogeles elaborados con el CH-LW y además esto también es descrito por (Lama et al., 2024; Yılmaz & Ögütçü, 2014). No se ha encontrado bibliografía acerca de este comportamiento para su explicación resultado del uso de CH-HW, el cual exhibe el efecto contradictorio en el caso de dichos sistemas. Sin embargo, los sistemas S1A ([CH]: 0,8%, O/W: 60/40) y S2A ([CH]: 1%, O/W: 60/40) sí muestran sufrir una gran influencia con el aumento de CH en el oleogel ya que las durezas son 0,84 y 1,61 N respectivamente. Por tanto, esta diferencia de tendencias puede deberse a la relación O/W ya que es la única variable independiente modificada entre estas parejas de sistemas.

La influencia de la relación O/W aparece en los sistemas S1A y S3A, donde la reducción aceite en el sistema provocó un oleogel el doble de duro. Esta diferencia también se apreciaba en los sistemas con CH-LW. Esta reducción se debe a que el aceite ocupa un menor volumen intermolecular “amortiguando” en menor medida la red estructurada por la reacción de Schiff y obteniendo una mayor compactación que para relaciones O/W de 60/40. Sin embargo, es probable que en el caso del CH-HW este fenómeno sea mayor que para el CH-LW por el efecto de la disminución de la tensión interfacial durante la elaboración de la emulsión, la cual generó gotas de mayor tamaño que alterarán en mayor medida la estructura de la red molecular.

Existen otras influencias que pudieron determinar la tendencia de variación de la dureza como la propia metodología aplicada a los estudios de TPA. Pudiendo observar, por ejemplo, en los resultados de los sistemas centrales (SC1A, SC2A, SC3A y SC4A) cierta exactitud, pero una baja precisión. Esto se debe a que las propiedades de textura habitualmente presentan mayores desviaciones estándar en las medias que se obtienen, o bien por la dispersión de los datos o por los errores inherentes a las medidas tomadas por el texturómetro.

Estadísticamente las durezas de los oleogeles S3A y S4A no mostraron diferencias significativas ($\alpha > 0,05$), al contrario que los sistemas S1A y S2A que sí lo hacen ($\alpha < 0,05$). También ocurre en algunos sistemas centrales como: SC1A con SC3A y SC4A o SC2A con SC3A. Esto evidencia la necesidad de un mayor entendimiento de la relación O/W, variable escasamente estudiada en la literatura.

En general, se puede afirmar que el uso de CH-HW da lugar a la elaboración de oleogeles más duros ya que con menores concentraciones se obtienen valores mayores como puede ser el sistema SC2A ([CH]: 0,9%) frente a cualquiera de los sistemas con CH-LW. Este aumento de la dureza significará una disminución de la extensibilidad del producto, esta relación es descrita por (Brito et al., 2022). Sin embargo, el uso de CH-HW no permite obtener oleogeles tan concentrados como cuando se emplea CH-LW, y, por tanto, la obtención de oleogeles de gran dureza se ve reducida.

Los otros parámetros de textura: cohesividad, elasticidad y adhesividad también se vieron influenciados al igual que en el caso de la dureza. Como se observa en la Tabla 27 no es posible describir una tendencia clara en la variación de la cohesividad, ni en la elasticidad y adhesividad. Estando en desacuerdo con los comportamientos descritos para el caso del CH-LW y la diversa literatura ya mencionada como (Brito et al., 2022; Farooq et al., 2023).

La cohesividad varió en el rango entre 26,95 y 47,67 %, siendo este último valor correspondiente al sistema con mayor dureza (SC3A). Por otro lado, la elasticidad varía entre un rango más

reducido de 0,37 a 0,60 mm, siendo el último valor corresponde al sistema S3A que no presentó la menor dureza. Este comportamiento denota una gran diferencia en las estructuras moleculares del CH-HW frente a los CH comerciales usualmente empleados en la literatura. Por tanto, a pesar de tener una mayor dureza los oleogeles exhiben cierta flexibilidad lo cual podrá ayudar a que tengan una mayor resistencia frente fuerzas externas o incluso un OBC más alto. Para confirmar esta diferencia en las estructuras del CH-HW con el 4H sería necesario la realización de una microscopía electrónica de barrido. Por otro lado, los resultados del TPA también pueden indicar que las estructuras de los oleogeles con una menor concentración, véase S1A o S4A no cuentan aún con una estructura robusta. Esto se estudiará posteriormente en el apartado 6.2.2.6, mediante el estudio reológico de los oleogeles que permite tener un mayor entendimiento de la red molecular.

La adhesividad de los oleogeles con CH-HW obtuvo valores que no se ajustaron a lo descrito en el caso del uso de CH-LW. Los valores que exhibieron los distintos oleogeles se encuentran en el rango -0,52 a -0,29 N·s. Esta variación es muy baja, estadísticamente entre sistemas no se encuentran diferencias significativas después de realizar un ANOVA para un factor, lo mismo acontece con la elasticidad. Sin embargo, para la cohesividad las medias de los sistemas SC2A, SC3A y SC4A con los demás si exhiben diferencias significativas ($\alpha < 0,05$), mientras que el resto no muestran diferencias significativas entre sí ($\alpha > 0,05$). Para poder confirmar de una manera más fiable como es la variación de los parámetros del TPA es necesario un mayor número de experimentos, por ejemplo, aumentando el diseño experimental tal y como se muestra en la Figura 58.

Por otro lado, es posible establecer una comparación entre los sistemas S1B y S4A ([CH]: 1%, O/W 50/50) o S3B y S2A ([CH]: 1%, O/W 60/40) dado a que son análogos entre sí, únicamente variando el tipo de gelificante empleado. En el caso de la dureza los valores obtenidos son muy similares, distinguiendo una ligera dureza mayor en el sistema S3B (1,86 N) frente al sistema S2A (1,61 N) derivándose así una estructura más compacta en el sistema S3B. Dado a que la cantidad de aceite es la misma, se puede concluir que existe una mayor dispersión en la red molecular en el sistema S3B ejerciendo así un menor efecto de “amortiguamiento”. Este fenómeno es confirmado por un mayor NG (19577 frente 1331) y un tamaño de gotas más pequeño (0,018 frente 0,064 mm) provocado por la diferencia entre tensiones interfaciales en la emulsión. En el caso de los sistemas S1B (1,257 N) y S4A (1,380 N) este efecto no tuvo tanta influencia a pesar de que se tiene una mayor dispersión cuando se emplea CH-LW.

La aplicación real de los oleogeles de CH-HW como gelificante se pueden comparar con los anteriormente mencionados elaborados por (Ziarno et al., 2023). Es decir, como sustituto de unttables comerciales como las mantequillas o margarinas, las cuales tienen una dureza entre 1,02 y 3,27 N. Únicamente el sistema S1A estaría más alejado de este tipo de aplicación, pues presenta una dureza menor (0,84 N).

6.2.2.5 Capacidad de retención de aceite

Los resultados de OBC para los oleogeles con CH-HW se presentan en la Tabla 28. Únicamente los sistemas S2A ([CH]: 1%, O/W 60/40) y S3A ([CH]: 0,80%, O/W 50/50) cumplen con la premisa de un OBC mayor o igual al 90 % (Zhu et al., 2024) siendo ambos sistemas puntos extremos del diseño experimental.

Dado a que el modelo obtenido para este parámetro (Tabla 23) no resultó ser significativo ($\alpha > 0,05$) no debe ser usado para explicar los resultados, por ello, tampoco se presenta la superficie de respuesta que derivaría de dicha ecuación.

Al igual que en el caso de la dureza, los sistemas con la menor concentración de CH; S1A ([CH]: 0,80%, O/W 60/40) y S3A, fueron más sensibles a un incremento de aceite en el sistema, donde el OBC disminuyó del 91,87 % al 84,41 % respectivamente. Mientras que para los sistemas con la mayor concentración de CH; S2A y S4A (1%), esto no ocurre ya que la retención fue mayor cuando la relación O/W era de 60/40. Cabe destacar que los sistemas S1A y S2A están en línea con los descrito por (Jiang & Bai, 2022) y con los resultados obtenidos con el CH-LW, pues un aumento de gelificante, con la misma relación O/W, produce un aumento del OBC. Sin embargo, en los sistemas S3A y S4A esto no se cumplió, seguramente debido a problemas en la red molecular ya que estos dos mismos sistemas tampoco verificaron la tendencia de que a mayor gelificante mayor dureza como se ha visto en el caso del CH-LW o en la distinta literatura, como se indicó anteriormente. Este problema en la estructura puede derivarse de la etapa de secado puesto a que sus correspondientes emulsiones microscópicamente se comportan según lo comprobado hasta ahora en el TFM, es decir, a mayor concentración de CH, mayor NG y menor tamaño de gota.

No es posible encontrar una respuesta soportada por la literatura para los resultados obtenidos en los sistemas centrales con lo descrito hasta el momento actual de la elaboración del presente TFM. Se puede concluir del resultado tan variable de los sistemas centrales, que el OBC tiene una baja reproducibilidad (Tabla 28).

Tabla 28. Valores de OBC para los oleogeles elaborados con CH-HW. Letras diferentes (a, b, c, d, e) implica diferencias significativas entre medias ($\alpha < 0,05$) atendiendo al Test de Duncan.

Sistema	OBC (%)
S1A	81,76 $\pm$ 1,91 ^{bc}
S2A	91,87 $\pm$ 6,67 ^a
S3A	90,68 $\pm$ 0,87 ^b
S4A	84,40 $\pm$ 3,95 ^{ab}
SC1A	63,95 $\pm$ 7,85 ^c
SC2A	74,61 $\pm$ 2,98 ^{cd}
SC3A	60,00 $\pm$ 6,66 ^c
SC4A	66,21 $\pm$ 3,49 ^{de}

Estadísticamente, los oleogeles S2A o S3A con el S4A no fueron significativamente diferentes ($\alpha > 0,05$), lo mismo ocurre con los sistemas S3A y S1A. En los sistemas centrales hubo diferencias significativas entre los oleogeles SC1A y SC2A ($\alpha < 0,05$) y a su vez con los demás sistemas extremos del diseño experimental.

En ningún caso se obtuvo un OBC mayor o igual al 95 %, lo cual denota que ningún oleogel alcanzó una gran estabilidad en la red molecular (Brito et al., 2022) a diferencia con el CH-LW o en referencias como (Zhu et al., 2024) donde si fue posible. Por tanto, en futuros trabajos sería necesario optimizar de alguna manera la elaboración de oleogeles con CH-HW siendo el primer paso entender de una forma más profunda los efectos cuadráticos que se dan en el sistema y para ello es necesario realizar el diseño experimental propuesto en la Figura 58.

6.2.2.6 Reología

Se realizó el barrido de deformación (Figura 62) para las emulsiones precursoras de los oleogel con CH-HW. Se muestran los resultados correspondientes a los sistemas centrales como el valor promedio de los cuatro. Esto fue posible por una buena reproducibilidad de los resultados obtenidos en los distintos ensayos.

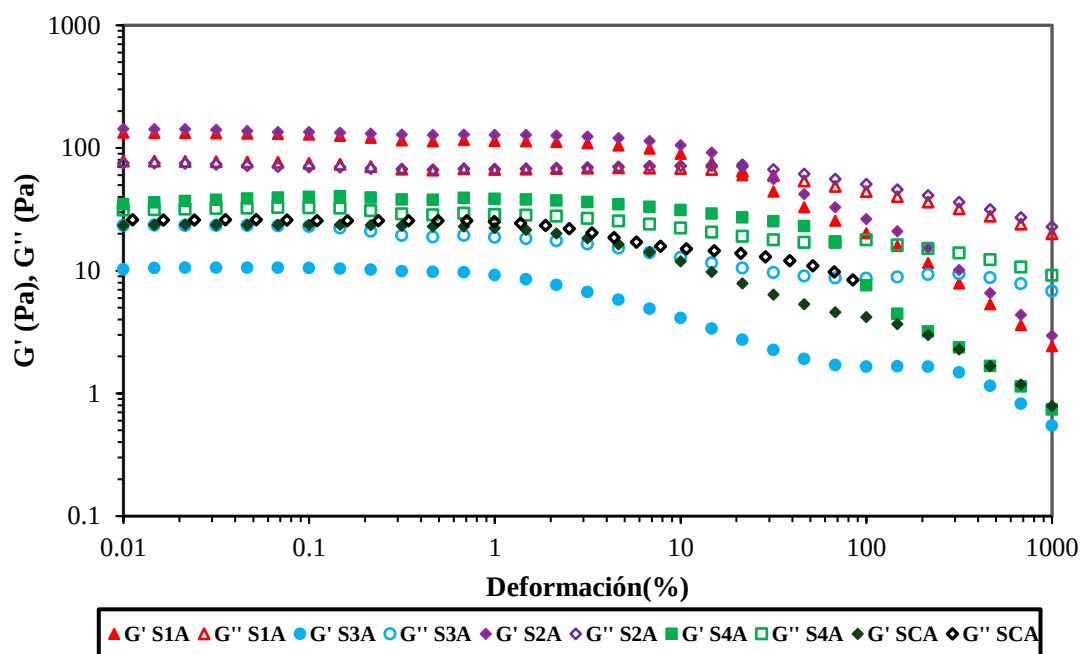


Figura 62. Barrido de deformación para las emulsiones de los sistemas elaborados con CH-HW

La deformación máxima permisible por todos los sistemas antes de abandonar el LVR es del 1%, tal y como se muestra en la Figura 62. Por tanto, el uso de este valor para los barridos de frecuencia es válido.

En la región LVR los sistemas S2A, S1A y S4A se comportan como un gel, dado a que G' se encuentra por encima de G'' . Este tipo de comportamientos también denotan la presencia de una estructura, que en este caso será la red molecular construida por el CH con el 4H, aunque la reacción aún no alcanzó el máximo de conversión. Cuando abandonan el *plateau* y, por tanto, el LVR sufren un punto de gel ($G' = G''$) el comportamiento predominante en la emulsión se invierte, es decir, las muestras se comportan como un líquido que fluye. Esto se debe al colapso de la red molecular existente por la deformación a la que se somete. Las emulsiones elaboradas con CH-LW así como otras reportadas por (Meng et al., 2018) mostraron el mismo fenómeno.

Por el contrario, en las emulsiones SCA y S3A, el comportamiento fue distinto, es decir, G'' fue mayor a G' en todo el rango del LVR, mostrando así un comportamiento de líquido. Este tipo de comportamientos es característico también de emulsiones (Mezger, 2006), indica que la estructura formada por el CH y el 4H es débil, debido a que la reacción no se ha producido en gran extensión. Para confirmar que existe un mínimo de estructura es necesario fijarse en las tendencias de G' donde al abandonar el rango LVR decrece, indicando que la pequeña estructura robusta se fracturó.

En el caso del sistema SCA la diferencia entre módulos fue menor, denotando una estructura temprana más robusta que en el caso de S3A, ya que está más cerca del punto de gel y de invertir su comportamiento. Los sistemas con mayor valor en los módulos fueron aquellos que tienen una relación O/W de 60/40 (S2A y S1A, respectivamente) y por debajo de estos los sistemas se ordenan por las concentraciones de CH. Por tanto, se puede afirmar, que una mayor presencia de aceite en la emulsión ayuda a estructurar la red molecular antes del secado.

Se realizó un barrido de frecuencia (Figura 63) que permitió comprobar el comportamiento de las emulsiones según sus módulos, fue análogo en todo el rango al barrido de deformación. Todos los sistemas mostraron gran dependencia con la frecuencia dado que los valores de G' y G'' muestran una pendiente positiva, por tanto, las estructuras creadas entre el CH y el 4H aún no muestran robustez, pero si un cierto grado de entrecruzamiento (Mezger, 2006). Los valores que toman ambos módulos en los sistemas S1A, S4A y S2A son muy similares, por tanto, es esperable que la red molecular también lo sea. Una vez la frecuencia supera los 10 Hz los módulos alcanzaron un valor máximo para posteriormente experimentar un descenso, indicando que en esas condiciones se ha superado el rango viscoelástico de los sistemas y, por tanto, las variaciones en la estructura que están sufriendo son irreversibles (Mezger, 2006). Este tipo de comportamientos son análogos a los descritos en el apartado 6.2.1.6 para las emulsiones con CH-LW, por tanto, a nivel reológico la única diferencia entre emulsiones radica en el valor de los módulos. Estos son directamente proporcionales a un aumento en la concentración de CH, y, por tanto, para los sistemas que utilicen una concentración mayor al 1% de CH-LW sus módulos estarán por encima de los expuestos en la Figura 63 cuando se emplea CH-HW, lo mismo ocurrirá con los oleogeles como posteriormente se detallará.

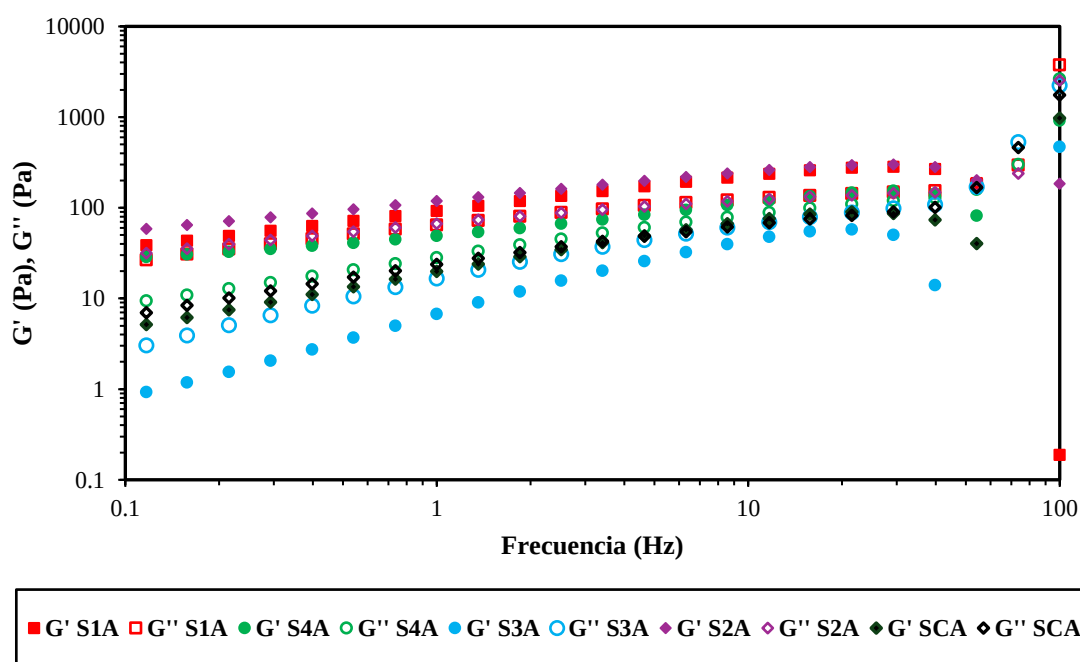


Figura 63. Barrido de frecuencia para las emulsiones elaboradas con CH-HW

En la Tabla 29 se presentan los valores de G' , G'' y el factor de amortiguamiento a un 1 Hz extraídos del barrido de frecuencia tanto para las emulsiones como para los oleogeles. Se puede establecer una clasificación en dos grupos atendiendo a este último factor. Por un lado, las

emulsiones con $\tan(\delta) < 1$ (S1A, S2A y S4A) que indican comportamiento de gel ($G' > G''$) y aquellas que con $\tan(\delta) > 1$ (SCA y S3A) que describen un comportamiento de líquido. Las emulsiones del sistema central tuvieron un factor de amortiguamiento más cercano a 1, es decir, que la diferenciación entre comportamientos fue menor y por tanto tienen una estructura molecular que antes del secado presentó cierta influencia en el sistema. Aunque no lo suficiente para revertir su comportamiento. Estas tendencias serán opuestas en el oleogel gracias al secado que favorece la mayor extensión de la reacción entre el CH y el 4H.

Tabla 29. Módulo elástico (G') y viscoso (G'') y factor de amortiguamiento de las emulsiones y oleogeles elaborados con CH-HW para 1 Hz. Las desviaciones del sistema central se corresponde con el error del modelo siendo aplicable a cualquier sistema

	Emulsión			Oleogel		
	G' (Pa)	G'' (Pa)	Tan (δ)	G' (Pa)	G'' (Pa)	Tan(δ)
S1A	92,30	64,72	0,70	$9,96 \cdot 10^4$	8595,7	0,086
S2A	118,30	66,63	0,56	$1,49 \cdot 10^5$	$1,43 \cdot 10^4$	0,096
S3A	6,70	16,64	2,48	$8,62 \cdot 10^4$	8518,9	0,098
S4A	48,90	28,26	0,58	$1,55 \cdot 10^5$	$1,20 \cdot 10^4$	0,078
SCA	19,77	23,66	1,20	$9,35 \cdot 10^4$	$8,59 \cdot 10^3$	0,091
Error	$\pm 7,56$	$\pm 7,97$	$\pm 0,25$	$\pm 2,04 \cdot 10^4$	$\pm 1704,1$	$\pm 0,003$

Después del secado y la conformación del oleogel se realizó el barrido de deformación (Figura 64) y el barrido de frecuencias (Figura 65) respectivo. En el primer caso se determinó la deformación máxima que permite el oleogel antes de abandonar la región viscoelástica, situándose en el 0,1%. Sin embargo, debido a que en el sistema S2A este valor estaba muy cerca del límite que marca el comportamiento viscoelástico, se optó por utilizar una deformación del 0,01% para el posterior barrido de frecuencia.

Todos los sistemas mostraron un comportamiento de gel, es decir, $G' > G''$ para todo el rango LVR siendo este comportamiento coherente con los oleogeles elaborados con CH-LW, así como, con lo descrito por la literatura como (Zhu et al., 2024). Los módulos G' y G'' de todos los sistemas se encontraron muy próximos, sin embargo, los más altos se obtuvieron para el sistema con mayor concentración de CH (1%) y una relación O/W del 60/40. Esto supone una diferencia frente a lo obtenido en el barrido de deformación de las emulsiones que no seguían dicha tendencia, por ejemplo, el sistema S1A ([CH]: 0,8%, O/W: 60/40) tuvo valores mayores en sus módulos frente al sistema S4A ([CH]:1%; O/W:50/50) a pesar de tener una menor concentración de CH. Este comportamiento era el esperado, manifestándose también en los sistemas que emplearon CH-LW.

El cambio en el orden en el que se sitúan los valores de los módulos de los distintos oleogeles sirven para verificar modificación en la estructura de la red molecular del CH, confirmando la presencia de reacción. Además, los sistemas SCA y S3A revirtieron su comportamiento presentando carácter sólido en la región viscoelástica. Una vez superado el LVR todos los sistemas sufrieron un descenso de G' y G'' indicando que la estructura molecular se deterioró de forma irreversiblemente. En este caso únicamente el sistema SCA presentó un punto de gel, los demás sistemas obtienen valores muy parecidos en sus módulos, pero G' siempre fue mayor a G'' indicando una estructura molecular muy robusta frente la deformación.

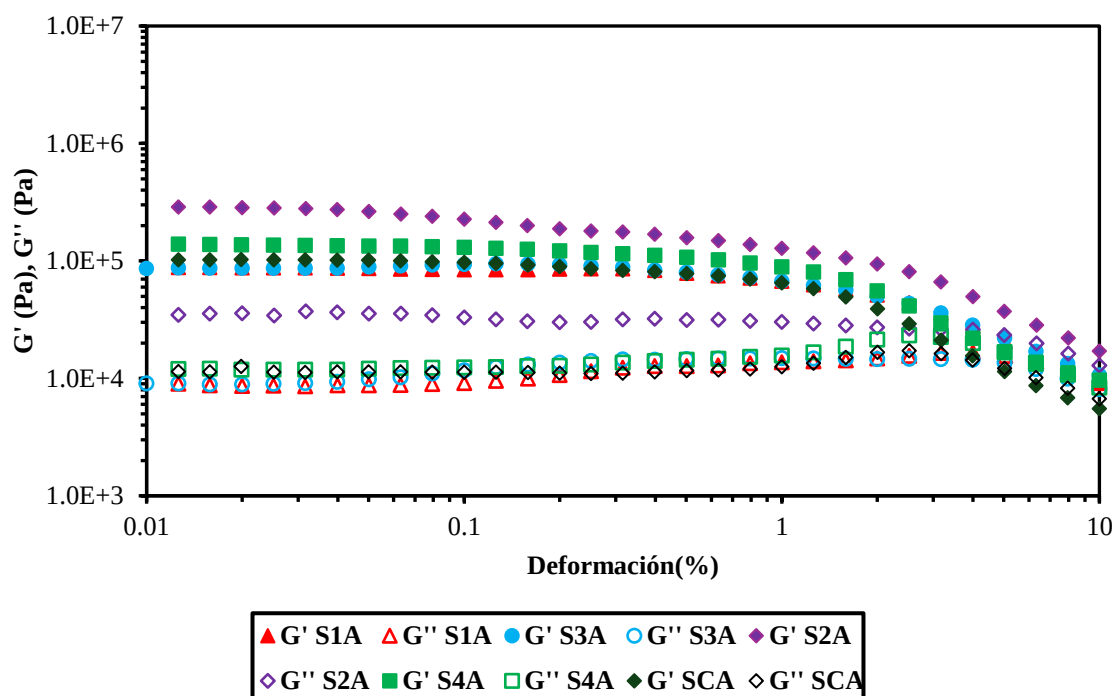


Figura 64. Barrido de deformación para los oleogeles elaborados con CH-HW

En el barrido de frecuencia (Figura 65) en la totalidad de los sistemas G' fue mayor que G'' , indicando nuevamente un comportamiento de gel. Los valores que toman estos módulos entre sistemas fueron muy similares, siendo prácticamente iguales entre S2A y S4A ([CH]: 1%) y así como entre S1A, S3A ([CH]:0,8%) y SCA ([CH]: 0,9%). Por tanto, el efecto del cambio de la relación O/W para una misma concentración de CH parece que no influye en este caso. El factor de amortiguamiento (Tabla 29) varió entre 0,078 y 0,098, siendo siempre menor a 1 lo que indica comportamiento de gel. Además, los valores muy próximos a 0 muestran un gran carácter sólido frente a líquido. Se podría afirmar en base a todas las pruebas reológicas realizadas que los distintos oleogeles se comportan de la misma manera.

Los sistemas cuentan con una baja dependencia a la frecuencia, donde prácticamente los módulos G' y G'' permanecen constantes a lo largo del barrido. Aunque sí que se observa un ligero incremento en la pendiente a partir de una frecuencia de 1 Hz, indicando que el sistema puede que se esté alejando de la región viscoelástica y se comience a deformar de manera irreversible.

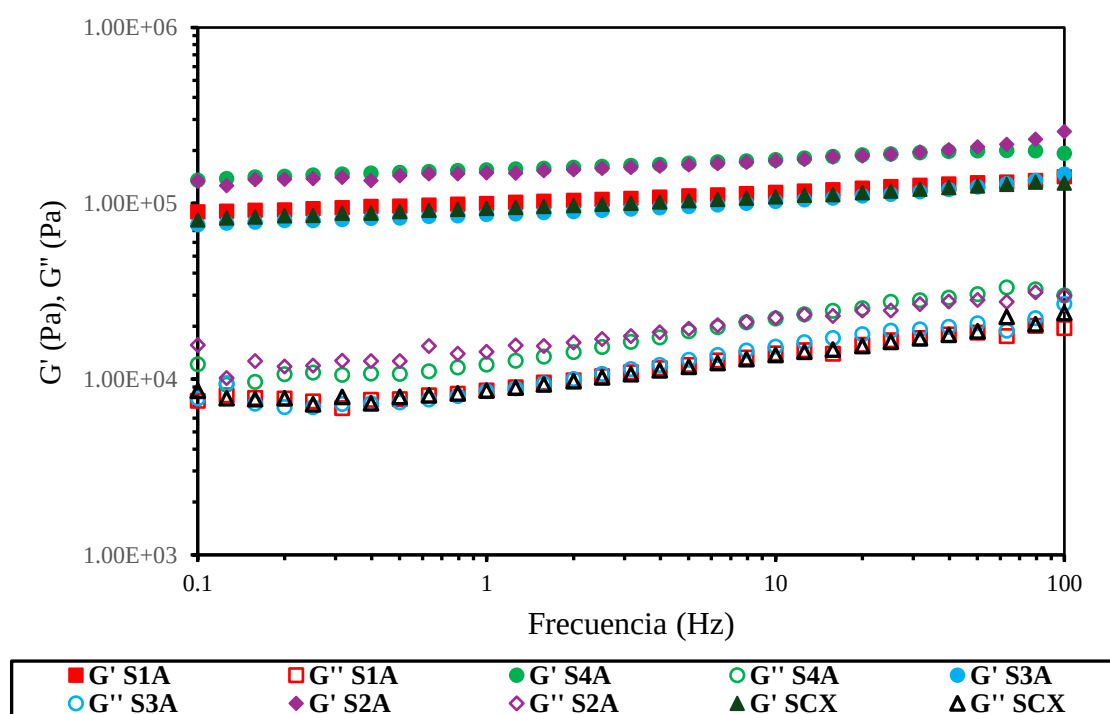


Figura 65. Barrido de frecuencia para los oleogeles elaborados con CH-HW

Los resultados obtenidos en el presente estudio reológico contradicen las propiedades estudiadas anteriormente como la dureza o el OBC. Por ejemplo, los oleogeles elaborados con CH-LW o los reportes de (Meng et al., 2018; Zhu et al., 2024), muestran que el sistema de estudio con un mayor módulo elástico (tanto en emulsión como en oleogel) posteriormente mostraban las durezas y el OBC más altos. En el presente caso esta premisa se cumple parcialmente puesto que los sistemas con mayor G' en emulsión (S2A) y en el oleogel (S2A o S4A) no presenta la mayor dureza, aunque S2A si cuenta con el mayor valor de OBC.

Por tanto, como se viene repitiendo a lo largo del estudio del CH-HW, la propia especificación del polímero (GD y PM) provocó comportamientos diferentes frente a lo encontrado en la bibliografía relativa a la elaboración de oleogeles con CH. Indicando que es preciso un mayor número de estudios para la comprensión de las características de los oleogeles, así como, su interacción la relación O/W.

6.2.2.7 Relación entre parámetros

La influencia que ejerció el CH-HW y las variables independientes ($[CH]$ y O/W) sobre la elaboración de los oleogeles produjo una gran heterogeneidad en los resultados de sus parámetros fisicoquímicos. Esto hizo más difícil la interpretación de las correlaciones entre las variables independientes y los resultados finales, al contrario de lo acontecido con el CH-LW (apartado 6.2.2.7). Por tanto, no es posible elaborar una conclusión del comportamiento de los oleogeles realizados con CH-HW de manera global, pero si individual como se ha realizado en apartados anteriores. Este hecho expone la necesidad de una mayor comprensión de cómo influye la interacción del PM del CH con las variables independientes estudiadas. En el momento de la realización del presente TFM no se ha elaborado ningún estudio en la literatura que aborde estas tres variables a la vez.

CONCLUSIONES

7 CONCLUSIONES

La selección del gelificante empleado en la elaboración de oleogeles es una de las decisiones más importantes a tomar antes de comenzar su producción, ya que su influencia en las características finales del producto es muy alta. En el presente TFM se ha logrado estudiar experimentalmente de manera satisfactoria la influencia del empleo de quitosano de distintos pesos moleculares en la elaboración de oleogeles de aceite de oliva. Además, para cada CH empleado, se estudió dos variables independientes de gran peso como la relación O/W y la concentración de gelificante final. Los oleogeles producidos con cada tipo de quitosano mostraron propiedades fisicoquímicas distintas que pueden determinar su finalidad en la industria alimentaria. Las principales conclusiones derivadas del presente TFM son:

1. El comportamiento del quitosano se encuentra muy influenciado por su peso molecular y grado de desacetilación. Los quitosanos empleados tuvieron un peso molecular viscosimétrico muy diferente, de 204 y 2439 kDa para el CH-LW (GD: 88%) y CH-HW (GD: 79%). El CH-LW tuvo la mayor solubilidad dado su menor peso molecular y mayor grado de desacetilación. Esta diferencia de solubilidades obligó a trabajar con distintos protocolos de disolución atendiendo al gelificante empleado y limitando la concentración final de CH-HW en el oleogel a un 1%, no siendo posible conseguir una fase continua con un contenido superior.
2. La elección del tipo de aldehído utilizado para potenciar la estructura de la red molecular generada por el quitosano gracias a la reacción de Schiff influye tanto en el proceso de elaboración del oleogel como en sus propiedades. La duración del secado de oleogeles con baja concentración de quitosano es determinada en gran medida por la reacción de Schiff. El empleo de vainillina da lugar a la cinética de secado más lenta debido a una red molecular más compacta que limita la difusión del agua a través de la placa. El 4-hidroxibenzaldehído y el benzaldehído mostraron resultados similares con velocidades de secado más altas. También se pudo concluir que, cuando se emplean grandes concentraciones de quitosano el efecto del aldehído sobre la cinética de secado es despreciable. Se comprobó que un aldehído como la vainillina que genera una extensa red molecular no asegura valores de retención altos dado a que la estructura que conforma con el quitosano tiene gran rigidez, atrapando aceite, pero no reteniéndolo cuando se somete a fuerzas externas. El uso de aldehídos como el benzaldehído, incapaces de generar enlaces de hidrógeno con el quitosano también lastrará la retención de aceite. El uso de 4-hidroxibenzaldehído parece ser ideal ya que obtiene valores altos de retención de aceite independientemente de la concentración de quitosano empleada, seguramente debido a que la estructura de la red molecular que genera es compacta, pero es lo suficientemente flexible para atrapar y retener el aceite, además de una cinética de secado más rápida.

Debido a los problemas de solubilidad la influencia de la concentración del quitosano en los oleogeles finales se estudió para distintos valores: CH-LW (3%, 2% y 1%) y CH-HW (0,8%, 0,9% y 1%), lo que dio lugar a oleogeles con diferentes comportamientos. En todo caso, siempre se obtuvieron oleogeles con comportamiento viscoelástico ($G' > G''$) lo que demuestra que se consiguió estructurar el aceite de manera satisfactoria mediante el quitosano y la reacción con el 4H.

3. La concentración de CH-LW en el oleogel final influyó en la mayoría de los parámetros característicos del oleogel. A mayor concentración se obtienen emulsiones con el aceite más disperso en la fase acuosa generando un mayor número de gotas retenidas y un menor tamaño de estas. Esta característica les confiere estabilidad y fuerza mecánica que se potenció gracias al secado. Los oleogeles finales obtuvieron mayores durezas, en detrimento de la cohesividad y elasticidad. También los oleogeles fueron más luminosos (L^*) con un tono predominante amarillo ($a^* > b^*$). Gracias al rango de trabajo en lo que respecta a la concentración final del gelificante en el oleogel, se pueden obtener productos finales con una gran variedad de durezas (1,86 – 12,12 N). Además, para prácticamente todo el rango de concentraciones estudiado se obtuvieron valores de retención mayores al 90%. Concluyendo así, que el CH-LW posee una gran versatilidad de uso en múltiples productos alimentarios dentro de la industria alimentaria. Derivado de la metodología de superficies de respuestas, el diseño experimental dedicado al CH-LW debería explorar en mayor profundidad puntos comprendidos entre una concentración final del 1 al 2%.
4. La concentración de CH-HW en el oleogel final influyó en menor medida que en el caso del CH-LW: Debido al menor rango de trabajo que permite este gelificante la variación de los parámetros característicos no fue tan grande, quedando de manifiesto en los distintos modelos obtenidos. Sin embargo, cuando la relación O/W es favorable a la fase acuosa, los comportamientos observados en los oleogeles elaborados con CH-HW concordaron con lo esperado, es decir, a mayor concentración de quitosano se obtuvieron emulsiones más fuertes mecánicamente, lo que conlleva a oleogeles de mayor dureza y retención de aceite. Mientras que, si la relación aumenta de manera favorable a la fase oleosa, esto no se cumple. Siendo necesario una mayor concepción de la interacción entre variables independientes, esto se podrá conseguir si se amplía el diseño experimental.

La relación O/W se estudió en el mismo rango para los dos tipos de quitosano. Común a los dos el uso de una relación 60/40 conlleva a un mayor nivel de dificultad en la obtención de las emulsiones debido a la aparición de fenómenos de agregación. De manera individual:

5. En el empleo de CH-LW la relación O/W tuvo una menor influencia frente a la concentración del gelificante. Su aumento conllevó a emulsiones con un mayor número de gotas retenidas y menor tamaño lo que implica oleogeles con mayor dureza, sin embargo, se obtuvieron valores de retención de aceite menores a las relaciones más favorables a la fase acuosa.
6. Cuando el gelificante empleado fue el CH-HW la relación O/W si tuvo una gran influencia en sus sistemas, sobre todo al 60/40. Este aumento de aceite en los sistemas conlleva a obtener emulsiones con bajo recuento en el número de gotas siendo estas de gran tamaño. Sin embargo, gracias al secado, los oleogeles obtenidos mostraron la mayor dureza y retención de aceite, pero con una menor concentración de gelificante. Por tanto, se concluye que los sistemas con alta concentración de gelificante no son idóneos para trabajar con relaciones O/W favorables a la fase oleosa.

En orden de mejorar el conocimiento de la interacción entre las variables independientes estudiadas, ambos diseños experimentales deberían aumentarse y centrarse en la región existente entre valores de O/W de 55/45 y 60/40.

REFERENCIAS

8 REFERENCIAS

- Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Caballero, A. H., & Acosta, N. (2021). Chitosan: An overview of its properties and applications. En *Polymers* (Vol. 13, Número 19). MDPI. <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
- Babalís, S. J., Papanicolaou, E., Kyriakis, N., & Belessiotis, V. G. (2006). Evaluation of thin-layer drying models for describing drying kinetics of figs (*Ficus carica*). *Journal of Food Engineering*, 75(2), 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.04.008>
- Baraki, S. Y., Jiang, Y., Li, X., Debeli, D. K., Wang, B., Feng, X., Mao, Z., & Sui, X. (2021). Stable sunflower oil oleogel from oil/water pickering emulsion with regenerated chitin. *LWT*, 146, 111483. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111483>
- Barragán-Martínez, L. P., Alvarez-Poblano, L., Vernon-Carter, E. J., & Alvarez-Ramirez, J. (2022). Effects of β -carotene on the color, textural, rheological and structural properties of canola oil/beeswax oleogel. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5), 3946-3956. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01449-4>
- Benq. (2018). *¿Cómo definimos el color «exacto»? Recuperado el 25/05/2025.* <https://www.benq.com/es-mx/centro-de-conocimiento/conocimiento/define-accurate-color//html>
- Bourne, M. (2002). *Food Texture and Viscosity. Concept and Measurement* (2nd ed.). Academic Press.
- Box, G. E., Stuart, H. J., & Hunter, W. G. (2008). *Estadística para Investigadores. Diseño, innovación y descubrimiento* (2.^a ed.). Editorial Reverté.
- Brito, G. B., Peixoto, V. O. D. S., Martins, M. T., Rosário, D. K. A., Ract, J. N., Conte-Júnior, C. A., Torres, A. G., & Castelo-Branco, V. N. (2022). Development of chitosan-based oleogels via crosslinking with vanillin using an emulsion templated approach: Structural characterization and their application as fat-replacer. *Food Structure*, 32. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2022.100264>
- Brühne, F., & Wright, E. (2011). Benzaldehyde. En *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley. https://doi.org/10.1002/14356007.a03_463.pub2
- Chen, G., & Tao, D. (2005). An experimental study of stability of oil-water emulsion. *Fuel Processing Technology*, 86(5), 499-508. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2004.03.010>
- Cosmos. (2025). *Benzaldehído*. Recuperado el 25/05/2025. <https://benzaldehido.mx/index.php>
- da Costa, M. P. M., Delpech, M. C., de Mello Ferreira, I. L., de Macedo Cruz, M. T., Castanharo, J. A., & Cruz, M. D. (2017). Evaluation of single-point equations to determine intrinsic viscosity of sodium alginate and chitosan with high deacetylation degree. *Polymer Testing*, 63, 427-433. <https://doi.org/10.1016/j.polymeresting.2017.09.003>
- Del Blanco, L. F., Rodríguez, M. S., Schulz, P. C., & Agulló, E. (1999). Influence of the deacetylation degree on chitosan emulsification properties. *Colloid and Polymer Science*, 277(11), 1087-1092. <https://doi.org/10.1007/s003960050495>
- Dodero, A., Vicini, S., Alloisio, M., & Castellano, M. (2020). Rheological properties of sodium alginate solutions in the presence of added salt: an application of Kulicke equation.

- Rheologica Acta*. (Vol. 59, pp. 365-374). <https://doi.org/10.1007/s00397-020-01206-8>/Published
- Etuk, B. R., Inyang, U., Oboh, I., & Etuk, B. (2017). International Journal of Food Nutrition and Safety, 2017, 8(1): 45-72 International Journal of Food Nutrition and Safety Drying and the Different Techniques. En *International Journal of Food Nutrition and Safety* (Vol. 8, Número 1). <https://www.researchgate.net/publication/356187901>
- Farooq, S., Ahmad, M. I., Zhang, Y., Chen, M., & Zhang, H. (2023). Preparation, characterization and digestive mechanism of plant-derived oil bodies-based oleogels structured by chitosan and vanillin. *Food Hydrocolloids*, 136. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108247>
- Fedors, R. F. (1979). An equation suitable for describing the viscosity of dilute to moderately concentrated polymer solutions. *Polymer*, 20(2), 225-228. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(79\)90226-X](https://doi.org/10.1016/0032-3861(79)90226-X)
- Gulsia, O. (2020). Vanillin: One Drug, Many Cures * Oshin Gulsia. *Resonance*, 25. <https://doi.org/10.1007/s12045-020-1013-z>
- Havkin-Frenkel, D. (2018). Vanillin. En *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (pp. 1-12). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/0471238961.2201140905191615.a01.pub3>
- Hill, B., Roger, Th., & Vorhagen, F. W. (1997). Comparative analysis of the quantization of color spaces on the basis of the CIELAB color-difference formula. *ACM Trans. Graph.*, 16(2), 109-154. <https://doi.org/10.1145/248210.248212>
- Huggins Vol, M. L., & Maurice Huggins, B. L. (1942). The Viscosity of Dilute Solutions of Long-Chain Molecules. IV. Dependence on Concentration1. En *J. Phys. Chem* (Vol. 42, Número 2). UTC. <https://doi.org/10.1021/ja01263a056>
- ImageJ Wiki. (2025). *Process Menu*. Recuperado el 25/05/2025. <https://imagej.net/ij/docs/menus/process.html#binary>
- Inyang, U. E., Oboh, I. O., & Etuk, B. R. (2018). Kinetic Models for Drying Techniques—Food Materials. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 08(02), 27-48. <https://doi.org/10.4236/aces.2018.82003>
- Jagadish, R. S., Divyashree, K. N., Viswanath, P., Srinivas, P., & Raj, B. (2012). Preparation of N-vanillyl chitosan and 4-hydroxybenzyl chitosan and their physico-mechanical, optical, barrier, and antimicrobial properties. *Carbohydrate Polymers*, 87(1), 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.07.024>
- Jiang, Z., & Bai, X. (2022). Effects of Polysaccharide Concentrations on the Formation and Physical Properties of Emulsion-Templated Oleogels. *Molecules*, 27(17). <https://doi.org/10.3390/molecules27175391>
- Karaer, H., & Kaya, İ. (2015). Synthesis, characterization, and thermal decompositions of Schiff base polymers containing chitosan unit. *Iranian Polymer Journal (English Edition)*, 24(6), 471-480. <https://doi.org/10.1007/s13726-015-0338-z>

- Kaur, B., & Chakraborty, D. (2013). Biotechnological and Molecular Approaches for Vanillin Production: a Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169(4), 1353-1372. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-0066-1>
- Kirk-Othmer. (1998). *Enciclopedia de tecnología química* (1º ed). Instituto Politécnico Nacional
- Klinkesorn, U. (2013). The Role of Chitosan in Emulsion Formation and Stabilization. En *Food Reviews International* (Vol. 29, Número 4, pp. 371-393). <https://doi.org/10.1080/87559129.2013.818013>
- Koocheki, A., Taherian, A. R., Razavi, S. M. A., & Bostan, A. (2009). Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2369-2379. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.06.014>
- Kou, S. (Gabriel), Peters, L. M., & Mucalo, M. R. (2021). Chitosan: A review of sources and preparation methods. En *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 169, pp. 85-94). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.12.005>
- Kraemer, E. O., & Du, E. I. (1938). Molecular Weights of Celluloses. *Industrial Engineering Chemistry*, 30, 10, 1200-1203. <https://doi.org/10.1021/ie50346a023>
- Kulicke, W.-M., & Clasen, C. (2004). *Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-10796-6>
- Lama, M., Montes, L., Franco, D., Franco-Uría, A., & Moreira, R. (2024). Chitosan-Based Oleogels: Emulsion Drying Kinetics and Physical, Rheological, and Textural Characteristics of Olive Oil Oleogels. *Marine Drugs*, 22(7). <https://doi.org/10.3390/md22070318>
- Lawson, H. (1995). *Food Oils and Fats*. Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2351-9>
- Liceo AGB. (2025). *Adición de Amoniaco Aminas y Derivados de Aldehídos y Cetonas*. Recuperado el 25/05/2025. <https://www.liceoagb.es/quimiorg/adireac16.html>
- Liu, L., Gao, Z., Chen, G., Yao, J., Zhang, X., Qiu, X., & Liu, L. (2024). A comprehensive review: Impact of oleogel application on food texture and sensory properties. *Food Science & Nutrition*, 12(6), 3849-3862. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.4110>
- Marin, L., Simionescu, B., & Barboiu, M. (2012). Imino-chitosan biodynamers. *Chemical Communications*, 48(70), 8778-8780. <https://doi.org/10.1039/c2cc34337a>
- McCabe, W. L., Smith, J. C., & Harriot, P. (2007). *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química* (7º). McGraw-Hill Interamericana.
- Meng, Z., Qi, K., Guo, Y., Wang, Y., & Liu, Y. (2018). Effects of thickening agents on the formation and properties of edible oleogels based on hydroxypropyl methyl cellulose. *Food Chemistry*, 246, 137-149. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.154>
- Mezger, T. G. (2006). *The Rheology Handbook* (2nd ed.). Vincentz
- Montes, L., Gisbert, M., Hinojosa, I., Sineiro, J., & Moreira, R. (2021). Impact of drying on the sodium alginate obtained after polyphenols ultrasound-assisted extraction from

- Ascophyllum nodosum seaweeds. *Carbohydrate Polymers*, 272. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118455>
- Mujumdar, A. S. (2014). *Handbook of Industrial Drying*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b17208>
- Mun, S., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2005). Influence of droplet characteristics on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan layers. *Langmuir*, 21(14), 6228-6234. <https://doi.org/10.1021/la050502w>
- Mun, S., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2006). Effect of molecular weight and degree of deacetylation of chitosan on the formation of oil-in-water emulsions stabilized by surfactant-chitosan membranes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 296(2), 581-590. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.09.023>
- Nadulski, R. (2000). Methodological aspects of food texture measurements using tpa test. *International Agrophysics*, 14(2), 207-213. <http://www.international-agrophysics.org/Methodological-aspects-of-food-texture-measurements-nusing-tpa-test,106892,0,2.html>
- National Centre for Biotechnology Information. (2025). *PubChem Compound Summary for CID 126, 4-Hydroxybenzaldehyde*. Recuperado el 25/05/2025. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Hydroxybenzaldehyde>
- Novikov, V. Yu., Derkach, S. R., Konovalova, I. N., Dolgopyatova, N. V., & Kuchina, Y. A. (2023). Mechanism of Heterogeneous Alkaline Deacetylation of Chitin: A Review. *Polymers*, 15(7). <https://doi.org/10.3390/polym15071729>
- Onwude, D. I., Hashim, N., Janius, R. B., Nawi, N. M., & Abdan, K. (2016). Modeling the Thin-Layer Drying of Fruits and Vegetables: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 599-618. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12196>
- Patel, A. R., & Dewettinck, K. (2016). Edible oil structuring: An overview and recent updates. En *Food and Function* (Vol. 7, Número 1, pp. 20-29). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c5fo01006c>
- Payet, L., & Terentjev, E. M. (2008). Emulsification and stabilization mechanisms of O/W emulsions in the presence of chitosan. *Langmuir*, 24(21), 12247-12252. <https://doi.org/10.1021/la8019217>
- Perța-Crișan, S., Ursachi, C. Ștefan, Chereji, B. D., Tolan, I., & Munteanu, F. D. (2023). Food-Grade Oleogels: Trends in Analysis, Characterization, and Applicability. En *Gels* (Vol. 9, Número 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/gels9050386>
- Pillai, C. K. S., Paul, W., & Sharma, C. P. (2009). Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. En *Progress in Polymer Science (Oxford)* (Vol. 34, Número 7, pp. 641-678). <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001>
- Puscas, A., Muresan, V., Socaciu, C., & Muste, S. (2020). Oleogels in food: A review of current and potential applications. En *Foods* (Vol. 9, Número 1). MDPI Multidisciplinary Digital Publishing Institute. <https://doi.org/10.3390/foods9010070>

- Qin, C., Du, Y., Xiao, L., Li, Z., & Gao, X. (2002). Enzymic preparation of water-soluble chitosan and their antitumor activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. (Vol 31, Número 1-3, pp. 111-117). [https://doi.org/10.1016/S0141-8130\(02\)00064-8](https://doi.org/10.1016/S0141-8130(02)00064-8)
- Ramón, M., Francisco, C., María, D. T., & Diego, M. P. (2017). Statistical Criteria for Modelling of Water Desorption Isotherms of Sugars. Estimation of Sucrose Hygroscopic Properties from Glucose and Fructose Data. *Advances in Food Science and Engineering*, 1(1). <https://doi.org/10.22606/afse.2017.11003>
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. En *Progress in Polymer Science (Oxford)* (Vol. 31, Número 7, pp. 603-632). <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>
- Rinaudo, M., Milas, M., & Le Dung, P. (1993). Characterization of chitosan. Influence of ionic strength and degree of acetylation on chain expansion. *International Journal of Biological Macromolecules*. (Vol 15, Número 5, pp. 281-285). [https://doi.org/10.1016/0141-8130\(93\)90027-J](https://doi.org/10.1016/0141-8130(93)90027-J)
- Sannan, T., Kurita, K., & Iwakura, Y. (1975). Studies on Chitin, 2. Effect of Deacetylation on Solubility. En *Makromol. Chem* (Vol. 177). <https://doi.org/10.1002/macp.1976.021771210>
- Scharlab. (2025). *Pipeta repetidora Ripette®*. Recuperado el 25/05/2025 https://www.scharlab.com/es/es/articulo-detail?xarticulo_id=42001-0000
- Silva, T. J., Barrera-Arellano, D., & Ribeiro, A. P. B. (2021). Oleogel-based emulsions: Concepts, structuring agents, and applications in food. En *Journal of Food Science* (Vol. 86, Número 7, pp. 2785-2801). Blackwell Publishing Inc. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15788>
- Singh, A., Auzanneau, F.-I., & Rogers, M. A. (2017). Advances in edible oleogel technologies – A decade in review. *Food Research International*, 97, 307-317. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.04.022>
- Sousa, A. M., Pereira, M. J., & Matos, H. A. (2022). Oil-in-water and water-in-oil emulsions formation and demulsification. En *Journal of Petroleum Science and Engineering* (Vol. 210). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2021.110041>
- Stable Micro Systems. (2025). *25mm Cylinder Probe | Stable Micro Systems*. Recuperado el 25/05/2025. <https://www.stablemicrosystems.com/texture-analysis/probes/25mm-cylinder-probe/>
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological Methods in Food Processing Engineering* (2nd ed.). Freeman Press.
- Talens Oliag, P. (2017). Caracterización de las propiedades mecánicas de alimentos mediante análisis de perfil de textura. *Universidad Politécnica de Valencia*. <https://riunet.upv.es/handle/10251/83513>
- Thien, D. T., Tuyen, N. Van, & Nhi, T. T. Y. (2017). Studies on chitosan - benzaldehyde interaction in a homogeneous system and its adsorption behavior of metal ions in aqueous solution. *asean Journal on Science and Technology for Development*, 25(1), 149-154. <https://doi.org/10.29037/ajstd.238>

- Vela, C. (2020). Producción industrial productos de panificación a base de queso. *Universidad Nacional de Colombia*. <https://www.researchgate.net/publication/341580718>
- Wee, M. S. M., Goh, A. T., Stieger, M., & Forde, C. G. (2018). Correlation of instrumental texture properties from textural profile analysis (TPA) with eating behaviours and macronutrient composition for a wide range of solid foods. *Food and Function*, 9(10), 5301-5312. <https://doi.org/10.1039/c8fo00791h>
- Xu, C., Zhan, W., Tang, X., Mo, F., Fu, L., & Lin, B. (2018). Self-healing chitosan/vanillin hydrogels based on Schiff-base bond/hydrogen bond hybrid linkages. *Polymer Testing*, 66, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2018.01.016>
- Yilmaz, E., & Demirci, Ş. (2021). Preparation and evaluation of virgin olive oil oleogels including thyme and cumin spices with sunflower wax. *Gels*, 7(3). <https://doi.org/10.3390/gels7030095>
- Yilmaz, E., & Ögütçü, M. (2014). Comparative Analysis of Olive Oil Organogels Containing Beeswax and Sunflower Wax with Breakfast Margarine. *Journal of Food Science*, 79(9), E1732-E1738. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12561>
- Zhu, J., Tian, D., Chen, X., Huang, T., & Chen, X. (2024). Preparation of Chitosan-phenolic Aldehyde Fragrance Oleogels and Comparative Study of their Structure and Properties. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03390-4>
- Ziarno, M., Derewiaka, D., Florowska, A., & Szymańska, I. (2023). Comparison of the Spreadability of Butter and Butter Substitutes. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/app13042600>

ANEXO I: SUPERFICIES DE
RESPUESTA
COMPLEMENTARIAS

9 ANEXO I: SUPERFICIES DE RESPUESTA

Se muestra en el presente Anexo I todas aquellas superficies de respuesta obtenidas para los parámetros característicos de los oleogeles tanto de CH-LW o CH-HW, pero que no han sido empleadas durante la discusión de los resultados.

9.1 Quitosano de bajo peso molecular (CH-LW)

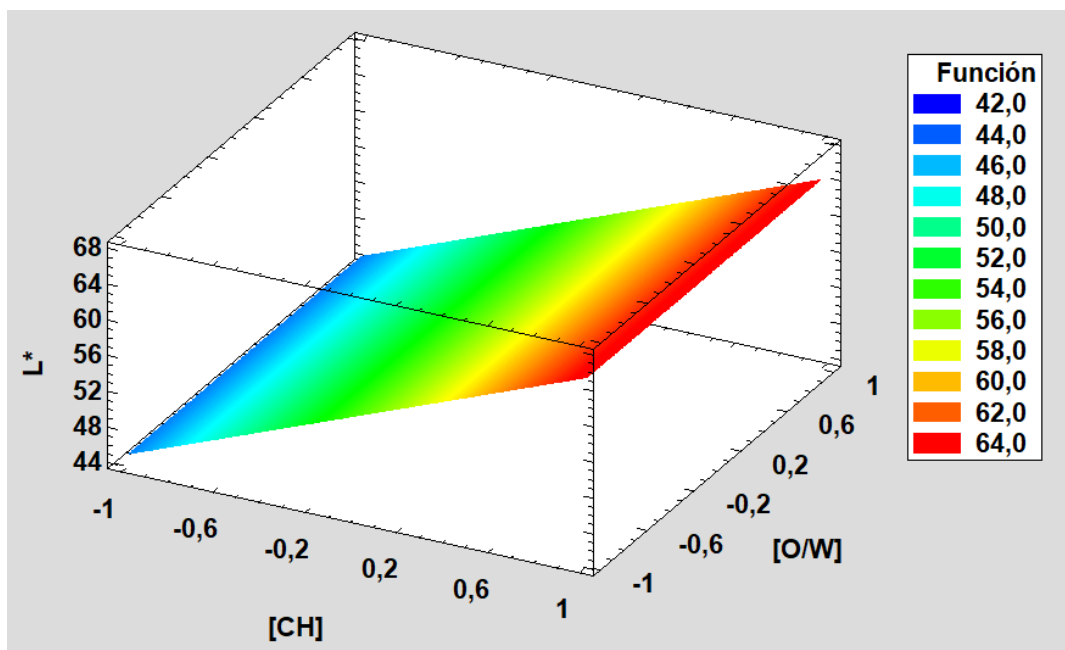


Figura 66. Superficie de respuesta para la variable L^* en oleogeles elaborados con CH-LW

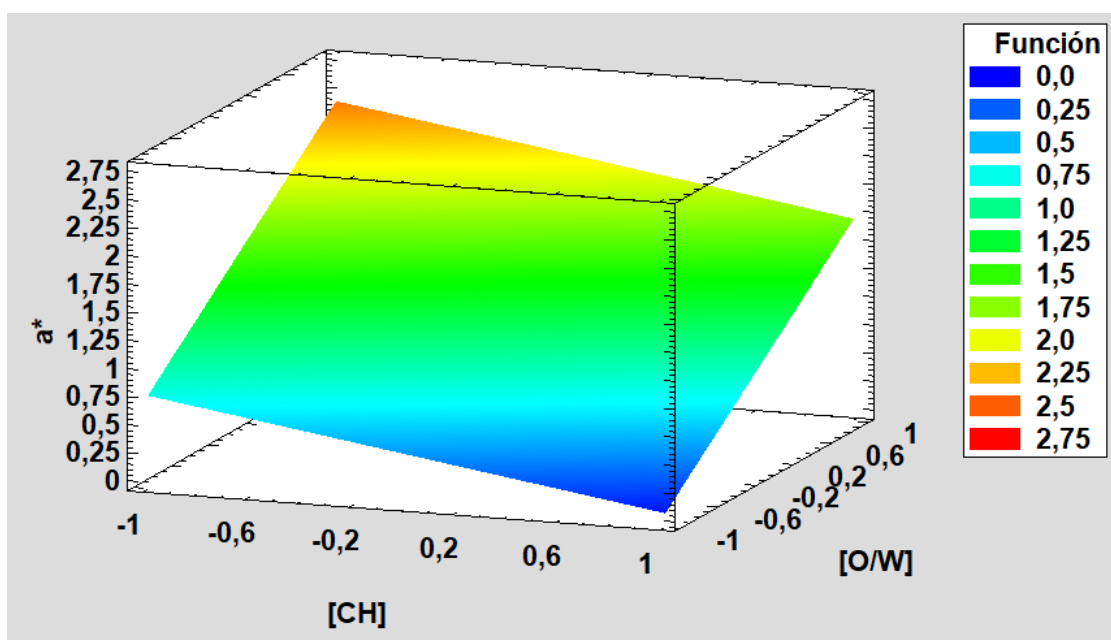


Figura 67. Superficie de respuesta para la variable a^* en oleogeles elaborados con CH-LW

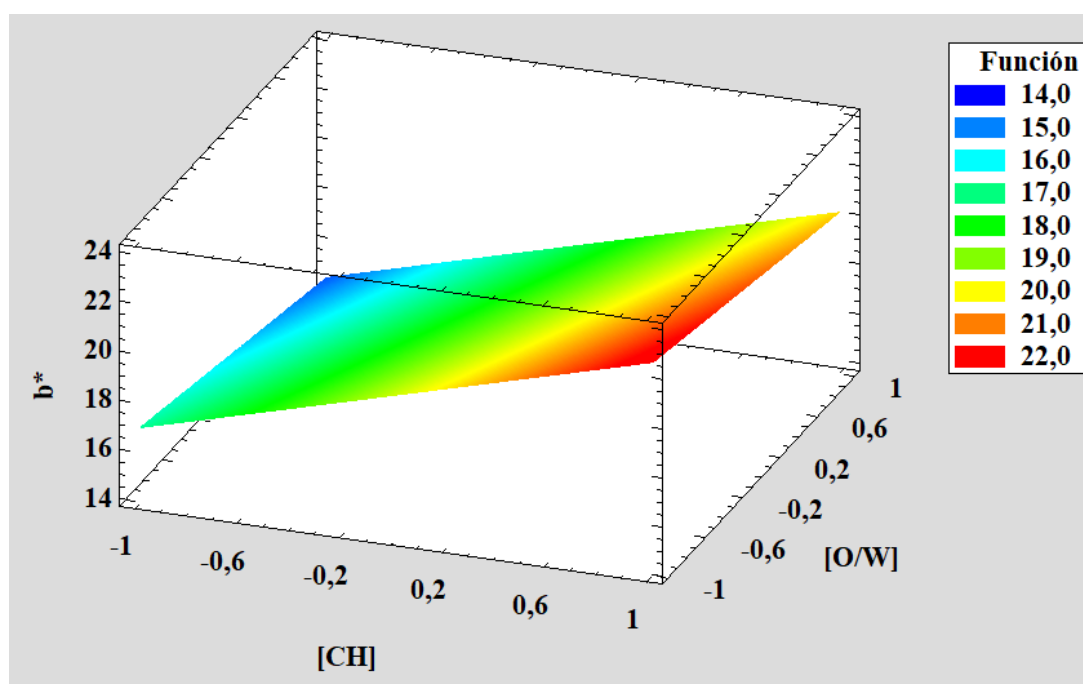


Figura 68. Superficie de respuesta para la variable b^* en oleogeles elaborados con CH-LW

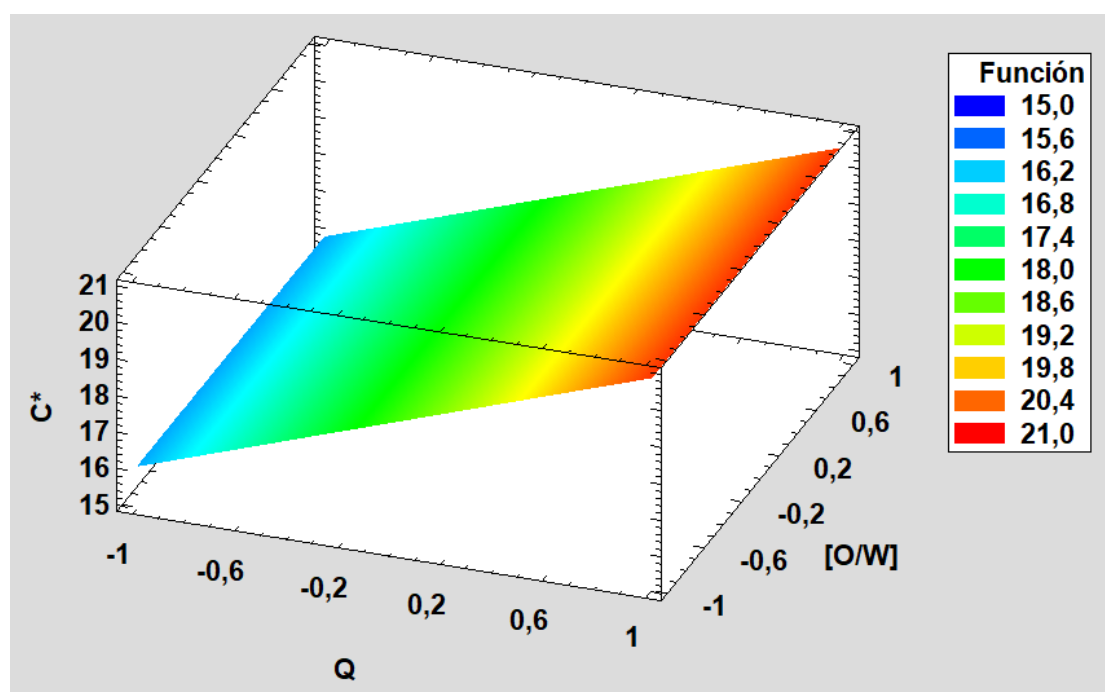


Figura 69. Superficie de respuesta para la variable C^* en oleogeles elaborados con CH-LW

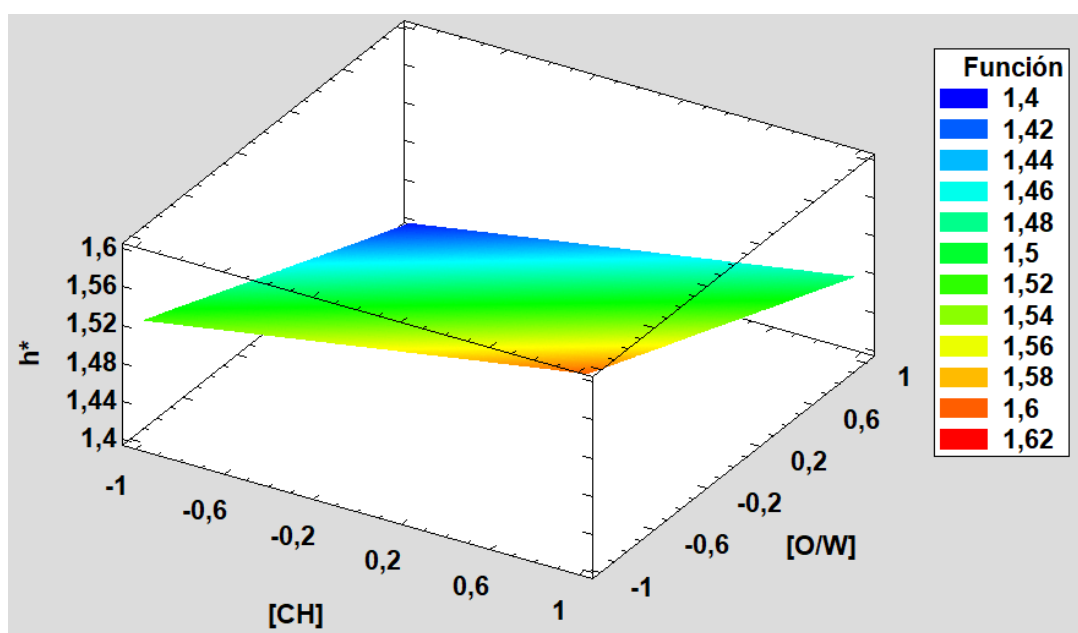


Figura 70. Superficie de respuesta para la variable h^* en oleogeles elaborados con CH-LW

9.2 Quitosano de alto peso molecular (CH-HW)

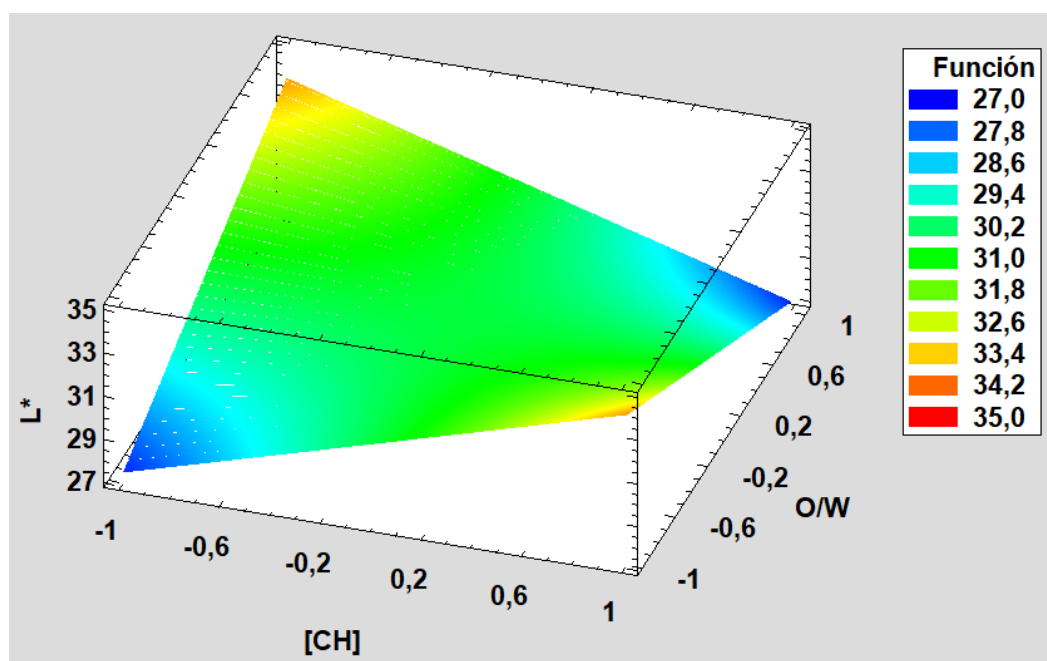


Figura 71. Superficie de respuesta para la variable L^* en oleogeles elaborados con CH-HW

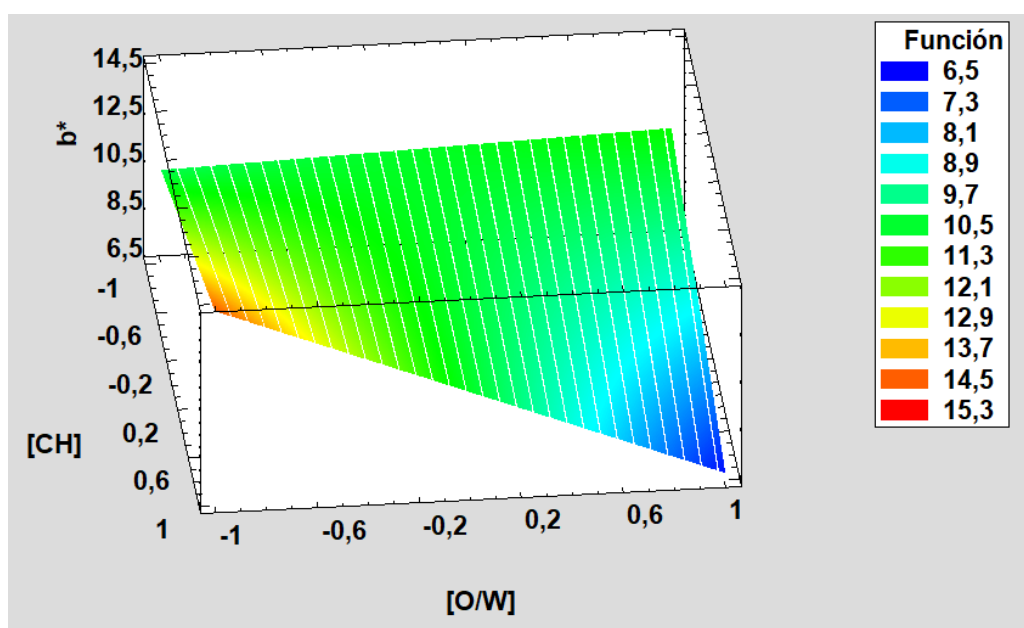


Figura 72. Superficie de respuesta para la variable b^* en oleogeles elaborados con CH-HW

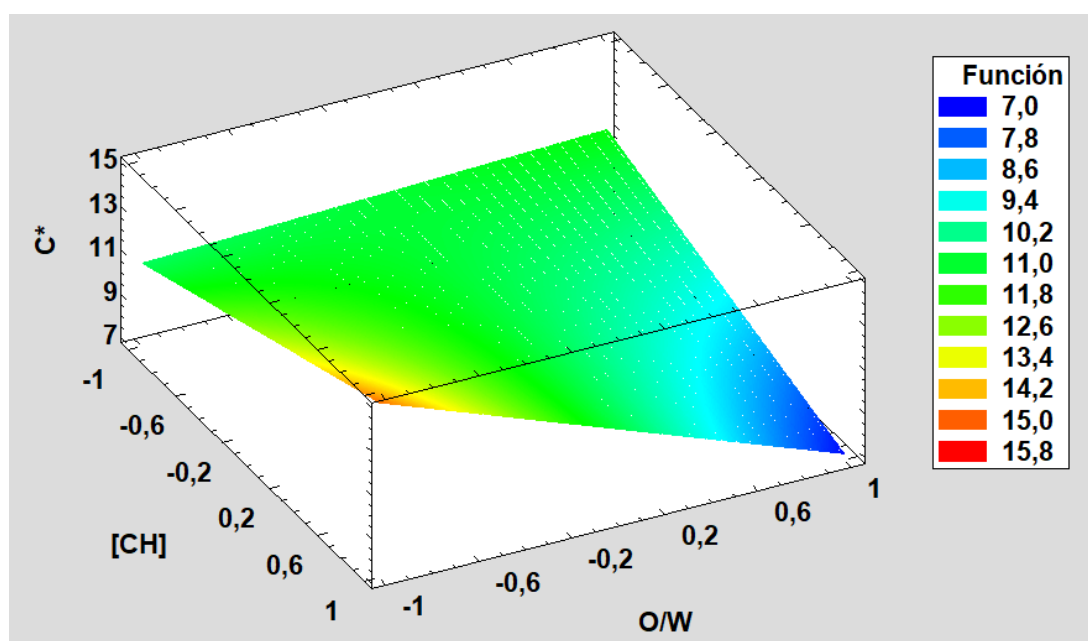


Figura 73. Superficie de respuesta para la variable C^* en oleogeles elaborados con CH-HW

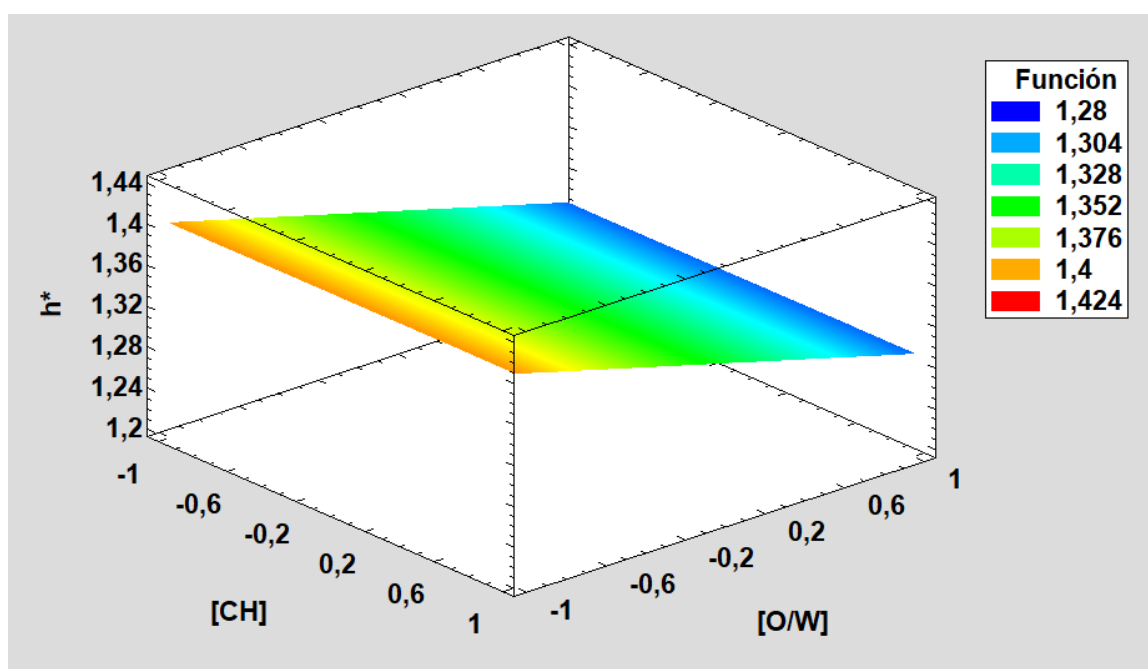


Figura 74. Superficie de respuesta para la variable h^* en oleogeles elaborados con CH-HW