

## Estudio reológico y microestructural de emulsiones concentradas de aceite de girasol en agua estabilizadas con proteínas agroalimentarias

Por C. Bengoechea, A. Romero, F. Cordobés y A. Guerrero\*

Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Sevilla,  
C/Prof. García González, 1, 41012, Sevilla (SPAIN)  
e-mail: aguerrero@us.es

### RESUMEN

#### Estudio reológico y microestructural de emulsiones concentradas de aceite de girasol en agua estabilizadas con proteínas agroalimentarias

Se ha realizado un estudio de la distribución del tamaño de gotas y de las propiedades viscoelásticas lineales de emulsiones concentradas de aceite en agua, estabilizadas con diferentes proteínas (cangrejo, gluten y soja). Los sistemas estudiados siempre presentan un comportamiento típico de emulsiones altamente concentradas con un alto grado de floculación. Se ha observado que un incremento de la velocidad de agitación empleada durante la preparación o de la concentración de emulsionante dan lugar a un aumento de los módulos viscoelásticos ( $G'$  y  $G''$ ) y a una disminución del tamaño de gotas. Por tanto se produce un reforzamiento del entramado formado por asociación de las gotas de fase dispersa y como consecuencia, un aumento en la estabilidad de las emulsiones.

**PALABRAS-CLAVE:** Distribución de tamaño de gotas – Emulsión – Proteína – Viscoelasticidad lineal.

### SUMMARY

#### Rheological and microstructural study of concentrated sunflower oil in water emulsions stabilized by food proteins

Droplet Size Distribution (DSD) and linear viscoelastic properties of concentrated o/w emulsions stabilized by different proteins (crayfish, gluten and soybean) have been studied. A typical behaviour of highly concentrated emulsions with a high degree of flocculation has been found. An increase in energy input for the emulsification process or in emulsifier concentration leads to an increase in both viscoelastic moduli ( $G'$ ,  $G''$ ) as well as to a decrease in droplet size. Thus, an enhancement of the entanglement network produced by association of protein molecules that are surrounding oil droplets or are present in the continuous phase takes place, leading to a significant improvement of emulsion stability.

**KEY-WORDS:** Droplet Size Distribution – Emulsion – Linear Viscoelasticity – Protein.

### 1. INTRODUCCIÓN

La industria agroalimentaria suele generar una gran cantidad de subproductos y residuos para los

cuales es importante buscar algún tipo de aplicación. Actualmente, una alternativa atractiva para el sector consiste en el reciclaje y aprovechamiento del contenido proteico de estos residuos para permitir su valorización. Por otro lado, también es posible extraer fracciones específicas de proteínas que pueden ser utilizadas como ingredientes funcionales en alimentos (Spinelli *et al.*, 1975; Finch, 1977). Entre este tipo de proteínas se pueden considerar tanto proteínas de origen animal (cangrejo) como vegetal (gluten y soja).

La harina de cangrejo que se obtiene como subproducto de la industria del cangrejo rojo (*Procambarus Clarkii*) es una interesante fuente de proteínas de alta calidad (alrededor del 65%) que incluyen: proteínas sarcoplasmáticas, que son solubles en agua y se encuentran en una proporción del orden del 30% p/p; proteínas miofibrilares, solubles en disoluciones salinas (60-70 % p/p); y proteínas insolubles del estroma o tejido conectivo (3- 10% p/p). Esta harina es además rica en aminoácidos esenciales y lípidos (en torno al 19% p/p), incluyendo ácidos grasos polinsaturados de cadena larga de la serie  $\omega$ -3 y  $\omega$ -6 (Suzuki 1981).

El gluten de trigo es una mezcla amorfa de polipéptidos que pueden clasificarse en dos grupos en base a su estado de agregación: gliadinas ( $3 \cdot 10^5$ - $10^6$  Da), formado por agregados de interacciones no covalentes que contribuyen a la consecución de propiedades tales como viscosidad y capacidad extensiva; y gluteninas ( $10^5$ - $10^9$  Da) (Honesey y Rogers, 1990; Carceller y Aussenac, 2002; Arfvidsson *et al.*, 2004), estabilizadas por enlaces disulfuro entre cadenas peptídicas, y que tienden a contribuir a la elasticidad y propiedades extensionales del gluten (Kalichevsky *et al.* 1992).

Las proteínas de soja contienen principalmente globulinas 7S y 11S, representando el 70 % del total del contenido de proteína de soja. La globulina 7S es un trímero ( $1,5 \cdot 10^5$ - $2 \cdot 10^5$  Da), en tanto que la 11S está compuesta por seis subunidades ( $3 \cdot 10^5$ - $4 \cdot 10^5$  Da) (Fukushima, 1991; Morales y Kokini 1997).

El objetivo fundamental del presente estudio es evaluar la capacidad potencial de la utilización de proteínas procedentes de subproductos de la industria agroalimentaria (harina de cangrejo, gluten

y soja) como agente emulsionante en la obtención de emulsiones concentradas aceite/agua que presenten una buena estabilidad. Para ello se analizan las propiedades reológicas (mediante viscoelasticidad lineal en cizalla oscilatoria) y parámetros microestructurales (mediante análisis de la distribución de tamaños de gotas, DTG) así como la influencia de variables tales como la velocidad de agitación, la concentración de emulsionante y el pH.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. Procesado de emulsiones

Se prepararon diferentes emulsiones de aceite en agua usando un 75 % p/p ( $\Phi = 0,77$ ) de aceite de girasol (Koipesol S.A., España), proteína (0,25-5,00 % p/p) y agua. La harina de cangrejo (CF) (con un 65 % p/p de proteínas) fue preparada en planta piloto por ALFOCAN S.A. (Isla Mayor, Sevilla, España). El gluten (WG), con un contenido mínimo de proteína de 83 %, fue suministrado por RIBA S.A. (Glutenflor Supervital, Barcelona, España) y el aislado de proteínas de soja (SPI, con un mínimo del 90% de proteínas) procede de Protein Technologies Internacional (SUPRO 500E, Leper, Bélgica). Los puntos isoeléctricos de las correspondientes proteínas de cangrejo, gluten y soja son 3,4; 6,0 y 4,0 respectivamente (Malhotra y Coupland, 2004; Molina Ortiz *et al.*, 2004; Mejri *et al.*, 2005; Romero *et al.*, 2007).

Para preparar las emulsiones en primer lugar se disuelve la cantidad determinada de harina en agua a temperatura ambiente y posteriormente, tras un periodo de 5 minutos de agitación suave se adiciona la cantidad necesaria de NaOH o HCl (2M) para ajustar el pH. Después de esto se vuelve a agitar durante unos 5 minutos. Las emulsiones se prepararon en un homogenizador Ultra Turrax T-50 de IKA (Alemania) a diferentes revoluciones por minuto (3000-10000) durante un tiempo de 7 minutos. La agitación comienza en la fase continua y el aceite se va adicionando a la fase continua durante los primeros 6 minutos dejando homogeneizar la emulsión, sin adición de aceite, durante el último minuto. Las emulsiones preparadas se almacenaron a 4°C, siendo introducidas en un baño a 20°C media hora antes de llevar a cabo las medidas.

### 2.2. Medidas de distribución de tamaño de gotas

Las medidas de DTG se llevaron a cabo en un analizador MasterSizer X de la firma Malvern Instruments Ltd. (Reino Unido). Antes de realizar la medida fue preciso realizar una dilución de la emulsión. Para ello se empleó como medio dispersante una disolución 0,05M de Tris-HCl a pH 8 con 1% de dodecil sulfato sódico (SDS). Se utilizaron 11,5 mL de disolución por cada 0,5 g de emulsión. La utilización de un tensioactivo aniónico como el SDS

permite el desplazamiento de la proteína de la interfase por el tensioactivo generando repulsiones electrostáticas que favorecen la defloculación (Chen y Dickinson, 1998; Puppo *et al.*, 2005). Esta dispersión se añade a la unidad de preparación de muestra del equipo MasterSizer X, que contiene aproximadamente 750 mL de agua destilada y opera siempre a temperatura ambiente. Los valores del diámetro volumétrico,  $d_{4,3}$ , se obtuvieron a partir de la expresión es la siguiente:

$$d_{4,3} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (1)$$

donde  $n_i$  es el número de gotas con un diámetro  $d_i$ .

### 2.3. Medidas reológicas

Las medidas reológicas se llevaron a cabo dentro del intervalo viscoelástico lineal, utilizando un reómetro de deformación controlada (ARES) de la firma TA Instruments con una geometría placa-placa (25 mm.) para las emulsiones de harina de cangrejo y un reómetro de esfuerzo controlado (RS-150) de Haake (Alemania) con una geometría placa-placa (35 mm) para las emulsiones estabilizadas con gluten y soja. Para asegurar que se trabaja en intervalo viscoelástico lineal se han realizado, previamente a los barridos de frecuencia o rampas de temperatura, barridos de deformación a 1 Hz. A continuación, se llevaron a cabo barridos de frecuencia a una deformación inferior a la deformación crítica calculada mediante los barridos de deformación. Todos los sistemas sensores utilizados fueron de superficie rugosa, para evitar problemas de deslizamiento, con una distancia entre placas de 1 mm. Los ensayos reológicos fueron realizados a 20°C, empleando siempre la misma historia termoreológica. Se efectuaron al menos dos replicados de cada ensayo.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1. Velocidad de agitación

En las figuras 1 y 2 se muestran las distribuciones de tamaño de gotas y las propiedades viscoelásticas lineales, respectivamente, procesadas a diferentes velocidades de rotación del elemento rotor del equipo homogenizador, para las emulsiones preparadas con las tres proteínas (CF, WG, SPI).

En la figura 1, se observa que un aumento en el número de revoluciones, y por consiguiente de la energía suministrada al sistema, provoca un desplazamiento de las curvas de distribución hacia valores más pequeños de tamaños de gota, independientemente del emulsionante empleado. Se trata de una evolución típica en la que el aumento de energía suministrada al sistema se traduce en un desplazamiento del equilibrio entre fuerzas de cizalla e interfaciales (presión de Laplace) hacia una mayor rotura de las gotas de la emulsión (Sánchez

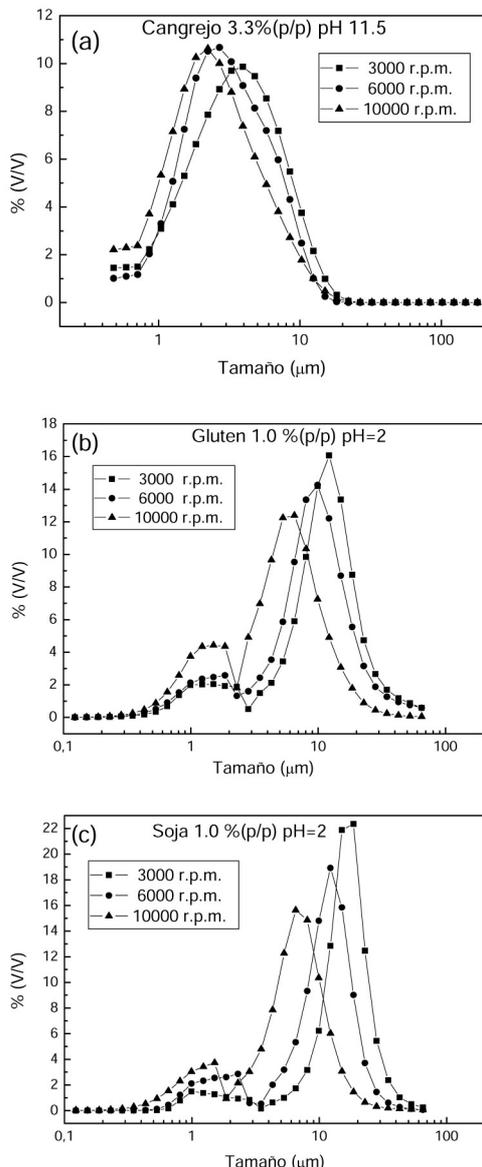


Figura 1

Curvas de distribuciones de tamaño de gotas para emulsiones preparadas con a) CF (3,3 % (p/p) y pH 11.5), b) WG (1 % (p/p) y pH 2) y c) SPI (1 % (p/p) y pH 2), procesadas a tres velocidades de agitación diferentes: 4.000, 6.000 y 10.000 rpm.

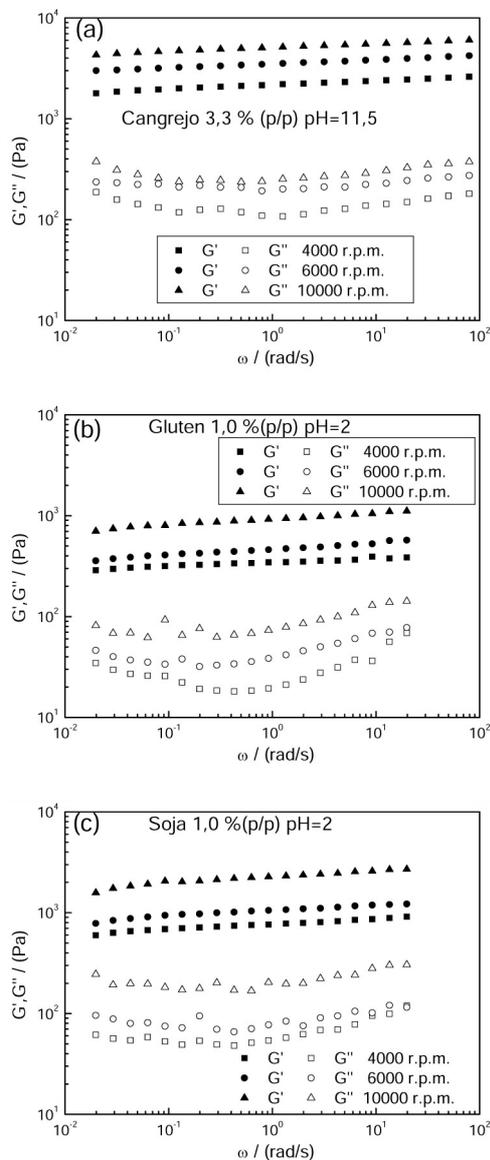


Figura 2

Valores de los módulos de almacenamiento y pérdidas en función de la frecuencia para emulsiones preparadas con a) CF (3,3 % (p/p) y pH 11.5), b) WG (1 % (p/p) y pH 2) y c) SPI (1 % (p/p) y pH 2), procesadas a tres velocidades de agitación diferentes: 4.000, 6.000 y 10.000 rpm.

*et al.*, 1998). Esta mayor rotura de gotas supone un incremento de la superficie interfacial específica.

Los espectros mecánicos que se muestran en la figura 2 son característicos de emulsiones altamente concentradas con una zona plateau bien desarrollada. La aparición de esta amplia zona “plateau” evidencia el desarrollo de una estructuración que favorece la estabilidad de la emulsión (Dickinson *et al.*, 1989; Franco *et al.*, 1995). Esta zona plateau se caracteriza por una influencia moderada de la frecuencia sobre el módulo de almacenamiento ( $G'$ ), que presenta una variación potencial, y por un valor mínimo del módulo de pérdidas ( $G''$ ). La tangente de pérdidas, definida como el cociente entre ambos módulos ( $\text{tg } \delta = G''/G'$ ), también presenta un mínimo que permite estimar un parámetro ca-

racterístico de la zona plateau, el módulo plateau ( $G_N^0$ ), a partir del valor de  $G'$  para el que  $\text{tg } \delta$  es mínima (Wu, 1989). Un aumento de la velocidad de agitación produce un aumento de  $G'$  y  $G''$  independientemente de la frecuencia considerada. Sin embargo, dicho aumento no parece afectar a la forma de los espectros mecánicos, siendo aparentemente similares para todos.

La figura 3 muestra claramente la misma evolución para las emulsiones estabilizadas con distintas proteínas. De esta forma se observa como un incremento en la energía suministrada al sistema produce un desplazamiento hacia menores tamaños de gotas, lo cual provoca un incremento en las interacciones entre gotas (Rahalkar 1992) y un aumento del módulo plateau a causa del reforzamiento

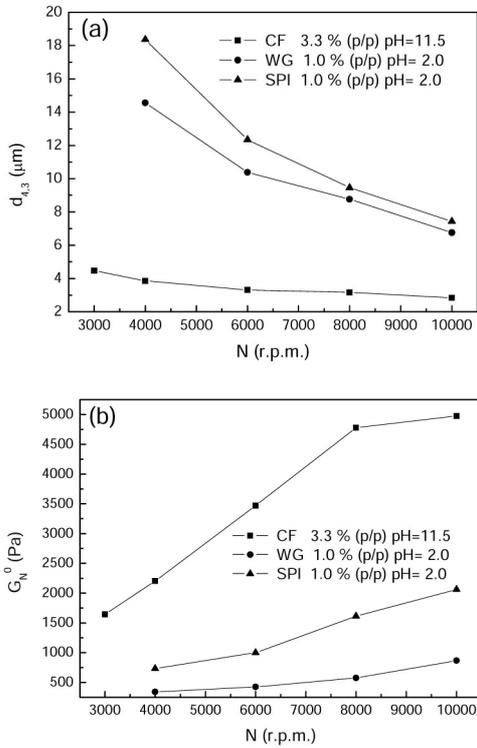


Figura 3

Evolución de los valores de parámetros característicos de la distribución de tamaños de gota y de las propiedades viscoelásticas lineales con la velocidad de agitación para emulsiones preparadas con CF (3,3 % (p/p) y pH 11,5), WG (1 % (p/p) y pH 2) y SPI (1 % (p/p) y pH 2): a) Diámetro medio volumétrico; b) Módulo plateau.

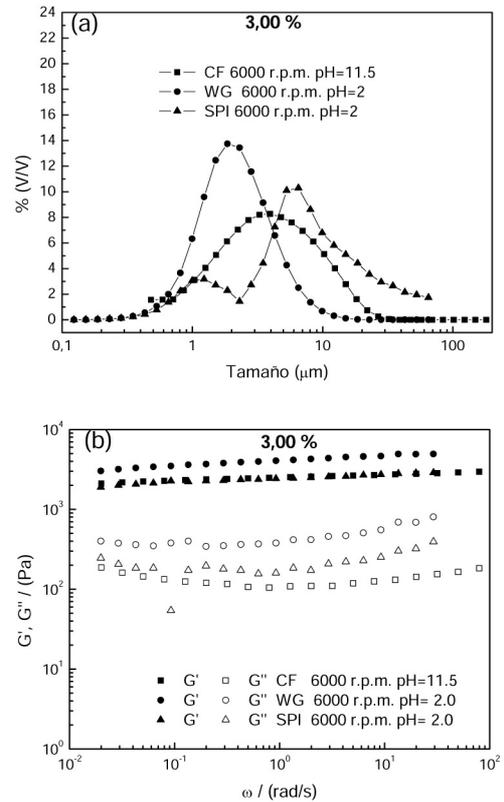


Figura 4

Curvas de distribución de tamaños de gota y valores de los módulos de almacenamiento y pérdidas en función de la frecuencia para emulsiones procesadas a 6.000 rpm a un 3% (p/p) de proteínas para emulsiones preparadas con distintos emulsionantes (CF (pH 11,5), WG (pH 2) y SPI (pH 2)).

to del entramado tridimensional (Franco *et al.*, 1995; Bengoechea *et al.*, 2006). Como puede observarse en las figuras 1, 2 y 3, las emulsiones que muestran tamaños menores y propiedades reológicas mas elevadas, en las condiciones específicas de preparación de cada emulsión, son las que emplean harina de cangrejo como emulsionante (teniendo en cuenta que en todos los casos la concentración de proteínas de las emulsiones concentradas con harina de cangrejo son superiores al resto de emulsiones, 3,3 % (p/p) para las emulsiones de cangrejo frente al 1 % (p/p) para las emulsiones estabilizadas con gluten y soja). La proteína de soja conduce a mayores diámetros que el gluten pero a la vez produce emulsiones con mayores propiedades viscoelásticas.

### 3.2. Concentración de proteína

La figura 4 muestra respectivamente las distribuciones de tamaño de gotas y las propiedades viscoelásticas, para las emulsiones estabilizadas con las tres proteínas (CF pH 11,5, WG pH 2 y SPI pH 2), procesadas a 6000 rpm y preparadas a una concentración igual al 3% (p/p). En primer lugar hay que destacar que fue posible preparar emulsiones de 75 % (p/p) de aceite en agua, en las condiciones experimentales establecidas, usando pequeñas cantidades de proteínas (0,16 % (p/p),

0,25 % (p/p) y 0,125 % (p/p) de CF, WG y SPI, respectivamente).

Como puede observarse en la figura 5 hay una clara evolución hacia una disminución del tamaño de gota y un aumento acusado de los valores del  $G_N^0$  (como sucede con  $G'$  y  $G''$ ) a medida que aumenta la concentración de emulsionante presente. También se ha obtenido una extensión de la zona plateau del espectro mecánico en la que el mínimo de  $G''$  se suaviza progresivamente con la concentración. Además, a elevada concentración, esta evolución puede llegar a provocar la transformación de emulsiones bimodales a monomodales como sucede con las emulsiones estabilizadas con CF y WG. Ambos efectos pueden relacionarse con el reforzamiento del entramado estructural de la emulsión.

Como se observa en la figura 5, tanto la evolución del diámetro  $d_{4,3}$  como la de  $G_N^0$  es similar para los tres tipos de emulsiones. Se produce un descenso muy marcado del tamaño de gotas hasta valores de concentración del 1 % (p/p) aproximadamente. En esta región el módulo plateau tan sólo experimenta un leve ascenso. Por encima de esta concentración de proteína, la evolución del tamaño de gota es mucho más moderada. Este cambio de comportamiento puede atribuirse a que

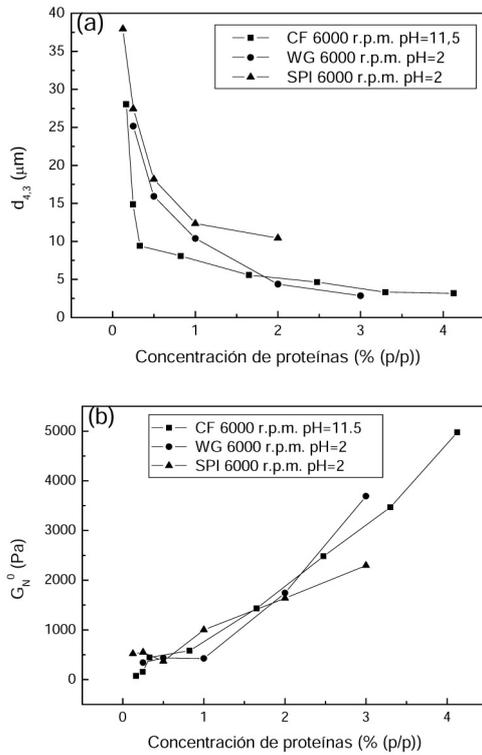


Figura 5

Evolución de los valores de parámetros característicos de la distribución de tamaños de gota y de las propiedades viscoelásticas lineales con la concentración de proteína para los distintos emulsionantes (CF (pH 11,5), WG (pH 2) y SPI (pH 2) en emulsiones procesadas a 6.000 rpm: a) Diámetro medio volumétrico; b) Módulo plateau.

se supera la concentración de saturación de la interfase, alcanzándose una situación de exceso de emulsionante. Por tanto, a partir de cierta concentración de proteína el tamaño de gotas es relativamente independiente de la misma (Tcholokova *et al.*, 2002). En cambio, como puede deducirse de la evolución del  $G_N^0$  representada en la figura 5b, la consistencia reológica de las emulsiones aumenta en mayor grado a medida que aumenta el exceso de proteína, que se acumularía en la fase continua (Partal *et al.*, 1997; Petursson *et al.*, 2004).

### 3.3. pH

En este apartado se estudia la influencia del pH sobre la preparación de emulsiones. En la figura 6 y 7 aparecen respectivamente las distribuciones de tamaño de gotas y las propiedades viscoelásticas, para las emulsiones preparadas a distinto pH, procesadas a 6000 rpm y estabilizadas con las tres proteínas (CF 3% (p/p), WG 1% (p/p) y SPI 1% (p/p)). Las proteínas tienden a estabilizar las gotas mediante la combinación de repulsiones electrostáticas y estéricas, siendo su eficacia particularmente sensible al pH y a la fuerza iónica (Petursson y col., 2004). Por ese hecho se puede explicar que a pH intermedio (pH = 5) suelen presentar los peores registros de distribución de tamaño de gota. Por

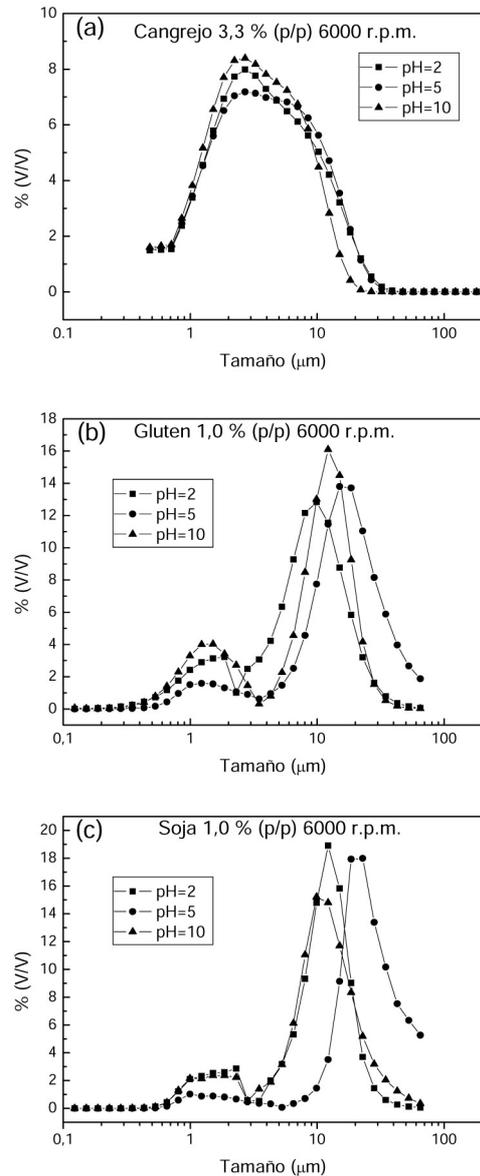


Figura 6

Curvas de distribución de tamaños de gota para emulsiones preparadas a 6.000 rpm a distintos valores de pH (2, 5, 10) con diferente emulsionante: a) 3 % (p/p) CF, b) 1% (p/p) WG y c) 1% (p/p) SPI.

consiguiente, es especialmente importante tener en consideración el punto isoelectrico de la proteína (3,4; 6,0 y 4,0 para las proteínas de cangrejo, gluten y soja respectivamente).

En la figura 8 se puede constatar que a los valores de pH alejados del pI presentan mayores valores de los módulos viscoelásticos, salvo en el caso de las emulsiones estabilizadas con cangrejo donde hay una disminución de solubilidad de las proteínas a pH cercano a 10, que hace que las propiedades viscoelásticas sean ligeramente menores de las esperadas.

La evolución de los parámetros asociadas a las distribuciones de tamaño de gotas y a los barridos de frecuencia, para cada una de las tres proteínas viene a confirmar lo expuesto anteriormente, y por

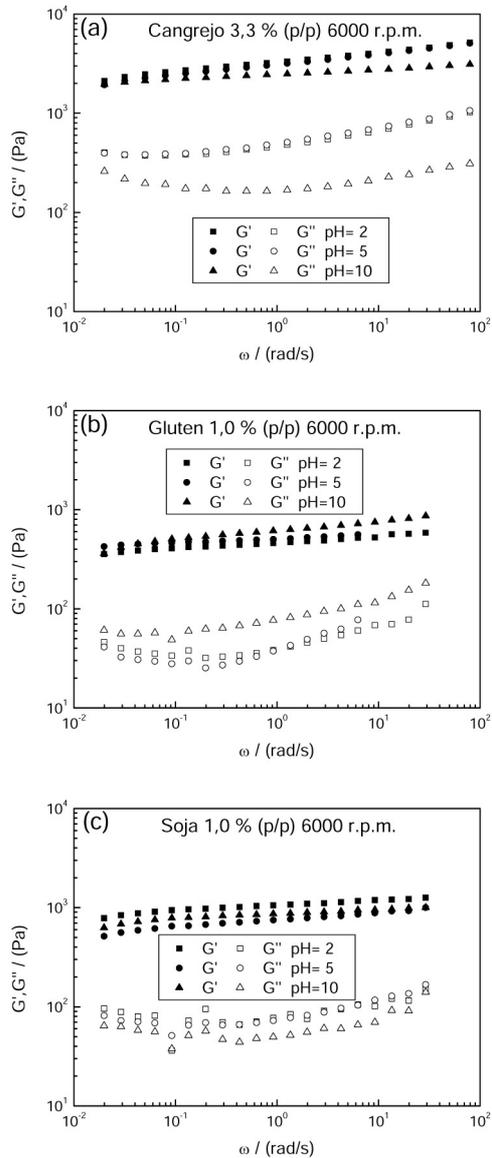


Figura 7  
Valores de los módulos de almacenamiento y pérdidas en función de la frecuencia para emulsiones preparadas a 6.000 rpm a distintos valores de pH (2, 5, 10) con diferente emulsionante: a) 3 % (p/p) CF, b) 1% (p/p) WG ó c) 1% (p/p) SPI.

consiguiente, la mayor facilidad para la preparación de emulsiones estables a un pH considerablemente alejados del pl.

**CONCLUSIONES**

Las emulsiones estabilizadas con las tres proteínas estudiadas presentan distribuciones de tamaño de gotas unimodales o bimodales, dependiendo de la proteína utilizada y de la concentración y con espectros mecánicos con una zona plateau bien desarrollada, característicos de emulsiones con un elevado grado de floculación. Los datos obtenidos evidencian el desarrollo de una estructuración que favorece la estabilidad de las emulsiones.

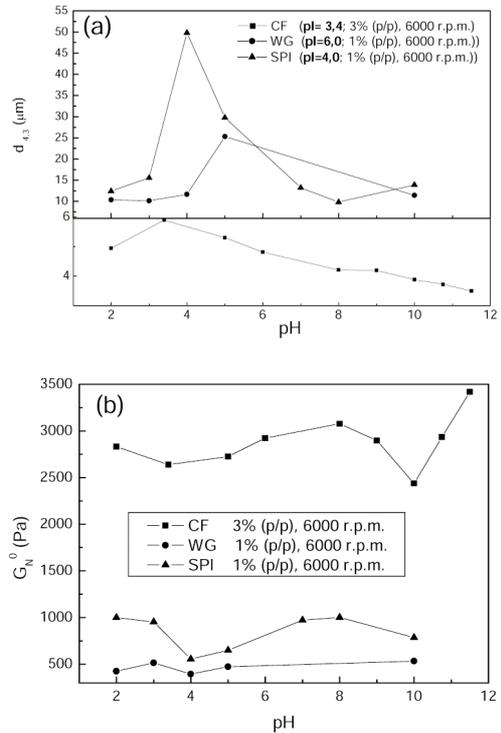


Figura 8  
Evolución de los valores de parámetros característicos de la distribución de tamaños de gota y de las propiedades viscoelásticas lineales de emulsiones procesadas a 6.000 rpm en función del pH con distinto emulsionante (3 % CF, 1% WG ó 1% SPI): a) Diámetro medio volumétrico; b) Módulo plateau.

Un aumento de la energía impuesta al sistema favorece la generación de área interfacial, lo que conduce a una disminución en el diámetro de gotas y a un aumento de los módulos de almacenamiento y pérdidas.

Un aumento de la concentración de proteína produce una evolución de la emulsión hacia menores tamaños de gota que conduce a un incremento de interacciones y a un aumento de propiedades viscoelásticas (G' y G''). También se produce una evolución hacia una distribución unimodal en emulsiones estabilizadas con proteínas de gluten y cangrejo.

La influencia del pH sobre las emulsiones estudiadas se encuentra dominada por la cercanía al punto isoeléctrico, en el que las interacciones electrostáticas tienden a desaparecer. A valores de pH alejados del pl, se obtienen por lo general menores tamaños de gota y mayores propiedades viscoelásticas.

**AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen el apoyo económica del MEC (beca FPU) y de la Junta de Andalucía (FPDI). Parte de este trabajo fue financiado por MCYT en base al proyecto de investigación AGL2007-65709.

## BIBLIOGRAFÍA

- Arfvidsson C, Wahlund KG, Eliasson AC. 1992. Direct molecular weight determination in the evaluation of dissolution methods for unreduced glutenin. *J. Cereal Sci.* 39(1), 1-8.
- Bengoechea C, Cordobés F, Guerrero A. 2006. Rheology and microstructure of gluten and soya-based o/w emulsions. *Rheol. Acta* 46, 13-21.
- Carceller JL, Aussenac T. 2002. Size characterization of glutenin polymers by HPSEC-MALLS. *J. Cereal Sci.* 33(2), 131-142.
- Chen J, Dickinson E. 1998. Viscoelastic properties of protein-stabilized emulsions: Effect of protein-surfactant interactions. *J. Agric. Food Chem.* 46, 91-97.
- Dickinson E, Flint FO, Hunt JA. 1989. Bridging flocculation in binary protein stabilized emulsions. *Food Hydrocoll.* 3, 389.
- Finch R. 1977. Whatever happened to fish protein concentrate. Prospects for success still not very bright. *Food Technol.* 31, 44-53.
- Franco JM, Guerrero A, Gallegos C. 1995. Rheology and processing of salad dressing emulsions. *Rheol. Acta* 34, 513-524.
- Fukushima D. 1991. Structures of plant storage proteins and their functions. *Food Rev. Int.* 7(3), 353-381.
- Hoseney RC, Rogers DE. 1990. The formation and properties of wheat flour doughs. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29(2):73-93.
- Kalichevsky MT, Jaroszkiewicz EM, Blanshard JMV. 1992. Glass transition of gluten 2: the effects of lipids and emulsifiers. *Int. J. Biol. Macromol.* 1, 267-273.
- Malhotra A, Coupland JN. 2004. The effect of surfactants on the solubility, zeta potential, and viscosity of soy protein isolates. *Food Hydrocoll.* 18(1),101-108.
- Mejri M, Rogé B, BenSouissi A, Michels F, Mathlouthi M. 2005. Effects of some additives on wheat gluten solubility: A structural approach. *Food Chem.* 92(1) 7-15.
- Molina Ortiz SM, Puppo MC, Wagner JR. 2004. Relationship between structural changes and functional properties of soy protein isolates-carrageenan systems. *Food Hydrocoll.* 18(6), 1045-1053.
- Morales A, Kokini JL. 1997. Glass transition of soy globulins using DSC and mechanical spectrometry. *Bio-technol. Prog.* 13, 624-629.
- Partal P, Guerrero A, Berjano M, Gallegos C. 1997. Influence of concentration and temperature on the flur behaviour of O/W emulsions stabilized by a sucrose palmitate. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 74, 1203-1212.
- Petursson S, Decker EA, McClements DJ. 2004. Stabilization of oil-in-water emulsions by cod protein extracts. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3996-4001.
- Puppo MC, Speroni F, Chapleau N, de Lamballerie M, Añón MC, Antón M. 2005. *Food Hydrocoll.* 19, 289-296.
- Rahalkar RR. 1992. Viscoelastic properties of oil water emulsions en Rao MA, Steffe JF (Eds.) *Viscoelastic Properties of Foods*. Elsevier Applied Science, Londres.
- Romero A, Cordobes F, Puppo MC, Guerrero A, Bengoechea C (2007) Rheology and droplet size distribution of emulsions stabilized by crayfish flour. DOI:10.1016/j.foodhydrocol.2007.05.019.
- Sánchez MC, Berjano M, Brito E, Guerrero A, Gallegos C. 1998. Evolution of the microstructure and rheology of o/w emulsions during the emulsification process. *Can. J. Chem. Eng.* 76, 479-485.
- Spinelli J, Groninger H, Koury B, Miller R. 1975. Functional Protein Isolates and Derivates from Fish Muscle. *Process Biochem.* 31-35.
- Suzuki T. 1981. Fish and Krill Protein: Processing Technology, Applied Science Publishers, LTD, London.
- Tcholokova S, Denkov ND, Ivanov IB, Campbell B. 2002. Coalescence in lactoglobulin-stabilized emulsions: Effect of protein adsorption and drop size. *Langmuir* 18, 8960-8971.
- Wu S. 1989. Chain structure and entanglement. *J. Polym. Sci.* 27, 723-741.

Recibido: 18/7/07  
Aceptado: 4/10/07