



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**

---

---

**DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL  
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

**CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA Y ESTRUCTURAL DE COMPLEJOS  
COACERVADOS DE AISLADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO-PECTINA**

**TESIS**

**Que como requisito parcial  
para obtener el grado de**

**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

**Presenta:**

**Karla García de la Rosa**

**Bajo la supervisión de: Consuelo S. O. Lobato Calleros, Doctora.**



**Chapingo, Estado de México, 25 Noviembre de 2020**

**CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA Y ESTRUCTURAL DE COMPLEJOS  
COACERVADOS DE AISLADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO-PECTINA**

Tesis realizada por C. Karla García de la Rosa bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIA Y TEGNOLOGÍA AGROALIMENTARIA**

**DIRECTOR:**



---

**DRA. CONSUELO LOBATO CALLEROS**

**CODIRECTOR:**



---

**DRA. LANDY HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ**

**ASESOR:**



---

**DR. ELEAZAR AGUIRRE MANDUJANO**

## CONTENIDO

LISTA DE CUADROS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
DEDICATORIA.....	ix
AGRADECIMIENTOS.....	x
DATOS BIOGRÁFICOS.....	xi
1 INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA .....	4
2.1 AMARANTO .....	4
2.1.1 Generalidades.....	4
2.1.2 Composición química proximal .....	5
2.1.3 Proteínas.....	6
2.1.4 Aislado de proteína de amaranto .....	9
2.2 PECTINA .....	10
2.3 COACERVACIÓN.....	13
2.3.1 Potencial-zeta ( $\zeta$ ).....	13
2.3.2 Interacciones entre biopolímeros .....	15
2.3.3 Fenómeno de coacervación .....	19
2.4 CARACTERIZACIÓN DE COACERVADOS.....	23
2.4.1 Reología.....	23
2.4.2 Microestructura.....	29
2.5 LITERATURA CITADA .....	30

3	CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA Y ESTRUCTURAL DE COMPLEJOS COACERVADOS DE AISLADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO-PECTINA...	40
3.1	INTRODUCCIÓN.....	42
3.2	MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
3.2.1	Ubicación del Trabajo.....	43
3.2.2	Materiales.....	44
3.2.3	Preparación de harina de amaranto.....	44
3.2.4	Obtención de aislado de proteína de amaranto (APA).....	45
3.2.5	Formación de los complejos.....	46
3.2.6	Soluciones base de biopolímeros.....	46
3.2.7	Mediciones de potencial $\zeta$ y tamaño de partícula.....	46
3.2.8	Elaboración de los complejos coacervados.....	47
3.2.9	Rendimiento, contenido de proteína y humedad de los complejos coacervados.....	47
3.2.10	Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).....	48
3.2.11	Propiedades reológicas de los complejos coacervados.....	48
3.2.12	Microestructura de los coacervados.....	49
3.2.13	Análisis de datos.....	49
3.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
3.3.1	Composición química proximal de harina.....	49
3.3.2	Obtención de proteína aislada.....	51
3.3.3	Mediciones de potencial $\zeta$ .....	53
3.3.4	Rendimiento, contenido de proteína y humedad en los complejos coacervados.....	55
3.3.5	Espectroscopia de infrarrojo con trasformada de Fourier (FTIR) ..	56

3.3.6	Propiedades reológicas de los complejos coacervados .....	59
3.3.7	Microestructura y tamaño de partícula de los complejos coacervados. ....	63
3.4	CONCLUSIONES .....	65
3.5	AGRADECIMIENTOS.....	65
3.6	LITERATURA CITADA .....	66

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de aminoácidos en las principales proteínas de almacenamiento de <i>Amaranthus spp.</i> .....	7
Cuadro 2. Contenido de aminoácidos en <i>A. hypochondriacus</i> , <i>A. cruentus</i> , <i>A. caudatus</i> , y recomendaciones de aminoácidos esenciales .....	8
Cuadro 3. Biopolímeros usados en la investigación de complejos coacervados. ....	22
Cuadro 4. Pruebas reológicas para determinar las propiedades reológicas en coacervados.....	27
Cuadro 5. Composición química de la harina de semilla de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> variedad Revancha. ....	50
Cuadro 6. Composición química de harina desengrasada de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> variedad Revancha. ....	50
Cuadro 7. Rendimiento de proteína (g de aislado / 100g de harina desengrasada) obtenida por extracción a pH 9 y 11 y precipitación a pH 4 y 5. ....	51
Cuadro 8. Composición química del aislado de proteína de <i>Amaranthus hypochondriacus</i> variedad Revancha. ....	52
Cuadro 9. Valores medios de rendimiento, contenido de humedad y proteína de complejos coacervados. ....	56
Cuadro10. Valores medios de los parámetros del modelo de Ellis.....	60
Cuadro11. Valores medios de diámetro hidrodinámico ( $d_h$ ) de los complejos coacervados.....	63

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Superficie sembrada (a) y producción (b) de amaranto del año 2015-2019 de los principales estados productores de México. Fuente: SIAP (2020). . 5
- Figura 2. Estructura de la cadena de pectina. Fuente: Alonso-Peña (2011)..... 11
- Figura 3. Interacciones entre proteínas y polisacáridos (Fuente: Anal et al., 2019).  
..... 1818
- Figura 4. Variación del potencial zeta ( $\zeta$ ) como función del pH de disoluciones de APA (0.01% p/p) (●) y PC (0.01% p/p) (◆). ..... 533
- Figura 5. Potencial-  $\zeta$  (mV) del aislado de proteína de amaranto y complejos coacervados a distintas relaciones y distinto pH. APA (◇), APA-PC3:1/3.5 (●), APA-PC5:1/3.5 (■), APA-PC7:1/3.5 (▲), APA-PC3:1/4.5 (○), APA-PC5:1/4.5 (□), APA-PC7:1/4.5 (Δ)..... 555
- Figura 6. Espectro FTIR de aislado de proteína de amaranto (APA) (a), pectina de alto metoxilo (PC) (b) y complejos coacervados (APA-PC<sub>a/b</sub>). APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (c), APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (d), APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (e), APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (f), APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (g), APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (h).....58
- Figura 7. Curvas de flujo de complejos coacervados a diferentes relaciones y pH. APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (●), APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (■), APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (▲), APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (○), APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (□), APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (Δ). ..... 599
- Figura 8. (a). Variación del módulo de almacenamiento ( $G'$ ) como función del % de deformación de los complejos coacervados de aislado de proteína de amaranto-pectina cítrica a diferentes relaciones y diferente pH. APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (●), APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (■), APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (▲), APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (○), APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (□), APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (Δ). (b).Variación del módulo de pérdida ( $G''$ ) como función del % de deformación de los complejos coacervados de aislado de proteína de amaranto-pectina cítrica a diferentes relaciones y diferente pH. APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (●), APA-

PC<sub>5:1/3.5</sub> (■), APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (▲), APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (○), APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (□), APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (Δ)..... 622

Figura 9. Micrografías ópticas de los complejos coacervados a distintas relaciones y distinto pH. APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (a), APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (b), APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (c), APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (d), APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (e), APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (f)..... 644



## DEDICATORIAS

*A mis papás, Margarita de la Rosa Lagunas y Carlos García Mercado por todas las cosas que me han enseñado a lo largo de mi vida, por motivarme a vivir y apoyarme en las decisiones que he tomado.*

*A mis hermanos Emmanuel, Lorena, Alejandra, Rosalva, Isaac y Carlos por su amistad, ayuda y gratitud, por las experiencias buenas y malas que pasamos juntos.*

*A Daniel Aquino Giles por el amor, cariño y gran apoyo brindados durante esta etapa de mi vida.*

*Karla García de la Rosa*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento otorgado en mis estudios de posgrado.*

*A la Universidad Autónoma Chapingo por haberme dado la oportunidad de cumplir una meta más en mi vida.*

*A la Dra. Consuelo Lobato Calleros, por su guía, sus consejos y enseñanzas brindados a lo largo de mi permanencia en el posgrado, los cuales me ha fortalecido en el área profesional.*

*A la Dra. Landy Hernández Rodríguez por su constante apoyo y consejos que me han ayudado en mi vida profesional.*

*Al Dr. Eleazar Aguirre Mandujano por sus enseñanzas y apoyo brindado los cuales han complementado mi formación como profesionista.*

*A los profesores y personal del Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por los conocimientos adquiridos en estos años y el apoyo brindado.*

*A las personas que de cierta manera me apoyaron Valeria, Rosa, Jairo, Vianney, Juan José, Itzel.*

## **DATOS BIOGRÁFICOS**

Karla García de la Rosa nació el 17 de junio de 1991, originaria de Metepec, Estado de México. Sus estudios de bachillerato los cursó en la Escuela Secundaria Técnica # 64 ubicada en Metepec, sus estudios de preparatoria los concluyó en el Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey Campus Toluca, con Sede en Metepec. Obtuvo el título de Licenciada en Nutrición y Dietética en la Universidad del Valle de Toluca por mérito académico en el año 2014, con número de cedula profesional 09150999.

Profesionalmente colaboró en la elaboración y aplicación del programa “Salud Nutricional en Movimiento” llevado a cabo en escuelas con programa de “Desayuno Escolar Caliente” y “Desayuno Escolar Frio” del Municipio de Metepec por parte del Sistema Municipal de Desarrollo Integral para la Familia (SMDIF Metepec). Participó como especialista en nutrición en el Proyecto Estratégico de Seguridad Alimentaria (PESA) en el estado de Veracruz y en el Proyecto de Seguridad Alimentaria para Zonas Rurales (PSAZR) en el Estado de México, ambos pertenecientes a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca (SAGARPA), actualmente llamada Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER).

En agosto de 2018 ingresó al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria en la Universidad Autónoma Chapingo, para realizar estudios de maestría.

# 1 INTRODUCCIÓN GENERAL

Los hábitos alimenticios de las personas han ido cambiando en los últimos años, ya sea por problemas de salud (Soto-Estrada et al., 2016), o simplemente por la preferencia de productos alimenticios y bebidas que contengan nutrimentos que les aporten beneficios a la salud, por lo cual adquiere relevancia el estudio de los componentes de los alimentos (Fernández-Alvarado et al., 2016; Martínez, 2017). Las proteínas en particular son macronutrimentos importantes en la nutrición humana participando en múltiples funciones en el organismo por lo que deben estar presentes en la dieta (FAO, 2020). Las proteínas son trascendentales como componentes en los alimentos por sus propiedades funcionales como solubilidad, viscosidad, absorción de agua, gelación, adhesión-cohesión, elasticidad, emulsificación, espumado, capacidad de ligar grasa y sabores (Zhu et al., 2019).

A pesar de que las proteínas de origen animal son de alta calidad biológica, algunas provocan intolerancia o alergias. Por su parte, las proteínas de origen vegetal son una fuente alternativa a aquellas de origen animal, por el menor costo de producción y su alta biocompatibilidad (Condés et al, 2012; Nesterenko et al., 2013). Una proteína de origen vegetal considerada de excelente calidad es la del amaranto, un pseudocereal con un contenido de proteína entre el 15 y 17%, conformada por albúmina (65 %), globulina (17 %), prolamina (11 %), glutelina (7 %) y gliadina (0.01 %) siendo una ventaja para producir alimentos “libres de gluten” para personas con enfermedad celíaca. De acuerdo con la Organización Mundial de Salud (OMS, 2020) tiene un alto valor nutricional por el balance adecuado de aminoácidos esenciales para el humano, especialmente lisina, triptófano y metionina (Avanza, 2005). Los aminoácidos se encuentran en las principales proteínas de almacenamiento (albumina, globulina, prolamina y glutelina), los cuales tienen un valor biológico y digestibilidad del 75 % proporcionando una alta biodisponibilidad (Motta et al. 2018; Soteris et al., 2011). En comparación con los cereales la cantidad encontrada de lisina en el amaranto es dos a tres veces mayor, y de aminoácidos azufrados es mayor al de las

legumbres (Nardo, et. al., 2018). No obstante, el enriquecimiento específico de aminoácidos va a depender de la especie (Deleu et al., 2019; Marques et al., 2018). Cabe mencionar que a pesar de que el amaranto sigue siendo un cultivo importante en la agricultura y que se desarrolla en condiciones hostiles de suelo, humedad y temperatura (SAGARPA, 2017), en los últimos años su siembra ha ido disminuyendo, con el riesgo de que algunas variedades desaparezcan (Ayala-Garay et al., 2016).

En el mercado hay cada vez más presentaciones de alimentos enriquecidos con proteínas, usando principalmente lácteas o cárnicas y en menor medida las de origen vegetal (Becerril-Ramírez et al., 2017; Rahman et al., 2019). Por ello en este trabajo se utilizará aislado de proteína de amaranto, ya que tiene aplicaciones potenciales, así mismo favorecer al aumento en el valor nutricional del producto alimenticio (D'Amico y Schoenlechner, 2017). En conjunto con polisacáridos, las proteínas son incorporadas a sistemas alimenticios contribuyendo a su estructuración mediante la formación de partículas y complejos que presentan funcionalidades mejores que de manera individual (Ru et al., 2012). La formación de estos complejos puede llevarse a cabo mediante coacervación, la cual es la separación de dos fases líquidas, una fase concentrada que es el coacervado y la otra fase es la solución en equilibrio, esta separación de fases asociativa es causada por la interacción de dos biopolímeros de carga opuesta (Rousi et al., 2019). A partir de complejos coacervados se pueden fabricar películas comestibles, material encapsulante o de entrapamiento. Los complejos además presentan propiedades estabilizantes, emulsionantes y gelantes (Niu et al. 2018).

Finalmente, es preciso destacar que son pocos los trabajos en los que se ha estudiado el uso de aislado de proteína de amaranto, por lo que es necesario desarrollar estudios en los que se evalué su interacción con otros biopolímeros, para la obtención de nuevos ingredientes para la formulación de productos alimenticios.

Con lo expuesto anteriormente se generó la siguiente hipótesis: Debido a la interacción electrostática entre las moléculas positivas del aislado de proteína de amaranto y las cargas superficiales negativas de la pectina cítrica de alto metoxilo se dará la formación de complejos coacervados insolubles con capacidades estructurantes.

Con base en lo expuesto, el objetivo general de esta investigación fue formar complejos coacervados a partir de proteína aislada de *Amaranthus hypocondriacus* L. variedad Revancha-pectina cítrica de alto metoxilo y caracterizar sus propiedades fisicoquímicas, reológicas y microestructurales.

Para el cumplimiento del objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos: (a) establecer los parámetros para la formación de los complejos coacervados proteína aislada de amaranto-pectina cítrica, (b) evaluar las propiedades fisicoquímicas de los complejos coacervados, (c) evaluar las propiedades reológicas de los complejos coacervados, (d) estudiar la microestructura por microscopía óptica y diámetro hidrodinámico de los complejos coacervados, (e) evaluar el espectro infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) de los complejos coacervados.

## 2 REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 AMARANTO

#### 2.1.1 Generalidades

Las semillas de amaranto son pequeñas y esféricas con un diámetro de 1 a 2 mm, pesan entre 0.2 a 1.1 mg, tienen una variedad de color que va de amarillo a rojo intenso. Estas semillas se parecen en función y composición a las de los cereales (López et al., 2018), a pesar de ello, se considera un pseudocereal debido a que es una dicotiledónea, no gramínea, de la familia *Amaranthaceae* del género *Amaranthus*. De entre las más de 70 especies existentes, las principales que se cultivan para producción de semillas son *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. caudatus* con origen en México, Guatemala y América del Sur respectivamente (Matías et al., 2018).

A pesar de que sigue siendo un cultivo importante en la agricultura y que se desarrolla en condiciones hostiles de suelo, humedad y temperatura (SAGARPA, 2017), en los últimos años su siembra ha ido disminuyendo, con el riesgo de que algunas variedades desaparezcan (Ayala-Garay et al., 2016).

El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en el 2020 informó sobre los principales estados productores de amaranto en México, entre los que destacan con una mayor producción Puebla, Tlaxcala y México, los estados que se han mantenido en una producción constante son la Ciudad de México y Oaxaca; Morelos e Hidalgo figuraban como productores en el año 2016, sin embargo, no se reporta producción en los años consecutivos. En la Figura 1 se muestra la superficie de siembra y la cosecha de los estados que produjeron amaranto del año 2015 al 2019. En general la siembra y producción de amaranto ha ido en decremento, inicialmente en el año 2015 se tenía una producción total de 8082 t y en el 2019 disminuyó a 4672 t.

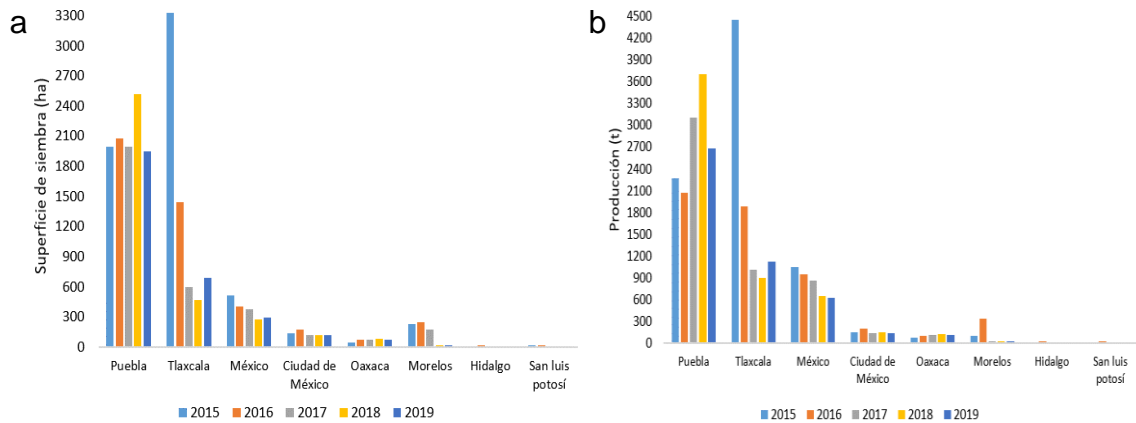


Figura 1. Superficie sembrada (a) y producción (b) de amaranto del año 2015-2019 de los principales estados productores de México. Fuente: SIAP (2020).

El amaranto se utiliza en la panificación, sin embargo, se emplea en productos que requieran poco volumen en la formación de la miga como galletas, crepas, etc., ya que no contiene gluten funcional, por lo que es ideal para personas que padecen enfermedad celiaca (Rastogi y Shukla, 2013). Se le puede encontrar en otros productos como cereal inflado, tortillas, frituras, bebidas y dulces típicos como la “alegría” (Marques et al., 2018), en complementos alimenticios de artículos dietéticos ya que confiere propiedades benéficas para la salud, así mismo se utiliza en la industria de los alimentos obteniendo aceites, almidones y proteínas (Mapes-Sánchez, 2015).

### 2.1.2 Composición química proximal

Las semillas de amaranto, en peso seco, tienen un contenido de almidón del 50 a 60 % (Mapes-Sánchez y Espitia-Rangel, 2010), cenizas 2.8 a 4.4 % (Huerta-Ocampo y Barba-de la Rosa, 2012), grasa 6.1 a 8.1 %, fibra 2.2 a 5.8 % y proteína 12 al 19 % (Matías et al., 2018), de lo cual alrededor del 65 % es albúmina, 17 % globulina, 11% prolamina y 7% glutelina (Marques et al., 2018).

El alto valor nutritivo de los granos de amaranto es dado por el adecuado balance de aminoácidos esenciales, considerados ideales para la alimentación humana



por la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés, 2020), además de aportar fibra dietética, vitamina E, niacina, fósforo y magnesio (D'Amico y Schoenlechner, 2017).

### 2.1.3 Proteínas

El contenido proteico de *A. hypochondriacus* es 16.5 % (Mapes-Sánchez y Espitia-Rangel, 2010), para *A. cruentus* 12.7% (Juan et al., 2007) y 12.3% para *A. caudatus* (Gamel et al., 2004).

Los aminoácidos se encuentran en las principales proteínas de almacenamiento (Cuadro 1), los cuales tienen un valor biológico y digestibilidad del 75% proporcionando una alta biodisponibilidad (Motta et al. 2018; Soteras et al., 2011). Las principales proteínas de almacenamiento se clasifican en función de la fracción extraída: en albuminas que se obtienen por solubilidad en agua destilada, las globulinas se obtienen mediante solución salina diluida, prolaminas por soluciones hidroalcohólicas y las glutelinas se extraen en soluciones ácido o base (Motta et al. 2018).

En la mayoría de los cereales están presentes las prolaminas, en cambio en el amaranto son principalmente albúminas y globulinas (albúminas 2S y globulinas 11/12S y 7S). Por ello el enriquecimiento específico de aminoácidos va a depender de la especie ya sea cereal o pseudocereal (Deleu et al., 2019).

La albúmina en el amaranto está compuesta principalmente por aminoácidos azufrados (metionina, cisteína), glutamina y glicina. Los aminoácidos más abundantes en la globulina 11S son el ácido glutámico, ácido aspártico, prolina, serina, arginina, histidina, fenilalanina, en menor cantidad lisina, metionina, cisteína y valina. Las glutelinas son fuente de ácido glutámico, arginina, leucina, fenilalanina y tirosina. En las prolaminas encontramos leucina y treonina (Deleu et al., 2019; Soteras et al., 2011).

Cuadro 1. Composición de aminoácidos en las principales proteínas de almacenamiento de *Amaranthus spp.* (g/100 g de proteína cruda)

Aminoácido	Semilla	Albúmina	Globulina	Glutelina	Prolamina
Alanina	4.3	4.1	3.5	4.1	5.6
Arginina	9.3	11.4	11.9	10.9	8.7
Ácido aspártico	7.7	9.1	9.1	7.0	7.8
Ácido glutámico	16.0	21.5	18.8	11.9	10.8
Glicina	5.9	5.8	7.7	5.7	5.9
Histidina	3.4	2.6	2.6	2.7	2.0
Isoleucina	3.8	3.4	3.8	4.8	4.3
Leucina	6.0	5.3	5.8	7.7	9.6
Lisina	6.1	7.1	7.5	4.5	7.2
Metionina y Cisteína	5.6	5.4	3.8	3.9	3.3
Fenilalanina y Tirosina	6.1	7.5	6.1	9.2	8.7
Prolina	4.8	4.2	3.4	5.0	3.8
Serina	5.6	4.9	5.9	6.9	6.2
Treonina	4.5	3.0	3.5	4.7	6.3
Valina	5.1	3.4	4.3	4.3	3.9

Fuente: López et al. (2018).

La composición de aminoácidos de *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. caudatus*, así como el requerimiento de aminoácidos esenciales recomendados por la FAO/OMS (2007) se presentan en el Cuadro 2. Los aminoácidos más abundantes en las tres especies son glutamina, ácido aspártico, serina, glicina y arginina, sin embargo, en *A. caudatus* se encuentran en menor cantidad, en cuanto a lisina las tres están por encima de lo recomendado por la FAO/OMS (2007) (4.5 g/100 g de proteína).

En especial los aminoácidos azufrados tomaron relevancia nutricional ya que son limitantes en la mayoría de las leguminosas, así como la lisina en los cereales (Marques et al., 2018). La cantidad encontrada de lisina es dos a tres veces más en *Amaranthus* (6.1 g/100 g de proteína) (López et al., 2018) que en las proteínas

de los cereales mayormente consumidos como el trigo que contiene 3.6 g/100 g de proteína, maíz 2.3 g/100 g de proteína, avena 3.6 g/100 g de proteína y arroz 3.2 g/100 g de proteína (Soteras et al., 2011).

La cantidad de aminoácidos azufrados (metionina + cisteína) en las tres especies es menor al requerimiento de la FAO/OMS (2007), sin embargo, es mayor al de las legumbres (Nardo et al., 2018; López et al., 2018) como en el alberjón o chícharo seco (0.81 g/100 g proteína), frijol (0.76 g/100g proteína) y lenteja (0.69 g/100g proteína) (Santillán, 2018).

Cuadro 2. Contenido de aminoácidos en *A. hypochondriacus*, *A. cruentus*, *A. caudatus*, y recomendaciones de aminoácidos esenciales (g/100 g de proteína).

Aminoácidos	<i>A. hypochondriacus</i>	<i>A. cruentus</i>	<i>A. caudatus</i>	FAO/OMS
Ácido aspártico	12.9	12.5	8.3	
Ácido glutámico	18.1	17.7	16.4	
Serina	10.7	10.5	8.6	
Histidina	1.8	2.0	3.1	1.5
Glicina	11.4	11.2	7.7	
Arginina	8.5	8.8	8.2	
Alanina	4.3	4.2	5.3	
Treonina	4.2	4.2	4.1	2.3
Valina	3.6	4.0	3.8	3.9
Metionina	0.4	0.2	1.8	2.2*
Cisteína	1.3	1.4	4.3	
Isoleucina	2.8	2.9	2.6	3.0
Triptófano	2.7	2.7	1.8	0.6
Leucina	6.4	6.4	5.8	5.9
fenilalanina	3.5	3.6	4.3	3.8**
Tirosina	2.3	2.3	4.7	
Lisina	5.0	5.3	5.4	4.5

Fuente: Juan et al. (2007); Gamel et al. (2004); FAO/OMS (2007).

\*Metionina + cisteína

\*\*Fenilalanina + tirosina

El peso molecular de las proteínas de *Amaranthus spp.* depende de las fracciones mayoritarias que son similares en la mayoría de las especies. En la fracción A se tienen pesos moleculares altos (300 kDa), en la fracción B aproximadamente 180 kDa, fracción C de 120 kDa, fracción D entre 40-50 kDa, en la fracción E de 20-30 kDa y las fracciones F, G y H están por debajo de 10 kDa (Juan et al., 2007).

En el *Amaranthus spp.* se ha observado la presencia de una proteína de reserva denominada amarantina con un peso mayor a 300 kDa, su estructura de hexámero está constituido por seis subunidades con pesos alrededor de 60 kDa; cada una de estas subunidades está compuesta por dos péptidos ( $\alpha$  y  $\beta$ ) de 20 y 40 kDa unidos por puentes disulfuro (Juan et al., 2007).

Condés et al. (2012) mencionan que el aislado de proteína de *Amaranthus hypochondriacus* se conforma por agregados solubles los cuales tienen alto peso molecular y fracciones de polipéptidos de distinto peso molecular. En las globulinas se encuentran péptidos de 53, 57, 76.7 kDa y >80 kDa considerados de alto peso molecular, de nivel intermedio 41.2, 37.3, 34.1 y 32.4 kDa, así como de bajo peso molecular  $\leq 20$  kDa. En la albumina-1 predominan péptidos <30 kDa y algunos de peso intermedio de 30-60 kDa. En la albumina-2 los péptidos varían de 51.2 a 55.8 kDa, sin embargo, los de alto peso molecular (>56 kDa) e intermedio ( $\sim 30$  kDa) son menos abundantes. El peso de los polipéptidos de las glutelinas es similar al de una combinación de globulinas y albumina-2.

#### **2.1.4 Aislado de proteína de amaranto**

La concentración de la proteína es un parámetro importante en la formulación de productos alimenticios por su uso en diferentes alimentos como bebidas, espumas, emulsiones o geles (Condés et al., 2012).

La metodología más utilizada para la obtención de proteína vegetal es por medio de solubilización alcalina y precipitación isoeléctrica. En particular el aislado de proteína de amaranto (APA) se extrae de la harina desengrasada de amaranto mediante solubilización alcalina en un intervalo de pH entre 8 y 11, y precipitación de acuerdo con el punto isoeléctrico (pI) aproximadamente entre 4.0 a 6.0, lo anterior dependerá de la variedad de amaranto, así mismo la pureza del aislado debe ser entre el 80-90% (Deleu et al, 2019). La metodología reportada para *Amaranthus hypochondriacus* L. emplea un pH de solubilización de 9 y pH de precipitación de 5. Sin embargo, se menciona que al aumentar el pH de solubilización el rendimiento aumenta (Martínez y Añón, 1996; Aceituno-Medina et al., 2013; Suárez et al., 2020). Las proteínas pueden tener cambios estructurales en el proceso y esto influye en sus propiedades funcionales (López et al., 2018).

## **2.2 PECTINA**

La pectina es un polisacárido aniónico, que se ha utilizado ampliamente para interactuar con proteínas, con el fin de mejorar la funcionalidad de ambos biopolímeros (Lan et al., 2020). La pectina es un polisacárido complejo de origen vegetal, forma parte de la estructura de la pared celular constituyendo alrededor del 40%, su función es mantener el equilibrio acuoso en el sistema. La pectina se obtiene principalmente de vegetales, cáscara o pulpa de algunas frutas, como cítricos, manzanas, guayaba, piña, tomate o betabel.

La pectina ésta constituida por ácido D-galacturónico esterificado con unidades de metanol, unido mediante enlaces  $\alpha$ -(1-4) glucosídicos (Figura 2) y en una cantidad menor azúcares neutros (D-galactosa, L-arabinosa y D-ramosa) variando en proporción de acuerdo con el origen de extracción de la pectina (Abid et al., 2017; Mendoza-Vargas et al., 2017).

Dependiendo del contenido de ésteres de metilo o grado de esterificación (GE) se cataloga como pectina de alto metoxilo (PAM) si es mayor del 50% y un GE menor del 50% es pectina de bajo metoxilo (PBM) (Chan et al., 2017; Xu et al., 2018).

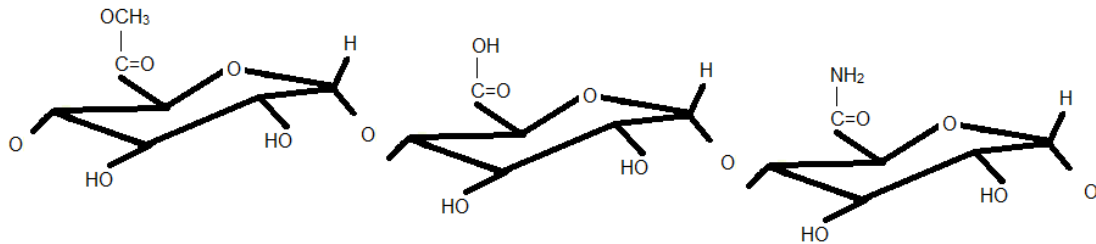


Figura 2. Estructura de la cadena de pectina. Fuente: Alonso-Peña (2011).

El GE tiene un efecto preciso sobre la solubilidad y las propiedades gelificantes de la pectina afectando a la tensión superficial y a la formación de emulsiones. En general los componentes que afectan en las propiedades funcionales de la pectina son el grado de esterificación, peso molecular, cantidad de proteína, grado de acetilación, amidación y viscosidad (Figuroa y Genovese, 2018; Mendoza-Vargas et al., 2017; Trujillo-Ramírez et al. 2018).

Para la formación de geles con PAM se requiere un pH entre 2.5 a 3.8, contenido alto de sólidos solubles (55 a 85%) lo que ayuda a reducir la disociación de grupos carboxilos disminuyendo la repulsión electrostática, así mismo requiere un alto contenido de azúcar (~65%). A diferencia de PBM el rango de pH es amplio, es importante la presencia de iones de calcio y requiere menor cantidad de azúcar, ya que si la concentración de sacarosa es alta la PBM tiende a pregelificarse (Abid et al., 2017; Chan et al., 2017).

En el mercado existen diferentes tipos de PAM clasificadas por el tiempo y temperatura de gelificación como de rápida, media o lenta gelificación, con GE de 74-77%, 61-73% y 58-60% respectivamente (Figuroa y Genovese, 2018).

La pectina modifica reológicamente las matrices de los alimentos ya que puede aumentar o disminuir la viscosidad de su sistema. Sus usos en la industria alimentaria, química o farmacéutica generalmente son como agente gelificante, emulsionante, de glaseado, estabilizante y espesante (Chan et al., 2017; Trujillo-Ramírez et al. 2018), también se ha utilizado como material de pared para microencapsular compuestos bioactivos (Humblet-Hua et al., 2011).

En el cuerpo humano la pectina es resistente a la digestión, reduce el vaciamiento gástrico, promueve saciedad, se une a ácidos biliares, se considera un prebiótico por lo cual hay un incremento en la fermentación en el colon, influye sobre el nivel de lípidos en la sangre y gracias a su capacidad de retener agua ayuda en enfermedades diarreicas (Figueroa y Genovese, 2018).

En la industria alimentaria, los biopolímeros como las proteínas o polisacáridos desempeñan un papel importante en las características sensoriales y estructurales de los sistemas alimentarios. Las proteínas actúan como emulsionantes, espesantes, gelificantes o espumantes (Baeza et. al., 2003); Sin embargo, mediante una interacción electrostática controlada entre las proteínas y los polisacáridos se pueden generar complejos coacervados que presentan mejores propiedades funcionales a las mostradas por cada uno de los biopolímeros; estos complejos tienen aplicaciones como emulsionantes y modificadores de la viscosidad en productos alimenticios (Perry y Blocher, 2016), también como material de entrapamiento o encapsulación de compuestos bioactivos (vitaminas, colorantes, probióticos, antioxidantes, aceites, etc.) (Hernández-Rodríguez et al., 2014, Lan et al., 2020), así como en la estabilización de nano y microemulsiones (Trujillo-Ramírez et al. 2013) para el desarrollo de alimentos funcionales, los cuales proporcionan un beneficio a la salud superior al de los nutrimentos del propio alimento, ya que contienen uno o más nutrimentos con mayor valor nutricional, estos nutrimentos pueden estar presentes en el alimento o ser añadidos (Meco y Pascual, 2007).

Las proteínas de origen vegetal utilizadas en múltiples investigaciones con estas aplicaciones (estabilización y encapsulación) mediante el uso de la coacervación compleja reportadas por Moschakis y Biliaderis (2017) son soya, chía, chícharo y linaza. En cuanto a la proteína de amaranto de la que se aborda en esta investigación hay estudios sobre caracterización de aislado de proteína que evidencia un potencial para ser aprovechada mediante el método de coacervación compleja en el desarrollo de productos funcionales (Kierulf et al., 2020).

## **2.3 COACERVACIÓN**

### **2.3.1 Potencial-zeta ( $\zeta$ )**

El potencial zeta ( $\zeta$ ) proporciona la carga superficial neta de una partícula, y es un factor transcendental para determinar el grado de interacción (repulsión o atracción) entre partículas coloidales, si el valor del potencial  $\zeta$  es mayor, sea positivo o negativo, las partículas coloidales estarán estabilizadas eléctricamente, sin embargo, cuando se encuentran valores bajos de potencial  $\zeta$  las partículas son propensas a la inestabilidad y por lo tanto a su floculación (Tiwari y Singh, 2012).

La carga eléctrica superficial en las proteínas se origina por la ionización de grupos superficiales (Shevkani et al., 2014) por lo cual, los valores positivos del potencial  $\zeta$  se deben a la protonación de los restos de aminoácidos (-NH<sub>2</sub>) produciendo grupos amonio (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), mientras que los valores negativos se deben a la ionización de los restos carboxílicos (-COOH) formando grupos carboxilato (-COO<sup>-</sup>) (Hernández-Rodríguez et al., 2014; Trujillo-Ramírez et al., 2018).

La carga superficial de las partículas puede influir en las propiedades funcionales, de solubilidad y emulsionantes en los aislados de proteína (Shevkani et al., 2014). Ventureira et al. (2012) reportaron valores del potencial  $\zeta$  del aislado de proteína



de *Amaranthus hypocondriacus*, que oscilan entre 25 mV a pH 2.0 a -30 mV a pH 8.0.

Trujillo-Ramírez et al. (2013) reportaron valores negativos del potencial  $\zeta$  de pectina de alto metoxilo (PAM) que van de  $-3.0 \pm 0.1$  mV (pH 2.0) a  $-29.4 \pm 0.8$  mV (pH 7.0), esto se debe a los bajos valores de pKa ( $\sim 3.2$ ) de sus grupos carboxilos.

El  $pK_a$  es la medida logarítmica ( $-\log_{10} K_a$ ) de la constante de acidez o disociación ácida  $K_a$ , también definida por la IUPAC (2019) como constante de equilibrio  $K_a$ , la cual es una medida cuantitativa que caracteriza el equilibrio en una reacción química en relación con las reacciones ácido-base. Mediante el pKa se puede saber el grado de disociación de un ácido ya sea débil (pKa entre -2 a 12) o fuerte (pKa por debajo de -2); por ejemplo, un ácido fuerte se disocia casi por completo en una solución acuosa (Miessler et. al., 2014).

Cuando el pH está por encima del pKa de un polisacárido y por debajo del punto isoeléctrico (pI) de la proteína, se presentan cargas netas opuestas y es en este momento cuando se debería llevar a cabo la coacervación, generando complejos electrostáticos más fuertes. En caso de tener un pH por encima del pI de la proteína el complejo proteína-polisacárido es reversible, muy débil o inexistente ya que la repulsión electrostática entre las proteínas es predominante (Anal et. al., 2019; Raei et. al., 2018).

Por lo anterior es transcendental conocer las interacciones intermoleculares que se pueden dar entre los biopolímeros, así como aquellos de carga opuesta (proteína y carbohidratos) que participan en la coacervación compleja, ya que estas interacciones son fundamentales para las propiedades funcionales del complejo coacervado producido (Moschakis y Biliaderis, 2017).

### 2.3.2 Interacciones entre biopolímeros

Las interacciones entre las moléculas de los diferentes tipos de biopolímeros son uniones atractivas o repulsivas, normalmente electrostáticas o de van der Waals. La importancia de estas interacciones en los sistemas alimentarios radica en que pueden generar nuevas estructuras como sistemas de protección y liberación controlada de compuestos bioactivos, así mismo cambiar las propiedades fisicoquímicas y funcionales. Las características fisicoquímicas, la concentración y las condiciones de la disolución de cada uno de los biopolímeros están establecidas por la interacción entre las macromoléculas. La longitud de la cadena, ramificaciones, carga, flexibilidad e hidrofobicidad molecular son algunas de las características de la molécula que dan las propiedades funcionales de los biopolímeros (como espesantes, estabilizantes, gelificantes, espumantes, etc.) en los sistemas alimenticios (Morales-Hernández y Mondragón-Cortez, 2017; Salminen y Weiss 2013).

Las interacciones entre biopolímeros de los sistemas alimentarios, interviene en la formación de microestructura, lo que determina la textura, estabilidad mecánica, consistencia, apariencia y sabor. Estas interacciones pueden llevar a un comportamiento de fase segregativo o asociativo, que va a depender de las características del biopolímero, como su concentración y relación, y de las condiciones del solvente. Por lo tanto, se deben conocer los factores que afectan las interacciones entre biopolímeros (Espinosa-Andrews et al., 2013).

- Interacción polisacárido-polisacárido

Los polisacáridos son hidratos de carbono formados por un número variable de unidades de monosacárido (10 a miles) unidos por enlaces glicosídicos. Se encuentran como cadenas lineales perfectas, ramificadas o ramificadas lineales. Se clasifican en homopolisacáridos cuando están integrados por un solo tipo de monosacárido (almidón o celulosa) o heteropolisacáridos integrados por varios

tipos de monosacáridos (gomas). Constituyen la estructura celular y confieren rigidez a los tejidos vegetales (pectina, gomas, celulosa) o se encuentran como reserva energética de animales (glucógeno) y vegetales (inulina, almidón) formando puentes de hidrógeno intermoleculares. Los monosacáridos encontrados a menudo en los polisacáridos son glucosa, galactosa, manosa y gulosa (Nieto et. al., 2014).

El grado de ramificación en las cadenas de los polisacáridos afecta sus propiedades físicas (solubilidad, viscosidad, gelificación); producen dispersiones coloidales generalmente de alta viscosidad. Su hidrólisis depende del pH, temperatura, tipo de enlace glucosídico ( $\alpha$  o  $\beta$ ), la configuración anomérica y la presencia de grupos sulfatos. Los polisacáridos no tienen carácter reductor y son sensibles a los ácidos. Tienen un gran número de uniones covalentes y no covalentes; con un cambio muy pequeño en su energía interna presentan cierta rotación y flexibilidad de movimiento (Fennema, 2000). El almidón, la carragenina y las pectinas son polisacáridos que se encuentran de manera natural en los alimentos, o se añaden a productos alimenticios por sus propiedades funcionales. Tienen gran capacidad de retener agua y producen partículas coloidales muy hidratadas por lo cual se les llama hidrocoloides, por esta propiedad se puede formar una red tridimensional (gel) en la que queda atrapada el agua, sin embargo, durante el almacenamiento las macromoléculas pueden interactuar entre sí y pueden perder esta capacidad provocando una sinéresis (Nieto et al., 2014).

Espinosa-Andrews et al. (2013) determinaron las condiciones de formación del complejo coacervado entre quitosano de bajo peso molecular y goma arábiga. El primero es un polisacárido binario heterogéneo catiónico producido por degradación química, térmica o bioquímica del quitosano de alto peso molecular. El segundo es un polisacárido complejo ramificado, de neutro a ácido, obtenido como sales mixtas de calcio, magnesio y potasio. Ambos biopolímeros a pH 4.4 presentan una diferencia de carga máxima.

- Interacción proteína-polisacárido

Las principales interacciones proteína-polisacárido son la conjugación por reacción de Maillard y la electrostática que involucra dos biopolímeros con carga opuesta, estas interacciones pueden ser atractivas o repulsivas, dependiendo de condiciones del medio ambiente como el pH, temperatura, fuerza iónica y concentración de los biopolímeros (Anal et al., 2019; Morales-Hernández y Mondragón-Cortez, 2017).

Las proteínas y los polisacáridos reaccionan entre sí, mediante enlaces covalentes o no covalentes. Las interacciones covalentes son específicas y ocurren debido a la glucosilación entre el grupo carboxilo de polisacáridos y el grupo amino de las proteínas, que es provocada por la deshidratación del complejo por medio de humedad controlada o adición de un agente reticulante, lo que implica la unión de las cadenas poliméricas impidiendo que estas fluyan con libertad, generando un complejo conjugado específico fuerte y permanente, como lo que sucede en la reacción de Maillard (Anal et al., 2019; Wijaya et al., 2017). Por ejemplo, Ifeduba y Akoh (2016) encapsularon aceite de soya con ácido estearidónico mediante coacervados de gelatina-goma modificados por reacción de Maillard, los cuales fueron incorporados a una matriz de yogur con el objetivo de proporcionar protección contra la oxidación y tratamiento térmico durante 14 días de almacenamiento a 4 ° C.

A diferencia de las interacciones covalentes, las no covalentes son inespecíficas y generalmente ocurren a través de interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y de van der Waals; generan complejos solubles o insolubles dependiendo de la fuerza de interacción (Anal et al., 2019), por ejemplo Xiao et al. (2011) emplearon coacervación compleja, con aislado de proteína de soya-goma arábica, para microencapsular aceite de naranja dulce.

Con las interacciones entre proteína y polisacáridos se pueden generar sistemas con diferentes características, originando fenómenos de incompatibilidad, cosolubilidad, formación de coacervados complejos o solubles (Figura 3).

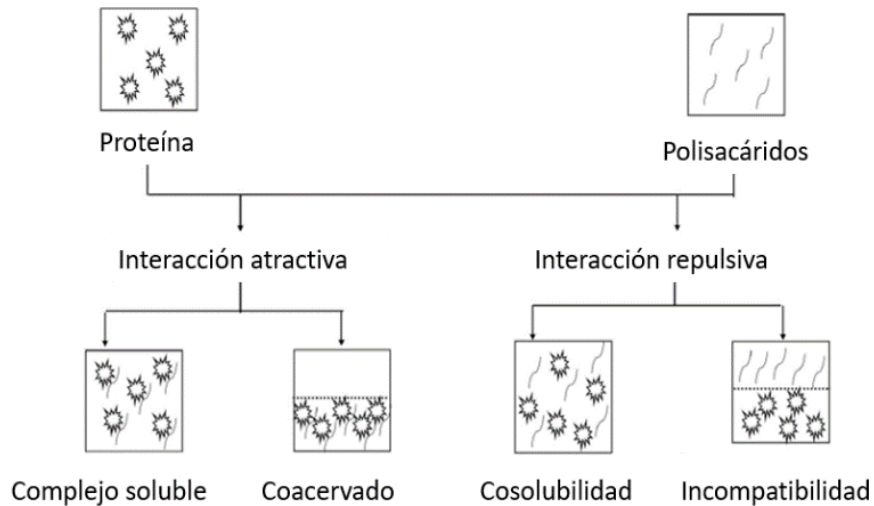


Figura 3. Interacciones entre proteínas y polisacáridos (Fuente: Anal et al., 2019).

Estos sistemas son el resultado de las cargas generadas por la mezcla de los biopolímeros; cuando las cargas opuestas de los biopolímeros no son iguales, la carga neta que resulta genera un complejo soluble. En la interacción de biopolímeros con cargas opuestas iguales, en donde la mezcla genera la neutralización de cargas, se forma un complejo insoluble o complejo coacervado originando la separación de fases asociativa entre los complejos y el solvente, una fase coacervada y otra sérica, ambas en equilibrio (Anal et al., 2019; Patino y Pilosof, 2011). Cuando se produce una interacción electrostática repulsiva por la mezcla de biopolímeros con cargas del mismo signo se genera cosolubilidad. Del mismo modo se puede dar incompatibilidad termodinámica o separación de fases segregativa cuando se mezclan un polisacárido neutro o aniónico y una proteína con carga del mismo signo, esto consiste en dos fases, cada una rica con un solo tipo de biopolímero (Anal et al., 2019).

En relación a la concentración de los biopolímeros, si esta es baja se vuelven cosolubles en una sola fase, por el contrario cuando la concentración es mayor sobrepasando un cierto nivel se produce incompatibilidad (Anal et al., 2019).

### **2.3.3 Fenómeno de coacervación**

La coacervación se define como la separación de dos fases líquidas de sistemas coloidales, una fase coacervada y otra fase sérica nombrada sobrenadante, ambas en equilibrio. Se divide en coacervación simple la cual involucra el uso de una macromolécula y una sal o alcohol, lo que produce la separación de fases dando una neutralización de cargas; y coacervación compleja donde se involucran biopolímeros con carga opuesta, un polianión y un policatión, cada uno es miscible en el disolvente, al mezclarlos se tiene una interacción electrostática, también participa la contribución entrópica y las moléculas de agua del medio (Bosnea et al., 2016; Moschakis y Biliaderis, 2017).

Para que se lleve a cabo la coacervación entre proteína y polisacárido debe haber una interacción electrostática entre las moléculas de proteína (grupos amino y ácido carboxílico) con las cadenas de polisacáridos, esta interacción es influenciada por las variaciones en el pH, fuerza iónica, estrés mecánico, temperatura, relación molar, densidad de carga superficial de las proteínas, densidad de carga y rigidez del polisacárido, grupos funcionales, hidrofobicidad, la relación en peso proteína-polisacárido y concentración total de biopolímeros (Bosnea et al., 2016; Moschakis y Biliaderis, 2017; Muriel et al., 2019).

Los biopolímeros utilizados en múltiples investigaciones para la formación de complejos coacervados son principalmente proteínas y polisacáridos. Los complejos coacervados se han utilizado principalmente como material encapsulante o de entrapamiento para proteger y liberar de forma controlada bioactivos bajo ciertas condiciones encontradas en el tracto gastrointestinal (Moschakis y Biliaderis, 2017). También los coacervados se pueden incorporar

en muchos productos alimenticios como sustituto de grasa, películas comestibles, para estabilización, emulsificación o gelificación (Niu et al. 2018).

A continuación, se describen las principales aplicaciones tecnológicas de los coacervados:

- Purificación de proteínas.

La coacervación compleja se ha empleado para purificar proteínas mediante la incorporación de un macropoliión con un peso molecular diferente, en un sistema que contiene una proteína para generar complejos de proteína-polielectrolito, todo se lleva a cabo en condiciones ambientales (pH o fuerza iónica) apropiadas. Para después recuperar de sistema la fase coacervada. Después alterando las condiciones ambientales se lleva a cabo la desintegración de los complejos, haciendo que se separe la proteína (Boeris et al., 2009; Xu et al., 2011).

- Estabilización de emulsiones.

Los coacervados se utilizan para mejorar la estabilidad de las emulsiones y retardar la coalescencia y floculación de productos almacenados, a causa de fuerzas estéricas reforzadas. En otras palabras, radican en proteínas tensoactivas que junto con polisacáridos se pueden adsorber en la interfaz aumentando el grosor y mejorando las propiedades mecánicas de las capas interfaciales. En algunos casos se emplean agentes reticulantes para modificar las propiedades fisicoquímicas, sin embargo, existen diferentes formas de ensamblar biopolímeros para estabilizar emulsiones, como por ejemplo cuando las emulsiones están formadas y estabilizadas por proteínas que se agregan con polisacáridos, esto genera la formación de complejos proteína-polisacárido en la interfaz aceite-agua, a este ensamblaje se le llama “capa por capa”. Otra forma de estabilizar una emulsión es mediante la formación de conjugados o complejos coacervados proteína-polisacárido, para después incorporar aceite y homogenizar. También se puede crear primero la emulsión para después incorporar el coacervado, el cual se adsorberá en la interfaz dando como

resultado gotas de aceite contenidas en una matriz compleja ternaria (Dickinson, 2008; Moschakis y Biliaderis, 2017, Niu et al., 2016).

- Encapsulación de compuestos bioactivos

La microencapsulación se puede definir como la tecnología de incorporación de compuestos bioactivos o funcionales (sólidos, líquidos y gaseosos) como aceites, saborizantes, péptidos, enzimas, fibra dietética, vitaminas, minerales, fármacos, entre otros, dentro de un material de pared que protege y libera esos compuestos de forma controlada y bajo ciertas condiciones dadas para sea biodisponible en un lugar específico del organismo humano. En el Cuadro 3 se muestran biopolímeros estudiados para encapsulación. También el encapsular ayuda a ocultar sabores desagradables de los compuestos (McClements, 2014; Moschakis y Biliaderis, 2017).

Los materiales que pueden ser usados para encapsulación son polisacáridos de la pared celular de cereales, almidones, pectinas de alto y bajo metoxilo, quitosano, goma arábiga, entre otros, y proteínas como las del lactosuero, caseínas, albúmina,  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbúmina, lactoferrina, entre otras. Además de ser usados como material de pared, algunos biopolímeros tienen propiedades nutricionales y funcionales, como las pectinas (Ifeduba y Akoh, 2016; Moschakis y Biliaderis, 2017), por ejemplo, Lan et al. 2020 investigaron un método alternativo para identificar los valores de pH de transición de fase en sistemas de biopolímeros concentrados usando pectina de alto metoxilo y aislado de proteína de chícharo para la formación de un complejo coacervado.



Cuadro 3. Biopolímeros usados en la investigación de complejos coacervados.

Proteínas	Polisacáridos	Referencias
Grenetina	Goma arábiga	Ifeduba et al., 2016.
	Carboximetil celulosa (CMC)	Sze et al., 2016.
	Caseinato de sodio	Milanovic et al., 2014.
	Pulpa de sagú Carboximetil	Muniyandy et al., 2015.
Proteína aislada de suero (WPI)	Pectina	Thongkaew et al., 2014
	Carragenina	Hernández-Rodríguez et al., 2014.
	Agar	Rocha et al., 2014.
	Goma puka (arabigogalactano)	Wee et al., 2014.
Proteína de suero	Goma arábiga	Eratte et al., 2014.
	Goma acacia	Ach et al., 2015
Caseinato de sodio; WPI	CMC	Koupantsis et al., 2014.
Caseína	Goma tragacanto	Jain et al., 2016.
	Alginato de propilenglicol	Chen et al., 2016.
	Quitosano	Chen et al., 2015.
$\beta$ -lactoglobulina	Goma acacia	Ach et al., 2015.
	Tragacantina	Comert et al., 2016.
	Pectina	Hirt y Jones, 2014.
$\alpha$ -lactoalbúmina	Goma acacia	Ach et al., 2015.
	Carboximetildextrano	Du et al., 2016.
Lactoferrina	Goma arábiga	Gulão et al., 2014.
BSA	Goma arábiga	Shahgholian y Rajabzadeh, 2016.
	k-carragenina	Chai et al., 2014.
	Goma de linaza	Liu et al., 2015.
Ovoalbúmina	Pectina	Souza y Garcia-Rojas, 2015.
Lisozima	CMC	Li et al., 2015.
Péptidos de leucina	Goma arábiga	Gulão et al., 2016.
Proteína de soya	Carragenina; CMC	Spada et al., 2015.
	Goma arábiga	Dong et al., 2015.
Proteína aislada de chícharo	Alginato	Klemmer et al., 2012.
Proteína aislada de chía	Goma de chía	Timilsena et al., 2016.
Proteína aislada de linaza	Goma de linaza	Kaushik et al., 2015.
Proteína aislada de canola	Goma arábiga	Stone et al., 2014

## **2.4 CARACTERIZACIÓN DE COACERVADOS**

### **2.4.1 Reología**

La reología es la ciencia del flujo y deformación de los materiales, estudia las relaciones constitutivas (esfuerzo-deformación), describe la relación entre la deformación o tasa de deformación de un material (líquidos, mezclas o suspensiones) y la aplicación un esfuerzo (Bello-Lara et al., 2014).

Todos los materiales tienen propiedades reológicas, por lo que la reología es un método para la caracterización de estos, proporciona información precisa sobre el autoensamblaje, la estructura y las interacciones intermoleculares presentes en un material (Liu et. al., 2017).

El empleo de la reología en la industria alimentaria es relevante en la realización de cálculos en procesos de ingeniería, determinación de la funcionalidad de ingredientes en el desarrollo de productos, control de calidad, evaluación de textura, estudio de la microestructura e influye en el desarrollo de nuevos ingredientes o materiales para productos alimenticios (Ibarz y Barbosa-Cánovas, 2005).

Los fluidos que son del interés de la reología presentan una gama de comportamientos, desde lo viscoso o líquido ideal (líquido Newtoniano) hasta el sólido elástico (sólido ideal de Hooke). La mayoría de los alimentos que se consumen, son productos líquidos y pastosos más que alimentos sólidos, y presentan propiedades de flujo viscoso y sólido elástico por ello se les denomina viscoelásticos. Las propiedades viscoelásticas influyen en la estabilidad del propio alimento, por lo cual en la medición reológica se debe tomar en cuenta el rango viscoelástico lineal (Ibarz y Barbosa-Cánovas, 2005; Norton et al., 2011).

El comportamiento reológico de un fluido se caracteriza por el esfuerzo de corte requerido para generar una determinada velocidad de deformación en corte; en el caso de líquidos, se requieren diferentes esfuerzos de corte para que las moléculas del material, a cierta velocidad, pasen de una capa a otra. En los fluidos newtonianos o viscosos, el esfuerzo de corte es directamente proporcional a la velocidad de deformación en corte y la constante de proporcionalidad corresponde a la viscosidad; a diferencia de los fluidos no-newtonianos. Varios alimentos pertenecen a estos últimos, en los cuales el término índice de consistencia es equivalente a una viscosidad no-newtoniana (Rodríguez et al, 2005).

El comportamiento reológico en estado estacionario de la mayor parte de los fluidos, puede establecerse mediante una forma generalizada de la Ecuación (1):

$$\sigma_{yx} = -\eta \frac{dv_x}{dy}$$

Ecuación 1. Ecuación para el establecimiento del comportamiento reológico.

Donde la viscosidad ( $\eta$ ) puede expresarse también en función de  $dv_x/dy$  o  $\sigma_{yx}$  indistintamente.

En las regiones donde  $\eta$  disminuye al aumentar el gradiente de velocidad ( $-dv_x/dy$ ), el comportamiento se denomina pseudoplástico, si  $\eta$  aumenta con dicho gradiente se denomina dilatante. Si  $\eta$  resulta independiente del gradiente de velocidad, el fluido se comporta como newtoniano, se dice entonces que  $\eta=\mu$  (Ramírez-Navas, 2006).

De acuerdo con Cubero et al. (2002) es importante conocer las características de los hidrocoloides por las condiciones de su aplicación, ya que se adicionan en disoluciones o dispersiones, y sus propiedades reológicas (fluidez, viscosidad, etc.) definirán las condiciones de uso antes y durante el desarrollo del producto alimenticio, así como las características de textura al producto final.

La medición del comportamiento reológico se logra utilizando instrumentos llamados reómetros que miden y evalúan los cambios en las propiedades reológicas de alimentos (fluidos y semisólidos) aplicando diferentes esfuerzos, con el uso de varias geometrías que dependen del tipo de muestra, viscosidad, tamaño de partícula y el ángulo a utilizar (Tabilo-Munizaga y Barbosa- Cánovas, 2005).

Algunas de las pruebas reológicas llevadas a cabo en un reómetro son oscilatorias y rotacionales; las oscilatorias de baja intensidad se emplean para suspensiones, dispersiones y emulsiones. En donde los materiales se caracterizan en términos de módulos ( $G'$ ,  $G''$ ), viscosidad ( $\eta$ ), elasticidad, el factor de pérdida, factor de cedencia y los tiempos de relajación. Mientras que la prueba rotacional mide el desplazamiento que ejerce el torque sobre la muestra, el desplazamiento y velocidad angular (Rao, 2007).

El módulo de almacenamiento ( $G'$ ) mide la energía de deformación que el material almacena durante el proceso de corte y está relacionada al carácter elástico o sólido del material. El módulo de pérdida ( $G''$ ) mide la energía de deformación que el material pierde durante el corte y se asocia al carácter viscoso o líquido del material. Si  $G'$  es mayor a  $G''$  la deformación del material se comportará como sólido o elástico; por el contrario, si  $G''$  es mayor a  $G'$  el material se comportará como viscoso o líquido. La  $\tan(\delta)$  ( $G''/G'$ ) es el factor de cedencia que evidencia la proporción del comportamiento viscoso al elástico ante la deformación, se puede decir que cuando el valor de  $\tan(\delta) = 0$  se da una respuesta elástica; si  $\tan(\delta) = \infty$  se observa una respuesta viscosa y si  $0 < \tan(\delta) < \infty$  se concluye que es una respuesta viscoelástica (Rao, 2007; Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Existen distintas pruebas reológicas fundamentales aplicables a alimentos, como por ejemplo para estudiar el comportamiento de geles alimenticios se pueden

usar pruebas de esfuerzo-deformación, las cuales se clasifican en pruebas de deformación pequeña, cuando se requiere un pequeño porcentaje de deformación para romper la muestra y pruebas de deformación grande en donde se deforma una muestra hasta el punto de cambio estructural permanente, estas últimas proporcionan información que se correlaciona con la evaluación sensorial.

Las pruebas oscilatorias, son usadas para describir el comportamiento de geles, dispersiones y pastas, obteniendo propiedades sobre gelificación y fusión. Son pruebas de barrido de frecuencia en el que  $G'$  y  $G''$  se determinan en función de la frecuencia ( $\omega$ ) a temperaturas fijas, y de barrido de amplitud en donde la desviación del sistema de medición se incrementa paso a paso de un punto de medición al siguiente, manteniendo la frecuencia en un valor constante, (Tabilo-Munizaga y Barbosa-Cánovas, 2005).

Mediante curvas de flujo se puede llevar a cabo la caracterización reológica de los complejos coacervados, las cuales son un tipo de representación de las variaciones de la viscosidad aparente en función de la tasa de corte. Las curvas de flujo se ajustan a modelos para determinar la viscosidad, como el modelo de Carreau-Yasuda (Carrillo-Navas et al., 2012), Ellis (Hernández-Rodríguez et al. 2014), entre otros. El modelo de Ellis se aplica cuando las desviaciones de la ley de la potencia son significativas a bajos valores de tasa de corte ( $\dot{\gamma}$ )

Raei et al. (2018) utilizaron reología para caracterizar la región viscoelástica lineal de los complejos coacervados, mediante barridos de amplitud, barridos de frecuencia y curvas de flujo; la reología es utilizada también para identificar el inicio de la formación de complejos, basado en el aumento en la viscosidad. En el cuadro 4 se muestran algunas pruebas reológicas, así como las propiedades reológicas determinadas en coacervados.

Cuadro 4. Pruebas reológicas para determinar las propiedades reológicas en coacervados.

Coacervado proteína-polisacárido	Propiedades reológicas /Pruebas reológicas	Resultados	Referencia
Gelatina de pescado (FG) + goma arábica (AG) con tratamiento con ácido tánico no oxidado (NO-TA) y oxidado (OX-TA) como reticulante.	Región viscoelástica lineal (RVL), módulo complejo ( $G^*$ ) y viscosidad aparente( $\eta^*$ ) / Barrido de deformación y barrido de frecuencia	Los valores de $\tan(\delta)$ ( $G''/G'$ ) aumentaron al incrementar la frecuencia ( $0 < \tan(\delta) < \infty$ ) en los geles coacervados (GC), con una tendencia hacia un comportamiento más fluido. Al aumentar la concentración del reticulante (NO-TA) los valores de $\eta^*$ aumentaron, así mismo, la $\eta^*$ disminuyó linealmente con la frecuencia en los GC mostrando adelgazamiento por cizallamiento.	Anvari y Chung, (2016)
Gelatina + carboximetilcelulosa de sodio (SCMC).	Viscosidad relativa / Curvas de flujo	El comportamiento en la viscosidad en el coacervado fue disminuyendo hasta llegar a una viscosidad mínima (SCMC al 30%).	Devi y Maji (2011).
Goma arábica (GA) + Quitosano (Ch)	Región viscoelástica lineal (RVL) y módulos ( $G'$ y $G''$ ). / Barridos de deformación de amplitud	Los CC presentaron 65 % de deformación. La relación de masa de biopolímeros ( $R_{[GA: Ch]}$ ) inferior (Ch en exceso y densidad de carga positiva) mostraron una RVL con deformación de ~20 %. $R_{[7: 1]}$ y $R_{[9: 1]}$ (GA en exceso y carga negativa relativamente alta) mostraron una RVL con valor inferior a ~2 % de deformación.	Espinosa-Andrews et al. (2013).
WPI + Pectina de bajo metoxilo.	Rango viscoelástico lineal (RVL) y módulos ( $G'$ y $G''$ ) / Barrido de amplitud y barrido de frecuencia	Los datos de % de deformación de $G'$ muestran el RVL al 0.002 a 0.3%. Los coacervados presentaron valores de $G' > G''$ , indicando un comportamiento de redes elásticas similares a geles. Hubo un cruce entre $G'$ y $G''$ a altas deformaciones, lo que indica que la estructura de los complejos se caracterizó por un comportamiento predominantemente viscoso.	Ramírez-Santiago et al. (2012).

Continúa en la siguiente página.

Cuadro 4. Continuación

Coacervado proteína-polisacárido	Propiedades reológicas /Pruebas reológicas	Resultados	Referencia
WPI (W) + <i>k</i> -carragenina (K).	Región viscoelástica lineal (RVL). Viscosidad aparente / Curvas de flujo y barridos de amplitud	Las curvas de flujo los coacervados complejos (CC <sub>y/z</sub> ) mostraron una región newtoniana a bajas tasas de corte, seguidas de una región de adelgazamiento al corte a tasas de corte intermedias. Los datos se ajustaron al modelo de Ellis. Los valores del módulo elástico (G') indicaron que los CC <sub>y/z</sub> presentaron una RVL a una deformación de 0.2 %, caracterizada por un valor constante de G' a bajos % de deformación; seguida de una inflexión y disminución pronunciada de los valores de G' a porcentajes de deformación mayores. Los valores del módulo viscoso (G'') mostrados por los CC <sub>y/z</sub> en la RVL fueron inferiores a los mostrados por el módulo elástico. El valor de G'' < G', indicando un carácter elástico dominante de todos los CC <sub>y/z</sub> .	Hernández-Rodríguez et al. (2014).
WPI + Goma puka.	Rango viscoelástico lineal (RVL), viscosidad aparente Y Módulos complejos (G', G'' y G*) / Barridos de amplitud y Barridos de frecuencia	Los CC presentaron una viscosidad relativamente alta (> 100 Pa s) a bajas velocidades de corte (~0.1 s <sup>-1</sup> ). El CC con un pH 3.5 presentó la viscosidad más alta, y el de pH 4.5 la viscosidad mínima. Los CC también exhibieron un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento que se hizo más pronunciado a valores de pH más cercanos al óptimo, llegando a ser casi newtonianos a pH 3.0. Los barridos de amplitud mostraron un gran RVL (50% de deformación). Los barridos de frecuencia mostraron que el módulo viscoso dominaba sobre el módulo elástico (G'' > G') en todo el rango de $\omega$ , lo que indica que los CC no tienen ningún carácter similar al gel. No muestran ningún cruce entre G'' y G'.	Wee et al. (2014).

## 2.4.2 Microestructura

La microestructura de los materiales se examina para determinar la estructura interna de los mismos. Permite conocer la organización de los componentes de un alimento para evaluar su comportamiento y poder establecer la relación entre la estructura del producto y sus características fisicoquímicas y sensoriales. También las características estructurales de los complejos coacervados se reflejan en sus propiedades reológicas (Hernández-Rodríguez et al., 2017; Lobato-Calleros et al., 2004; Moschakis y Biliaderis, 2017).

La microestructura y morfología de los complejos van a depender de los factores del medio en el que se encuentran (pH, contenido de biopolímeros, fuerza iónica, concentración de iones), así como de las condiciones de procesamiento (temperatura, tiempo, tasa de corte), dando lugar a distintas formas de reordenamiento (Dickinson, 2017). Normalmente, las estructuras de los coacervados están formadas por matrices interconectadas, con distintas superficies y macropartículas en forma esférica de distintos tamaños formando redes homogéneas, con estructuras líquidas y vacuolas ricas en agua; estas vacuolas posiblemente fueron el resultado de la coalescencia de los coacervados más pequeños que inicialmente se formaron, y con el tiempo pueden desaparecer llevando a estructuras más uniformes que se asemejan a formas esféricas (Hernández-Rodríguez et al., 2017; Moschakis y Biliaderis, 2017).

Las variaciones de la microestructura en las muestras de complejos coacervados pueden ser observadas en un microscopio óptico, a diferentes aumentos. Las micrografías obtenidas facilitan la comparación de las características estructurales mostradas por los complejos coacervados (Hernández-Rodríguez et al., 2017).



## 2.5 LITERATURA CITADA

- Abid, M., Cheikhrouhou, S., Renard, C. M., Bureau, S., Cuvelier, G., Attia, H., y Ayadi, M. A. (2017). Characterization of pectins extracted from pomegranate peel and their gelling properties. *Food Chemistry*, 215, 318-325. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.07.181
- Aceituno-Medina, M., Lopez-Rubio, A., Mendoza, S., y Lagaron, J. M. (2013). Development of novel ultrathin structures based in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolate through electrospinning. *Food Hydrocolloids*, 31, 289–298. doi:10.1016/j.lwt.2015.02.025
- Ach, D., Briançon, S., Dugas, V., Pelletier, J., Broze, G., y Chevalier, Y. (2015). Influence of main whey protein components on the mechanism of complex coacervation with acacia gum. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 481, 367–74. doi: 10.1016/j.colsurfa.2015.06.006
- Alonso-Peña, J. R. (2011). *Manual de histología vegetal*. Madrid, España: Mundi Prensa.
- Anal, A. K., Shrestha, S., y Sadiq M. B. (2019). Biopolymeric-based emulsions and their effects during processing, digestibility and bioaccessibility of bioactive compounds in food systems. *Food Hydrocolloids*, 87, 691–702. doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.09.008
- Anvari, M., y Chung, D. (2016). Dynamic rheological and structural characterization of fish gelatin–gum Arabic coacervate gels cross-linked by tannic acid. *Food Hydrocolloids*, 60, 516–24. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.04.028
- Avanza, M. V., Puppo, M. C. y Añón, M. C. (2005). Rheological characterization of amaranth protein gels. *Food Hydrocolloids*, 19, 889–898. doi:10.1016/j.foodhyd.2004.12.002
- Ayala-Garay, G., A., Espitia-Rangel, E., Rivas-Valencia, P., Almaguer-Vargas, G., y Preciado-Rangel, P. (2016). Análisis del sistema productivo de amaranto en Temoac, Morelos, México. *CIENCIA ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 23(1), 49–57
- Baeza, R., Gugliotta, L. M., y Pilosof, A. M. R. (2003). Gelation of  $\beta$ -lactoglobulin in the presence of propylene glycol alginate: kinetics and gel properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31, 81–93. doi: 10.1016/S0927-7765(03)00045-6
- Bello-Lara, J. E., Balois-Morales, R., Sumaya-Martínez, M. T., Juárez-López, P., Rodríguez-Hernández, A. I., Sánchez-Herrera, L. M. y Jiménez-Ruíz, E. I. (2014). Extraction and rheological characterization of starch and pectin in 'Pera' (Musa ABB) banana fruits. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8, 1501–1507.

- Boeris, V, Romanini D, Farruggia, B., y Pico, G. (2009). Purification of chymotrypsin from bovine pancreas using precipitation with a strong anionic polyelectrolyte. *Process Biochemistry*, 44, 588–92. doi: 10.1016/j.procbio.2009.02.009
- Bosnea, L. A., Moschakis, T., Nigam, P. S., y Biliaderis, C. G. (2016). Growth adaptation of probiotics in biopolymer-based coacervate structures to enhance cell viability. *LWT - Food Science and Technology*, 16, 730–58. doi: 10.1016/j.lwt.2016.11.056
- Carrillo-Navas, H., Cruz-Olivares, J., Varela-Guerrero, V., Alamilla-Beltrán, L., Vernon-Carter, E. J., y Pérez-Alonso, C. (2012). Rheological properties of a double emulsion nutraceutical system incorporating chia essential oil and ascorbic acid stabilized by carbohydrate polymer–protein blends. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 1231–1235. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.09.005
- Chai, C., Lee, J., y Huang, Q. (2014). The effect of ionic strength on the rheology of pH-induced bovine serum albumin/κ-carrageenan coacervates. *LWT - Food Science and Technology*, 59(1), 356–60. doi: 10.1016/j.lwt.2014.05.024
- Chan, S. Y., Choo, W. S., Young, D. J., y Loh, X. J. (2017). Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. *Carbohydrate Polymers*, 161, 118–139. doi: 10.1016/j.carbpol.2016.12.033
- Chen, C. C., Chen, S. T., y Hsieh, J. F. (2015) Proteomic analysis of polysaccharide-milk protein interactions induced by chitosan. *Molecules*, 20(5), 7737–49. doi: 10.3390/molecules20057737
- Chen, Y. C., Chen, C. C., y Hsieh, J. F. (2016). Propylene glycol alginate-induced coacervation of milk proteins: a proteomics approach. *Food Hydrocolloids*, 53, 233–8. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.01.018
- Comert, F., Malanowski, A. J., Azarikia, F., y Dubin, P. L. (2016). Coacervation and precipitation in polysaccharide-protein systems. *Soft Matter*, 12, 4154–61. doi: 10.1039/C6SM00044D
- Condés, M. C., Speroni, F., Mauri, A., y Añón, M. C. (2012). Physicochemical and structural properties of amaranth protein isolates treated with high pressure. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 14, 11–17. doi: 10.1016/j.ifset.2011.12.006
- Cubero, N., Monferrer, A., y Villalta, J. (2002). *Aditivos alimenticios*. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- D'Amico, S., y Schoenlechner, R. (2017). Amaranth: Its Unique Nutritional and Health-Promoting Attributes. *Gluten-Free Ancient Grains*, 131–159. doi: 10.1016/B978-0-08-100866-9.00006-6
- Deleu, L., Lambrecht, M., Van de V. J., y Delcour, J. (2019). The impact of alkaline conditions on storage proteins of cereals and pseudocereals, *Current Opinion in Food Science*, 25, 98–103. doi: 10.1016/j.cofs.2019.02.017

- Devi, N., y Maji, T. (2011). Study of complex coacervation of gelatin a with sodium carboxymethyl cellulose: microencapsulation of neem (*Azadirachta indica a. Juss.*) seed oil (nso). *International Journal of Polymeric Materials*, 60(13), 1091–1105. doi: 10.1080/00914037.2011.553851
- Dickinson, E. (2008). Interfacial structure and stability of food emulsions as affected by protein–polysaccharide interactions. *Soft Matter*, 4, 932–42. doi: 10.1039/B718319D
- Dickinson, E. (2017). Biopolymer-based particles as stabilizing agents for emulsions and foams. *Food Hydrocolloids*, 68, 219–231. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.06.024
- Dong, D., Qi, Z., Hua, Y., Chen, Y., Kong, X., y Zhang, C. (2015). Microencapsulation of flaxseed oil by soya proteins–gum Arabic complex coacervation. *International Journal of Food Science and Technology*, 50, 1785–91. doi: 10.1111/ijfs.12812
- Du, J., Reuhs, B. L., y Jones, O. G. (2016). Influence of PEGylation on the ability of carboxymethyl dextran to form complexes with alpha-lactalbumin. *Food Chemistry*, 196, 853–9. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.021
- Eratte, D., Wang, B., Dowling, K., Barrow, C. J., y Adhikari, B. P. (2014). Complex coacervation with whey protein isolate and gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil. *Food and Function*, 5, 2743–50. doi: 10.1039/c4fo00296b
- Espinosa-Andrews, H., Enríquez-Ramírez, K. E., García-Márquez, E., Ramírez-Santiago C., Lobato-Calleros C., y Vernon-Carter, J. (2013). Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 161–166. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.02.053
- Fennema, O. (2000). *Química de los alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Fernández-Alvarado, L., Sedó-Masís, P., y Rodríguez-González, S. (2016). Reflexiones sobre el derecho humano a la alimentación y las políticas públicas en CR. *Perspectivas Rurales Nueva Época*, 14 (27), 69–88.
- Figueroa, L. E., y Genovese, D. B. (2018). Pectin Gels Enriched with Dietary Fibre for the Development of Healthy Confectionery Jams; University of Zagreb. Faculty of Food Technology and Biotechnology; *Food Technology and Biotechnology*, 56(3), 441–453. doi: 10.17113/ftb.56.03.18.5641
- Food and Agriculture Organization (FAO) (2020). Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas. fao.org. Recuperado de <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/005/w0073s/W0073S01.pdf>.
- Food and Agriculture Organization y Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43411>

- Gamel, T. H., Linssen, J. P., Alink, G. M., Mosallem A. S., y Shekib, L. A. (2004). Nutritional study of raw and popped seed proteins of *Amaranthus caudatus* L and *Amaranthus cruentus* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84,1153–58. doi: 10.1002/jsfa.1781
- Gulão, E. D., de Souza, C. J. F., Andrade, C. T., y Garcia-Rojas, E. E. (2016). Complex coacervates obtained from peptide leucine and gum arabic: formation and characterization. *Food Chemistry*, 194, 680–6. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.062
- Gulão, E. D., de Souza, C. J. F., da Silva, F. A. S., Coimbra, J. S. R., y Garcia-Roja, E. E. (2014). Complex coacervates obtained from lactoferrin and gum arabic: formation and characterization. *Food Research International*, 65, 367–74. doi: 10.1016/j.foodres.2014.08.02
- Hernández-Rodríguez, L., Lobato-Calleros, C., Pimentel-González, D. J., y Vernon-Carter, E. J. (2014). *Lactobacillus plantarum* protection by entrapment in whey protein isolate:  $\kappa$ -carrageenan complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 36, 181–8. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.09.018
- Hernández-Rodríguez, L., Lobato-Calleros, C., Ramírez-Santiago, C., Rodríguez-Huezo, M. E., y Meraa, M. (2017). Microstructure and rheology of yogurt added with protein-*L. plantarum*- polysaccharide coacervate and stevia in substitution of milk-fat and sucrose. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(1), 77-89.
- Hirt, S., y Jones, O. G. (2014). Effects of chloride, thiocyanate and sulphate salts on  $\beta$ -lactoglobulin- pectin associative complexes. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 2391–8. doi: 10.1111/ijfs.12560
- Huerta-Ocampo, J. A., y Barba-de la Rosa, A. P. (2012). Caracterización bioquímica y estructural de las proteínas de reserva de amaranto. E. Espitia-Rangel (Ed.), *Amaranto: ciencia y tecnología*, México (293-302). SINAREFI-INIFAP-UNAM.
- Humblet-Hua, K. N. P., Scheltens, G., dan der Linden, E., y Sagis, L. M. C. (2011). Encapsulation systems based on ovalbumin fibrils and high methoxyl pectin. *Food Hydrocolloids*, 25, 569–576. doi: 10.1016/j.foodhyd.2010.06.008
- Ibarz, A., y Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). *Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos*. España: Mundi-Prensa.
- Ifeduba, E. A., y Akoh, C. C. (2016). Microencapsulation of stearidonic acid soybean oil in Maillard reaction-modified complex coacervates. *Food Chemistry*, 199, 524–32. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.12.011
- International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) (2019). *Compendium of Chemical Terminology*. A. D. McNaught, y A. Wilkinson (Eds.). ISBN 0-9678550-9-8.
- Jain, A., Thakur, D., Ghoshal, G., Katare, O. P., y Shivhare, U. S. (2016). Characterization of microcapsulated beta-carotene formed by complex

- coacervation using casein and gum tragacanth. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87, 101–13. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.117
- Juan, R., Pastor, J., Alaiz, M., Megías, C., y Vioque, J. (2007). Caracterización proteica de las semillas de once especies de amaranto. *Grasas y Aceites*, 58(1), 49-55.
- Kaushik, P., Dowling, K., Barrow, C. J., y Adhikari, B. (2015). Complex coacervation between flaxseed protein isolate and flaxseed gum. *Food Research International*, 72, 91–7. doi: 10.1016/j.foodres.2015.03.046
- Kierulf, A., Whaley, J., Liu, W., Enayati, M., Tan, C., Perez-Herrera, M., You, Z., y Abbaspourrad, A. (2020). Protein content of amaranth and quinoa starch plays a key role in their ability as Pickering emulsifiers. *Food Chemistry*, 315, 126246. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.126246
- Klemmer, K. J., Waldner, L., Stone, A., Low, N. H., y Nickerson, M. T. (2012). Complex coacervation of pea protein isolate and alginate polysaccharides. *Food Chemistry*, 130, 710–5. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.07.114
- Koupantsis, T., Pavlidou, E., y Paraskevopoulou, A. (2014). Flavour encapsulation in milk proteins - CMC coacervate-type complexes. *Food Hydrocolloids*, 37, 134–42. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.01.007
- Lan, Y., Ohm, J. B., Chen B., y Rao, J. (2020). Phase behavior, thermodynamic and microstructure of concentrated pea protein isolate-pectin mixture: Effect of pH, biopolymer ratio and pectin charge density. *Food Hydrocolloids*, 101, 105556. doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105556
- Li, Z., Wang, Y., Pei, Y., Xiong, W., Zhang, C., y Xu, W. (2015) Curcumin encapsulated in the complex of lysozyme/carboxymethylcellulose and implications for the antioxidant activity of curcumin. *Food Research International*, 75, 98–105. doi: 10.1016/j.foodres.2015.05.058
- Liu, J., Shim, Y. Y., Wang, Y., y Reaney, M. J. T. (2015). Intermolecular interaction and complex coacervation between bovine serum albumin and gum from whole flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Food Hydrocolloids*, 49, 95–103. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.02.035
- Liu, Y. H., Winter, H., y Perry, L. S. (2017). Linear viscoelasticity of complex coacervates. *Advances in Colloid and Interface Science*, 239, 46–60. doi: 10.1016/j.cis.2016.08.010
- Lobato-Calleros, C., Martínez-Torrijos, O., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Orozco, J. P., y Vernon-Carter, E. J. (2004). Flow and creep compliance properties of reduced fat yogurts containing protein-based fat replacers. *International Dairy Journal*, 14, 777–82. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.02.012
- López, N. D., Galantea, M., Robsonc, M., Boerisa, V., y Spelzinia, D. (2018). Amaranth, quinoa and chia protein isolates: Physicochemical and structural properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 152–159. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.080

- Mapes-Sánchez, E. C. (2015). El AMARANTO. *Ciencia*, 9-15.
- Mapes-Sánchez, E. C., y Espitia-Rangel, E. (2010). *Recopilación y análisis de la información existente de las especies del género Amaranthus cultivadas y de sus posibles parientes silvestres en México (informe final)*. Instituto de Biología, UNAM-Campo Experimental Bajío, INIFAP.
- Marques, C. L., Miguel S. P., Martins T. J., Pinheiro C. A., y Vicente A. A. (2018). Emerging opportunities in exploring the nutritional/functional value of amaranth. *Food Function*, 9, 5499–5512. doi: 10.1039/c8fo01422a
- Martínez, E. N., y Añón, C. (1996). Composition and Structural Characterization of Amaranth Protein Isolates. An Electrophoretic and Calorimetric Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2523–2530.
- Matías, L. G., Hernández, H. B. R., Peña, C. V., Torres, L. N. G., Espinoza, M. V. A., y Ramírez P. L. (2018). Current and potential uses of Amaranth (*Amaranthus spp.*) *Journal of Negative and No Positive Results*, 3(6), 423-436. doi: 0.19230/jonnpr.2410
- McClements, D. J. (2014). *Background and context. Nanoparticle- and microparticle-based delivery systems encapsulation, protection and release of active compounds*. Florida, EUA: CRC Press.
- Meco, L. J. F., y Pascual, F. V. (2007) *Guía de Alimentación Cardiosaludable en Atención Primaria*. Barcelona, España: Instituto Flora-Unilever Foods S.A.
- Mendoza-Vargas, L., Jiménez-Forero, J., y Ramírez-Niño, M. (2017). Evaluation of pectin extracted enzymatically from cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husks. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 20(1), 131–8.
- Miessler, G. L., Fischer, P. J., y Tarr, D. A. (2014). *Inorganic Chemistry*. Minnesota, EUA: Pearson Education.
- Milanovic, J., Petrovic, L., Sovilj, V., y Katona, J. (2014). Complex coacervation in gelatin/sodium caseinate mixtures. *Food Hydrocolloids*, 37, 196–202. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.10.016
- Morales-Hernández, M., y Mondragón-Cortez, P. (2017). Tecnologías de nano/microencapsulación de compuestos bioactivos. Espinosa, A. H. y García, M. E. (eds.), *Interacciones moleculares* (39-43). Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.
- Moschakis, T., y Biliaderis, C. G. (2017). Biopolymer-based coacervates: Structures, functionality and applications in food products. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 28, 96–109. doi: 10.1016/j.cocis.2017.03.006
- Motta, C., Castanheira, I., Gonzales, G. B., Delgado, I., Torres, D., Santos, M., y Matos, A. S. (2018). Impact of cooking methods and malting on amino acids content in amaranth, buckwheat and quinoa. *Journal of Food Composition and Analysis*, 76. doi: 10.1016/j.jfca.2018.10.001

- Muniyandy, S., Sathasivam, T., Veeramachineni, A. K., y Janarthanan, P. (2015). Dual cross-linked Carboxymethyl sago pulp-gelatine complex coacervates for sustained drug delivery. *Polymers*, 7, 1088–105. doi: 10.3390/polym7061088
- Muriel, M. J. L., Liu, J., Tan, Y., Zhou, H., Zhang, Z., y McClements, D. J. (2019). Characterization of electrostatic interactions and complex formation of  $\gamma$ -poly-glutamic acid (PGA) and  $\epsilon$ -poly-lysine (PLL) in aqueous solutions, *Food Research International*, 128, 108781. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108781
- Nardo, E. A., Añón, M.C., y Parisi, G. (2018). Large-scale mapping of bioactive peptides in structural and sequence space. *Plos One*, 13(1), e0191063. doi: 10.1371/journal.pone.0191063
- Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., y Durrieu, V. (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*, 42, 469–479. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.06.035
- Nieto, M. I., Santacruz, I., y Moreno, R. (2014). Consolidación de materiales cerámicos por gelificación de polisacáridos. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 34(1), 2–27.
- Niu, F., Niu, D., Zhang, H., Chang, C., Gu, L., Su, Y., y Yang, Y. (2016). Ovalbumin/gum arabic-stabilized emulsion: rheology, emulsion characteristics, and Raman spectroscopic study. *Food Hydrocolloids*, 52, 607–14. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.08.010
- Niu, F., Kou, M., Fan, J., Pan, W., Zhi-Juan F., Su, Y., Yang, Y., y Zhou, W. (2018). Structural characteristics and rheological properties of ovalbumin-gum arabic complex coacervates. *Food Chemistry*, 260, 1–6. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.03.141
- Norton, I. T., Spyropoulos, F., y Cox, P. (eds.) (2011). *Practical food rheology: an interpretive approach*. Wiley-Blackwell.
- Organización Mundial de la Salud (OMS) (2020). Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Recuperado de: <http://www.who.int/es/>
- Patino, J. M. R., y Pilosof, A. M. (2011). Protein-polysaccharide interactions at fluid interfaces. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1925–37. doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.02.023
- Perry, L. S., y Blocher, C. W. (2016), Complex Coacervate-based Materials for Biomedicine. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 835. doi: 10.1002/wnan.1442
- Raei, M., Rafe, A., y Shahidi, F. (2018). Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates. *Journal of Food Engineering*, 228, 25–31. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2018.02.007

- Ramírez-Santiago, C., Lobato-Calleros, C., Espinosa-Andrews, H., y Vernon-Carter, E. J. (2012). Viscoelastic properties and overall sensory acceptability of reduced-fat petit-Suisse cheese made by replacing milk fat with complex coacervate. *Dairy Science & Technology*, 92, 383–98. doi: 10.1007/s13594-012-0077-2
- Ramírez-Navas. J. S. (2006). Fundamentos de Reología de los Alimentos. *Revista ReCiTeIA*, 6(1), 1– 46.
- Rao, M. A. (2007). *Rheology of fluid and semisolid foods. Principles and applications*. Nueva York. EUA: Springer Science+Business, LLC.
- Rastogi, A., y Shukla, S. (2013). Amaranth: A new millenium crop of nutraceutical values. *Food Science and Nutrition*, 53(2), 109–125. doi: 10.1080/10408398.2010.517876
- Rocha, C. M., Souza, H. K., Magalhaes, N. F., Andrade, C. T., y Goncalves, M. P. (2014). Rheological and structural characterization of agar/whey proteins insoluble complexes. *Carbohydrate Polymers*, 110, 345–53. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.04.015
- Rodríguez, S. E., Fernández, Q. A., y Ayala, A. A. (2005). Reología y textura de masas: aplicaciones en trigo y maíz (2005). *Revista de Ingeniería e Investigación*, 25(1), 72-78.
- Rousi, Z., Malhiac, C., Fatouros, D. G. y Paraskevopoulou, A. (2019). Complex coacervates formation between gelatin and gum Arabic with different arabinogalactan protein fraction content and their characterization. *Food Hydrocolloids*, 96, 577–588. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.06.009
- Ru, Q., Wang, Y., Lee, J. y Huang Q. (2012). Turbidity and rheological properties of bovine serum albumin/pectin coacervates: Effect of salt concentration and initial protein/polysaccharide ratio. *Carbohydrate Polymers*, 88(3), 838–846. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.01.019.
- Salminen, H., y Weiss, J. (2013). Effect of pectin type on association and pH stability of whey protein-pectin complexes. *Food Biophysics*, 9(1), 29–38. doi: 10.1007/s11483-013-9314-3
- Santillán, M. E. (2018). Sobre el desarrollo de mezclas de alimentos andinos aminoacídicamente completas de bajo costo para la alimentación infantil. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 28(2), 370–392.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) (2017). Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Base de datos. México. Recuperado de <https://www.gob.mx/snics/acciones-y-programas/amaranto-amaranthus-spp>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) (2020). Avance de siembras y cosechas, resumen por estado. Recuperado de [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/ResumenProducto.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do)



- Shahgholian, N., y Rajabzadeh, G. (2016). Fabrication and characterization of curcumin-loaded albumin/gum arabic coacervate. *Food Hydrocolloids*, 59, 17–25. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.11.031
- Soteras, E. M. (2011). Obtención y formulación de una bebida en base de granos de amaranto (Tesis de maestría). Universidad Nacional del Litoral. Santa Fé, Argentina.
- Soto-Estrada, G., Moreno-Altamirano, L., y Díaz, D. P. (2016). Panorama epidemiológico de México, principales causas de morbilidad y mortalidad. *Revista Facultad de Medicina*, 59(6).
- Souza, C. J. F., y Garcia-Rojas, E. E. (2015). Effects of salt and protein concentrations on the association and dissociation of ovalbumin-pectin complexes. *Food Hydrocolloids*, 47, 124–9. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.01.010
- Spada, J. C., Marczak, L. D. F., Tessaro, I. C., y Cardozo, N. S. M. (2015). Interactions between soy protein from water-soluble soy extract and polysaccharides in solutions with polydextrose. *Carbohydrate Polymers*, 134, 119–27. doi: 10.1016/j.carbpol.2015.07.075
- Stone, A. K., Teymurova, A., y Nickerson, M. T. (2014). Formation and functional attributes of canola protein isolate—gum arabic electrostatic complexes. *Food Biophysics*, 9(3), 203–12. doi: 10.1007/s11483-014-9334-7
- Suárez, S., Aphalo, P., Rinaldi, G., Añón, M. C., y Quiroga, A. (2020). Effect of amaranth proteins on the RAS system. In vitro, in vivo and ex vivo assays. *Food Chemistry*, 308, 125601. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125601
- Sze, G. O., Muniyandy, S., Sathasivam, T., Veeramachineni, A. K., y Janarthanan, P. (2016). Iron cross-linked carboxymethyl cellulose–gelatin complex coacervate beads for sustained drug delivery. *Chemical Papers*, 70, 243–52. doi: 10.1515/chempap-2015-0197
- Tabilo-Munizaga, G., y Barbosa-Cánovas G. V. (2005). Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 67, 147–156. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2004.05.062
- Thongkaew, C., Gibis, M., Hinrichs, J., y Weiss, J. (2014). Polyphenol interactions with whey protein isolate and whey protein isolate-pectin coacervates. *Food Hydrocolloids*, 41, 103–12. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.02.006
- Timilsena, Y. P., Wang, B., Adhikari, R., y Adhikari, B. (2016). Preparation and characterization of chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*; 52, 554–63. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.07.033
- Tiwari, B. K., y Singh, N. (2012). *Pulse Chemistry and Technology*. Cambridge, Reino Unido: Royal Society of Chemistry, 43-91.
- Trujillo-Ramírez, D. (2013). Estabilidad y propiedades reológicas de micro y nano emulsiones aceite en agua preparadas con complejos solubles hidrolizado

de proteína de lactosuero-pectina de tejocote (Tesis de maestría). Universidad Autónoma Chapingo, Texcoco, Estado de México.

- Trujillo-Ramírez, D., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Hernández-Rodríguez, L., Alvarez-Ramirez, J., y Vernon-Carter, E. J. (2018). Complexation with whey protein hydrolysate improves cacao pods husk pectin surface active and emulsifying properties. *Reactive and Functional Polymers*, 123, 61–69. doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2017.12.011
- Ventureira, J. L., Bolontrade, A., Speroni, F., David-Briand, E., Scilingo, A. A., Ropers, M. ... Anton, M. (2012). Interfacial and emulsifying properties of Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolates under different conditions of pH. *LWT Food Science and Technology*, 45, 1–7. doi: 10.1016/j.lwt.2011.07.024
- Wee, M. S. M., Nurhazwani, S., Tan, K. W. J., Goh, K. K. T., Sims, I. M., y Matia-Merino, L. (2014). Complex coacervation of an arabinogalactan-protein extracted from the *Meryta sinclarii* tree (puka gum) and whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 42, 130–8. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.03.005
- Wijaya, W., Patel, A. R., Setiowati, A. D., y Van der Meeren, P. (2017). Functional colloids from proteins and polysaccharides for food applications. *Food Science and Technology*, 68, 56–69. doi: 10.1016/j.tifs.2017.08.003
- Xiao, J. X., Yu, H. Y., y Yang, J. A. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry* 125, 1267–72. doi:10.1016/j.foodchem.2010.10.063
- Xu, A. Y., Melton, L. D., Ryan, T. M., Mata, J. P., Rekas, A., Williams, M. A. K., y McGillivray, D. J. (2018). Effects of polysaccharide charge pattern on the microstructures of beta-lactoglobulin- pectin complex coacervates, studied by SAXS and SANS. *Food Hydrocolloids*, 77, 952–963. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.11.045
- Xu, Y., Mazzawi, M., Chen, K., Sun, L., y Dubin, P. L. (2011). Protein purification by polyelectrolyte coacervation: influence of protein charge anisotropy on selectivity. *Biomacromolecules*, 12, 1512–22. doi: 10.1021/bm101465y
- Zhu, Y., Bhandari, B., Pang, Z., Liu, X., y Prakash, S. (2019). Protein concentration and hydrocolloid effect on the rheological and tribological behaviour of resulting protein solution. *LWT - Food Science and Technology*, 100, 150–157. doi: 10.1016/j.lwt.2018.10.042

### 3 CARACTERIZACIÓN REOLÓGICA Y ESTRUCTURAL DE COMPLEJOS COACERVADOS DE AISLADO DE PROTEÍNA DE AMARANTO-PECTINA

#### RESUMEN

Complejos coacervados se formaron por interacción electrostática entre aislado de proteína de amaranto (APA) y pectina cítrica (PC) variando la relación en peso APA:PC (3:1, 5:1 y 7:1) y el pH (3.5 y 4.5). Las propiedades fisicoquímicas, reológicas y microestructurales de los coacervados se investigaron. Un aislado de proteína ( $85.06 \pm 0.02\%$  p/p de proteína) se obtuvo a partir de *Amaranthus hypochondriacus* L. C.V. Revancha por precipitación isoelectrica (pH = 4.0). El espectro FTIR de los coacervados mostró cambios en los picos a 1636 y 1153  $\text{cm}^{-1}$  en comparación con el espectro de APA y PC, lo que confirmó la formación de los coacervados complejos. Se observó una estructura fina, estructurada y compacta en los coacervados formados a pH 3.5; en contraste con una matriz compuesta por agregados relativamente grandes encontrada en los coacervados preparados a pH 4.5. El tamaño de partícula de los coacervados aumentó a medida que incrementó la relación en peso APA:PC y el pH, variando de  $1043 \pm 39.9$  a  $2670 \pm 30.9$  nm. La viscosidad aparente de los coacervados aumentó a medida que aumentó la relación en peso APA:PC y disminuyó el pH. Así, el coacervado formado con una relación en peso APA:PC de 7:1 a pH 3.5 presentó los valores de viscosidad aparente más altos. Todas las variaciones de coacervados presentaron valores de  $G'$  (módulo de almacenamiento) más altos que los valores de  $G''$  (módulo de pérdida), indicativo de un comportamiento reológico predominantemente elástico. Los coacervados mostraron módulos viscoelásticos más altos cuando se utilizó una relación en peso APA:PC de 7:1 para prepararlos, a pH de 3.5 para  $G''$  y pH de 4.5 para  $G'$ . Los conocimientos generados sobre los complejos coacervados estudiados podrían contribuir a su aplicación en la industria alimentaria.

**Palabras clave:** proteína de amaranto, pectina cítrica, coacervados, propiedades reológicas, características fisicoquímicas.

# RHEOLOGICAL AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF AMARANTH PROTEIN ISOLATE-PECTIN COMPLEX COACERVATES

## ABSTRACT

Complex coacervates were formed by electrostatic interaction between the amaranth protein isolate (APA) and citric pectin (PC) varying the APA:PC weight ratio (3:1, 5:1 and 7:1) and the pH (3.5 and 4.5). The physicochemical, rheological, and microstructural properties of the coacervates were investigated. A protein isolate ( $85.06 \pm 0.02\%$  p/p of protein) was obtained from *Amaranthus hypochondriacus* L. C.V. Revancha by isoelectric precipitation (pH=4.0). FTIR spectral of the coacervates showed changes in peaks at 1636 and 1153  $\text{cm}^{-1}$  compared to APA and PC spectrum, this confirming the formation of the complex coacervates. A fine, structured, and compact structure was observed in the coacervates formed at pH 3.5, in contrast with a matrix composed by relatively large aggregates found in the coacervates prepared at pH 4.5. The particle size of the coacervates increased as APA:PC weight ratio and pH increased, varying from  $1043 \pm 39.9$  a  $2670 \pm 30.9$  nm. Apparent viscosity of the coacervates increased as APA:PC weight ratio increased, and pH decreased. Thus, the coacervate formed with an APA:PC weight ratio of 7:1 at pH 3.5 presented the highest viscosity apparent values. All coacervates variations presented higher  $G'$  values (storage modulus) than  $G''$  values (loss modulus), indicative of a rheological behavior predominantly elastic. Coacervates showed the highest viscoelastic moduli when an APA:PC weight ratio of 7:1 was used for preparing them at pH 3.5 for  $G''$ , and a pH 4.5 for  $G'$ . The knowledges generated on the studied complex coacervates could contribute to its application in the food industry.

**Keywords:** amaranth protein, citric pectin, coacervates, rheological properties, physicochemical characteristics.

### 3.1 INTRODUCCIÓN

Las proteínas no solamente constituyen macronutrientos de los alimentos y desempeñan un papel nutricional esencial para los seres humanos (FAO, 2020; Segundo, 2014), sino también exhiben propiedades funcionales que las convierten en ingredientes imprescindibles de un gran número de alimentos procesados. Las principales propiedades funcionales de las proteínas en los alimentos son solubilidad, viscosidad, absorción de agua, gelación, adhesión-cohesión, elasticidad, emulsificación, espumado, capacidad de ligar grasa y sabores (Zhu et al., 2019). Sin embargo, las proteínas presentan poca estabilidad al estrés ambiental, como pH, calor y congelamiento; lo anterior puede contrarrestarse mediante el acomplejamiento de las proteínas con otros biopolímeros, como los polisacáridos (Huang et al., 2009). La formación de estos complejos se puede llevar a cabo de manera controlada mediante coacervación, la cual se define como la separación de dos fases líquidas en un sistema coloidal, obteniendo una fase rica en biopolímeros y otra fase sérica en equilibrio (Bosnea et al., 2016). Debido a que la coacervación compleja involucra biopolímeros con carga opuesta y es formada por interacción electrostática, es influenciada por variaciones en pH, fuerza iónica, grupos funcionales, hidrofobicidad, relación en peso proteína-polisacárido, concentración total de biopolímeros, relación molar, estrés mecánico, temperatura, densidad de carga superficial de las proteínas, densidad de carga y rigidez del polisacárido. Los parámetros señalados son importantes porque influyen en la formación, estructura y estabilidad de los complejos coacervados (Muriel et al., 2019). Se ha abordado el estudio de complejos coacervados o coacervados formados principalmente por proteínas de origen animal, tales como gelatina de pescado (Anvari y Chung, 2016), gretina (Ifeduba et al., 2016), proteína de lactosuero (Hernández-Rodríguez et al., 2014; Thongkaew et al., 2014), caseinato de sodio (Koupantsis et al., 2014),  $\beta$ -lactoglobulina (Comert et al., 2016),  $\alpha$ -lactoalbúmina (Ach et al., 2015) y ovoalbúmina (Souza y Garcia-Rojas, 2015). Sin embargo, debe ser considerado que las proteínas de origen animal, a pesar de que son de alta calidad biológica,

se han relacionado con intolerancia digestiva o alergias alimentarias. Por su parte, las proteínas de origen vegetal se consideran como una alternativa a aquellas de origen animal, por su alta digestibilidad y su bajo costo de producción (Condés et al, 2012; Nesterenko et al., 2013). No obstante, son pocos los estudios realizados sobre proteínas de origen vegetal para la formación de coacervados, las proteínas más utilizadas han sido soya, chía, chícharo y linaza (Moschakis y Biliaderis, 2017). En este sentido resulta interesante explorar la formación y la caracterización de coacervados a partir de proteína de amaranto, la cual presenta un alto valor nutricional debido al balance adecuado de sus aminoácidos esenciales y alta biodisponibilidad (Motta et al. 2018).

La relevancia del estudio sobre la formación y las propiedades de coacervados reside en su amplio potencial de aplicación; por ejemplo, en la elaboración de películas comestibles, como material encapsulante o de entrapamiento para la liberación de compuestos bioactivos como vitaminas, probióticos, colorantes, antioxidantes y soluciones oleosas (Hernández-Rodríguez et al., 2014, Lan et al., 2020). Se ha demostrado también la utilidad de los coacervados como sustitutos de grasa, estabilizantes, emulsificantes, gelantes y modificadores de viscosidad en matrices alimentarias para el desarrollo de productos funcionales (Niu et al. 2018; Perry y Blocher, 2016).

Con base en lo expuesto, los objetivos de este proyecto fueron: (a) formar complejos coacervados a partir de aislado de proteína de amaranto (APA) y pectina cítrica de alto metoxilo (PC) y (b) evaluar las propiedades fisicoquímicas, reológicas y microestructurales de los complejos obtenidos.

## **3.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.2.1 Ubicación del Trabajo**

Para la obtención de harina de amaranto, las semillas de *Amaranthus hypochondriacus* L. variedad Revancha, se procesaron en el Taller de Cereales del Departamento de Ingeniería Agroindustrial; el desengrasado, aislamiento de proteína, formación del coacervado, análisis fisicoquímico, análisis reológico y de microestructura se realizaron en el Laboratorio de Tecnología de los Alimentos, ubicado en el Departamento de Preparatoria Agrícola, ambos laboratorios pertenecientes a la Universidad Autónoma Chapingo (UACH).

### **3.2.2 Materiales**

Las semillas de *Amaranthus hypochondriacus* L. variedad Revancha se obtuvieron de un productor local de la comunidad de San José Atlán, Municipio de Huichapan, Hidalgo, México, con coordenadas GPS de 20° 20' 26.4192" N, 99° 41' 39.7356" W y una elevación sobre el nivel del mar de 2150 m.

Para la formación de complejos coacervados proteína-polisacárido, se utilizó pectina cítrica (PC) CEDROSA®, con grado de esterificación 74.2 %, suministrada por Central de drogas S.A. de C.V., Naucalpan, Estado de México, México. Los reactivos utilizados, ácido clorhídrico (HCl) e hidróxido de sodio (NaOH) fueron adquiridos en J.T. Baker, Xalostoc, Estado de México, México. El hexano fue suministrado por Reactivos Química MEYER®, Tláhuac, Ciudad de México. El agua usada en los experimentos fue destilada y desionizada.

### **3.2.3 Preparación de harina de amaranto**

Las semillas de amaranto se lavaron con agua purificada y se secaron en una estufa (HCF-62, Riossa Digital, Ciudad de México, México) a 35° C por 48 h con ventilación continua. Las semillas secas se sometieron a molienda usando un procesador de alimentos (NB-101B, Nutribullet® 600, CAPBRANG HOLDINGS LLC., California, EUA); el polvo obtenido se hizo pasar por un tamiz de malla No. 30 (División de mallas y tamices, DUVESA, Ciudad de México, México) y la harina obtenida se almacenó en bolsas de polietileno con cierre hermético a  $4 \pm 1$  °C

hasta su utilización. El desengrasado de la harina se realizó en equipo Soxleth con 150 mL de hexano a 180 °C, usando un cartucho de papel filtro con 40 g de harina, que estuvo bajo reflujo durante 5 h. La harina desengrasada se dejó en una campana de flujo laminar (RDM, LF-102P, Midland, Ontario, Canadá) durante 2 h con extracción de aire para la evaporación total del hexano; se almacenó en bolsas de polietileno con cierre hermético a  $4 \pm 1$  °C hasta su utilización (Martínez y Añón, 1996). Tanto a la harina entera como la desengrasada se les realizó un análisis químico proximal (AOAC, 1996) con el cual se determinó humedad, cenizas, proteína, grasa y fibra cruda.

### **3.2.4 Obtención de aislado de proteína de amaranto (APA)**

El aislado de proteína de amaranto (APA) se obtuvo de acuerdo con la metodología descrita por Martínez y Añón (1996) con ligeras modificaciones. Se establecieron 4 tratamientos que variaron en los valores de pH de solubilización de la proteína (9 y 11) y en los valores de pH de extracción (4 y 5), los cuales se codificaron como: APA<sub>9-5</sub>, APA<sub>11-5</sub>, APA<sub>9-4</sub> y APA<sub>11-4</sub>. Se prepararon dispersiones de harina de amaranto desengrasada (100 g) en agua destilada, a una concentración de 10 % (p/v), las cuales se agitaron suavemente (600 rpm) a temperatura ambiente ( $22 \pm 2$  °C) durante 60 min. Posteriormente el pH de las dispersiones se ajustó a 11 ó 9 según el tratamiento (pH 120, Conductronic, Santa Cruz Buenavista, Puebla, México) con NaOH 1N y se dejó en agitación continua durante 60 min más. Después, las dispersiones se centrifugaron a 9000 xg a 10 °C por 15 min (Centrifuge 5810 R, Eppendorf, AG, Hamburgo, Alemania). El valor del pH del sobrenadante se ajustó a pH 5 ó 4 con HCl 1 N según el tratamiento. La proteína precipitada se separó por centrifugación a 9000 xg a 4 °C por 15 min. Al precipitado se le realizaron 2 lavados con agua destilada, se neutralizó con NaOH 0.1 N hasta pH 7, se secó en una estufa (HCF-62, Riossa Digital, Ciudad de México, México) a 40 °C durante 48h con ventilación continua. El aislado seco se molió manualmente en un mortero y se almacenó en bolsas de polietileno con cierre hermético a  $4 \pm 1$  °C hasta su uso. Al aislado de proteína



del cual se obtuvo el mayor rendimiento (APA<sub>11-4</sub>) se le realizaron determinaciones de humedad, cenizas, proteína, grasa y fibra (AOAC, 1996) y cuantificación de proteína soluble por método Lowry (1951) utilizando albúmina sérica bovina (ABS) como estándar (0.1 - 0.01 mg mL<sup>-1</sup>).

### **3.2.5 Formación de los complejos**

### **3.2.6 Soluciones base de biopolímeros**

Las soluciones base de APA (3, 5 y 7 % p/p) se dispersaron durante 2 h y PC (1 % p/p) por 12 h, en agua desionizada a temperatura ambiente (22 ± 2 °C) aplicando agitación continua (600 rpm) (RO 15 power, IKA® Werke, Staufen, Alemania). Las soluciones fueron almacenadas durante 24 h a 4 ± 1 °C para permitir su completa hidratación.

### **3.2.7 Mediciones de potencial $\zeta$ y tamaño de partícula**

Se midió el potencial  $\zeta$  de dispersiones de APA<sub>11-4</sub>, y PC al 0.01 % p/v en un equipo Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Ltd., Malvern, Worcestershire, RU), en un rango de pH de 3 a 7. El valor de pH de las dispersiones se ajustó a los valores señalados con HCl 0.1 N o NaOH 0.1 N. Lo anterior, con la finalidad de obtener una ventana de la variación de la carga eléctrica de los biopolímeros como función del pH, y así determinar el punto isoeléctrico (pI) de la proteína de amaranto y el rangos de pH de posible interacción entre los biopolímeros (Hernández-Marín et al. 2013).

El diámetro hidrodinámico medio ( $d_h$ ) de los complejos coacervados se determinó en el equipo Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Ltd., Malvern, Worcestershire, RU), mediante mediciones de dispersión de luz dinámicas. Los complejos coacervados se diluyeron en agua desionizada a una concentración de 0.01% p/p y se ajustó el pH a 3.5 ó 4.5 con un potenciómetro (pH 120,

Conductronic, Santa Cruz Buenavista, Puebla, México), dependiendo del complejo formado (Hernández-Rodríguez et al., 2014).

### **3.2.8 Elaboración de los complejos coacervados**

Las dispersiones de APA (15 g; 3, 5 y 7 % p/p) se adicionaron a 15 g de solución de PC (1 % p/v), ajustando el pH a 3.5 y 4.5, usando HCl 0.1 N. Para asegurar la formación completa de los complejos coacervados, las mezclas se mantuvieron a  $4 \pm 1$  °C durante 48 h; posteriormente se centrifugaron a 121 xg (Centrifuge 5810 R, Eppendorf, AG, Hamburg, Alemania) a temperatura ambiente ( $22 \pm 3$  °C) durante 15 min para separar los diferentes complejos coacervados. Estos últimos fueron codificados como APA-PC<sub>a/b</sub>, donde “a” representa la relación en peso entre APA y PC (3:1, 5:1 y 7:1) y “b” el valor del pH de precipitación (3.5 o 4.5).

### **3.2.9 Rendimiento, contenido de proteína y humedad de los complejos coacervados**

Se midió el contenido de proteína de los APA-PC<sub>a/b</sub> por el método de Kjeldahl considerando un factor de conversión de 6.25 y reportándose en base seca. El contenido de humedad se determinó por el método de secado en estufa (AOAC, 1995).

El rendimiento de coacervación se obtuvo mediante la siguiente Ecuación (2) (Xiao et al., 2011):

$$\% \text{ RC} = (\text{mC} / \text{mBT}) \times 100 \quad (2)$$

Dónde: % RC = rendimiento del coacervado; mC = peso de coacervado en base seca; mBT = peso total de biopolímeros utilizados en base seca.

### **3.2.10 Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)**

Los espectros de infrarrojo de los APA-PC<sub>a/b</sub> se determinaron utilizando un espectrofotómetro IFTR CARY 630 (Agilent Technologies, Inc. Agilent, California, EUA.), provisto con un accesorio universal de reflectancia total atenuada. Se utilizó el procedimiento descrito por Martínez-Velasco et al. (2018). Las muestras secas de APA, PC y APA-PC<sub>a/b</sub> (10 mg) se colocaron en contacto con el cristal de diamante con un ajuste de geometría a una calibración de fuerza de 60 unidades. Se determinó la absorbancia sobre el rango de 4000 cm<sup>-1</sup> a 750 cm<sup>-1</sup> a una resolución espectral de 4 cm<sup>-1</sup>. Hubo 64 barridos por muestra, los cuales fueron integrados para obtener los valores medios del espectro.

### **3.2.11 Propiedades reológicas de los complejos coacervados**

El comportamiento reológico de los APA-PC<sub>a/b</sub>, se determinó aplicando pruebas oscilatorias (barridos de amplitud) y dinámicas (curvas de flujo), en un reómetro Physica MCR 301 (Anton Paar, Messtechnik, Stuttgart, Alemania), utilizando una geometría cono-plato (1°, 50 mm de diámetro), la temperatura se mantuvo a 4 °C durante las mediciones con un sistema de medición y control de temperatura Physica TEK 150P. Los APA-PC<sub>a/b</sub> (~1.5 g) se colocaron en el plato a 22 ± 3 °C, dejándolos reposar 30 min para permitir la recuperación de la estructura, posteriormente se realizaron barridos de amplitud en un rango de deformación de 0.01 – 100 % a una frecuencia de 1 Hz, con la finalidad de caracterizar la región viscoelástica lineal (RVL). Las curvas de flujo de los APA-PC<sub>a/b</sub> se obtuvieron aplicando un barrido de tasa de corte de 10<sup>-3</sup> a 10<sup>3</sup> s<sup>-1</sup>, registrándose los valores de viscosidad aparente de los APA-PC<sub>a/b</sub>, los cuales, mediante el software del equipo, se ajustaron al modelo de Ellis, que describe el comportamiento independiente del tiempo de fluidos (Chien et al., 2009)

### **3.2.12 Microestructura de los coacervados**

Muestras de los APA-PC<sub>a/b</sub> (~ 0.1 g) se tiñeron con cristal violeta utilizando una técnica estándar (Madigan, 2012) y posteriormente se observaron a una magnificación de 10x en un microscopio óptico (Olympus BX53F, Olympus Optical Corp., Tokio, Japón) conectado a una cámara Moticam 2500 (Motic Incorporation Ltd., Hong Kong, China) y un software Motic Images Plus 2.0 (Motic, Corp., Ltd., China). Se observaron 10 réplicas para cada muestra.

### **3.2.13 Análisis de datos**

Todas las mediciones se realizaron por triplicado a partir de tres experimentos independientes llevados a cabo usando un diseño completamente al azar. Los datos se sometieron a análisis de varianza y cuando fue apropiado a prueba de comparación de medias de Tukey. La significancia se estableció en  $p \leq 0.05$ . Los datos se analizaron en el software Statgraphics 7 (Statistical Graphics Corp., Manugistics Inc., Cambridge, MA, EUA).

## **3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **3.3.1 Composición química proximal de harina**

La importancia nutricional de la semilla de amaranto radica en su composición química, ya que generalmente contiene valores más altos que los cereales mayormente consumidos como trigo (3.6 g/100 g de proteína), maíz (2.3 g/100 g de proteína) y arroz (3.2 g/100 g de proteína) (López et al., 2018, Marques et al., 2018; Nardo et al., 2018; Soteras et al., 2011). En la harina de la semilla de *Amaranthus hypochondriacus* L. variedad Revancha el contenido de proteína en peso seco fue  $16.5 \pm 0.1$  % (N X 6.25) (Cuadro 5).

Las semillas de *Amaranthus sp.* tienen un contenido de proteína cruda de 12-19 % (Matías et al., 2018). Otros componentes de la harina de la semilla de amaranto son: grasa del 6.1 al 8.1 %, fibra del 2.2 al 5.8 % y cenizas del 2.8 al 4.4 % (Huerta-Ocampo y Barba-de la Rosa, 2012). Los contenidos de proteína, grasa y fibra de la harina de la semilla de amaranto (Cuadro 5) se encuentran en el rango informado en la literatura.

Cuadro 5. Composición química proximal de la harina de semilla de *Amaranthus hypochondriacus* variedad Revancha.

Componente	(%) (b.s.)
Humedad	11.57 ± 0.0
Cenizas	3.76 ± 0.01
Proteína	16.65 ± 0.11
Grasa	7.94 ± 0.2
Fibra	3.05 ± 0.13

De acuerdo con Tiwari y Singh (2012) el aislado de proteína debe contener menos del 1.0 % de grasa, por lo cual fue necesario desengrasar la harina de amaranto. La cantidad de grasa presente en las semillas de amaranto fue de 7.94 ± 0.2 %. Posterior al desengrasado presentó una pérdida del 94 % de grasa, lo que influyó en el aumento de la concentración de proteína (Cuadro 6).

Cuadro 6. Composición química de harina desengrasada de *Amaranthus hypochondriacus* variedad Revancha.

Componente	(%) (b.s.)
Humedad	12.83 ± 0.00
Cenizas	3.49 ± 0.07
Proteína	16.92 ± 0.02
Grasa	0.47 ± 0.00
Fibra	3.54 ± 0.13

### 3.3.2 Obtención de proteína aislada

La proteína aislada se extrae de la harina desengrasada de amaranto mediante solubilización alcalina en un intervalo de pH entre 8 y 11, y precipitación de acuerdo con el punto isoeléctrico (pI) aproximadamente entre pH 4.0 a 6.0, dependiendo de la variedad de amaranto (López, et al. 2018). La metodología reportada para *Amaranthus hypochondriacus* L. comprende un valor de pH de solubilización de 9 y un pH de precipitación de 5. Sin embargo, se ha evidenciado que al aumentar el pH de solubilización el rendimiento aumenta (Martínez y Añón, 1996; Aceituno-Medina et al., 2013; Suárez et al., 2020).

En cuanto al rendimiento de los tratamientos bajo estudio el que presentó menor rendimiento de aislado de proteína (3.1 g de aislado/100 g de harina desengrasada) fue aquel en el que la extracción se realizó a pH 9 y la precipitación a pH 4 (Cuadro 7). Por el contrario, el tratamiento que exhibió mayor cantidad de aislado de proteína (7.3 g de aislado/100 g de harina desengrasada) fue aquel en el que el pH de extracción fue 11 y el de precipitación de 4.

Cuadro 7. Rendimiento de proteína obtenida por extracción a pH 9 y 11 y precipitación a pH 4 y 5.

Tratamientos	Rendimiento (g de aislado/100 g de harina desengrasada g)
APA <sub>9-5</sub>	3.15 ± 0.07 <sup>a</sup>
APA <sub>11-5</sub>	5.60 ± 0.14 <sup>a</sup>
APA <sub>9-4</sub>	5.50 ± 0.14 <sup>a</sup>
APA <sub>11-4</sub>	7.30 ± 0.14 <sup>b</sup>

Los superíndices distintos en la misma columna indican diferencias significativas entre las medias ( $p \leq 0.05$ ). APA= Aislado de proteína de amaranto.

Los valores obtenidos de rendimiento están por debajo de la media reportada por Martínez y Añón (1996), las cuales obtuvieron un rendimiento de  $4.9 \pm 1.1$  g de aislado y  $8.2 \pm 1.2$  g de aislado por cada 100 g de harina desengrasada a un pH

de solubilización de 8 y 9 respectivamente, ambos con una precipitación a un valor de pH 5.

En el cuadro 8 se presenta la composición química proximal del APA. López et al., (2018) mencionan que la composición química de la proteína varía de acuerdo con el método utilizado para su extracción y también va a depender de la materia prima que se utilice.

Cuadro 8. Composición química del aislado de proteína de *Amaranthus hypochondriacus* variedad Revancha.

Componente	(%) (b.s.)
Humedad	7.5 ± 0.02
Cenizas	3.69 ± 0.07
Proteína	85.06 ± 0.02
Grasa	0.18 ± 0.00
Fibra	1.0 ± 0.13

De acuerdo con los valores reportados por Tiwari y Singh (2012) el aislado de proteína extraído por precipitación isoelectrica debe contener menos de 1.0% de grasa y un contenido de cenizas de 3.05-5.59 %; el aislado de proteína de amaranto obtenido en este estudio cumple con estas características, por su proceso de extracción.

La concentración de la proteína es un parámetro importante en la formulación de productos alimenticios por su uso en diferentes alimentos como bebidas, espumas, emulsiones o geles (Condés et al., 2012). El contenido de proteína soluble fue cuantificado por el método de Lowry (1951) utilizando una curva estándar de BSA, obteniéndose  $0.849 \pm 0.005$  g de proteína/g aislado de proteína de amaranto, lo que representa el 84.9 % de proteína soluble. De acuerdo con Deleu et al. (2019) el producto obtenido se consideró como un aislado por tener una pureza ente el 80 y 90 %.

### 3.3.3 Mediciones de potencial $\zeta$

El potencial  $\zeta$  proporciona la carga superficial neta de una partícula, y es un factor importante para determinar la magnitud de interacción (repulsión o atracción) entre partículas coloidales, así mismo puede influir en las propiedades funcionales (de solubilidad y emulsionante) de los aislados de proteína. Los valores del potencial  $\zeta$  para las soluciones de APA abarcaron de  $+18.67 \pm 0.25$  mV (pH 3) a  $-30.27 \pm 0.38$  mV (pH 7) (Figura 4), similar a lo reportado por Ventureira et al. (2012) que reportaron valores del potencial  $\zeta$  del aislado de proteína de *Amaranthus hypochondriacus* los cuales van de lo positivo (+25 mV a pH 2.0) a lo negativo (-30 mV a pH 8.0) conforme aumenta el pH.

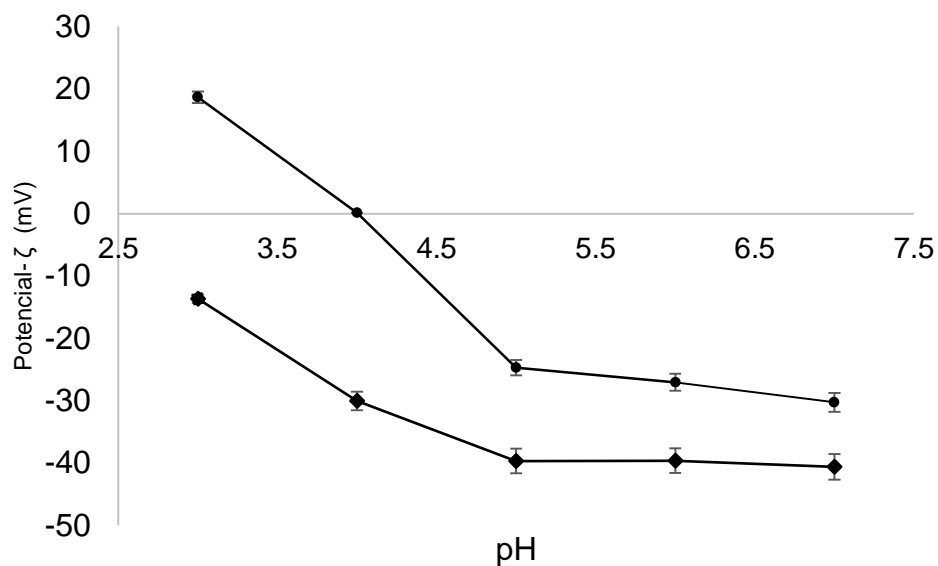


Figura 4. Variación del potencial zeta ( $\zeta$ ) como función del pH de disoluciones de APA (0.01% p/p) (●) y PC (0.01% p/p) (◆).

La carga superficial en las proteínas se dio por la ionización de grupos superficiales (Shevkani et al., 2014) por lo cual los valores positivos del potencial  $\zeta$  se deben a la protonación de los restos de aminoácidos ( $-\text{NH}_2$ ) produciendo grupos amonio ( $-\text{NH}_3^+$ ), mientras que las cargas negativas se deben a la ionización de los restos carboxílicos ( $-\text{COOH}$ ) formando grupos carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ).



COO<sup>-</sup>) (Hernández-Rodríguez et al., 2014; Trujillo-Ramírez et al., 2018). Si el valor del potencial  $\zeta$  se mantiene en los extremos del pI, las partículas estarán estabilizadas eléctricamente, sin embargo, cuando se acerca al pI, las partículas tienden a la inestabilidad y flocculan (Tiwari y Singh, 2012).

El valor del potencial  $\zeta$  en cero del APA se originó en el pI (pH 4.0) (Figura 4), encontrándose dentro del rango (pH 4 - 6) reportado para proteínas de amaranto (Bolontrade et al., 2013). Sin embargo, no todas las proteínas presentes en el aislado presentan el mismo pI, como la globulina (en su mayoría 11S, globulina-P y 7S) presenta un pI entre 5.2 y 5.8 (Nardo et al, 2018).

Los valores del potencial  $\zeta$  para las soluciones de PC fueron negativos en todo el intervalo estudiado variando de  $-13.67 \pm 0.32$  mV a pH 3 y  $-40.63 \pm 0.76$  mV a pH 7 (Figura 4) similar a lo reportado por Salminen y Weiss (2013), esta predisposición es normal para pectinas de alto metoxilo debido a que los grupos carboxilos (-COOH) tienen bajos valores de pKa, que conforme aumenta el pH se convierten en grupos carboxilato (-COO<sup>-</sup>) dando lugar a valores negativos del potencial  $\zeta$  (Trujillo-Ramírez et al., 2018).

Cuando los biopolímeros tienen carga opuesta, las interacciones electrostáticas son fuertes, lo que conduce a la formación de coacervados complejos (Rousi et al., 2019), en el caso de APA y PC a pH 3.5, ambos biopolímeros mostraron cargas opuestas de potencial  $\zeta$ , sin embargo, a pH 4.5 se observa también diferencia en las cargas. Por lo cual se determinó el potencial  $\zeta$  en el sobrenadante de los APA-PC<sub>a/b</sub> para confirmar la formación de los complejos insolubles. En la Figura 5 se puede observar que el potencial  $\zeta$  de los APA-PC<sub>a/b</sub> tuvo una disminución conforme aumentó el pH de 3.5 a 4.5 en comparación con el APA, presentándose valores negativos en todo el rango de pH ensayado.

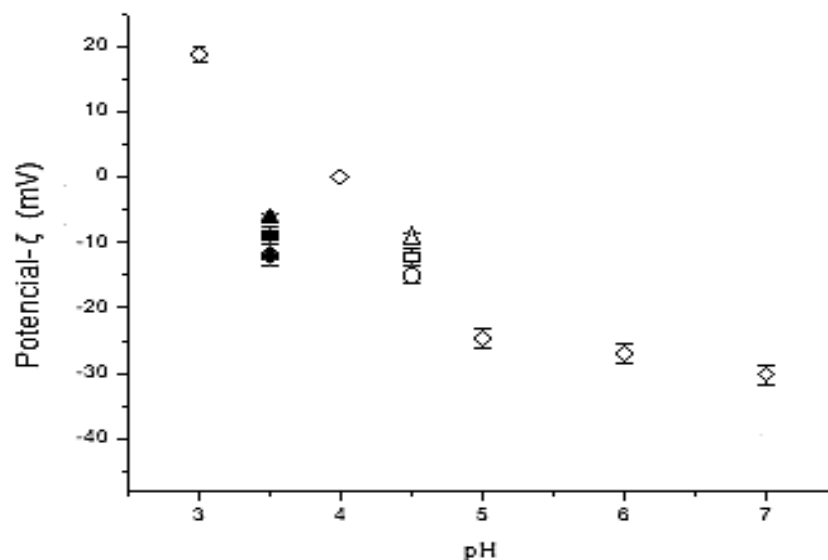


Figura 5. Potencial-  $\zeta$  (mV) del aislado de proteína de amaranto y complejos coacervados a distintas relaciones y distinto pH. APA (◇), APA-PC3:1/3.5 (●), APA-PC5:1/3.5 (■), APA-PC7:1/3.5 (▲), APA-PC3:1/4.5 (○), APA-PC5:1/4.5 (□), APA-PC7:1/4.5 (Δ).

La disminución del potencial  $\zeta$  confirmó la formación de complejos entre el aislado de proteína de amaranto y la pectina. También se observa que el potencial  $\zeta$  aumentó al incrementar la relación de APA:PC, teniendo diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) entre APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> y el resto de complejos coacervados, lo cual se podría atribuir a un mayor potencial  $\zeta$  de las proteínas en relación con los polisacáridos (Rousi et al., 2019, Duhoranimana et al., 2017).

### 3.3.4 Rendimiento, contenido de proteína y humedad en los complejos coacervados

En el Cuadro 9 se muestran los valores del rendimiento, proteína y humedad de los APA-PC<sub>a/b</sub>. Se puede observar que el rendimiento de los APA-PC<sub>a/b</sub> aumentó significativamente conforme incrementó la relación en peso APA:PC, mientras que el contenido de proteína disminuyó ( $p \leq 0.05$ ). Hasanvand et. al., (2018) mencionan que el rendimiento es uno de los parámetros para determinar el grado

de coacervación presentada, reportaron una tendencia similar en donde los rendimientos de complejos coacervados de goma de linaza y proteína de salvado de arroz incrementaban conforme aumentaron la relación de los biopolímeros.

Cuadro 9. Valores medios de rendimiento, contenido de humedad y proteína de complejos coacervados.

Parámetro	Relación en peso APA:PC			pH	
	3:1	5:1	7:1	3.5	4.5
Parámetro (%)					
Rendimiento	35.8±13.0 <sup>c</sup>	52.4±0.8 <sup>b</sup>	68.5±0.7 <sup>a</sup>	55.7±5.6 <sup>a</sup>	48.8±11.5 <sup>b</sup>
Humedad	98.5±0.64 <sup>a</sup>	98.1±0.85 <sup>a</sup>	98.2±1.20 <sup>a</sup>	98.9±0.2 <sup>a</sup>	97.6±0.4 <sup>b</sup>
Proteína	78.3±1.2 <sup>a</sup>	54.4±6.3 <sup>b</sup>	40.2±1.9 <sup>c</sup>	61.8±3.1 <sup>a</sup>	52.5±2.2 <sup>b</sup>

Los superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias ( $p \leq 0.05$ ).

Se presentó una disminución significativa en el porcentaje de rendimiento, humedad y proteína cuando aumentó el pH de 3.5 a 4.5, debido al grado de ionización de los grupos carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ) que disminuyeron por un exceso de iones  $\text{H}^+$ , por lo cual se tuvo un menor número de regiones en las moléculas de PC disponibles para interactuar con el APA (Hernández-Rodríguez et al., 2014; Timilsena et al. 2016). Rousi et al. (2019) mencionan que el valor de pH óptimo, debe corresponder al rendimiento máximo de formación de complejos coacervados en cada relación de mezcla. Para este estudio el APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> fue el complejo que presentó el mayor rendimiento ( $69.1 \pm 1.3\%$ ) estadísticamente significativo ( $p \leq 0.05$ ).

### 3.3.5 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)

Los estudios de espectroscopia (FTIR) proporcionan una mejor comprensión sobre las interacciones moleculares entre biopolímeros, este estudio se llevó a cabo en los biopolímeros individuales y los APA-PC<sub>a/b</sub>, los cuales son presentados en la Figura 6. La pectina de alto metoxilo presentó espectros con una banda de absorción de estiramiento del enlace C-O-C a  $1012 \text{ cm}^{-1}$ ,

estiramiento de O-H amplio con un pico a  $3247\text{ cm}^{-1}$ , pertenecientes a la estructura de la pectina. Además, presentó un pico a  $2940\text{ cm}^{-1}$  asociado al estiramiento de los enlaces C-H de los grupos metilo ( $-\text{CH}_3$ ) que se da en el rango de número de onda  $2800$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$  (Raei et al., 2018); a picos de  $1735$  y  $1608\text{ cm}^{-1}$  se presentaron la banda de absorción de estiramiento de los grupos carbonilo ( $\text{C}=\text{O}$ ) de los grupos de ácido carboxílico esterificado ( $\text{COOCH}_3$ ) y de los grupos carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ), respectivamente (Monfregola et al., 2011).

El espectro de APA exhibió una banda de vibración amplia y grande de estiramiento del enlace O-H a  $3280\text{ cm}^{-1}$  perteneciente al grupo amina. A  $1636$ ,  $1523$ ,  $1396\text{ cm}^{-1}$  se observaron picos relacionados con enlaces de estiramiento y flexión  $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{N-H}$  y  $\text{C-N}$  característicos de amida I, II y III, respectivamente, similar a lo reportado para proteína por Lan et al. (2019).

En los espectros de los  $\text{APA-PC}_{a/b}$  hubo dominancia por el aislado de proteína de amaranto, sin embargo, en la banda considerada como huella dactilar del espectro, se exhibieron picos entre  $1200$  a  $700\text{ cm}^{-1}$ , en donde se aprecia una transposición de espectros de APA y PC, es decir, hubo una disminución en los picos  $1636$  y  $1153\text{ cm}^{-1}$  en todos los  $\text{APA-PC}_{a/b}$  en comparación con el APA. En comparación con el espectro de la PC hubo una disminución en el pico  $2940$  en todos los  $\text{APA-PC}_{a/b}$ . Estos cambios demuestran que la formación de los complejos coacervados se dio por la interacción electrostática entre los grupos amino ( $-\text{NH}_2$ ) de APA y los grupos de ácido carboxílico ( $-\text{COOH}$ ) de la PC (You et al., 2018).

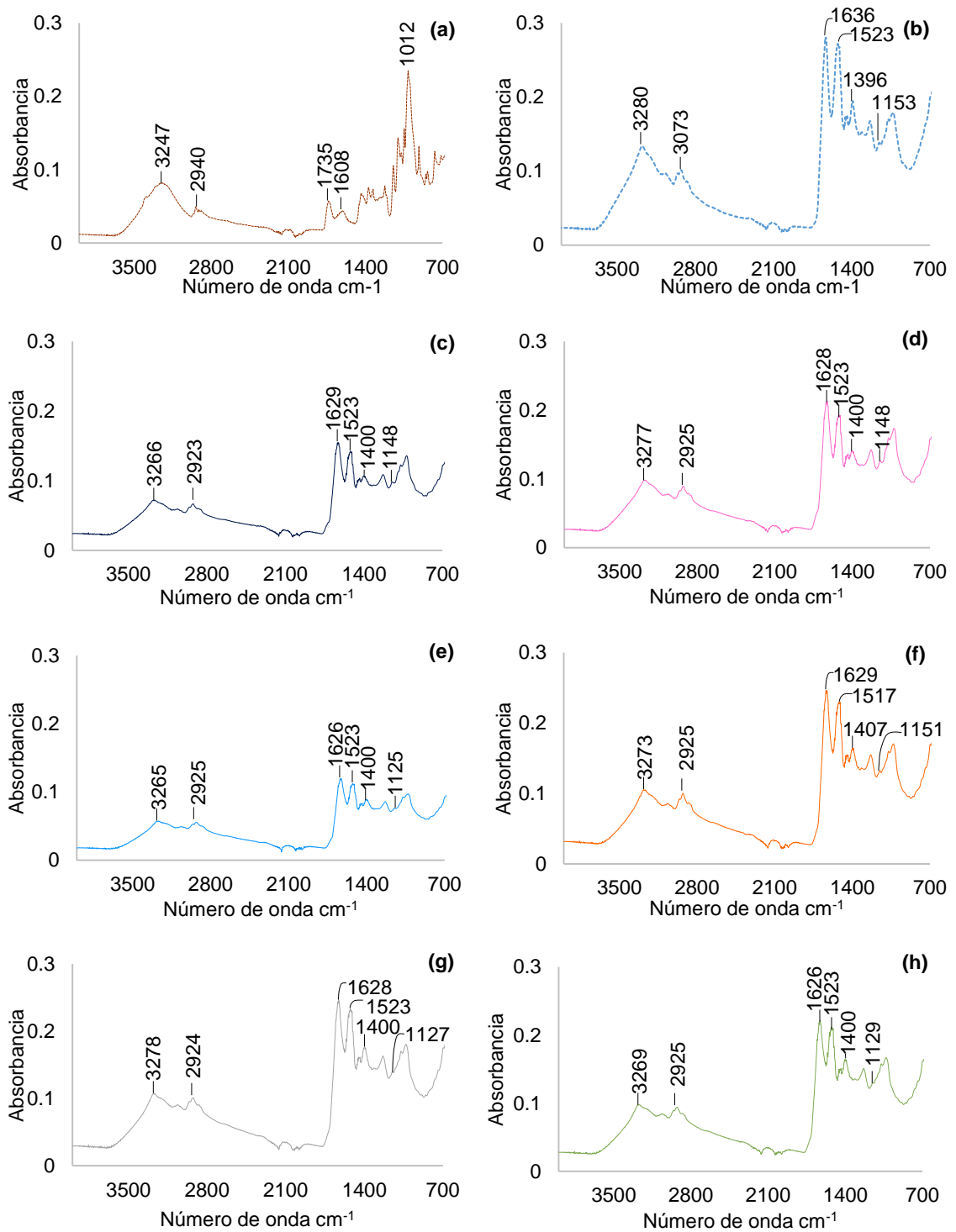


Figura 6. Espectro FTIR de aislado de proteína de amaranto (APA) (a), pectina de alto metoxilo (PC) (b) y complejos coacervados (APA-PC<sub>a/b</sub>). APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (c), APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (d), APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (e), APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (f), APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (g), APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (h).

### 3.3.6 Propiedades reológicas de los complejos coacervados

#### 3.3.6.1 Comportamiento al flujo

En la Figura 7 se muestran las variaciones de viscosidad aparente como función de la tasa de corte que fueron determinadas a los complejos coacervados. Las curvas de flujo de los APA-PC<sub>a/b</sub> formados presentaron una región Newtoniana de adelgazamiento al corte a bajas tasas de corte (0.001- 0.0016 1/s), seguida de una región de adelgazamiento al corte a tasas de corte intermedia (0.0016 - 100 1/s), lo anterior se ha reportado como un comportamiento característico de los materiales que presentan una viscosidad estructural (Hernández-Rodríguez et al., 2014). Las propiedades de flujo de los coacervados se deben a la formación o reordenamiento de la estructura en red que al aplicarle un esfuerzo de cizalla se rompe, presentando un comportamiento dependiente del corte, que en reposo o en condiciones de equilibrio se podría recuperar (Wee et al., 2014).

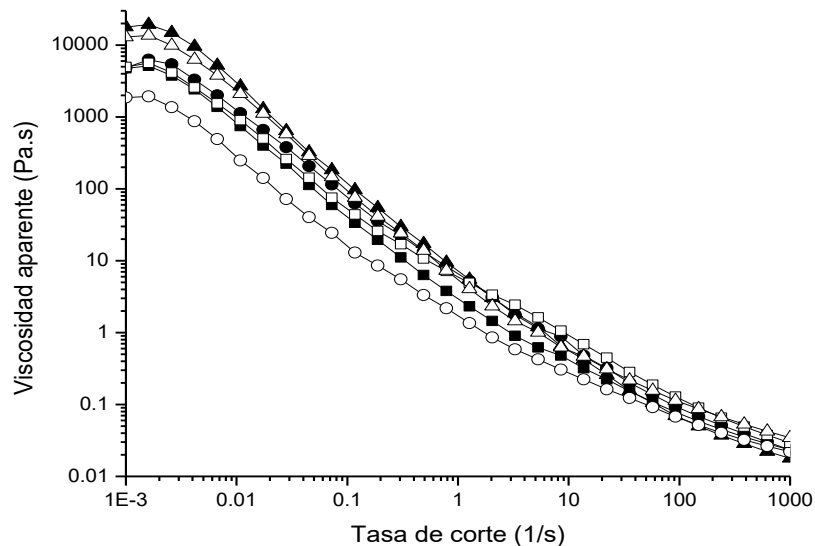


Figura 7. Curvas de flujo de complejos coacervados a diferentes relaciones y pH. APA-PC3:1/3.5 (●), APA-PC5:1/3.5 (■), APA-PC7:1/3.5 (▲), APA-PC3:1/4.5 (○), APA-PC5:1/4.5 (□), APA-PC7:1/4.5 (Δ).

Los valores obtenidos de viscosidad aparente se ajustaron ( $R^2 > 0.97$ ) al modelo de Ellis (Ecuación 3):

$$\eta = \frac{\eta_0}{[1 + (\lambda\dot{\gamma})^2]^p}$$

Ecuación 3. Ecuación del modelo de Ellis.

Dónde:  $\eta$  = viscosidad aparente;  $\dot{\gamma}$  = tasa de corte;  $\eta_0$  = viscosidad a baja tasa de corte;  $\lambda$  = tiempo constante asociado al tiempo de relajación de los biopolímeros en solución y  $p$  = índice de comportamiento al corte.

En el Cuadro 10 se presentan los valores de los parámetros del modelo de Ellis de los APA-PC<sub>a/b</sub>, en donde se puede observar que el tiempo de relajación ( $\lambda$ ), el índice de adelgazamiento al corte ( $p$ ) y la viscosidad a baja tasa de corte ( $\eta_0$ ) fueron aumentando conforme aumentaba la relación en peso de APA:PC, así mismo, fueron mayores los valores de  $\lambda$  y  $\eta_0$  a pH 3.5 que a 4.5, esto puede ser debido a la atracción de las cargas opuestas de ambos biopolímeros a pH 3.5, también se exhibe que el APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> fue el que tuvo los valores más altos de todos los parámetros y el APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> los valores menores.

Cuadro 10. Valores medios de los parámetros del modelo de Ellis.

APA-PC <sub>a/b</sub>	$\lambda$ (s)	$p$	$\eta_0$ (Pa.s)
APA-PC <sub>3:1/3.5</sub>	701.2 ± 90.3 <sup>d</sup>	0.52 ± 0.0 <sup>a</sup>	8124.3 ± 121.4 <sup>a</sup>
APA-PC <sub>5:1/3.5</sub>	1068.5 ± 125.1 <sup>cd</sup>	0.53 ± 0.0 <sup>a</sup>	19541.0 ± 156.2 <sup>b</sup>
APA-PC <sub>7:1/3.5</sub>	2907.2 ± 74.8 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.0 <sup>d</sup>	36281.0 ± 127.3 <sup>c</sup>
APA-PC <sub>3:1/4.5</sub>	368.7 ± 17.1 <sup>d</sup>	0.49 ± 0.0 <sup>c</sup>	2004.5 ± 78.4 <sup>d</sup>
APA-PC <sub>5:1/4.5</sub>	1707.5 ± 68.2 <sup>bc</sup>	0.59 ± 0.0 <sup>b</sup>	14121.0 ± 84.8 <sup>e</sup>
APA-PC <sub>7:1/4.5</sub>	2024.2 ± 635.5 <sup>b</sup>	0.60 ± 0.0 <sup>c</sup>	35381.0 ± 341.1 <sup>f</sup>

Los superíndices diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre las medias ( $p \leq 0.05$ ).

Espinosa-Andrews et al. (2013) mencionan que la formación de los complejos es altamente dependiente del pH, por lo que la estructura de los complejos a valores

superiores o inferiores al pH óptimo no está completamente estructurada y la red formada en los complejos coacervados (APA-PC<sub>a/b</sub>) a pH 3.5 presentaría una red mayormente estructurada e interconectada en comparación a los formados a pH 4.5.

La literatura ha descrito que cuando los valores de esfuerzo cortante son bajos,  $\lambda$  es mayor que la unidad y el modelo tiende a un comportamiento newtoniano, mientras que si es menor que la unidad, la convergencia hacia la ley de Newton se produce cuando los valores de esfuerzo cortante son altos, en otras palabras, el parámetro  $\lambda$  proporciona un orden de la tasa de corte crítica marcando el final de la región Newtoniana y el inicio de la región de adelgazamiento al corte (Lobato-Calleros et al., 2004). En los complejos coacervados APA-PC<sub>a/b</sub> conforme aumentó la relación en peso APA:PC se desplazó hacia la derecha a un pH designado, exhibiendo un desplazamiento más marcado a pH 4.5.

### **3.3.6.2 Propiedades viscoelásticas**

En la Figura 8 se muestran el módulo de almacenamiento ( $G'$ ) y el módulo de pérdida ( $G''$ ) como función del % de deformación de los complejos coacervados de aislado de proteína de amaranto-pectina cítrica a diferentes relaciones y diferente pH (APA-PC<sub>a/b</sub>). La región viscoelástica lineal (RVL) en el módulo de almacenamiento de los APA-PC<sub>a/b</sub> (Figura 8a) se presentó hasta una deformación del 0.17%, en donde el valor fue constante a bajos valores de deformación seguido de una desviación y disminución pronunciada a mayores porcentajes de deformación; los valores de  $G'$  en la RVL variaron de menor a mayor de la siguiente manera: APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (133.0 Pa) < APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (205.0 Pa) < APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (463.0 Pa) < APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (560.0 Pa) < APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (1690.0 Pa) < APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (11400.0 Pa).



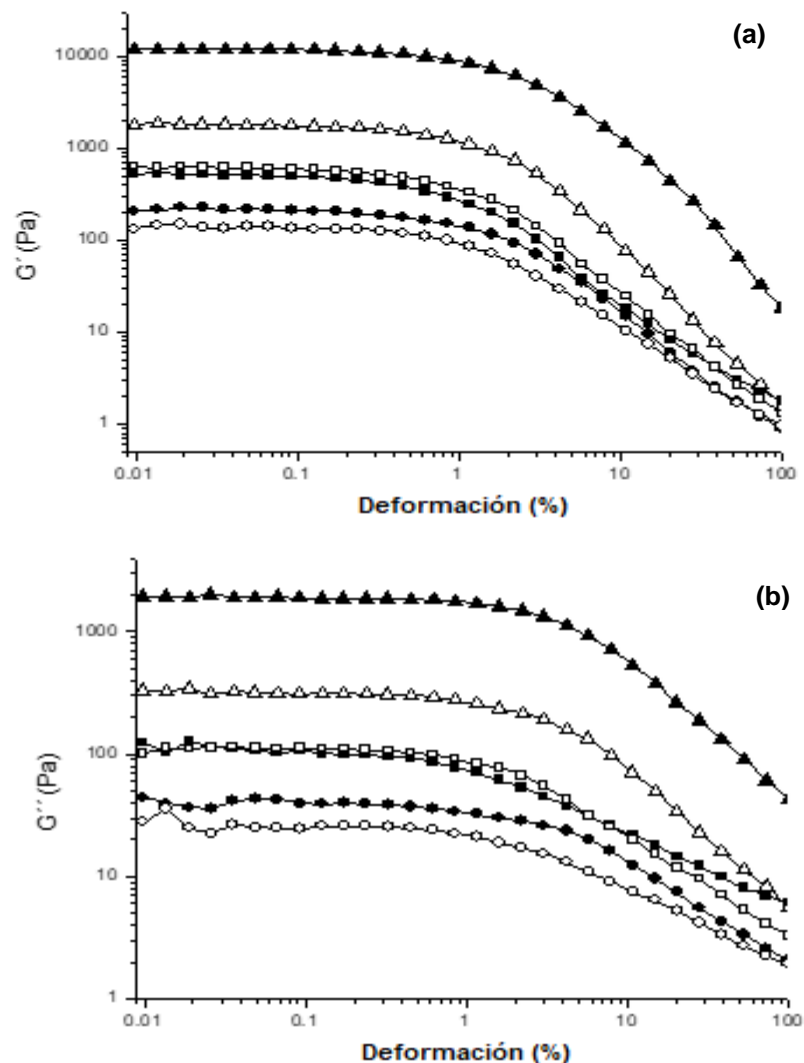


Figura 8. (a). Variación del módulo de almacenamiento ( $G'$ ) como función del % de deformación de los complejos coacervados de aislado de proteína de amaranto-pectina cítrica a diferentes relaciones y diferente pH. APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (●), APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (■), APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (▲), APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (○), APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (□), APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (Δ). (b). Variación del módulo de pérdida ( $G''$ ) como función del % de deformación de los complejos coacervados de aislado de proteína de amaranto-pectina cítrica a diferentes relaciones y diferente pH. APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (●), APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (■), APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (▲), APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (○), APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (□), APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (Δ).

Los valores del módulo de pérdida ( $G''$ ) (Figura 8b) fueron inferiores significativamente ( $p \leq 0.05$ ) de los valores del módulo de almacenamiento, encontrándose un carácter elástico dominante en los APA-PC<sub>a/b</sub>. Características

similares fueron reportadas en complejos coacervados de aislado de proteína de arroz-goma de linaza (Hasanvand y Rafe, 2019), aislado de proteína de canola - goma arábica (Stone et al., 2014), aislado de proteína de suero-goma de linaza (Liu et al. 2017), caseinato de sodio-goma tragacanto (Gorji et al. 2014). A diferencia de complejos aislado de proteína de chícharo-alginato de sodio, en donde se presentó un comportamiento viscoso ( $G'' > G'$ ) (Mession et al, 2012).

Los valores de  $G''$  en la RVL variaron de menor a mayor de la siguiente manera: APA-PC<sub>3:1/4.5</sub> (25.8 Pa) < APA-PC<sub>3:1/3.5</sub> (40.0 Pa) < APA-PC<sub>5:1/3.5</sub> (99.7 Pa) < APA-PC<sub>5:1/4.5</sub> (110.0 Pa) < APA-PC<sub>7:1/4.5</sub> (313.0 Pa) < APA-PC<sub>7:1/3.5</sub> (1860.0 Pa). Los valores viscoelásticos coinciden con los de las curvas de flujo, en donde la red formada por los complejos coacervados APA-PC<sub>a/b</sub> a pH 3.5 y la relación mayor en peso APA:PC está más estructurada que de aquellos formados a pH 4.5.

### 3.3.7 Microestructura y tamaño de partícula de los complejos coacervados

Los valores del diámetro hidrodinámico ( $d_h$ ) de los complejos coacervados se presentan en el Cuadro 11. De acuerdo al  $d_h$  el tamaño de partícula de los APA-PC<sub>a/b</sub> se encuentra dentro del rango  $1043 \pm 39.9$  a  $2670 \pm 30.9$  nm.

Cuadro 11. Valores medios de diámetro hidrodinámico ( $d_h$ ) de los complejos coacervados.

APA-PC <sub>a/b</sub>	$d_h$ (nm)
APA-PC <sub>3:1/3.5</sub>	$1043.0 \pm 39.9^a$
APA-PC <sub>5:1/3.5</sub>	$1179.7 \pm 26.6^b$
APA-PC <sub>7:1/3.5</sub>	$1293.3 \pm 10.8^c$
APA-PC <sub>3:1/4.5</sub>	$1271.7 \pm 14.7^c$
APA-PC <sub>5:1/4.5</sub>	$2139.7 \pm 10.0^d$
APA-PC <sub>7:1/4.5</sub>	$2670.3 \pm 30.9^e$

Los superíndices diferentes indican diferencias significativas entre las medias ( $p \leq 0.05$ ).

Se aprecia en el Cuadro 11 que conforme aumenta el pH de 3.5 a 4.5 en una misma relación en peso APA:PC, el tamaño de los complejos coacervados es mayor, así mismo, en una diferente relación en peso APA:PC el tamaño aumenta cuando la relación incrementa, lo que se puede confirmar por las micrografías ópticas de los APA-PC<sub>a/b</sub> presentadas en la Figura 9, tendencias similares fueron reportadas por Hasanvand y Rafe (2019) y Rousi et al. (2019) donde a mayores relaciones en peso de biopolímeros mayor es el tamaño de partícula en los complejos coacervados.

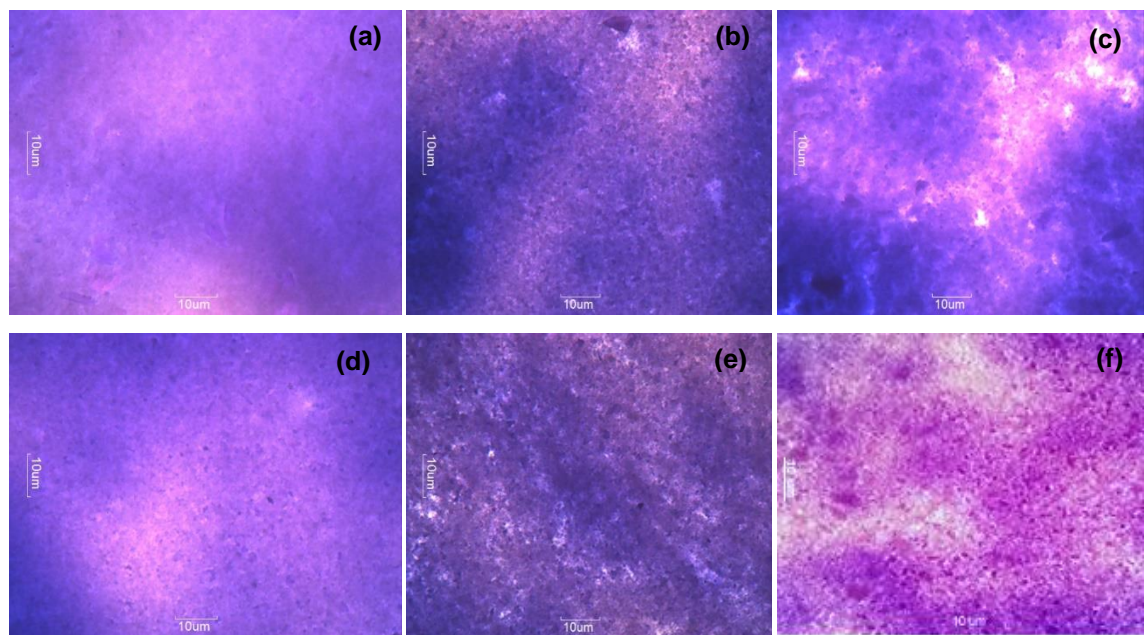


Figura 9. Micrografías ópticas de los complejos coacervados a distintas relaciones y distinto pH. APA-PC3:1/3.5 (a), APA-PC5:1/3.5 (b), APA-PC7:1/3.5 (c), APA-PC3:1/4.5 (d), APA-PC5:1/4.5 (e), APA-PC7:1/4.5 (f).

En las micrografías ópticas (Figura 9) se identificó que cuando incrementa la relación en peso APA:PC el tamaño de partícula también aumenta, de igual forma se tienden a formar partículas más grandes cuando el pH se eleva de 3.5 a 4.5, Lan et al. (2018) mencionan que cuando el pH se acerca a la electroneutralidad se puede producir agregación o auto asociación de partículas, pudiéndose apreciar estructuras más compactas a pH 3.5 que a 4.5, teniendo concordancia con los valores de las curvas de flujo y las propiedades viscoelásticas. Los

tamaños de partícula de APA-PC<sub>a/b</sub> podrían atribuirse a la pectina utilizada, la cual es de alto metoxilo (GE = 74.2 %). Salminen y Weiss (2013) evidenciaron que el tipo de pectina tiene un impacto sobre la formación y el tamaño de partícula de los complejos coacervados, ya que conforme aumenta el grado de esterificación de la pectina se forman tamaños de partícula mayores.

### **3.4 CONCLUSIONES**

El mayor rendimiento de aislado de proteína de amaranto se obtuvo a un pH de solubilización de 11 y un pH de precipitación de 4. El contenido de proteína obtenido en el aislado (> 80 %) concuerda con el necesario para su clasificación como tal. Los resultados obtenidos respecto al potencial ( $\zeta$ ) muestran un parámetro para la formación del coacervado: pH de 3.0-4.5 en el cual las cargas tanto de APA y el PC son más distantes. Los complejos coacervados tienen una viscosidad estructural, ya que presentan una región de adelgazamiento al corte a bajas e intermedias tasas de corte. El predominio del módulo  $G'$  sobre  $G''$  en los barridos de amplitud reveló un carácter elástico dominante en los complejos coacervados, que resulta principalmente de las interacciones electrostáticas entre las moléculas de APA y PC, confirmado por los espectros de FTIR de los complejos. Los complejos coacervados que presentaron una red mejor estructurada fueron aquellos formados a pH 3.5, teniendo concordancia con los valores de las curvas de flujo, las propiedades viscoelásticas, microestructura y tamaño de partícula. En general, estos datos nos muestran que el estudio de la formación de complejos coacervados de aislado de proteína de amaranto-pectina cítrica, nos proporciona información útil para ampliar su uso en diversas formulaciones de alimentos, tales como yogur, suplementos, entre otros, así como para la encapsulación de compuestos bioactivos.

### **3.5 AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México por la beca de la estudiante de maestría.

### 3.6 LITERATURA CITADA

- Aceituno-Medina, M., Lopez-Rubio, A., Mendoza, S., y Lagaron, J. M. (2013). Development of novel ultrathin structures based in amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolate through electrospinning. *Food Hydrocolloids*, 31, 289–298. doi:10.1016/j.lwt.2015.02.025
- Ach, D., Briançon, S., Dugas, V., Pelletier, J., Broze, G., y Chevalier, Y. (2015). Influence of main whey protein components on the mechanism of complex coacervation with acacia gum. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 481, 367–74. doi: 10.1016/j.colsurfa.2015.06.006
- Anvari, M. y Chung, D. (2016). Dynamic rheological and structural characterization of fish gelatin–gum Arabic coacervate gels cross-linked by tannic acid. *Food Hydrocolloids*, 60, 516–24. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.04.028
- Association of Analytical Communities (AOAC) (1996). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist. EUA.
- Becerril-Ramírez, A., Paredes-Ruiz, F. M. H., López-Sánchez, J., y Soriano-Santos, J. (2017). Evaluación de la actividad quelante de cobre de hidrolizados proteínicos del grano de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*). *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 2, 84-89.
- Bolontrade, A. J., Scilingo, A. A., y Añón, C. M. (2013). Amaranth proteins foaming properties: Adsorption kinetics and foam formation-Part 1. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 105, 319–327. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.10.061
- Bosnea, L. A., Moschakis, T., Nigam, P. S., y Biliaderis, C. G. (2016). Growth adaptation of probiotics in biopolymer-based coacervate structures to enhance cell viability. *LWT - Food Science and Technology*, 16, 730–58. doi: 10.1016/j.lwt.2016.11.056
- Chien, C. H., Kuo, W. S., & Lai, L. S. (2009). Rheological and physical characterization of film-forming solutions and edible films from tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum. *Food Hydrocolloids*, 23, 2132–2140. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.05.015
- Comert, F., Malanowski, A. J., Azarikia, F., y Dubin, P. L. (2016). Coacervation and precipitation in polysaccharide-protein systems. *Soft Matter*, 12, 4154–61. doi: 10.1039/C6SM00044D
- Condés, M. C., Speroni, F., Mauri, A., y Añón, M. C. (2012). Physicochemical and structural properties of amaranth protein isolates treated with high pressure. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 14, 11–17. doi: 10.1016/j.ifset.2011.12.006

- Deleu, L., Lambrecht, M., Van de V. J., y Delcour, J. (2019). The impact of alkaline conditions on storage proteins of cereals and pseudocereals, *Current Opinion in Food Science*, 25, 98–103. doi: 10.1016/j.cofs.2019.02.017
- Duhoranimana, E., Karangwa, E., Lai, L., Xu, X., Yu, J., Xia, S.,... y Habinshuti, I. (2017). Effect of sodium carboxymethyl cellulose on complex coacervates formation with gelatin: Coacervates characterization, stabilization and formation mechanism. *Food Hydrocolloids*, 69, 111–120. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.01.035
- Espinosa-Andrews, H., Enríquez-Ramírez, K. E., García-Márquez, E., Ramírez-Santiago, C., Lobato-Calleros, C., y Vernon-Carter, J. (2013). Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 161–166. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.02.053
- Food and Agriculture Organization (FAO) (2020). Macronutrientes: carbohidratos, grasas y proteínas. fao.org. Recuperado de <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/005/w0073s/W0073S01.pdf>.
- Gorji, S. G., Gorji, E. G., Mohammadifar, M. A., y Zargaraan, A. (2014). Complexation of sodium caseinate with gum tragacanth: Effect of various species and rheology of coacervates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 503–511. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.02.037
- Hasanvand, E., y Rafe, A. (2019). Development of vanillin/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion microcapsules using flax seed gum-rice bran protein complex coacervates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 60 – 66. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.03.066
- Hasanvand, E., Rafe, A., y Emadzadeh, B. (2018). Phase separation behavior of flaxseed gum and rice bran protein complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 82, 412–423. doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.04.015
- Hernández-Marín, N. Y., Lobato-Calleros, C., y Vernon-Carter, E. J. (2013). Stability and rheology of water-in-oil-in-water multiple emulsions made with protein-polysaccharide soluble complexes. *Journal of Food Engineering*, 119, 181–7. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.05.039
- Hernández-Rodríguez, L., Lobato-Calleros, C., Pimentel-González, D. J., y Vernon-Carter, E. J. (2014). *Lactobacillus plantarum* protection by entrapment in whey protein isolate:  $\kappa$ -carrageenan complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 36, 181–8. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.09.018
- Hernández-Rodríguez, L., Lobato-Calleros, C., Ramírez-Santiago, C., Rodríguez-Huezo, M. E. y Meraa, M. (2017). Microstructure and rheology of yogurt added with protein- *L. plantarum*- polysaccharide coacervate and stevia in substitution of milk-fat and sucrose. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(1), 77-89.

- Huang, Q. R., Given, P. y Qian, M. (2009). *Micro/nanoencapsulation of active food ingredients*. ACS symposium Series Washington DC: American Chemical Society.
- Huerta-Ocampo, J. A., y Barba-de la Rosa, A. P. (2012). Caracterización bioquímica y estructural de las proteínas de reserva de amaranto. E. Espitia-Rangel (Ed.), *Amaranto: ciencia y tecnología, México* (293-302). SINAREFI-INIFAP-UNAM.
- Ifeduba, E. A., y Akoh, C. C. (2016). Microencapsulation of stearidonic acid soybean oil in Maillard reaction-modified complex coacervates. *Food Chemistry*, 199, 524–32. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.12.011
- Koupantsis, T., Pavlidou, E., y Paraskevopoulou, A. (2014). Flavour encapsulation in milk proteins - CMC coacervate-type complexes. *Food Hydrocolloids*, 37, 134–42. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.01.007
- Lan, Y., Chen, B., y Rao, J. (2018). Pea protein isolate–high methoxyl pectin soluble complexes for improving pea protein functionality: Effect of pH, biopolymer ratio and concentrations. *Food Hydrocolloids*, 80, 245–253. doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.02.021
- Lan, Y., Ohm, J. B., Chen B., y Rao, J. (2020). Phase behavior, thermodynamic and microstructure of concentrated pea protein isolate-pectin mixture: Effect of pH, biopolymer ratio and pectin charge density. *Food Hydrocolloids*, 101, 105556. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.105556
- Lan, Y., Xu, M., Ohm, J.-B., Chen, B., y Rao, J. (2019). Solid dispersion-based spraydrying improves solubility and mitigates beany flavour of pea protein isolate. *Food Chemistry*, 278, 665–673.
- Liu, J., Shim, Y. Y., Shen, J., Wang, Y., y Reaney, M. J. (2017). Whey protein isolate and flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) gum electrostatic coacervates: Turbidity and rheology. *Food Hydrocolloids*, 64, 18–27. doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.10.006
- Lobato-Calleros, C., Martínez-Torrijos, O., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Orozco, J. P., y Vernon-Carter, E. J. (2004). Flow and creep compliance properties of reduced fat yogurts containing protein-based fat replacers. *International Dairy Journal*, 14, 777–82. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.02.012
- López, N. D., Galantea, M., Robsonc, M., Boerisa, V. y Spelzinia, D. (2018). Amaranth, quinoa and chia protein isolates: Physicochemical and structural properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 152–159. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.080
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., y Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Madigan, M. T., Martinko J. M., Stahl, D. A., Bender, D. A. y Buckley, D. H. (2015). *Brock. Biología de los Microorganismos* (14 ed.). Upper Saddle River, NJ: Pearson Education.

- Marques, C. L., Miguel S. P., Martins T. J., Pinheiro C. A., y Vicente A. A. (2018). Emerging opportunities in exploring the nutritional/functional value of amaranth. *Food Function*, 9, 5499–5512. doi: 10.1039/c8fo01422a
- Martínez, E. N., y Añón, C. (1996). Composition and Structural Characterization of Amaranth Protein Isolates. An Electrophoretic and Calorimetric Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2523–2530.
- Martínez, F. (2017). El futuro de las alternativas lácteas. *Roquette American Foods Scientist*.
- Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, B. E., Román Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., y Vernon-Carter, E. J. (2018). High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba L.*) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44, 97–105. doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.02.007
- Matías, L. G., Hernández, H. B. R., Peña, C. V., Torres, L. N. G., Espinoza, M. V. A., y Ramírez P. L. (2018). Current and potential uses of Amaranth (*Amaranthus spp.*) *Journal of Negative and No Positive Results*, 3(6), 423–436. doi: 0.19230/jonnpr.2410
- Mession, J. -L., Assifaoui, A., Lafarge, C., Saurel, R., y Cayot, P. (2012). Protein aggregation induced by phase separation in a pea proteins-sodium alginate-water ternary system. *Food Hydrocolloids* 28, 333–343. doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.12.022
- Monfregola, L., Leone, M., Vittoria, V., Amodeo, P., y De Luca, S. (2011). Chemical modification of pectin: environmental friendly process for new potential material development. *Polymer Chemistry*, 2(4), 800-804. doi: 10.1039/C0PY00341G
- Moschakis, T., y Biliaderis, C. G. (2017). Biopolymer-based coacervates: Structures, functionality and applications in food products. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 28, 96–109. doi: 10.1016/j.cocis.2017.03.006
- Motta, C., Castanheira, I., Gonzales, G. B., Delgado, I., Torres, D., Santos, M., y Matos, A. S. (2018). Impact of cooking methods and malting on amino acids content in amaranth, buckwheat and quinoa. *Journal of Food Composition and Analysis*, 76. doi: 10.1016/j.jfca.2018.10.001
- Muriel, M. J. L., Liu, J., Tan, Y., Zhou, H., Zhang, Z., y McClements, D. J. (2019). Characterization of electrostatic interactions and complex formation of  $\gamma$ -poly-glutamic acid (PGA) and  $\epsilon$ -poly-llysine (PLL) in aqueous solutions, *Food Research International*, 128, 108781. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108781
- Nardo, E. A., Añón, M.C., y Parisi, G. (2018). Large-scale mapping of bioactive peptides in structural and sequence space. *Plos One*, 13(1), e0191063. doi: 10.1371/journal.pone.0191063



- Nesterenko, A., Alric, I., Silvestre, F., y Durrieu, V. (2013). Vegetable proteins in microencapsulation: A review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial Crops and Products*, 42, 469–479. doi: 10.1016/j.indcrop.2012.06.035
- Niu, F., Kou, M., Fan, J., Pan, W., Zhi-Juan F., Su, Y., Yang, Y., y Zhou, W. (2018). Structural characteristics and rheological properties of ovalbumin-gum arabic complex coacervates. *Food Chemistry*, 260, 1–6. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.03.141
- Perry, L. S., y Blocher, C. W. (2016), Complex Coacervate-based Materials for Biomedicine. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 835. doi: 10.1002/wnan.1442
- Raei, M., Rafe, A., y Shahidi, F. (2018). Rheological and structural characteristics of whey protein-pectin complex coacervates. *Journal of Food Engineering*, 228, 25–31. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2018.02.007
- Rahman, M. S., Gwang-woong, G., Jin-Kyu, S., Khalid, G., Sung-Gil, C., y Han-Sul, Y. (2019). Thiol concentration, structural characteristics and gelling properties of bovine heart protein concentrates. *LWT - Food Science and Technology*, 111, 175–181. doi: 10.1016/j.lwt.2019.05.030
- Rousi, Z., Malhiac, C., Fatouros, D. G. y Paraskevopoulou, A. (2019). Complex coacervates formation between gelatin and gum Arabic with different arabinogalactan protein fraction content and their characterization. *Food Hydrocolloids*, 96, 577–588. doi: 10.1016/j.foodhyd.2019.06.009
- Salminen, H., y Weiss, J. (2013). Effect of pectin type on association and pH stability of whey protein-pectin complexes. *Food Biophysics*, 9(1), 29–38. doi: 10.1007/s11483-013-9314-3
- Segundo, L., V. (2014). Comparación entre ocho marcas de yogur natural comercial para evaluar los principales componentes nutricionales (Tesis de grado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, Mexico.
- Shevkani, K., Singh, N., Rana, J. C., y Kaur, A. (2014). Relationship between physicochemical and functional properties of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolates. *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 541–550. doi: 10.1111/ijfs.12335
- Soteras, E. M. (2011). Obtención y formulación de una bebida en base de granos de amaranto (Tesis de maestría). Universidad Nacional del Litoral. Santa Fé, Argentina.
- Souza, C. J. F., y Garcia-Rojas, E. E. (2015). Effects of salt and protein concentrations on the association and dissociation of ovalbumin-pectin complexes. *Food Hydrocolloids*, 47, 124–9. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.01.010
- Stone, A. K., Teymurova, A., y Nickerson, M. T. (2014). Formation and functional attributes of canola protein isolate—gum arabic electrostatic complexes. *Food Biophysics*, 9(3), 203–12. doi: 10.1007/s11483-014-9334-7

- Suárez, S., Aphalo, P., Rinaldi, G., Añón, M. C., y Quiroga, A. (2020). Effect of amaranth proteins on the RAS system. In vitro, in vivo and ex vivo assays. *Food Chemistry*, 308, 125601. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125601
- Thongkaew, C., Gibis, M., Hinrichs, J., y Weiss, J. (2014). Polyphenol interactions with whey protein isolate and whey protein isolate-pectin coacervates. *Food Hydrocolloids*, 41, 103–12. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.02.006
- Timilsena, Y. P., Wang, B., Adhikari, R., y Adhikari, B. (2016). Preparation and characterization of chia seed protein isolate-chia seed gum complex coacervates. *Food Hydrocolloids*; 52, 554–63. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.07.033
- Tiwari, B. K. y Singh, N. (2012). *Pulse Chemistry and Technology*. Cambridge, Reino Unido: Royal Society of Chemistry, 43-91.
- Trujillo-Ramírez, D., Lobato-Calleros, C., Román-Guerrero, A., Hernández-Rodríguez, L., Alvarez-Ramirez, J., y Vernon-Carter, E. J. (2018). Complexation with whey protein hydrolysate improves cacao pods husk pectin surface active and emulsifying properties. *Reactive and Functional Polymers*, 123, 61–69. doi: 10.1016/j.reactfunctpolym.2017.12.011
- Ventureira, J. L., Bolontrade, A., Speroni, F., David-Briand, E., Scilingo, A. A., Ropers, M. ... Anton, M. (2012). Interfacial and emulsifying properties of Amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolates under different conditions of pH. *LWT Food Science and Technology*, 45, 1–7. doi: 10.1016/j.lwt.2011.07.024
- Wee, M. S., Nurhazwani, S., Tan, K. W., Goh, K. K., Sims, I. M., y Matia-Merino, L. (2014). Complex coacervation of an arabinogalactan-protein extracted from the *Meryta sinclarii* tree (puka gum) and whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 42, 130–138. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.03.005
- Xiao, J. X., Yu, H. Y., y Yang, J. A. (2011). Microencapsulation of sweet orange oil by complex coacervation with soybean protein isolate/gum Arabic. *Food Chemistry* 125, 1267–72. doi:10.1016/j.foodchem.2010.10.063
- You, G., Liu, X. L., y Zhao, M. M. (2018). Preparation and characterization of hsian-tsao gum and chitosan complex coacervates. *Food Hydrocolloids*, 74, 255–266. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.08.004
- Zhu, Y., Bhandari, B., Pang, Z., Liu, X., y Prakash, S. (2019). Protein concentration and hydrocolloid effect on the rheological and tribological behaviour of resulting protein solution. *LWT - Food Science and Technology*, 100, 150–157. doi: 10.1016/j.lwt.2018.10.042