



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*

“Determinación de las propiedades reológicas y difusivas de hidrogeles para su uso potencial como matrices para la formación de semillas artificiales”

T E S I S

Que para obtener el grado de Especialización en Biotecnología

P R E S E N T A

IBQ Eristeo García Márquez

Asesor
Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter

México D.F.

Septiembre, 2006

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Bioprocesos del Departamento de Ingeniería de Procesos e Hidráulica de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa bajo la asesoría del Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter

1 de septiembre de 2006

El Jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa aprobó la comunicación idónea de los resultados

“Determinación de las propiedades reológicas y difusivas de hidrogeles para su uso potencial como matrices para la formación de semillas artificiales”

que presentó el alumno: IBQ Eristeo García Márquez

Asesor:

Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter
Departamento de IPH
UAM-Iztapalapa

Lector:

Dr. Francisco Cruz Sosa
Departamento de Biotecnología
UAM-Iztapalapa

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter por el apoyo brindando para la realización de la Especialización

Al Dr. Francisco Cruz Sosa por la revisión del manuscrito final y por la ayuda prestada en el desarrollo de la Especialización en Biotecnología

A mis compañeros del Laboratorio de Bioprocesos (T-166)

A la Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa (UAM-I) por el financiamiento parcial de este proyecto a través del programa de investigación multidisciplinario “Encapsulación de embriones somáticos de mezquite para su propagación como cultivo energético para el desarrollo sustentable en zonas áridas y semiáridas de México”

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento parcial de este proyecto a través del convenio U45992-Z

RESUMEN

En general, el estudio de los biopolímeros hasta hace algunos años había recibido una atención limitada, esta situación se refleja en el hecho establecido de que México importa casi el total de sus polímeros de origen biológico industriales (llamados también gomas o hidrocoloides), así como la tecnología para su utilización en el sector alimentario y biotecnológico. Se conoce que a lo largo del territorio y litoral del país existen recursos bióticos abundantes de posible explotación sustentable para la producción industrial de estos biopolímeros. El alginato ha sido el biopolímero de elección en la encapsulación de explantes vegetales, en más del 90% de las investigaciones recientes no se reportan las propiedades reológicas y difusivas de éstas matrices encapsulantes, que determinan las propiedades mecánicas e intercambio de gases, producto del metabolismo de los explantes ubicados dentro de una matriz polimérica. Se elaboró una solución estándar de alginato de sodio al 2% en peso en combinación con soluciones de iones calcio (CaCO_3) de 100 mM a 300 mM, utilizando como liberador de iones calcio a la D-glucono- δ -lactona. Se realizó un estudio comparativo entre las mezclas de cuatro biopolímeros (alginato, guar, algarrobo y goma de mezquite) al 2% en peso cada una con una solución de iones calcio 100 mM. Todas las determinaciones reológicas se realizaron a una temperatura de 25°C. Se determinaron barridos de deformación entre 0.1 y 100 Pa a una frecuencia de 1 Hz para encontrar la región viscoelástica lineal, obteniéndose un intervalo viscoelástico lineal entre 0.1 y 2 Pa. Para determinar el barrido de frecuencia en función de las concentraciones de iones calcio se usó un esfuerzo de 1 Pa, dando los mejores valores del módulo de almacenamiento (G') en el intervalo de concentración de iones calcio (170 y 210 mM) con alginato al 2%. Para las mezclas de biopolímeros los mejores valores del módulo de almacenamiento (G') se obtuvieron en una concentración de ión calcio de 100 mM, usando las combinaciones: alginato / algarrobo/ mezquite (50 /12.5 / 37.5) y con alginato / algarrobo/ guar (50 /37.5 / 12.5) dando como resultado que estos tratamientos dan mezclas viscoelásticas e independientes de la frecuencia en el intervalo ensayado. En este trabajo se muestra el efecto de la concentración de alginato y la concentración de catión polivalente en la formación de geles. Así mismo, se estudian las concentraciones relativas de biopolímeros en la formación de geles y se estudia la región viscoelástica lineal.

INDICE

1. INTRODUCCION	07
2. ANTECEDENTES	09
3. HIPOTESIS	14
4. OBJETIVO GENERAL	14
5. OBJETIVO ESPECIFICOS	14
6. METODOLOGIA	
6.1 Biopolímeros usados	15
6.2 Dispersión de biopolímeros	16
6.3 Método de elaboración de geles	19
6.4 Ensayos reológicos	22
7. RESULTADOS Y CONCLUSIONES	
7.1 Módulo de almacenamiento (G')	23
7.2 Región viscoelástica lineal en las combinaciones de biopolímeros	26
8. LITERATURA CITADA	30
9. ANEXOS	
Anexo 1. Características de los biopolímeros	35
Anexo 2. Caracterización reológicas	36

1. INTRODUCCIÓN

Desde hace 30 años, México sufre en sus recursos naturales y su medio ambiente tendencias de deterioro cada vez más alarmantes, estas se expresan en elevadas tasas de pérdida de la biodiversidad, causando deforestación, erosión de suelos, desertificación, contaminación de las principales cuencas hidrológicas y contaminación atmosférica. Este problema crónico muestra nuestra situación actual. El 70% de las tierras están en riesgo de convertirse en zonas áridas (ONU, 2005), en zonas desérticas se pierden 4 millones de hectáreas por año y 500 mil hectáreas de bosques por año, además de existir 90 millones de hectáreas de terreno cultivable con pérdida sustancial de productividad y 120 millones de hectáreas de terreno cultivable considerados como degradados

Debido a esta sobreexplotación se pierde flora y fauna propia de estos lugares incluido el árbol del mezquite, que desde tiempos ancestrales ha sido el sustento de alimentación de las comunidades de las zonas desérticas del país (Masera, 1997; Challenger, 1998). El mezquite tiene usos múltiples, de su corteza se extrae taninos para curtir pieles, tronco, tallo y ramas exudan goma que es potencialmente sustituto de la goma arábiga, de sus hojas se preparan infusiones para curar afecciones de los ojos, de su vaina se obtiene harina, rica en carbohidratos y proteína 100 por 100 digerible, además de ser una fuente importante para extraer mucílago con características similares a las de la goma guar (Felker y Bandurski, 1979; García y Galindo, 1986; Anderson y Weiping, 1989, Figuereido, 1990; Salih, 1998; Vernon-Carter y col., 1998; Maldonado-Aguirre y De la Garza, 2000).

Dada la situación y al observar el peligro en que se encuentra el árbol de mezquite, en éste proyecto se propone desarrollar matrices polimétricas que sirvan para proteger a las semillas sintéticas que se desarrollan en un proyecto multidisciplinario mayor.

En este proyecto se estudiarán interacciones de la goma de mezquite y las galactomannanas (goma guar y goma de algarrobo) comparándose con el alginato que se ha utilizado como matriz encapsulante.

2. ANTECEDENTES

Una gran limitante en la producción práctica de las semillas artificiales (Figura 1) ha sido el empirismo con que han se han desarrollado. Más del 90% de los estudios reportados han utilizado como material encapsulante al alginato de sodio (Redenbaugh y col., 1987; Bajaj 1995a, b) sin considerar las propiedades mecánicas y difusivas en estos hidrogeles, que son las que eventualmente determinan las propiedades funcionales y viabilidad de las semillas artificiales. El recubrimiento de una semilla artificial además de brindar protección al embrión somático contra daños mecánicos, debe de ser lo suficientemente “blando” para que al germinar el embrión pueda romper la cubierta y salir. Los hidrogeles o matrices poliméricas que recubren al embrión deben ser capaces también de retener los nutrientes con los que éste se nutre sin que estos se lixivien. Más aún, deben de permitir el intercambio gaseoso debido a la respiración del embrión, es decir, la difusión del oxígeno hacia el interior, y hacia el exterior el CO₂. Finalmente, en estudios recientes se ha reportado que la dormancia de los embriones cigóticos, es útil en la propagación de plantas, particularmente si se quiere lograr una germinación sincronizada y, estabilidad de las semillas artificiales en almacenamiento a largo plazo. La germinación prematura es uno de los mayores problemas en embriogénesis somática, ya que se vuelve incontrolable la germinación y almacenamiento a largo plazo se vuelve difícil (Choi y Jeong, 2002). La desecación de las semillas artificiales a un nivel de actividad acuosa que retarde la germinación del embrión somático es un paso ideal para solventar estos problemas, siempre y cuando el proceso de secado no resulte en un detrimento de su supervivencia (Choi y Jeong, 2002).

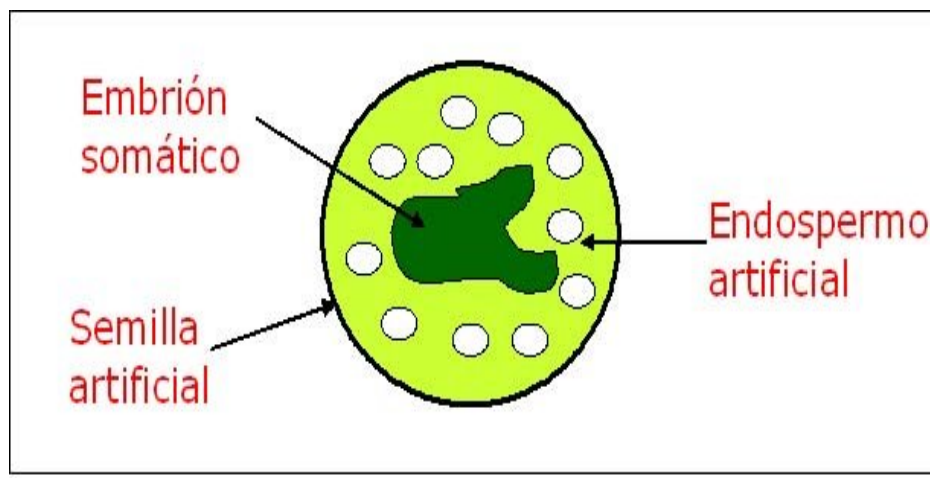


Figura 1. Esquema de una semilla artificial

La única manera de lograr encapsular embriones somáticos en matrices poliméricas “hechas a la medida” es entendiendo los mecanismos moleculares de la asociación de polisacáridos durante la formación de hidrogeles y/o películas (Morris, 1991). De esta manera se pueden desarrollar métodos científicos, en vez de empíricos, que conlleven al diseño de procesos y a la selección de materiales (v. gr. Las mismas gomas que produce el mezquite) ad hoc que permitan optimizar las propiedades funcionales del producto final (Nussinovitch, 1997).

La tecnología de las semillas artificiales es un sistema de alta eficiencia de multiplicación masiva de los propágulos clonados de la fuente parental, que tienen la capacidad de ser sembrados directamente en el suelo o germinar *in vitro* y luego sus plántulas ser trasplantadas (Figura 2)

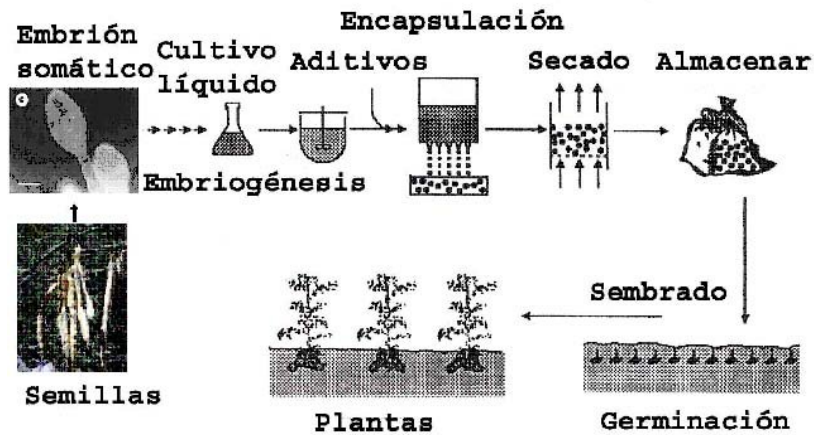


Figura 2. Proceso de producción de las semillas artificiales

Las semillas artificiales se pueden aplicar a una gran variedad de especies de plantas: ornamentales, horticolas, coníferas, cultivos industriales (algodón, soya, etc.), forrajes, cereales, recuperación de flora autóctona, transgénicos, etc. La semilla artificial al combinar el sistema de propagación vegetativa (multiplicación clonal) con la capacidad de almacenaje a largo tiempo tiene diversas aplicaciones en la agricultura.

Muchas especies son estériles y no producen semillas. La embriogénesis somática puede ser una alternativa con relación a los esquejes de éste tipo de plantas. Otras especies producen semillas recalcitrantes que no pueden ser secadas. En consecuencia, el almacenaje de larga duración en bancos de germoplasma de estas especies no es posible, La semilla artificial puede ser una alternativa. En especies autógamas, donde la producción de semilla híbrida es difícil y muy costosa, la tecnología de la semilla artificial ofrece muchas ventajas y oportunidades (McKersie, 1995)

Los materiales usados para encapsular los embriones somáticos deben ser análogos a la testa de las semillas naturales. Las testas sintéticas no solo deben cumplir la función de protección física de los embriones somáticos, sino que además deben permitir que dichas cápsulas contengan nutrientes, antibióticos, fungicidas, microorganismos, etc., como elementos que favorezcan la germinación y posterior sobre vivencia de la plántula (Senaratna, 1992)

El alginato tiene múltiples propósitos en la industria, es ampliamente usado, fácilmente puede enumerarse una lista de sus aplicaciones comerciales en diferentes áreas, por ejemplo; impresión en textiles, pegamento para encuadernación, helados, aderezos, estabilización de la espuma en la cerveza, re-estructurante en vegetales y frutas, jaleas, alimento para animales (Whistler y BeMiller, 1999).

En la fabricación de semillas artificiales el embrión somático es encapsulado en una matriz de alginato que lo soporta, protege y contiene los nutrimentos necesarios para los procesos de germinación y conversión. En la encapsulación de embriones somáticos a sido el material de elección, existiendo limitaciones en la producción práctica de las semillas artificiales, por la forma empírica con que se han desarrollado, no se conocen las propiedades mecánicas de estos hidrogeles. Estas propiedades determinan las propiedades funcionales y la viabilidad de las semillas artificiales (.Bajaj, 1995a, Choi y Jeong, 2002, Piccioni y Standard, 1995, Fang y col., 2004).

La matriz polimérica además de brindar protección al embrión contra daños mecánicos, debe ser lo suficientemente “blando” para que al germinar el embrión, este pueda emerger

de la testa sintética, al mismo tiempo, debe retener los nutrientes, “no debe permitir la lixiviación”, más aún debe controlar la tasa de respiración e intercambio de los gases, producto del metabolismo, ya que de esta manera, podrá controlarse la tasa de germinación, su transporte y consecuentemente su almacenamiento(Choi y Jeong, 2002).

En este trabajo, se busca comparar las propiedades reológicas de los hidrogeles de alginato, con geles elaborados de las propias gomas, que produce el árbol del mezquite (goma exudada de los tallos y la goma que se obtiene de la vaina). La goma que se obtiene de la semilla de la vaina es estacional, no se cuenta con ella, en sustitución, se usó para este proyecto gomas que igualmente provienen de semillas (goma guar y goma de algarrobo), que también son galactomananas con propiedades fisicoquímicas similares.

En la elaboración de hidrogeles de alginato y de las combinaciones de biopolímero, el reactivo gelante (CaCl_2), forma geles instantáneamente (gelación por difusión) que difícilmente forman geles homogéneos, más aún cuando la concentración de catión polivalente aumenta. Para solucionar este problema se usó CaCO_3 en una relación de un mol por 2 moles de D-glucono- δ -lactona (Draget, 2003, Donati 2005). El objetivo de este trabajo fue caracterizar reológicamente matrices de alginato y comparar los resultados obtenidos con las combinaciones de biopolímeros en función de la concentración de iones calcio.

3. HIPÓTESIS

Los geles elaborados a partir de la goma de mezquite en combinación con goma guar o goma de algarrobo tienen la capacidad de formar matrices con propiedades reológicas y difusivas adecuadas para la encapsulación de explantes vegetales

4. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar matrices encapsulantes a partir de goma de mezquite en combinación con goma guar o goma algarrobo (en sustitución del mucílago que se obtiene de la semilla del mezquite), estudiando las concentraciones relativas entre biopolímeros y la concentración de catión polivalente buscando que permitan proporcionar protección mecánica, retención del medio nutritivo y una adecuada difusión de los gases, comparándose con la matriz de alginato.

5. OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar la concentración relativa de biopolímeros para formación geles.

Estudiar la concentración de catión polivalente vs concentración de biopolímeros en la formación de geles.

Determinar las propiedades reológicas y difusivas de los geles formados.

Estudiar la interacción de las propiedades reológicas en los geles con respecto de la temperatura.

6. METODOLOGIA

6.1 Biopolímeros usados

Los diferentes biopolímeros utilizados se muestran en la Tabla 1, dando el número de lote, el peso molecular y el proveedor. Los biopolímeros utilizados (goma guar, Lote No. 1788, el 91.50% pasa por malla 700, PM 225,000 y goma de algarrobo, L-70E, No. Lote 311781314, el 95% para por malla 200, PM 310,000) se obtuvieron de Industrias Ragar, S. A. de C. V., el alginato (Lote No. ALS0F, PM 225,000) se obtuvo de la compañía Alquimia de México. La goma de mezquite se obtuvo del Municipio de Río Verde, San Luís Potosí.

Tabla 1. Tipo de biopolímeros, lote, peso molecular y compañías proveedoras

Polímero	Lote	Peso molecular	Proveedor.
Alginato	ALS0F	280 000 a 330 000	Alquimia de México
Goma guar	1788	225 000	Industrias Ragar
Goma	311781314	310 000	Industrias Ragar
Algarrobo L-70E			
Goma	-	2.5X10 ⁶	Estado de San Luís
Mezquite			Potosí

6.2 Dispersión de biopolímeros

Para asegurar la disolución de los biopolímeros, primero se adiciona agua en cantidad mínima, hasta formar una pasta suave, en seguida se adiciona el agua restante para su disolución completa. Todas las disoluciones de los biopolímeros se dispersaron en un equipo de alto corte (Silverson modelo LR4, Inglaterra), en la Tabla 2 se resumen las condiciones en que se prepararon las disoluciones.

La solución estándar de alginato al 2% en peso, se disuelve en agua destilada mezclando por 5 min. Esta solución se calentó a 80°C en baño maría por un tiempo de 30 min. Las disoluciones de goma guar y goma de algarrobo se disolvieron en agua destilada mezclando por 5 min a temperatura de 25°C, finalmente se agregaron en un matraz Erlenmeyer, el cual se selló y se calentó a 80° C en baño maría por un tiempo de 30 min.

Solución estándar de goma de mezquite (20% w /w). Se disuelve la goma de mezquite en agua destilada, agitando por 20 min a temperatura de 25°C, se filtra a vacío, se pasa a un matraz Erlenmeyer sellado y se calienta a 75°C por un tiempo de 30 min en baño maría, de esta solución se hicieron alícuotas para obtener muestras al 2%.

Tabla 2. Datos obtenidos de las soluciones preparadas. Se especifica el esfuerzo cortante de las disoluciones porque a excepción de la goma de mezquite (newtoniano) las demás soluciones se comportan como fluidos pseudoplásticos.

Polímero	% en peso	PH	Viscosidad (Pa.s) a $\sigma = 1 \text{ Pa}$
Alginato	2	6.35	5.525
Goma guar	2	4.93	474.5
Goma algarrobo	2	5.14	36.67
Goma mezquite	20	5.33	0.023

Para asegurar la hidratación y eliminación de aire atrapado en las disoluciones se mantuvieron a 4°C por un tiempo de 24 h. Se corrigió su concentración relativa por medio de refractometría a 20°C.

Para la preparación de los geles de alginato se usó CaCO_3 200 y 400 mM y D - (+) - Glucono – δ -lactona en concentraciones de 400 mM y 800 mM. En la preparación de geles y concentración relativa de biopolímeros se usaron las siguientes sales: $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$ al 1% (w /w), CaCl_2 100 mM, BaCl_2 100 mM y FeCl_3 100 mM (Tabla 3)

Tabla 3. Reactivos gelantes usados (grado analítico)

$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$
CaCO_3
CaCl_2
BaCl_2
FeCl_3

Disolución de biopolímeros. La disolución de goma de mezquite (20% w /w) se disuelve en agua destilada, agitando por 20 min a temperatura de 25°C, se filtra a vacío, se pone en un matraz Erlenmeyer sellado y se calienta a 75° C por un tiempo de 30 min en baño maría

Las disoluciones de goma de algarrobo (1% w /w) y goma guar (1% w /w) se disuelven en agua destilada mezclando por 45 min a temperatura de 25°C. Para asegurar la disolución de estas gomas, primero se adiciona agua en cantidad mínima, hasta formar una pasta suave (condición necesaria para su preparación y disolución efectiva para su aplicación), en seguida se adiciona el agua restante para su disolución completa, finalmente se agregan en un matraz Erlenmeyer, se sella y se calientan a 80° C por un tiempo de 30 min en baño maría

La disoluciones de alginato (1.5%, 2%, 2.5% y 3% w /w) se disuelven en agua destilada agitando por 20 min a temperatura de 25°C. Para asegurar la disolución de estas gomas, primero se adiciona agua en cantidad mínima, hasta formar una pasta suave (condición necesaria para su preparación y disolución efectiva para su aplicación), en seguida se

adiciona el agua restante para su disolución completa, finalmente se adiciona en un matraz Erlenmeyer, se sella y se calientan a 80° C por un tiempo de 30 min.

Todas las disoluciones de biopolímeros preparadas, se mantienen en reposo a temperatura de 25°C por 12 h para su hidratación completa, finalmente se verifica la concentración por medio de un refractómetro Abbe, de ser necesario se corrige.

6.3 Método de elaboración de geles

A la disolución de alginato al 2% se adiciona el reactivo gelante (CaCO_3), se mezcla perfectamente y para eliminar el aire atrapado se utilizó una estufa (Cole & Parmer, EUA) de vacío a 0.5 atm por un tiempo de 10 min.

A esta mezcla se adicionó D – Glucono – δ - lactona en una relación de $\text{DGL} / \text{CaCO}_3 = 2$, manteniendo en todos los casos esta relación, luego se vacía en moldes ($D_i = 25$ mm y altura de 15 mm) el volumen es de 7.36 cc. Los geles obtenidos se ponen en una bolsa, se sella y se mantienen por 12 h a una temperatura de 5°C, para asegurar reproducibilidad en las mediciones reológicas (ver tabla 5).

Tabla 4. Hidrogeles de alginato, la concentración de alginato disminuye un 20% en todos los casos.

Experimento	Alginato 2% (g)	CaCO ₃ (mM)	D-glucono- δ -lactona (mM)
1	10	100	200
2	10	150	300
3	10	170	340
4	10	190	380
5	10	210	420
6	10	230	460
7	10	250	500
8	10	300	600

Con las combinaciones de biopolímeros se prepararon hidrogeles usando una concentración fija de 100 mM CaCO₃ para su caracterización reológica y comparación, aplicando el mismo procedimiento utilizado en la elaboración de los hidrogeles de alginato.

Tabla 5. Combinación de biopolímeros para la preparación de geles, la concentración de biopolímeros disminuye un 20% en cada caso.

# Prueba	Biopolímero				D (+) - Glucono		Parte
					CaCO ₃	δ - Lactona	
	Algarrobo	Alginato	Guar	Mezquite	100 mM	200 mM	
	2%	2%	2%	2%			
1	-	0.5	0.5	-	1	1	A
2	0.125	0.5	0.375	-	1	1	
3	0.25	0.5	0.25	-	1	1	
4	0.375	0.5	0.125	-	1	1	
5	-	0.5	-	0.5	1	1	B
6	0.125	0.5	-	0.375	1	1	
7	0.25	0.5	-	0.25	1	1	
8	0.375	0.5	-	0.125	1	1	
9	0.5	0.5	-	-	1	1	C
10	-	0.5	0.125	0.375	1	1	
11	-	0.5	0.25	0.25	1	1	
12	-	0.5	0.375	0.125	1	1	

6.4 Ensayos reológicos

Todas las determinaciones reológicas se realizaron a 25°C, usando un reómetro Paar Physica DRS4000 (Physica Mebtechnik GMBH, Alemania) equipado con geometría de platos paralelos de 40 mm. La temperatura del sistema fue controlada por medio del plato inferior con un sistema peltier integrado (precisión de ± 0.1 °C); para prevenir la evaporación de la muestra se usó un dispositivo cerrado que evita la perdida del agua durante el experimento. La caracterización reológica en los hidrogeles de alginato y de las combinaciones de biopolímeros se determinaron por medio de pruebas viscoelásticas dinámicas de baja deformación. Se realizó un barrido de esfuerzo entre 0.1 y 100 Pa, para encontrar la región viscoelástica lineal a una frecuencia constante de 1 Hz. Posteriormente se realizó un barrido de frecuencia entre 0.1 y 20 Hz a un esfuerzo constante de 1 Pa dentro de la región viscoelástica lineal. Todas las pruebas se realizaron por triplicado y se reportan los valores promedio en cada caso.

7. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

7.1 Módulo de almacenamiento (G')

En la Figura 3, se observa que en la región viscoelástica lineal (1 Hz) al aumentar la concentración de iones calcio en el intervalo de 100 mM a 300 mM, el módulo de almacenamiento (G') aumenta, debido a que existe un mayor entrecruzamiento entre el polímero de alginato y los iones calcio. El aumento de (G') expresa la magnitud de la energía que es almacenada en el hidrogel por ciclo de deformación, este rearrreglo molecular es debido al escudamiento electrostático (repulsión de carga) mayor haciendo que disminuya la interacción de van der Waals. En las concentraciones de 170 y 200 mM de iones calcio se observa que G' se mantiene constante, en consecuencia existe mayor viscoelasticidad de los hidrogeles, debido al equilibrio que existe entre las cargas electrostáticas de el ácido glucorónico y el ión calcio. La región viscoelástica es constante en un intervalo de 0.1 Pa a 1.5 Pa.

En la Figura 4, se muestra el comportamiento del módulo de almacenamiento en función de la frecuencia. En el intervalo de 150 a 220 mM de iones calcio se exhibe la mejor interacción electrostática (entrecruzamiento) del alginato. Las interacciones electrostáticas a concentraciones menores de 150 mM de ión calcio con el polímero de alginato son dependientes de la frecuencia, haciendo que disminuya su módulo de almacenamiento, debido a que existe predominancia de las fuerzas de van der Waals (rompimiento), es decir la interacción electrostática no influye en este intervalo, a concentraciones mayores de 220 mM de iones calcio en estos hidrogeles existe el mayor escudamiento electrostático, causado por la repulsión de las cargas positivas, disminuyendo el entrecruzamiento

electrostático entre los iones calcio y el polímero de alginato, causa que origina hidrogeles dependientes de la frecuencia.

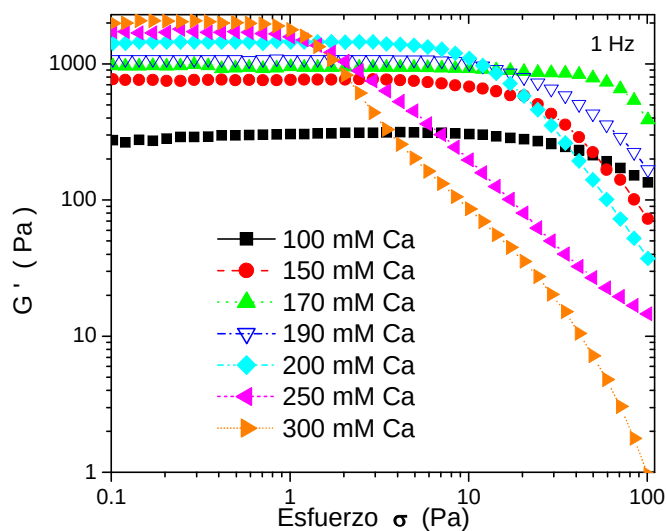


Figura 3. Barrido de amplitud para alginato al 2% en función de $[Ca^{2+}]$

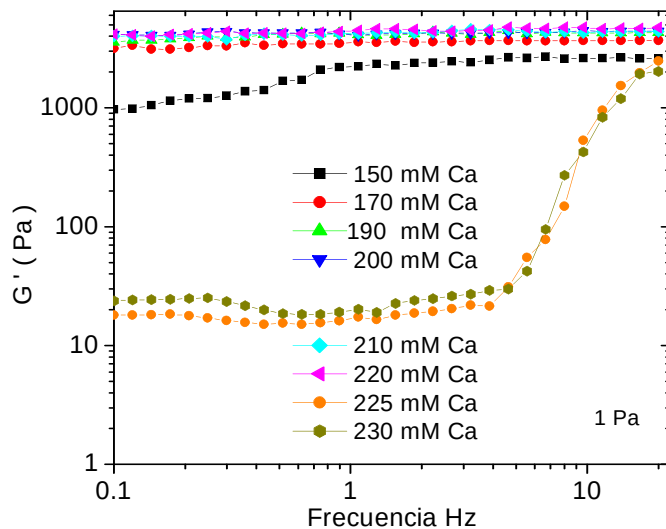


Figura 4. Barrido de frecuencia para alginato al 2%, en función de $[Ca^{2+}]$

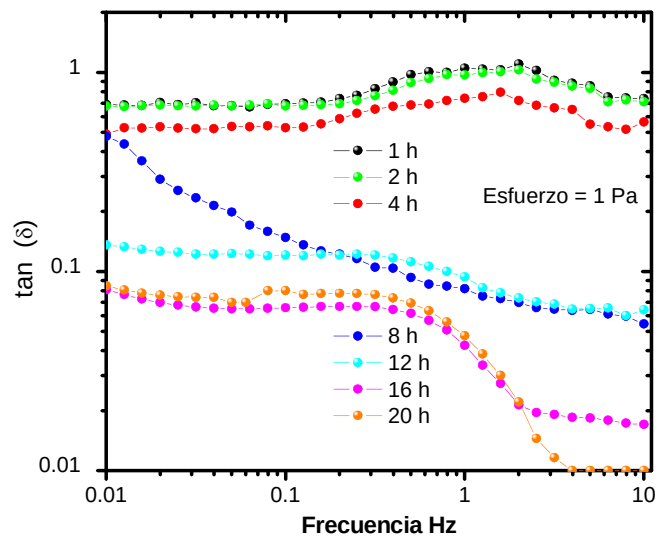


Figura 5. Se muestra $\tan (\delta)$ con respecto a la frecuencia el tiempo de gelación para las mezclas de biopolímero

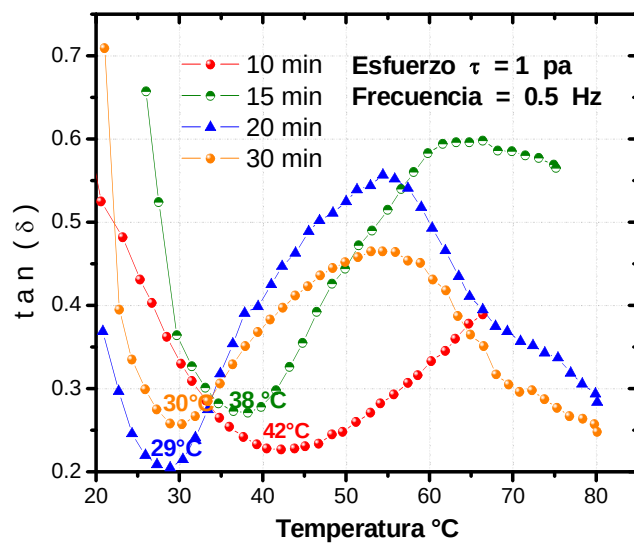


Figura 6. Se muestra $\tan (\delta)$ con respecto a la frecuencia el tiempo de gelación para las mezclas de biopolímero a una temperatura de 30 °C, por un tiempo de 20 min

Debido a la variación en los resultados del módulo de almacenamiento (G'), fue necesario hacer un barrido de frecuencia a un esfuerzo constante. En la Figura 5, se observa que el tiempo de gelación reproducible ocurre entre las 16 y 20 h, para disminuir este tiempo se realizó un barrido de temperatura a un esfuerzo y frecuencia constantes, disminuyendo notablemente el tiempo de gelación de h a min., en este trabajo se uso una temperatura de 30°C por un tiempo de 20 min (figura 6).

7.2 Región viscoelástica lineal en las combinaciones de biopolímeros

Para conocer la región viscoelástica lineal en las mezclas de biopolímeros, se realizó un barrido de amplitud (Figura 5 a Figura 7) contra el módulo de almacenamiento, mostrando comportamiento lineal en un rango de 0.1 Pa a 10 Pa. En todos los casos se observa que el módulo de almacenamiento permanece constante y no aumenta con cualquiera de las mezclas de biopolímeros. En la Figura 5, al aumentar el esfuerzo en los geles de alginato / guar (50: 50), alginato / algarrobo / guar (50: 12.5: 37.5) y alginato / algarrobo / guar (50: 37.5: 12.5), estos se estructuran más y adquieren el comportamiento de un sólido, propiedad que no se presenta en los geles de alginato.

El gel preparado con alginato / algarrobo / guar (50: 25: 25), tiene características similares al gel de alginato, aunque sus módulos no sean comparables.

En la Figura 6, los geles de las mezclas de biopolímeros de alginato / mezquite (50: 50) y alginato / algarrobo / mezquite (50: 12.5: 37.5), se estructuran y adquieren el

comportamiento de un sólido cuando aumenta el esfuerzo, excepto los geles preparados con las combinaciones de biopolímeros restantes.

En la Figura 7, el gel de la mezcla alginato / guar / mezquite (50: 37.5: 12.5) se estructura y adquiere comportamiento de un sólido cuando se aumenta el esfuerzo, excepto en los geles preparados con las combinaciones restantes.

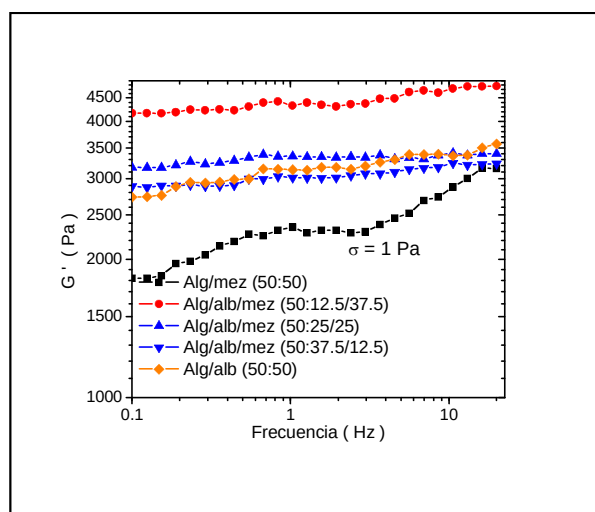


Figura 5. Se muestra el esfuerzo en las mezclas de geles de alginato / guar (50: 50), alginato / algarrobo / guar (50: 12.5: 37.5) y alginato / algarrobo / guar (50: 37.5: 12.5).

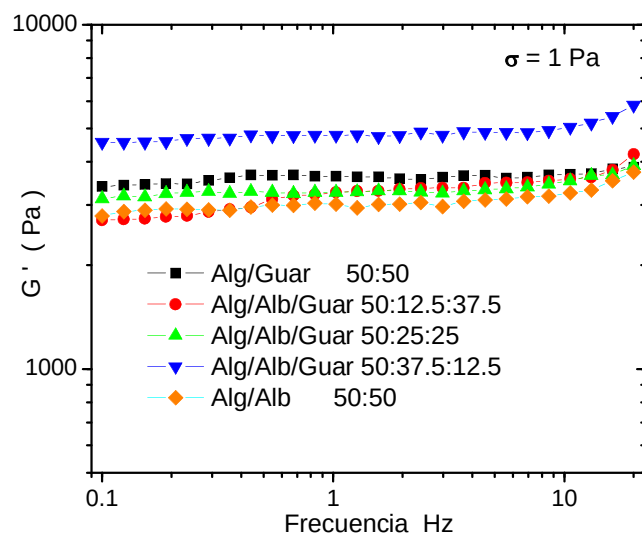


Figura 6. Se muestran los geles de las mezclas de biopolímeros de alginato / mezquite (50: 50) y alginato / algarrobo / mezquite (50: 12.5: 37.5)

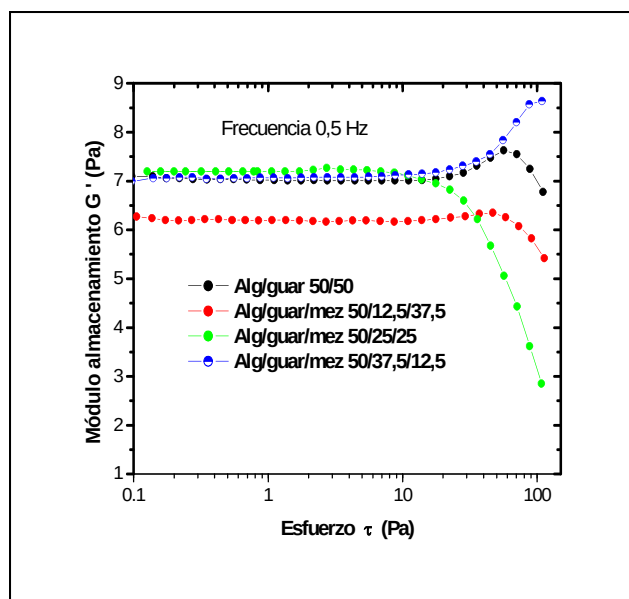


Figura. 7. Se muestra el comportamiento de la mezclas alginato / guar y alginato / guar / mezquite

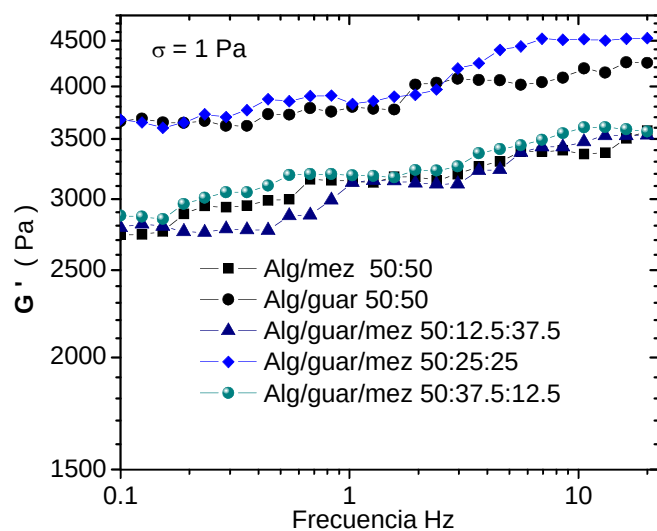


Figura. 8. Se muestra el comportamiento de la mezclas alginato / mezquite, alginato / guar y alginato / guar / mezquite

8. LITERATURA CITADA

Semillas artificiales:

- Bajaj, Y.P.S., 1995a. *Somatic embryogenesis and synthetic seed. I. Biotechnology in Agriculture and Forestry 31*, Springer, Alemania.
- Bajaj, Y.P.S., 1995b. *Somatic embryogenesis and synthetic seed II. Biotechnology in Agricultura and Forestry 31*, Springer, Alemania.
- Choi, Y.E. y Jeong, J.H., 2002. Dormancy induction of somatic embryos of Siberian ginseng by high sucrose concentration enhances the conservation of hydrated artificial seeds and dehydration resistance. *Plant Cell Rep.* 20, 1112-1116.
- Sakar, D. y Prakash, S. N. 1998. Synseeds in potato: an investigation using nutrient-encapsulated *in vitro* nodal segments. *Scientia Horticulturae* 73, 179-184
- Piccioni, E. y Standard, A., 1995. Encapsulation of micropropagated buds of six woody species. *Plant Cell, Tissue & Organ Cult.* 42, 221-226
- Saiprasad, G. V. S. 2001. Artificial seeds and their applications. *Resonance* 7, 39-47.
- Fang, J. Y., Wetten, A. y Hadley, P, 2004. Cryopreservation of cocoa (*Theobroma cacao*, L.) somatic embryos for long-term germplasm storage. *Plant Sci.* 166, 669-675.
- Tay, F.L., Khoh, L.K., Loh, C.S. y Khor, E., 1993. Alginate-chitosan coacervation in production of artificial seeds. *Biotechnol. Bioeng.* 42, 449-454.
- Maldonado-Aguirre, L. J., y de la Garza, F. E., 2000. El mezquite en México: Rasgos de importancia productiva y necesidades de desarrollo. En: J. T. Frías-Hernández, V. Olalde-Portugal & E. J. Vernon-Carter (Eds.), *El mezquite árbol de usos múltiples. Estado actual del conocimiento en México* (pp.37-50), Guanajuato, México: Universidad de Guanajuato.

- Masera, O. 1997. *La deforestación en México* (Documento de trabajo núm.19). Pátzcuaro, México.
- McKersie, B. D. 1995. Somatic embryogenesis in alfalfa: A model for the development of dry artificial seed technology. 833-846. En: J. Kigel & G. Galili (Eds.), *Seed development and germination* (pp. 833-846), Marcel Dekker, Inc. Nueva York.
- Redenbaugh, K., Slade, D., Viss, P. y Fujii, J.A. 1987. Encapsulation of somatic embryos in synthetic seed coats. *HortScience* 22, 803-809.
- Salih, A.A., 1998. Root and shoot growth of *Prosopis chilensis* in response to soil impedance and soil matric potential. *J. Arid Environ.* 40, 43-52.
- Senaratna, T., 1992. Artificial seeds. *Biotech. Adv.* 10, 379-392.
- Sorvari, S., Toldo, O., Ahanen, K., Tuula, V., Kakonen, T. y Tahvonen, R., 1997. Using polysaccharides and galactomannans as gelling agents in capsule formation of artificial seeds. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 122 (6), 878-993.
- Vernon-Carter, E.J., Beristain, C.I., y Pedroza-Islas, R., 1998. Stability of *Capsicum annum* oleoresin in water emulsions containing *Prosopis* and *Acacia* gums. *J. Texture Studies* 29, 553-567.

Métodos de gelación:

- Ivan, D., Holtan, S., Mørch, Y.A., Borgogna, M., Dentini, M. y Skjåk-Bræk, G., 2005. New hypothesis on the role of alternating sequences in calcium-alginate gels. *Biomacromol.* 6, 1031-1040.
- Ingar, D.K., Stokke, B.T., Yoguchi, Y., Urakawa, H. y Kajiwar, K. 2003. Small-angle X-ray scattering and rheological characterization of alginate gels. 3. Alginic acid gels. *Biomacromol.* 4, 1661-1668.

Interacción molecular en biopolímeros:

- Anderson, D.M.W. y Weiping, W., 1989. The characterization of proteinaceous *Prosopis* (mesquite) gums which are not permitted food additives. *Food Hydrocoll.* 3, 235-242.
- Atilio, C., 1995. *Phase separation involving ordered biopolymer systems. Pure Appl. Chem.* 67(4), 561-568
- Felker, P. y Bandurski, R.S. 1979. Uses and potential uses of leguminous trees for minimal energy input agriculture. *Economic Botany* 33 (2), 172-184.
- Figuereido, A.A., 1990. Mesquite: History, composition, and food uses. *Food Technol.* 44(11), 118-128.
- García, M.E. y Galindo A.S., 1986. The uses of mesquite (*Prosopis* spp.) in the highlands of San Luis Potosí, Mexico. *Forest Ecol. Manag.* 16, 49-56.
- De Boisseson, M., Leonard, M., Marchal, P., Stequert, A., Castel, C., Favre, E. y Dellacherie, E, 2004. Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: Bead formation, structure, and stability. *J. Colloid Int. Sci.* 273, 131-139.
- Morris, V.J., 1991. Weak and strong polysaccharide gels. En: E. Dickinson (Ed.), *Food polymers, gels, and colloilloids* pp. 310-321), Royal Society of Chemistry, Londres, Inglaterra.
- Nussinovitch, A., 1997. *Hydrocolloid applications*. Blackie Academic and Professional, Inglaterra.
- Tolstoguzov, V. B., 2003. Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocoll.* 17, 1-23.

Whistler, R. L. y BeMiller, J. N., 1999. *Carbohydrate chemistry for food scientists*. Eagan Press, EUA.

Reología:

Moresi, M., Bruno, M., y Parente, E. 2004. Viscoelastic properties of microbial alginate gels by oscillatory dynamic test. *J. Food Eng.* 64, 179-186.

Rao, M. A., 1999. *Rheology of fluid and semisolid foods*. Principles and applications. Aspen Publications, EUA.

Steffe, J.F., 1996. *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press, EUA.

9. ANEXOS

Anexo 1. Características de los biopolímeros

BIOPOLIMERO	SACARIDOS	RELACION	RAMIFICACIÓN	OTRAS	
		MOLAR		CARACTERISTICAS	
Mezquite	L-arabinosa	2	Altamente	pH 4.7	
	D-galactosa	4	Ramificado	Altamente	
	ácido 4 -O-metil-			Soluble	
	D-glucurónico	1		PM=1.6 millones	
	L-ramnosa	1			
Algarrobo	Mannosa	4	Lineal	Poco soluble	
	Galactosa	1		pH 5.33	
Guar	Mannosa	2	Lineal	Poco soluble	
	Galactosa	1		pH 5.14	310 000
Alginato	Acido α -L-gulurónico		Lineal	Poco soluble	
	acido β -D-mannurónico			pH 6.4	
	(La proporción de sacáridos y				
	secuencia es variada)				
	MMMMGMGGGGGMGM-				
	GGGGGGGMMGMGMGM				

Anexo 2. Caracterización reológicas

Algarrobo:

1%; 0.1 Pa; $\mu = 15 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, a 10 Pa, $\mu = 4 \text{ Pa}\cdot\text{s}$

2%; 0.1 Pa; $\mu = 100 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, a 10 Pa, $\mu = 25 \text{ Pa}\cdot\text{s}$

Alginato

Solución al 1% $\mu = \sigma / \dot{\gamma}$ cte.

[2%]'s > 1%; fluido pseudoplástico

Goma Guar: 1%; 0.1Pa; $\mu = 35 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, a 10 Pa, $\mu = 20 \text{ Pa}\cdot\text{s}$

2%; 0.1Pa; $\mu = 1000 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, a 10 Pa, $\mu = 400 \text{ Pa}\cdot\text{s}$

Mezquite:

[20%] < es Newtoniano, [20%] > es pseudoplástico

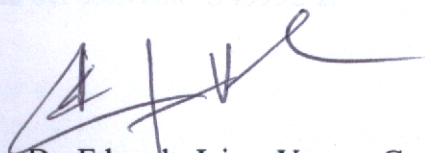
1 de septiembre de 200

El Jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa aprobó la comunicación idónea de los resultados

“Determinación de las propiedades reológicas y difusivas de hidrogeles para su uso potencial como matrices para la formación de semillas artificiales”

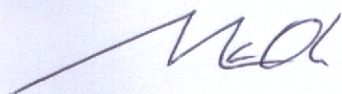
que presentó el alumno: IBQ Eristeo García Márquez

Asesor:



Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter
Departamento de IPH
UAM-Iztapalapa

Lector:



Dr. Francisco Cruz Sosa
Departamento de Biotecnología
UAM-Iztapalapa