

ADSORCIÓN DINÁMICA DE HYDROXIPROPILMETICELULOSA EN LA INTERFACE ACEITE- AGUA A pH3 Y pH6.

Camino N.A.(1), Carrera Sanchez C.(2), Rodriguez Patino J.M.(2)
y Pilosof A.M.R.(1)*

- (1) CONICET/ Departamento de Industrias, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Ciudad Universitaria, Intendente Guiraldes s/n (1428), Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

* apilosof@di.fcen.uba.ar TE: +54 11 45763377 FAX +54 11 45763366

- (2) Departamento de Ingeniería Química, Facultad de Química, c/ Prof. García González, Universidad de Sevilla, 41012 - Sevilla, España.

RESUMEN

La adsorción de macromoléculas en la interface presenta gran interés para diversas aplicaciones industriales. La posibilidad de controlar las propiedades de las dispersiones coloidales por medio de la adsorción de biopolímeros requiere un conocimiento detallado de la estructura del biopolímero y de sus características interfaciales.

Cuatro variantes comerciales de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) (E4M, E50LV, E15LV y E5LV), polisacárido con gran actividad interfacial, fueron estudiadas a tres concentraciones ($10^{-2}\%$, 1% y 2% p/p) a pH3 y pH6 en la adsorción dinámica en la interface aceite- agua (O/W).

A pH6, E15LV y E5LV fueron los polisacáridos que presentaron mayor presión superficial cuando el tiempo de adsorción fue mayor a 6000 segundos para 10^{-2} y 2% p/p de concentración en la subfase. Para 1% p/p, la presión fue mayor en todo el rango de tiempo estudiado, mientras que E4M y E50LV desarrollaron menor presión superficial.

Las HPMC de menor peso molecular (E5LV y E15LV) resultaron más activas superficialmente. La penetración de las moléculas del polisacárido se ve impedida por la presencia de las moléculas de los ácidos grasos presentes en la interface O/W. Por lo tanto, las HPMC de menor peso molecular, E5LV y E15LV, pueden penetrar entre los ácidos grasos en mayor medida que las HPMC de mayor peso molecular, E4M y E50LV, permitiendo así una mayor reducción en la tensión superficial.

A pH3 la presión superficial alcanzada por las HPMC estudiadas es menor que a pH6, debido a que a este pH, existe una mayor repulsión electrostática (aumento en la carga superficial de los grupos metilos) entre las moléculas de HPMC y se dificulta su adsorción en la interfase aceite- agua.

1. INTRODUCCION

La adsorción de macromoléculas en la interface presenta gran interés para diversas aplicaciones industriales. La posibilidad de controlar las propiedades de las dispersiones coloidales por medio de la adsorción de biopolímeros requiere un conocimiento detallado de la estructura del biopolímero y de sus características interfaciales.

El efecto de la estructura de los surfactantes poliméricos y de sus propiedades interfaciales sobre las propiedades de las interfaces líquido-líquido ha sido poco estudiado. Es un interesante desafío estudiar cómo la estructura de los polímeros afecta las propiedades interfaciales (Rouzes y col, 2002).

Muchos polisacáridos de alto peso molecular, siendo hidrofílicos, no tienen tendencia de adsorberse en la interface aire-agua (A/W) o aceite-agua (O/W). Sin embargo, se han encontrado algunas gomas que exhiben actividad interfacial y son capaces de estabilizar emulsiones (Baeza y col, 2004.; Huang y col, 2001; Perez y col 2006). Los derivados no iónicos de celulosa, tienen una fuerte tendencia a acumularse en la interface A/W o O/W (Nahringbauer, 1995). Sólo cuatro derivados de la celulosa son empleados en el área de alimentos por sus propiedades interfaciales: metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. Metilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa son más activas superficialmente que las proteínas lácteas (Mezdour y col 2007; Arbolea y Wilde, 2005).

Las hidroxipropilmetilcelulosas (HPMC) son polímeros con grupos metilos e hidroxipropilos unidos a la cadena de anhidro glucosa. Difieren principalmente en el peso molecular, viscosidad, grado de sustitución (DS) y sustitución molar (MS). DS define el número promedio de grupos hidroxilos por unidad de glucosa anhidra donde el hidrógeno es reemplazado por metilos, y MS representa el número promedio de grupos de oxido de propileno por unidad de glucosa anhidra (Nahringbauer, 1995).

A lo largo de la cadena de celulosa, los sustituyentes metilos constituyen zonas hidrofóbicas mientras que los grupos hidroxipropilos son más hidrofílicos. La introducción de estos grupos permite a la HPMC comportarse como surfactante. Así, la HPMC se adsorbe a las interfaces líquidas disminuyendo la tensión interfacial (Daniels y Barta, 1993,1994; Nahringbauer, 1995; Ochoa-Machiste y Buckton, 1996; Wollenweber y col ,2000).

La adsorción de macromoléculas a la interface A/W o O/W no sigue el mismo patrón que la adsorción de surfactantes de bajo peso molecular. La formación de una capa interfacial requiere, primero, la difusión del polímero desde el seno de la solución a la interface y, segundo, su adsorción a la interface (Wollenweber y col 2000).

Las macromoléculas adsorbidas a las interfaces lo hacen en forma de trenes, colas y vueltas (*train, loops and tails*). (Perez y col 2008, Nahringbauer, 1995; Graham y Philips,1979). Esto significa que las propiedades interfaciales de una macromolécula dependen del largo y distribución de trenes, colas y vueltas. Un cambio en la conformación de la macromolécula adsorbida puede causar un drástico efecto sobre la fracción de los segmentos directamente en contacto con la interface (es decir, sobre la tensión interfacial) y también sobre el espesor de la capa de macromoléculas adsorbidas. (Nahringbauer, 1995). Como ejemplo, las propiedades de las capas interfaciales, especialmente la relación de los segmentos trenes/ vueltas y colas, y la elasticidad de la capa, determina la estabilidad de una emulsión, particularmente la estabilidad a la coalescencia de una gota de aceite (Wollenweber, et al, 2000).

2.OBJETIVO

El objetivo fue estudiar la adsorción dinámica de cuatro tipos comerciales de HPMC, que difieren principalmente en su peso molecular, en la interface aceite- agua a pH3 y pH6.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales

Methocell E5LV, E15LV, E50LV y E4M (grado alimentario) de Dow Chemical Company fueron donados por Colorcon Argentina y empleados sin purificación posterior. En la tabla 1 se muestran algunas características de las HPMC, como el contenido de metilos e hidroxipropilos, la relación metilos/hidroxipropilos, sustitución molar, el grado de sustitución, viscosidad (20°C) de una solución al 2%p/p, y el peso molecular. El contenido de humedad de los polvos fue de 1.6%.

Tabla 1. Propiedades de E4M, E50LV, E15LV y E5LV .

HPMC	E4M	E50LV	E15LV	E5LV
% methyl	28.0	29.1	29.2	29.5
% hydroxypropyl	10.2	9.2	9.3	9.7
Methyl/ hydroxypropyl ratio	2.3	3.2	3.1	3.0
Methyl substitution (DS)	1.90	1.90	1.9	1.9
Hydroxypropyl substitution (MS)	0.23	0.23	0.23	0.23
Total substitution (DS + MS)	2.13	2.13	2.13	2.13
Viscosity (cp), 2% wt solution, 20°C	4965	41	15	5.4
Molecular weight	90000	18000	6000	2000

Las soluciones de HPMC a 10⁻², 1 y 2% p/p, se prepararon dispersando el polvo en buffer fosfato (pH6) o citrato (pH3) a 80- 90°C, luego se enfriaron hasta temperatura ambiente. Agua bidestilada fue usada para la preparación del buffer. La fuerza iónica se mantuvo constante a 6 mM. Las soluciones se almacenaron por 24 hs a 4°C para alcanzar la máxima hidratación.

Los materiales en contacto con las soluciones fueron lavados adecuadamente para evitar cualquier contaminación por una sustancia superficialmente activa. La ausencia de contaminantes superficialmente activos en la solución del buffer, se chequeó por medición de tensión superficial antes de la preparación de las muestras. Se emplearon soluciones de buffer con la medición de tensión superficial aceptada en la bibliografía (72–73 mN/m a 20°C).

Aceite comercial de girasol purificado fue usado como fase aceite.

3.2 Medición dinámica de la tensión superficial

La presión superficial dependiente del tiempo de los films (capas) de HPMC en la interface O/W, se realizaron con un tensiómetro de gota automático (IT Concept, France), su funcionamiento se describió previamente (Rodríguez Niño y Rodríguez Patino, 2002). La tensión superficial (σ) fue calculada a través del análisis del perfil de la gota formada (Labourdenne y col, 1994). La presión superficial se calcula como: $\pi = \sigma^o - \sigma$, donde σ^o es la tensión superficial de la subfase. La precisión promedio de la tensión superficial es 0.1 mN/m.

Sin embargo, la reproducibilidad de los resultados (de al menos dos mediciones) fue mejor que 1%.

Para las mediciones en la interface O/W, la celda se llenó con aceite mientras que la jeringa, conteniendo la solución de HPMC, liberaba una gota dentro del aceite.

4.RESULTADOS

La adsorción de HPMC mostró un comportamiento similar al descrito para proteínas (Perez y col, 2008; Wollenweber y col, 2000; Nahrngbauer, 1995).

MacRitchie (1990) sintetizó las principales características de la cinética de adsorción para proteínas, que incluye (i) la difusión de la proteína desde el seno de la solución a la interface, (ii) adsorción (penetración) y desplegamiento interfacial, y (iii) agregación (reordenamiento en la capa interfacial, formación de multicapas y posible gelación interfacial).

Previamente, estudiamos la presión superficial en equilibrio en la interface aceite- agua de estos cuatro tipos de HPMC a pH6. Al igual que para proteínas, un verdadero equilibrio en la adsorción no parece alcanzarse (Rodríguez Niño y Rodríguez Patino, 1998; Perez y col, 2006). Luego, se consideró un valor de pseudoequilibrio para la presión superficial medida luego de 24hs.

No se observó inflexión en las isotermas obtenidas al incrementar la concentración del polisacárido en la solución para las cuatro HPMC. Las isotermas de adsorción son curvas con pendientes suaves, indicando la ausencia de algún cambio en la estructura de la monocapa adsorbida.

El orden en la actividad interfacial para la interface aceite- agua resultó E15LV = E5LV > E4M > E50LV. Los polisacáridos de menor peso molecular pueden penetrar entre los ácidos grasos en mayor medida que las HPMC de mayor peso molecular, E4M y E50LV, permitiendo así obtener una mayor presión superficial de equilibrio.

En el estudio dinámico, se estudiaron tres concentraciones para las cuatro HPMC a dos pH distintos. La figura 1 muestra las curvas π -t obtenidas para pH 6.

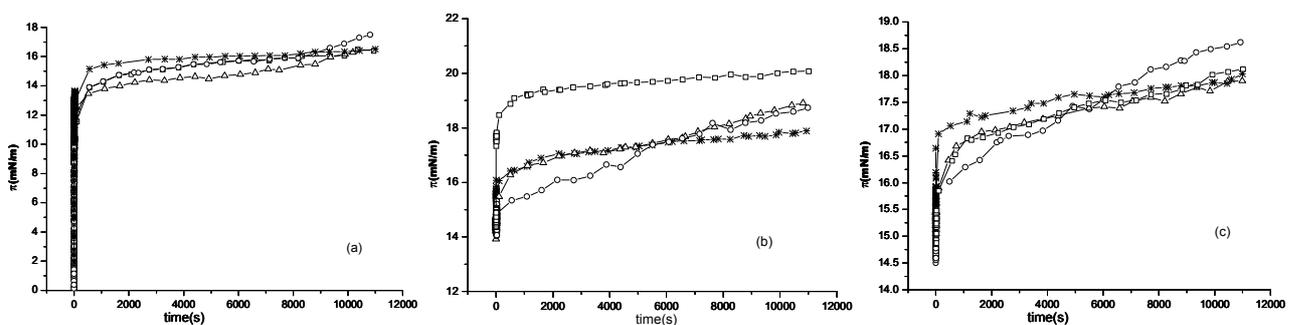


Figura 1. Dependencia de la presión superficial con el tiempo para (a) 10⁻²% p/p (b) 1% p/p y (c) 2% p/p de concentración en la subfase. E4M (*), E50LV (Δ), E15LV (○) y E5LV (□). Temperature 20 °C, pH 6.0 y fuerza iónica = 6mM.

La dependencia de la presión superficial con el tiempo, mostró que la adsorción en la interface aceite- agua comienza con una rápida difusión de las HPMC a la interface característica de los surfactantes de bajo peso molecular (Nawar, 1985; Álvarez Gómez y Rodríguez Patino, 2006). Luego, puede concluirse que en estas condiciones, la adsorción de las HPMC a la interface O/W no está limitada por la difusión.

Los polisacáridos de menor peso molecular, E5LV y E15LV, presentaron mayor presión superficial o igual, que los polisacáridos de mayor peso molecular, E4M y E50LV. A 1% p/p, la presión superficial obtenida para E5LV fue significativamente mayor. A 2%p/p ningún polisacárido parece alcanzar un valor de equilibrio en el lapso de tiempo estudiado, especialmente E15LV, que a tiempos mayores a 6000 segundos presenta un importante incremento en la presión superficial. Este comportamiento para E15LV se observa también a 10⁻²% p/p.

E4M, al tener el mayor peso molecular, se adsorbe más lentamente a la interface (Perez y col, 2008).

Hutchinson (1948) sugirió que las moléculas de aceite presentes en la interface junto con las moléculas del surfactante adsorbidas, imparten cierta competencia con los segmentos no polares del surfactantes. Luego, la penetración del polisacárido en la interface se verá impedida o dificultada debido a la presencia de las moléculas de los ácidos grasos en la interface.

Por lo tanto, las HPMC de menor peso molecular, E5LV y E15LV, pueden penetrar entre los ácidos grasos en mayor medida que las HPMC de mayor peso molecular, resultando más activas superficialmente.

La figura 2 muestra las curvas π -t obtenidas para pH3.

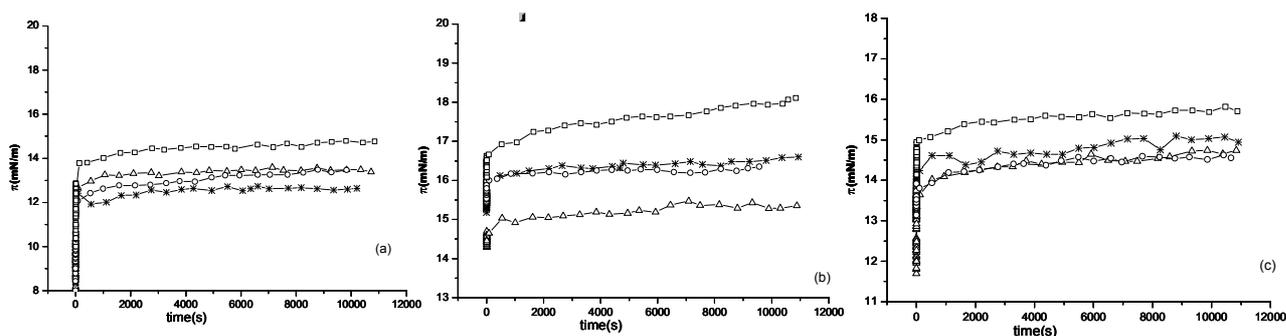


Figura 2. Dependencia de la presión superficial con el tiempo para (a) 10⁻²% p/p (b) 1% p/p y (c) 2% p/p de concentración en la subfase. E4M (*), E50LV (Δ), E15LV (○) y E5LV (□). Temperature 20 °C, pH 3.0 y fuerza iónica = 6mM.

La presión superficial alcanzada para las tres concentraciones estudiadas y para las cuatro HPMC, es ligeramente menor que a pH6. Es notable que a pH3 parece alcanzarse más rápidamente el equilibrio y E5LV se adsorbe más rápidamente a las tres concentraciones estudiadas.

Además del impedimento que se presenta en la adsorción de las HPMC por la presencia de las moléculas de ácidos grasos en la interface, a este pH existe una mayor repulsión

electrostática entre las moléculas de HPMC por una mayor carga superficial en los grupos metilos. Luego las presiones alcanzadas son menores que a pH6, donde la carga es nula. Las moléculas de HPMC ven impedida su adsorción y penetración en la interface por la presencia de las moléculas cargadas previamente adsorbidas.

5.CONCLUSION

Las HPMC de menor peso molecular resultaron más activas superficialmente. La penetración de las moléculas del polisacárido se ve impedida por la presencia de las moléculas de los ácidos grasos presentes en la interface O/W. Por lo tanto, las HPMC de menor peso molecular, E5LV y E15LV, pueden penetrar entre los ácidos grasos en mayor medida que las HPMC de mayor peso molecular, E4M y E50LV, permitiendo así una mayor reducción en la tensión superficial.

A pH3 la presión superficial alcanzada por las HPMC estudiadas es menor que a pH6, debido a que a este pH, existe una mayor repulsión electrostática.

El conocimiento del comportamiento interfacial de las HPMC en la interface O/W, resulta de gran utilidad para el estudio de la formación y estabilidad de emulsiones.

6.BIBLIOGRAFIA

Alvarez Gomez, J.M. y Rodriguez Patino, J.M. (2006). Formulation engineering of food model foams containing diglycerol esters and β - lactoglobulin. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 45, 7510 – 7519

Arbolea, J.C y Wilde, P.J. (2005). Competitive adsorption of proteins with methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose. *Food Hydrocolloids*, 19, 485- 491.

Baeza, R., Carrera Sánchez,C., Pílosof, A.M.R. y Rodriguez Patino, J.M. (2004). Interactions of polysaccharides with β - lactoglobulin spread monolayers at the air-water interface. *Food Hydrocolloids*, 18, 959 – 966.

Daniels, R. y Barta, A. (1993). Preparation, characterization and stability assessment of oil – in – water emulsions with Hydroxypropylmethylcellulose as emulsifier. *Proceedings of Pharmaceutics Technology Conference*. Elsinore, 51 -60

Daniels, R. y Barta, A.(1994). Pharmacopoeial cellulose ethers as oil in water emulsifiers 1. Interfacial properties. *European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutical*, 40:128 – 133.

Graham, D.E. y Philips, M.C. (1979). Proteins at liquid interfaces 3. Molecular structures of adsorbed films. *Journal of Colloid and Interface Science*, 70, 427- 433.

Huang, X., Kakuda, Y. y Cui, W. (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15, 533-542.

Hutchinson, E. (1948). Films at oil-water interfaces II. *Journal of Colloid Science*, 3, 235, 250.

Labourdenne, S.; Gaudry-Rolland, N.; Letellier, S.; Lin, M.; Cagna, A. y Esposito, G. (1994). The oil- drop tensiometer: Potential applications for studying the kinetics of (phospho)lipase action. *Chemistry and Physics of Lipids*, 71, 163- 173.

MacRitchie, F. (1990). *Chemistry at interfaces*. San Diego, CA: Academic Press.

Mezdour, S.; Cuvelier, G.; Cash, M.J. & Michon, C. (2007). Surface rheological properties of hydroxypropylcellulose at the air- water interface. *Food Hydrocolloids*, 21, 776- 781.

Nahringbauer, I. (1995). Dynamic surface tension of aqueous polymer solutions, I: Ethyl(hydroxyethyl)cellulose (BERMOCOLL cst- 103). *Journal of Colloid and Interface Science*, 176, 318 – 328.

Nawar, W.W. (1985). *Food Chemistry*. New York: Marcel Dekker (Chapter 5).

Ochoa- Machiste, E. y Buckton, G. (1996). Dynamic surface tension studies of Hydroxypropylmethylcellulose film – coating solutions. *International Journal of Pharmaceutics*, 145:197 – 201.

Perez, O.E., Carrera Sanchez, C., Rodriguez Patino, J.M. y Pilosof, A.M.R.(2006). Thermodynamics and dynamics characteristics of hydroxypropylmethylcellulose adsorbed films at the air water interface. *Biomacromolecules*, 7: 388-393.

Perez, O.E., Carrera Sanchez, C., Pilosof, A.M.R. y Rodriguez Patino, J.M. (2008). Dynamics of adsorption of hydroxypropylmethylcellulose at the air- water interface. *Food Hydrocolloids*, 22, 387 – 402

Rodríguez Niño, M. R. y Rodríguez Patino, J. M. (1998). Surface tension of protein and insoluble lipids at the air-aqueous phase interface. *Journal American Oil Chemistry Society*, 75, 1233-1239.

Rodríguez Niño, M.R. y Rodríguez Patino, J.M. (2002). Effect of the aqueous phase composition on the adsorption of bovine serum albumin to the air- water interface. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 41, 1489 – 1495.

Rouzes, C., Durand, A., Leonard, M. y Dellacherie, E. (2002). Surface activity and emulsification properties of hydrophobically modified dextrans. *Journal of Colloid and Interface Science*, 253, 217 – 223.

Wollenweber, C., Makievski, A.V., Miller, R. y Daniels, R. (2000). Adsorption of hydroxypropylmethylcellulose at liquid/ liquid interface and the effect on emulsion stability. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 172: 91-101.