



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**PROPIEDADES REOLÓGICAS EN DISOLUCIÓN
ACUOSA DEL POLISACÁRIDO MICROBIANO
GELANA DE ALTO ACILO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A

CLAUDIA FATIMA SALCEDO GONZALEZ



MÉXICO, D.F.

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Alberto Tecante Coronel

VOCAL: Profesor: Hermilo Leal Lara

SECRETARIO: Profesor: Arturo Navarro Ocaña

1er. SUPLENTE: Profesor: Ma Guadalupe Lemus Barajas

2º SUPLENTE: Profesor: Hiram Ramírez Cahero

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 313, Departamento de Alimentos y Biotecnología. Conjunto E, Facultad de Química. UNAM

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Alberto Tecante Coronel

SUPERVISOR TÉCNICO:

I.A. Mariana Ramírez Gilly

SUSTENTANTE:

Claudia Fátima Salcedo González

Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor, la electricidad y la energía atómica: la voluntad.

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) a través del proyecto CB-2008-1-101497 "Transiciones reversibles de conformación orden-desorden y su relación con las propiedades funcionales en medio acuoso de gelatina de alto acilo".

Con muchísimo cariño a la UNAM y la Facultad de Química, por brindarme los conocimientos y herramientas que me han ayudado en mi vida estudiantil, personal y laboral; siendo la mejor institución donde se pueda desarrollar un Químico en alimentos.

A mi asesor de tesis, Dr. Alberto Tecante Coronel por darme la gran oportunidad de desarrollar este proyecto. Por todos sus conocimientos y enseñanzas, por su paciencia y apoyo, y por ayudarme a entender el mundo de la Reología. Lo que he aprendido es invaluable.

Se agradece el apoyo técnico en las pruebas reométricas de la I. A. Mariana Ramírez Gilly. Además de sus valiosos conocimientos, tiempo, apoyo, amistad y por tantas veces que me animo a continuar y terminar esta tesis.

A la Q. Araceli Tovar por el apoyo en los análisis realizados en la USAI para la realización de este proyecto.

Al M. en C. Emmanuel Huicochea Flores por los datos de contenido de iones de la gelatina de alto acilo determinados por absorción atómica.

A los sinodales, Hermilo Leal y Arturo Ocaña, por el tiempo invertido en la revisión de este trabajo y por sus consejos para mejorarla.

Al Dr. Edilberto Peña de León, por ayudarme siempre a centrar mis ideas y no dejar que perdiera de vista el objetivo en este proceso.

Y por último pero no menos importante gracias a Claudia Fátima Salcedo González por todo el tiempo, cansancio, diversión, responsabilidad entre otras más que invirtió en este proyecto. Y por mas difícil que pareciera nunca rendirse.

DEDICATORIAS

A mis papas, que con su ejemplo, amor, apoyo y consejos aprendí lo más importante en la vida, que con una familia es más fácil lograr las metas y sin duda ésta que estoy cumpliendo. Los quiero Gracias.

A mi mami, gracias por todo tu amor y consejos. Por siempre escucharme, por dejarme tomar mis decisiones y tu apoyo en todo siempre; por todo lo que me enseñaste. Agradezco a Dios por la bendición del tiempo que me dió a tu lado y sé que hoy y todos los días aun estás conmigo.

A mi papa, gracias por ayudarme, escucharme y apoyarme en todo lo que he intentado; por enseñarme tantas cosas y compartir otras más. Por estar conmigo en momentos especiales e importantes y haberme ayudado a cumplir este gran logro.

A Rafa, por ser mi mejor amigo, mi novio, mi compañero; por todo el amor y confianza que me has dado. Porque ha sido muy bonito crecer juntos y me has enseñado y ayudado en tantas cosas. Gracias por estar conmigo y por compartir planes para el futuro.

A mi hermana y mejor amiga, Mori. Gracias por todo el apoyo y cariño que me has dado. He aprendido mucho de ti hermanita, por todas las aventuras, enojos y risas que hemos vivido. Gracias por dejarme explicarte que es un mol, jaja y con eso siempre darme cuenta de cuánto amo la química.


A mis primos, mis hermanos Cler, Mau, Rod y Alex. Por crecer conmigo, por todos los chistes y buenos momentos que hemos pasado. Por compartir con cada uno diversos intereses que me han ayudado muchísimo. Por siempre escuchar todas mis ñoñerías y decir que todo era moronga y tortillas, jaja. A mis abuelitos Venustiano y Juanita, ya que ellos formaron todo lo bueno de esta familia, y por enseñarme que todo es posible gracias al trabajo y dedicación. A mis tías y tío, Chela, Reyna, Lidia y Pancho por cuidarme y ayudarme desde siempre.

A mis grandes amigos de la facultad, Almis, gracias por siempre escucharme y apoyarme, por tu amistad desde 1º semestre. Blankis y Cyn Pugs, por todos los momentos de risas, estudio y buenos momentos. Alex, Susa, José por el "dream team" en los laboratorios y el "reproceso" también. Tatiana, Betty, Moni B, Gustavo, Carlitos, Isaac. A todos gracias, los quiero mucho.

A mis amigos de Sabritas, Clau A, Elenita, Faby, Moni B, Soni y Carlotes; gracias por esos largos turnos con trabajo, pláticas, risas y enojos, donde siempre me apoyaron con mis proyectos de vida y pude ver que en el trabajo si se pueden hacer verdaderas amistades.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
1. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	4
1.1 Hipótesis	4
1.2 Objetivos	4
2. GENERALIDADES	5
2.1 Gelana	5
2.1.1 Estructura	6
2.1.2 Propiedades en disolución acuosa	7
2.1.3 Aplicaciones en alimentos	8
2.2 Hidrocoloides	10
2.2.1 Generalidades	10
2.2.2 Clasificación	10
2.2.3 Aplicaciones en alimentos	11
2.3 Conceptos básicos de Reología	12
2.3.1 Esfuerzo y deformación	12
2.3.2 Funciones materiales	13
2.3.3 Pruebas reológicas	14
2.3.3.1 Pruebas oscilatorias	15
2.3.4 Viscosidad	16
2.3.5 Viscosidad intrínseca	16
2.4 Polielectrolitos	19
3. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1 Diagrama de trabajo	23
3.2 Materiales	24
3.3 Métodos	24
3.3.1 Caracterización de la gelana de alto acilo	24
3.3.2 Preparación de la forma sódica de la gelana	25
3.3.3 Preparación de disoluciones de gelana de alto acilo	26
3.3.4 Preparación de disoluciones de gelana de alto acilo con iones externos	27
3.3.5 Pruebas dinámicas y estacionarias para las disoluciones de gelana de alto acilo	27
3.3.6 Viscosidad intrínseca	28
3.3.7 Relación estequiométrica	28
3.3.8 Análisis estadístico	29

 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1 Comportamiento reológico de disoluciones de gelana de alto acilo sin adición de sales	30
4.1.1 Cizalla estacionaria	30
4.1.2 Cizalla oscilatoria	31
4.2 Comportamiento reológico de disoluciones de gelana de alto acilo (GAANa) con NaCl	33
4.2.1 Cizalla estacionaria	34
4.2.2 Cizalla oscilatoria	34
4.3 Comportamiento reológico de disoluciones de gelana de alto acilo con CaCl ₂	36
4.3.1 Cizalla estacionaria	36
4.3.2 Cizalla oscilatoria	37
4.4 Efectos de los contraiones sobre la viscosidad de disoluciones de gelana de alto acilo sódica	39
4.5 Efecto de la fuerza iónica sobre la viscosidad de disoluciones de gelana de alto acilo sódica	41
4.6 Viscosidad intrínseca	44
4.7 Determinación del parámetro de rigidez de la gelana de alto acilo	46
CONCLUSIONES	48
REFERENCIAS	50
ANEXO A	53

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Propiedades físicas de la gelana de alto acilo.	5
Cuadro 2. Aplicaciones comunes de la gelana en alimentos.	8
Cuadro 3. Características de la gelana.	9
Cuadro 4. Hidrocoloides semisintéticos.	10
Cuadro 5. Principales hidrocoloides utilizados en la industria de alimentos y sus aplicaciones	17
Cuadro 6. Composición de la gelana de alto acilo.	25
Cuadro 7. Composición de la gelana de alto acilo en su forma sódica.	26

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1a. Estructura de la gelana de alto acilo.	6
Figura 1 b. Estructura de la gelana de bajo acilo.	7
Figura 2. Deformación de cizalla de una barra rectangular.	13
Figura 3. Instrumentos reológicos de tipo rotacional	15
Figura 4. Metodología general de trabajo.	23
Figura 5. Gelana de alto acilo recuperada mediante precipitación con acetona.	27
Figura 6. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación a 25 °C de disoluciones con distintas concentraciones de gelana.	30
Figura 7. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación a 25 °C de disoluciones con distintas concentraciones de gelana.	31
Figura 8. Barridos de deformación a 25 °C de disoluciones con distintas concentraciones (%) de gelana de alto acilo.	32
Figura 9. Barridos de frecuencia a 25 °C de disoluciones con distintas concentraciones (%) de gelana de alto acilo.	33
Figura 10. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación a 25 °C de disoluciones con 0.05% de gelana y distintas concentraciones (mM) de ion sodio.	34
Figura 11. Barridos de deformación a 25 °C de disoluciones de gelana con distintas concentraciones (mM) de NaCl.	35
Figura 12. Barridos de frecuencia a 25 °C de disoluciones de gelana con distintas concentraciones (mM) de NaCl.	36
Figura 13. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación a 25 °C de disoluciones de gelana 0.05% con distintas concentraciones (mM) de CaCl ₂	37
Figura 14. Barridos de deformación a 25 °C de disoluciones de gelana 0.05% con distintas concentraciones de CaCl ₂ .	38

Figura 15. Barridos de frecuencia a 25 °C de disoluciones de gelana 0.05% con distintas concentraciones de CaCl ₂ .	39
Figura 16. Variación de la viscosidad con la concentración de NaCl para una velocidad de deformación de 10 s ⁻¹ y de 100 s ⁻¹ .	40
Figura 17. Variación de la viscosidad con diferentes concentraciones (mM) de CaCl ₂ para una velocidad de deformación de 10 s ⁻¹ y de 100 s ⁻¹ .	41
Figura 18. Relación entre la viscosidad y el inverso de la fuerza iónica de disoluciones de gelana 0.05% con concentraciones de 0, 1, 3, 5, 7 y 9 mM de NaCl a una velocidad de deformación de 10 s ⁻¹ .	42
Figura 19. Relación entre la viscosidad y el inverso de la fuerza iónica de disoluciones de gelana 0.05% con concentraciones de 0, 1, 3, 5, 7 y 9 mM de CaCl ₂ a una velocidad de deformación de 10 s ⁻¹ .	43
Figura 20. Curva de flujo a 25 °C de gelana al 0.001562% con distintas concentraciones de ión Na ⁺	45
Figura 21. Relación entre concentración de iones mM de NaCl y viscosidad intrínseca en una disolución de gelana al 0.001562%.	46
Figura 22. Relación entre la viscosidad intrínseca y el inverso de la fuerza iónica de disoluciones de gelana 0.001562% con concentraciones de 0, 10, 20, 50, 80 y 100 mM de NaCl.	47

RESUMEN

Se examinó el comportamiento de flujo y viscoelástico de disoluciones de gelana de alto acilo sin y con contraiones externos de Na^+ y Ca^{2+} , en cizalla estacionaria circular y oscilatoria de baja amplitud, respectivamente. En el intervalo de concentraciones de gelana de 0.000780 a 0.10% no hubo formación de gel. Las disoluciones con concentraciones superiores a 0.00156% mostraron comportamiento no newtoniano fluidificado por cizalla con una zona de viscosidad newtoniana a bajas velocidades de corte en algunos casos. La adición de contraiones disminuyó la viscosidad de las disoluciones en relación con las disoluciones sin contraiones externos, pero el incremento subsecuente de la concentración de contraiones produjo un aumento en la viscosidad. El límite de concentración para el cual se observó este efecto depende de la concentración de gelana, de contraión externo y de su tipo. Este mismo comportamiento se observó con la viscosidad intrínseca en el intervalo de concentraciones de NaCl de 0 a 100 mM. En consecuencia la relación lineal entre la viscosidad intrínseca y el inverso de la raíz cuadrada de la fuerza iónica, predicha por la teoría de Fixman de los polielectrolitos, se observó únicamente sobre un intervalo muy estrecho de concentraciones de contraión externo. Se obtuvo un parámetro de rigidez aproximado que indica que la gelana es una macromolécula rígida. El comportamiento viscoelástico de la gelana estuvo gobernado por el carácter viscoso que fue mayor que el elástico sobre todo el intervalo de frecuencia angular. Las pruebas dinámicas y estacionarias con ambos contraiones y la dependencia de la viscosidad con la fuerza iónica indican que la gelana de alto acilo se comporta como un polielectrolito.

ABSTRACT

The flow and viscoelastic behavior of high acyl gellan solutions without and with external Na^+ and Ca^{2+} counterions was examined by steady and low amplitude oscillatory shear, respectively. For gellan concentrations in the range of 0.000780 to 0.10% gels were not formed. Solutions with concentrations above 0.00156% showed non-Newtonian shear-thinning behavior with a zero-shear viscosity in some cases. Addition of counterions decreased the viscosity of the solutions in relation to solutions without external counterions, but further increase in counterion concentration increased the viscosity. The threshold concentration for which this effect was observed depends on gellan concentration and the type and concentration of the counterions. The intrinsic viscosity showed the same behavior in the range of NaCl concentrations of 0 to 100 mM. As a consequence, the linear relationship between the intrinsic viscosity and the reciprocal of the square root of ionic strength, predicted by Fixman's polyelectrolyte theory, was observed only over a very narrow range of counterions concentration. The estimated value of the stiffness parameter indicates that high acyl gellan is a stiff molecule. The viscoelastic behavior of gellan was governed by the viscous contribution which prevailed over the elastic one over all the range of angular frequency. Shear and oscillatory tests with both external counterions and the dependency of viscosity on ionic strength indicate that high acyl gellan behaves as a polyelectrolyte.

INTRODUCCIÓN

La gelana es un polisacárido que puede ser considerado como “agente gelificante universal” pues se ha descubierto que puede sustituir a algunos hidrocoloides o formar parte de mezclas y mostrar sinergia. Los hidrocoloides usados en alimentos son aditivos que no deben alterar el sabor y el aroma. En la industria de alimentos la innovación de productos es constante y acelerada y por ello es importante conocer con detalle la materia prima que se utiliza; desde su comportamiento químico hasta su comportamiento reológico, para así poder predecir cambios durante la formulación, proceso y vida de anaquel. Es importante conocer las propiedades de un polisacárido en disolución acuosa, porque los alimentos están constituidos predominantemente por agua.

En este trabajo se determinó la viscosidad intrínseca y la influencia de iones monovalentes sobre el comportamiento de flujo y viscoelástico de disoluciones de gelana para determinar si existe un comportamiento polielectrolítico, pues en sus aplicaciones en alimentos es común la presencia de sales. Un factor importante es que este polisacárido es de origen microbiano y al ser producido por fermentación se tiene la ventaja de que la producción no depende de factores climáticos o de disponibilidad de la fuente. Además, permite obtener un polisacárido con calidad uniforme y constante.

1. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.1 HIPÓTESIS

La viscosidad de las disoluciones de gelana sin iones agregados será mayor que aquella en presencia del ion sodio y del ion calcio. La viscosidad disminuirá al aumentar la concentración de iones externos y la intensidad de la disminución será mayor en el caso del ion calcio.

1.2 OBJETIVOS

General

Investigar el comportamiento reológico en medio acuoso del polisacárido microbiano gelana de alto acilo para determinar si muestra o no un comportamiento polielectrolítico.

Específicos

- Examinar el comportamiento de disoluciones de composición conocida de gelana de alto acilo en presencia de contraiones externos monovalente y divalente, en regímenes de cizalla estacionaria circular y oscilatoria de baja amplitud para determinar su comportamiento espesante y viscoelástico, respectivamente.
- Determinar la viscosidad intrínseca de la gelana en disolución en presencia del ion sodio y del ion calcio por separado para conocer la dependencia de dicha propiedad con la fuerza iónica.

2. GENERALIDADES

2.1 GELANA

La gelana es un polisacárido de origen microbiano producido mediante fermentación con la bacteria *Sphingomonas paucimobilis*, inicialmente llamada *Aeromonas (Pseudomonas) elodea*. De forma comercial el polisacárido es producido por la inoculación de este microorganismo en un medio con fuente de carbono, fuentes de nitrógeno orgánico e inorgánico, fosfato y oligoelementos. La fermentación se realiza bajo condiciones controladas de pH, temperatura, agitación y flujo de aire (Sanderson, 1990). Para la recuperación de la gelana, una vez terminada la fermentación, el caldo viscoso se pasteuriza para eliminar todas las células viables y la gelana nativa o de alto acilo, se separa precipitándola directamente del caldo con isopropanol al 99% (Sutherland, 1994).

La gelana de alto acilo (GAA) tiene la propiedad única de formar un gel termorreversible cuando se la calienta y se la enfría, lo cual hace posible su uso como estabilizante, emulsionante, texturizante y gelificante (Arockiasamy & Mohak Banik, 2008). La GAA forma un gel suave, elástico y no quebradizo sobre un amplio intervalo de pH; 3.5 a 8.0 (Jin et al., 2003). El Cuadro 1 muestra algunas de las propiedades físicas de la gelana de alto acilo (CPKelco, 2005).

Cuadro1. Propiedades físicas de la gelana de alto acilo.

Peso molecular	1 a 2 x 10 ⁶ g/mol
Solubilidad	Soluble en agua caliente (70 a 80 °C)
Geles termorreversibles	Sí

La gelana es el segundo polisacárido producido por fermentación después de la xantana, y ha sido aprobada como aditivo alimentario por varias

organizaciones como la Administración de Fármacos y Alimentos (FDA por sus siglas en ingles) de los Estados Unidos de América y por el Comité Conjunto FAO/OMS de Expertos sobre Aditivos Alimenticios (JECFA por sus siglas en ingles). En México su uso ha sido aprobado por la Secretaría de Salud mediante el acuerdo por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes en alimentos; DOF 15 diciembre de 1999 (Escamilla-Loeza, 2006).

2.1.1 Estructura

La estructura de la GAA está constituida por unidades repetidas de un tetrasacárido formado por 1, 4- β -D-glucosa, 1, 4- α -L-ramnosa, 1, 3- β -D-glucosa y 1, 4- β -D-ácido glucurónico y con dos sustituyentes acilo, acetato (O-5-acetilo) y glicerato (O-2-glicerilo) ambos en el mismo residuo de glucosa como se muestra en la Figura 1a (Jin et al., 2003). Para obtener la forma desacilada, la cual es llamada gelana de bajo acilo (Figura 1b) se calienta a 90 °C y se enfria a 80 °C, se agrega NaOH o KOH para ajustar el pH a 10 y se mantienen estas condiciones durante 15 minutos. Después se neutraliza con H₂SO₄ y se precipita con isopropanol (Chandrasekaran & Radha, 1995).

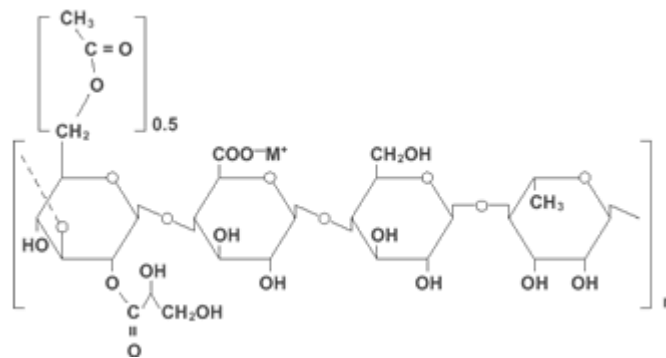


Figura 1a. Estructura de la gelana de alto acilo.

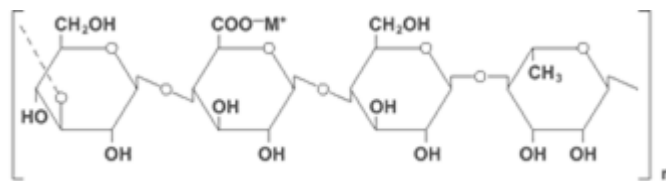


Figura 1b. Estructura de la gelana de bajo acilo.

Mediante análisis de difracción de rayos X se demostró que la estructura molecular de la gelana es una doble hélice entrelazada “a izquierda”. Los sustituyentes influyen sobre la conformación; la doble hélice sufre cambios menores en eje para poder acomodar los grupos glicerilo que están embebidos en la superficie de ésta. Los sustituyentes y también en su caso los iones parecen controlar el comportamiento reológico del polisacárido (Lapasin & Pricl, 1995). Los dos grupos hidroxilo terminales del grupo glicerilo ocupan los mismos sitios que ocupa el ion utilizado y el agua respectivamente. Esto crea diferencias en el patrón del puente de hidrógeno entre la gelana de alto y bajo acilo. En particular, el grupo glicerilo activa un nuevo puente de hidrógeno en cada unidad repetida, lo cual hace que aumente la estabilidad de la doble hélice (Chandrasekaran & Radha, 1995).

2.1.2 Propiedades en disolución acuosa

Al calentar o enfriar la GAA en presencia de cationes, se obtienen geles elásticos y cohesivos. Cuando se dispersa en agua fría, se obtienen altas viscosidades y la viscosidad muestra gran sensibilidad a la presencia y concentración de iones. Estas disoluciones son altamente tixotrópicas y su viscosidad se debe a la formación de la estructura del gel (Sanderson, 1990).

2.1.3 Aplicaciones en alimentos

Las áreas de aplicación de esta forma de gelana son muy amplias, entre otras, en la producción de medios de cultivo, industria cosmética, industria fotográfica y la industria de alimentos. Se ha encontrado que la gelana es muy versátil ya que ofrece una solución potencial a algunos problemas que se presentan con otros agentes gelificantes; como baja estabilidad a cambios de temperatura y fragilidad de los geles, entre otros (Sanderson, 1990). Se puede utilizar sola o en combinación con algún otro hidocoloide y presentar sinergia. En alimentos se puede utilizar entre otros con guar, algarrobo, agar, xantana, κ -carragenina y almidones. También se puede utilizar para evitar la cristalización en productos con alta concentración de sólidos y para modificar la textura de un producto. En confitería es usada para la preparación de merengues pues aumenta la capacidad de retención de humedad, brillo, textura y vida de anaquel (Carranza, 2000). En lácteos se usa debido a su estabilidad a altas temperaturas (Cuadro 2) (CP Kelco, 2005). El Cuadro 3 resume las características de la gelana.

Cuadro 2. Aplicaciones comunes de la gelana en alimentos.

AREA	PRODUCTOS COMUNES
Confitería	Jalea a base de almidón, jalea a base de pectina, malvaviscos
Jaleas y mermeladas	Mermeladas bajas en calorías, jaleas, rellenos para panadería
Geles a base de agua	Aspics, gelatinas
Pudines y rellenos para pay	Postres instantáneos, pudines enlatados, pudines pre-cocidos, rellenos para pay
Glaceados y escarchados	Escarchados para panadería

Productos lácteos	Helados, yogurt, malteadas, dips
Bebidas	Fruta, a base de leche, bebidas de soya y carbonatadas
Películas y tapas	Cubiertas para panadería y tapas precocidas

Cuadro 3. Características de la gelana.

	CARACTERÍSTICA	BENEFICIO
Geles	Se obtienen geles con una concentración de 0.05 a 0.4%	Ahorro económico potencial
Estabilidad	Presenta estabilidad tanto en polvo como en el producto gelificado	No presenta problemas en vida de anaquel
Facilidad de uso	Una dispersión libre de conglomerados se obtiene en sistemas fríos y la hidratación de estos en caliente	No se requiere de equipo especial de mezclado, es fácil incorporar su uso
No confiere sabor	La baja concentración y sus características resultan en un producto libre de sabor	No se requiere uso de enmascarantes
Diferentes temperaturas de formación y fusión	Es posible controlar las temperaturas de formación y fusión del gel, mediante la variación de la concentración y tipo de iones	Es posible utilizarlo en diversos procesos con temperaturas de formación/fusión diferentes
Uso en combinación con otros polisacáridos	Los beneficios más comunes son estabilidad al calor y en condiciones ácidas y texturas diferentes	Nuevas y novedosas aplicaciones. Se mejora la textura y estabilidad al calor
Suministro seguro	Su obtención es por medio de fermentación, por lo cual su suministro es seguro y la calidad del producto constante	Su disponibilidad no es afectada por condiciones climatológicas o políticas adversas

2.2 HIDROCOLOIDES

2.2.1 Generalidades

De manera amplia los hidrocoloides son polímeros de cadena larga que pueden disolverse o dispersarse en agua. Están formados por una red tridimensional coloidal continua, la interacción entre esta red coloidal y el medio viscoso determina su comportamiento mecánico y su estabilidad. Al ser incorporados en alimentos, son llamados aditivos y cumplen con la función de proporcionar atributos de textura, así como de dar estabilidad durante su procesamiento, transporte y vida de anaquel. Las principales propiedades de los hidrocoloides son su capacidad para producir disoluciones acuosas con altas viscosidades a bajas concentraciones, para suministrar la consistencia necesaria y para producir geles de diferentes fuerzas y estabilidades. Cada hidrocoloide tiene características físicas y químicas específicas (Roudot, 2004).

2.2.2 Clasificación

Se pueden clasificar en tres grupos principalmente:

- a) Naturales
- b) Semisintéticos o naturales modificados
- c) Sintéticos

Los hidrocoloides naturales son los que se encuentran en la naturaleza, por ejemplo: exudados de plantas, extractos de semillas y algas marinas entre otros. Los hidrocoloides semisintéticos (Cuadro 4), son derivados de materiales naturales que han sido modificados químicamente; como los de origen microbiano, derivados de celulosa y almidón. Los hidrocoloides sintéticos son aquellos que han sido sintetizados químicamente, como los polímeros vinílicos.

Cuadro 4. Hidrocoloides semisintéticos (Sutherland, 1994).

Derivados de celulosa	De origen microbiano	Derivados del almidón
- Carboximetilcelulosa - Metilcelulosa - Hidroximetilcelulosa	- Gelana - Xantana - Dextrana - Alginatos	- Almidones modificados - Maltodextrinas

2.2.3 Aplicaciones en alimentos

Cada hidrocoloide gelificante (Cuadro 5) produce un gel con atributos de textura únicos, la forma en que la imparte a cualquier producto alimenticio particular puede variar de acuerdo con el ingrediente en cuestión y depende del tipo, fuente y concentración así como de las propiedades físicas del sistema en particular (Roudot, 2004).

Cuadro 5. Principales hidrocoloides utilizados en la industria de alimentos y sus aplicaciones.

HIDROCOLOIDE	APLICACIONES
Agar	Gelatinas, medios microbiológicos
Alginatos	Análogos frutales, productos cárnicos
ι- carragenina	Flanes, pudines, rellenos para panadería, helados, yogurt
κ- carragenina	Pudines, rellenos para panadería, helados, yogurt
Dextrana	Alimentos horneados, cerveza
Gelana	Gelatinas, mermeladas, glaceados, helados, postres
Gelatina	Gelatina, productos de confitería
Goma arábiga	Retarda cristalización del azúcar
Goma guar	Postres congelados, quesos frescos, embutidos
Pectina	Gelatinas, jaleas, preparados de fruta para productos lácteos
Xantana	Salsas, aderezos, jugos, quesos, embutidos

2.3 CONCEPTOS BÁSICOS DE REOLOGÍA

La Reología es la ciencia que estudia la deformación y el flujo de la materia. Estudia la manera en la cual los materiales responden cuando se les aplica un esfuerzo o una deformación. Debido a que todos los materiales tienen propiedades reológicas, la reología tiene aplicaciones en geología, mecánica de suelos y bioingeniería, entre otras. En la industria de alimentos la Reología interviene en cálculos de proceso de ingeniería que involucran gran cantidad de equipos, determinación de la función de los ingredientes de productos intermedios y terminados y en pruebas de vida de anaquel.

Un fluido es una sustancia que se deforma bajo la acción de un esfuerzo constante no importa qué tan pequeño sea dicho esfuerzo. Flujo es la deformación continua con el tiempo de un material. Se tienen dos tipos de comportamiento de flujo (Barnes, 2000):

- Newtoniano, aquel cuya relación esfuerzo de cizalla contra velocidad de deformación es lineal; a cierta presión y temperatura su viscosidad es constante.
- No newtoniano, aquel cuya relación esfuerzo de cizalla y velocidad de deformación no es lineal. La viscosidad es una función de la velocidad de deformación y puede ser dependiente o independiente del tiempo. Los fluidos con este comportamiento se pueden subdividir en:
 - a) Inelásticos o viscosos, independientes del tiempo.
 - b) Inelásticos o viscosos, dependientes del tiempo.
 - c) Viscoelásticos.

2.3.1 Esfuerzo y deformación

La deformación es el cambio de tamaño o forma debido a la aplicación de un esfuerzo. Si al aplicarle un esfuerzo al cuerpo, este cambia su estado de movimiento o de reposo se habrá provocado un deslizamiento. La deformación de cizalla es un tipo común de deformación generada por un

esfuerzo de cizalla y puede ser ilustrada mediante una barra rectangular de altura h . La superficie inferior es estacionaria y la superficie superior se desplaza linealmente una cantidad dL (Figura 2). Cada elemento está sujeto al mismo nivel de deformación así que el tamaño del elemento no es relevante. El ángulo de cizalla, γ , puede ser calculado como:

$$\tan(\gamma) = dL/h$$

Cuando las deformaciones son pequeñas $\tan(\gamma) = \gamma$.

El esfuerzo está definido como fuerza por unidad de área y en el sistema internacional de unidades está expresado en Pascales ($\text{Pa} = \text{N}/\text{m}^2$). Al aplicarlo sobre un cuerpo se produce un cambio de dimensiones o de movimiento. Estos pueden ser normales; esfuerzos de tensión y compresión, o tangenciales; esfuerzos de cizalla. Los esfuerzos normales resultan de la aplicación de una fuerza de forma perpendicular a la superficie del cuerpo. Los esfuerzos tangenciales se producen cuando la fuerza se aplica de forma paralela o tangencial a la superficie del cuerpo.

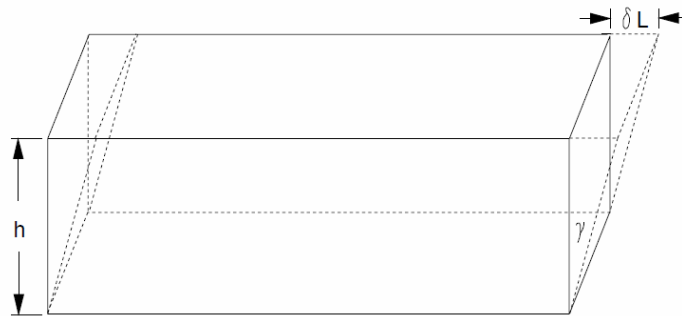


Figura 2. Deformación de cizalla de una barra rectangular (Steffe, 1996).

2.3.2 Funciones materiales

Las ecuaciones que muestran una relación entre el esfuerzo y la deformación son ecuaciones reológicas o ecuaciones constitutivas. En materiales complejos estas ecuaciones pueden incluir otras variables como tiempo, temperatura y presión. Un módulo se define como el cociente del esfuerzo y

la deformación, por otro lado la capacitancia es el cociente de la deformación y el esfuerzo. Las funciones materiales, módulo de almacenamiento G' , que representa la componente elástica del material, y módulo de pérdida G'' , que representa su carácter viscoso, pueden expresarse de la siguiente manera:

$$G' = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \cos \delta$$

$$G'' = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \sin \delta$$

En estas ecuaciones σ_0 y γ_0 son las amplitudes de la onda de esfuerzo y de deformación, respectivamente, y δ es el ángulo de fase entre ambas ondas. Para determinar G' y G'' se usa un movimiento oscilatorio armónico simple.

2.3.3 Pruebas reológicas

Los instrumentos capaces de medir las propiedades reológicas de los fluidos y alimentos semisólidos son de dos tipos (Figura 3): rotacionales y tubulares. Los primeros pueden ser operados con una velocidad angular constante o en modo oscilatorio. Algunos aparatos rotacionales funcionan con un esfuerzo constante facilitando la obtención de datos, el análisis de materiales a bajas velocidades de cizalla e investigación en materia de esfuerzo.

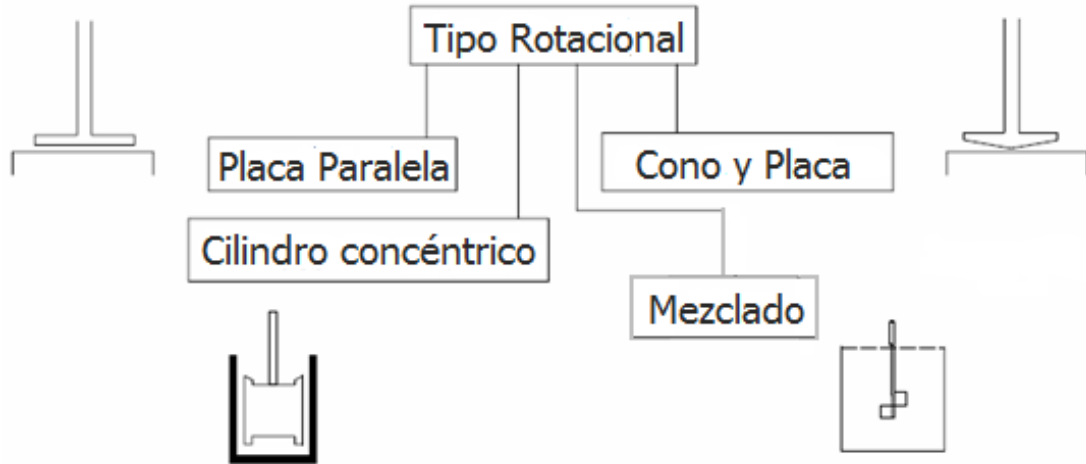


Figura 3. Instrumentos reológicos de tipo rotacional (Steffe, 1996).

Los sistemas rotacionales generalmente son usados para investigar comportamientos dependientes del tiempo debido a que los tubulares solo permiten el paso del material por el aparato.

2.3.3.1 Pruebas oscilatorias

El comportamiento viscoelástico de los fluidos puede ser determinado mediante pruebas dinámicas. En ellas las muestras son sometidas a movimiento oscilatorio cuando están contenidas en geometrías, usualmente cono y placa o placas paralelas. Una deformación sinusoidal se aplica sobre la muestra causando cierto nivel de esfuerzo para transmitirlo al material. La magnitud y el tiempo de retardo de la transmisión dependen de la naturaleza viscoelástica del material que se examina. En materiales viscosos, mucho del esfuerzo es disipado por pérdidas por fricción; es mayormente transmitido en materiales altamente elásticos. El tiempo de retardo es mayor para materiales con alta viscosidad pero es pequeño para materiales que muestran un alto grado de elasticidad. Las pruebas oscilatorias también se refieren a pruebas oscilatorias de baja amplitud porque deben emplearse

deformaciones pequeñas para mantener un comportamiento viscoelástico lineal (Steffe, 1996).

2.3.4 Viscosidad

Antes de que el término viscosidad se reconociera como una propiedad cuantificable, se podía observar un líquido y se podía decir que era viscoso, palabra proveniente del latín *viscum* (Barnes, 2000). Después, se pudo decir que la viscosidad es la propiedad reológica que en forma cualitativa es una medida de la resistencia que presenta un fluido a ser deformado y fluir. De manera cuantitativa es el cociente del esfuerzo dividido entre la rapidez de deformación. Los fluidos con alta viscosidad tienen flujo lento y los fluidos con baja viscosidad muestran un flujo más rápido (Chávez Castellanos et al., 2004).

2.3.5 Viscosidad intrínseca

La viscosidad intrínseca es una propiedad que depende del peso molecular, de la temperatura, de la estructura y conformación de las moléculas poliméricas, así como también del "poder" del disolvente, y con frecuencia de la velocidad de deformación de cizalla. Se considera una función característica de una sola molécula en disolución. Sus dimensiones son volumen por unidad de masa y representa el volumen específico hidrodinámico del polímero en disolución. Para determinar su valor experimentalmente, se debe trabajar con disoluciones diluidas ya que una molécula altera la viscosidad del disolvente. Considerando que la viscosidad del disolvente es η_s y la viscosidad del polímero en disolución es η , la viscosidad relativa es el cociente

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_s} \quad (1)$$

La viscosidad específica es

$$\eta_{sp} = \eta_r - 1 \quad (2)$$

Si la viscosidad específica se divide por la concentración y se extrapola a una concentración nula, se tiene la viscosidad intrínseca

$$\left[\frac{\eta_{sp}}{C} \right]_{C=0} = [\eta] \quad (3)$$

Las unidades de viscosidad intrínseca son cm^3/g , pero es más común expresarla en dL/g .

Una forma común de determinar la viscosidad intrínseca de manera experimental, es a partir de una disolución madre con una concentración de 1%, que se diluye en varias porciones y se determina su viscosidad usando un instrumento adecuado; uno de los instrumentos más usado es el viscosímetro capilar de vidrio de tipo Canon-Fenske o Ubbelohde (Sperling, 1992). Los datos se manejan usando ya sea la ecuación de Huggins, la de Kraemer o ambas de manera simultánea. La ecuación de Huggins se deduce a partir de la expansión virial de la viscosidad específica en potencias de la viscosidad intrínseca, mientras que la ecuación de Kraemer resulta de la expansión de la viscosidad inherente $\eta_{inh} = (\ln \eta_r)/C$, para determinar la viscosidad intrínseca. La viscosidad específica está relacionada con la viscosidad intrínseca por medio de una serie de potencias dada por

$$\eta_{sp} = k_0[\eta]C + k_1[\eta]^2C^2 + k_2[\eta]^3C^3 + .. \quad (4)$$

donde k_0, k_1, k_2, \dots son constantes adimensionales y $k_0 = 1$.

Dividiendo por la concentración y truncando solamente el segundo término, se obtiene la ecuación de Huggins

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2C \quad (5)$$

La constante k' , llamada constante de Huggins, es igual a 0.3 en buenos disolventes y 0.5 en disolventes pobres. Contiene información sobre las interacciones hidrodinámicas y termodinámicas entre las cadenas en disolución. De la ecuación (5) se observa que una gráfica de viscosidad reducida $\eta_{red} = \eta_{sp}/C$ contra C , extrapolada a concentración nula proporciona la viscosidad intrínseca como la ordenada al origen de una recta con pendiente positiva. La constante k' se deduce de la pendiente de dicha recta. En disoluciones diluidas en las cuales la viscosidad específica es mucho menor que 1, se puede construir otra expansión basada en la viscosidad relativa

$$\ln(\eta_r) = \ln(1 + \eta_{sp}) \approx \eta_{sp} - \frac{1}{2}\eta_{sp}^2 \quad (6)$$

Usando esta expresión para la viscosidad específica en la ecuación de Huggins (5), se obtiene la ecuación de Kraemer

$$\ln(\eta_r) = [\eta]C + (k' - \frac{1}{2})[\eta]^2C^2 \quad (7)$$

$$\ln(\eta_r) = [\eta]C + k''[\eta]^2C^2 \quad (8)$$

donde k'' , la constante de Kraemer, es igual a $k' - 1/2$, de donde es claro que $k' + k'' = 0.5$. Dividiendo (8) entre la concentración se obtiene la ecuación de Kraemer

$$\frac{\ln(\eta_r)}{C} = [\eta] + k''[\eta]^2C \quad (9)$$

La viscosidad intrínseca se obtiene como la ordenada al origen de la gráfica entre la viscosidad inherente contra la concentración. La línea recta resultante tiene pendiente negativa a partir de la cual se obtiene k'' . Es común usar simultáneamente las ecuaciones de Huggins y Kreamer para

determinar la viscosidad intrínseca dado que esta es la ordenada al origen común para ambas ecuaciones.

2.4 POLIELECTROLITOS

Los polielectrolitos son polímeros con grupos ionizables (Dobrynin et al., 1995). Bajo condiciones adecuadas, tales como en disolución acuosa o en otros disolventes polares, esos grupos se disocian y dejan iones en la cadena polimérica y contraiones en la disolución. Un polielectrolito es entonces un macro-ión con cargas electrostáticas. Las disoluciones de polielectrolitos tienen propiedades muy distintas de las disoluciones de polímeros neutros. Por ejemplo, tienden a desviarse del comportamiento ideal simplemente por la necesidad de mantener la neutralidad. Esta causa de comportamiento no ideal puede suprimirse agregando una sal inorgánica como el NaCl. El comportamiento no ideal desaparece también cuando la concentración de polielectrolito en la disolución es cercana a cero. No obstante, las fuerzas electrostáticas entre las cargas de un polielectrolito no desaparecen cuando su concentración en disolución se reduce (Tanford, 1961). Las disoluciones de polielectrolitos siempre contienen iones pequeños, cuya cantidad debe ser suficiente para neutralizar la carga del macro-ión. La interacción electrostática entre el macro-ión y los iones pequeños no desaparecerá cuando la concentración de polielectrolito se reduzca incluso a niveles de "dilución infinita". Las fuerzas electrostáticas tienen efectos importantes sobre la configuración de los polielectrolitos y sobre su combinación química con otros iones. Otro ejemplo de comportamiento particular de disoluciones de polielectrolitos lo constituye el hecho de que la viscosidad de disoluciones de bajas concentraciones de polielectrolitos es proporcional a la raíz cuadrada de su concentración (Ley de Fuoss).

Es bien sabido que cuando un polisacárido aniónico se disuelve en agua que contiene una sal inorgánica se produce una reducción de la viscosidad de la disolución cuya intensidad depende del polisacárido, el tipo de sal agregada y la fuerza iónica. El cambio en la viscosidad está fuertemente ligado a la variación de la viscosidad intrínseca del polisacárido en disolución. Las teorías de polielectrolitos son muy complejas debido a la naturaleza misma del fenómeno que tratan de describir. En esta tesis, se intentó aplicar una de estas teorías para obtener información sobre la flexibilidad o falta de ella de la gelana de alto acilo en disolución acuosa. Los resultados obtenidos no fueron contundentes, sin embargo, sirvieron para identificar diferentes factores y condiciones experimentales que requieren refinarse para poder obtener resultados definitivos.

La teoría de Fixman (1964) de los polielectrolitos, propone que la viscosidad intrínseca de tales macromoléculas está dada por

$$[\eta] = K_{\theta} M^{1/2} \alpha_{\eta}^3 \quad (10)$$

donde K_{θ} es una constante cuyo valor depende del macro-ión, M es el peso molecular del polímero y α_{η} es el coeficiente de expansión de viscosidad. Este parámetro está dado por la expresión

$$\alpha_{\eta}^3 = 1 + Cn^{1/2} + \frac{D_0 q n^{1/2}}{2D\epsilon z_C b_{\theta} \kappa} \quad (11)$$

En ella, C es una constante cuyo valor depende del grado de interacción entre segmentos de la cadena de polímero y el disolvente ($C = 0$ para un disolvente teta o pobre en el cual la solubilidad es muy baja), n es el grado de polimerización, D es la constante dieléctrica de la disolución, D_0 es una constante dieléctrica efectiva de la cadena poliónica, q es la carga por unidad repetitiva o monómero residual, ϵ es la carga del protón (1.602×10^{-19} C), z_C es el número de cargas, el producto ϵz_C es la carga de los contraiones y κ es el parámetro de Debye-Hückel dado por

$$\kappa^2 \equiv \left(\frac{8\pi \varepsilon^2}{kTD} \right) I \quad (12)$$

donde k es la constante de Boltzman (1.381×10^{-23} J/K), T es la temperatura absoluta e I es la fuerza iónica dada por

$$I = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2 \quad (13)$$

Además en la ecuación (11), b_θ es la longitud de enlace efectiva, la cual en disolventes teta o pobres está relacionada con la raíz cuadrada media de la distancia extremo-extremo, $(\langle r^2 \rangle)^{1/2}$, y la longitud del segmento estadístico de Khun, A_m , por

$$(\langle r_\theta^2 \rangle)^{1/2} = b_\theta n^{1/2} = (A_m b_0 n)^{1/2} \quad (14)$$

donde b_0 es la longitud de la unidad repetitiva o monómero. La comprensión cabal de estas relaciones requiere discutir aspectos propios de la fisicoquímica de macromoléculas. La discusión, sin embargo, está fuera del propósito de esta tesis. No obstante, se discuten algunos aspectos teóricos elementales.

La ecuación (10) predice una relación lineal entre la viscosidad intrínseca y el inverso de la raíz cuadrada de la fuerza iónica; $[\eta] \propto I^{-1/2}$. Este comportamiento se ha observado para muchos polisacáridos aniónicos en presencia de diferentes sales inorgánicas adicionadas (Smidsrød & Haug, 1971). La dependencia entre $[\eta]$ e $I^{-1/2}$ ha sido usada para estimar la rigidez de la cadena polimérica. Para ello los parámetros de rigidez de la teoría de Fixman, K_θ , b_θ y A_m se han relacionado con dos cantidades denominadas S y B . La primera, S , es la pendiente de la relación lineal entre $[\eta]$ y $I^{-1/2}$ y de acuerdo con la teoría de Fixman, depende fuertemente del peso molecular del polielectrolito; existen datos que muestran que en efecto ese es el caso (Smidsrød & Haug, 1971). Se ha encontrado la siguiente relación empírica entre S y B

$$S = \frac{B}{([\eta]_{0.1})^a} \quad (15)$$

en la cual $[\eta]_{0.1}$ es la viscosidad intrínseca cuando $I = 0.1$ M, B es un parámetro empírico de rigidez y a es un exponente que en general es 1.0. De esta forma, conocida S y la viscosidad intrínseca a 0.1 M es posible calcular B. Algunos valores reportados para B son 0.44 para polifosfato, 0.23 para poliacrilato, 0.20 para carboximetilamilosa, 0.065 para carboximetilcelulosa, 0.04 para alginato y 0.0055 para ADN (Smidsrød & Haug, 1971). Como se puede observar, un valor pequeño de B indica una macromolécula más rígida, como es el caso del ADN.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 DIAGRAMA DE TRABAJO

La Figura 4 muestra el esquema general de trabajo.

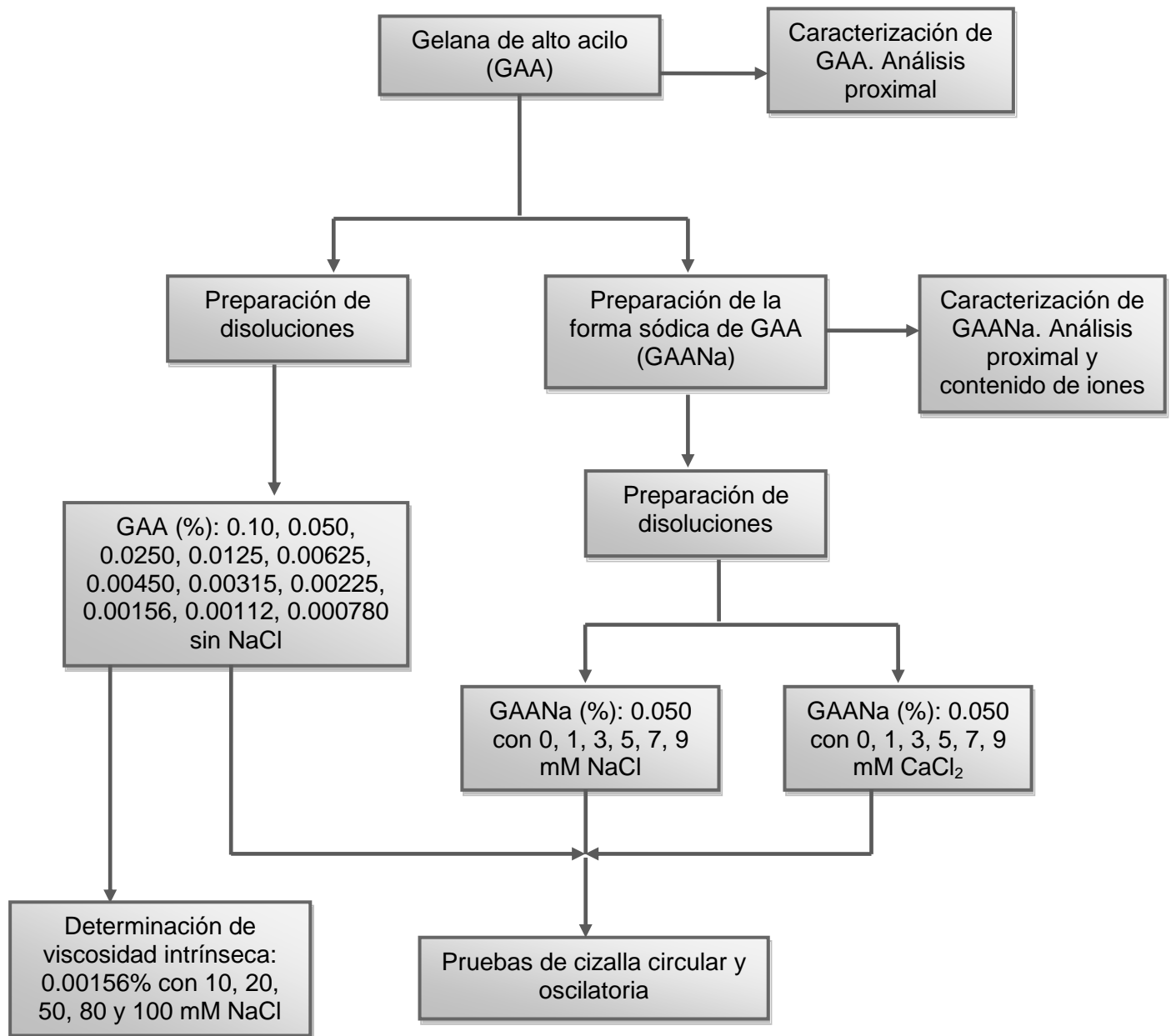


Figura 4. Metodología general de trabajo.

3.2 MATERIALES

Se trabajó con gelana de alto acilo grado alimenticio (Kelcogel LT-100, CPKelco, San Diego, EUA). Para la preparación de disoluciones de gelana con iones mono y divalentes se utilizó cloruro de sodio (J.T. Baker, México), cloruro de calcio (Merck, México) y agua desionizada. Para la preparación de la sal de sodio de gelana se utilizó una resina de intercambio catiónico (Amberlite IR-120 PLUS, Sigma, México). Para la preparación de las disoluciones de gelana para determinar la viscosidad intrínseca se utilizó una membrana de nitrocelulosa con tamaño de poro de 3 μm (Millipore, México).

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Caracterización de la gelana de alto acilo

Para conocer las características de la gelana de alto acilo se realizó un análisis proximal. El contenido de humedad fue determinado por el método de la AOAC para harinas (AOAC 1990, PRT-701). Para determinar la cantidad de proteína, se recurrió a la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química donde se realizó un análisis elemental (Analizador Elemental Fisons EA1108, Thermo Scientific, EUA) en el que se reportó la cantidad de nitrógeno total en la muestra y este se multiplicó por el factor 6.25 para obtener el contenido de proteína. Los carbohidratos totales se determinaron con el método de fenol-sulfúrico (Dubois et al. 1956). La determinación de cenizas se realizó por el método de cenizas totales (Kirk et al. 1996). El contenido de iones se determinó en la USAI mediante espectrometría de absorción atómica (Espectrómetro Varian Spectr AA 220, EUA). Se utilizó el método de atomización de aire/acetileno. El sodio se determinó a una longitud de onda de 588 nm y un slit de 0.5 nm, el potasio a una longitud de onda de 766.5 nm y un slit de 1.0 nm, el calcio a una longitud de onda de 422.7 nm y un slit de 0.5 nm, el magnesio a una

longitud de onda de 285.2 nm y un slit de 0.5 nm. El Cuadro 6 muestra el análisis proximal de la gelana de alto acilo. El contenido de proteína no es despreciable y fue imposible reducirlo por ultrafiltración.

Cuadro 6. Composición promedio de la gelana de alto acilo.

Componente	Contenido (%)	Desviación estándar (%)	CV (%)
Humedad	7.10	0.741	10.4
Cenizas totales	5.62	0.680	12.1
Proteína	8.20	0.128	10.2
Carbohidratos	83.5	0.038	4.60
Sodio	1.36	0.309	23.2
Potasio	4.06	0.107	17.9
Calcio	3.45	0.311	8.98
Magnesio	0.590	0.099	2.40

3.3.2 Preparación de la forma sódica de la gelana

Previamente a la conversión de la gelana a su forma sódica, la resina de intercambio catiónico se lavó con HCl 0.1 N hasta obtener eluatos con pH cercano a 1.0 para convertirla a la forma acida. La resina fue enjuagada con agua desionizada hasta obtener eluatos neutros. La resina se lavó con NaCl 0.1 M hasta obtener eluatos neutros. La resina se enjuagó con agua desionizada hasta eliminar el exceso de sal (eluatos libres de cloruros). La presencia de cloruros en los eluatos fue confirmada a través de la precipitación de AgCl al verter en solución AgNO₃ 0.1 M acidificada con HNO₃ pH final de 1.6. La formación de una solución coloidal blanquecina fue indicio de la precipitación de AgCl.

Se suspendió la gelana en agua desionizada (0.8% m/v), se calentó a 60 °C durante 15 minutos manteniendo agitación magnética; se agregó la resina acondicionada y se agitó durante una hora. Se detuvo la agitación, se separó la resina por decantación y se enjuagó varias veces con agua desionizada

caliente. La suspensión y los lavados se recolectaron aparte. La gelana se recuperó precipitándola con acetona en una relación, acetona: disolución de gelana de 2:1. El precipitado se lavó varias veces en acetona para deshidratarla (Figura 5), posteriormente se secó a 60 °C a una presión de vacío de 57.7 kPa durante 4 horas (Squaroid vacuum oven, modelo 3608, USA). La gelana seca se trituró en un homogeneizador de espas, se tamizó y se determinó su contenido de humedad y de iones. Estas determinaciones se realizaron como ya se describió. El contenido de iones de la sal sódica de gelana se muestra en el Cuadro 7. Básicamente, se redujo el contenido de potasio y de calcio, mientras que el contenido de sodio fue 13% menor que en la gelana comercial LT-100.

Cuadro 7. Composición promedio de la gelana de alto acilo en su forma sódica.

Componente	Contenido (%)	Desviación estándar (%)	CV (%)
Humedad*	5.30	0.183	3.46
Sodio	1.15	0.057	4.95
Potasio	ND	---	---
Calcio	0.135	0.020	15.0
Magnesio	0.177	0.008	4.58

*Promedio de tres repeticiones. ND No Detectado.

3.3.3 Preparación de las disoluciones de gelana de alto acilo

Se prepararon disoluciones con concentraciones de 0.10, 0.050, 0.0250, 0.0125, 0.00625, 0.00450, 0.00315, 0.00225, 0.00156, 0.00112 y 0.000780% masa dispersando el polisacárido en agua desionizada a temperatura ambiente y después se calentó a 80 °C por 15 minutos

manteniendo la agitación para disolverlo. Para conservar la concentración se reposó el agua evaporada.

3.3.4 Preparación de disoluciones de gelana de alto acilo con iones externos

Se preparó una disolución de concentración 0.10% masa de gelana, dispersando a temperatura ambiente y calentando a 80 °C por 15 minutos con agitación por una hora. Se diluyó para obtener una concentración de 0.050% masa, con soluciones de cloruro de sodio en concentraciones de 1, 3, 5, 7 y 9 mM, se mantuvo en agitación por 12 horas. Para el caso de las disoluciones de cloruro de calcio se realizó el mismo procedimiento utilizado para el cloruro de sodio.

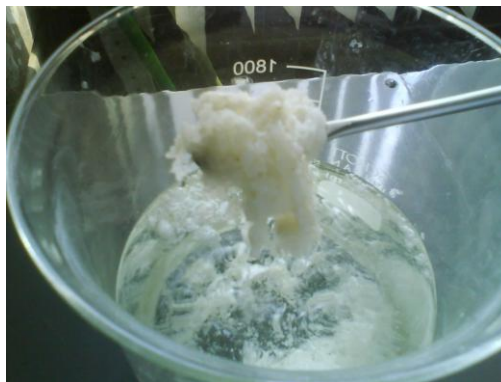


Figura 5. Gelana de alto acilo recuperada mediante precipitación con acetona.

3.3.5 Pruebas dinámicas y estacionarias para las disoluciones de gelana de alto acilo

Se realizaron pruebas en un reómetro ARES-RFS III (TA Instruments, New Jersey, EUA) con una geometría Couette de doble pared con un diámetro interior de la copa de 27.94 mm, diámetro interior del cilindro interno de 29.5 mm, diámetro exterior del cilindro externo de 32.0 mm, diámetro

exterior de la copa de 34 mm y un espacio anular de 1.00 mm. Se realizaron barridos de deformación, barridos de frecuencia y pruebas estacionarias de variación de viscosidad con la velocidad de deformación. Estas pruebas se efectuaron para las disoluciones de gelana con distintas concentraciones sin adición de sales, así como para las disoluciones con iones mono y divalentes. Se realizaron barridos de deformación mediante cizalla oscilatoria a 6.28 rad/s y 25 °C para determinar la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL) en la cual los módulos no dependen de la deformación y del esfuerzo. Los barridos de frecuencia a una deformación fija se hicieron dentro de esta zona en un intervalo de 0.1 a 100 rad/s para examinar el comportamiento viscoelástico de las disoluciones.

3.3.6 Viscosidad intrínseca

La viscosidad intrínseca se determinó en un viscosímetro capilar automático 270 con detector de índice de refracción (Viscotek, Houston Texas, USA). Se prepararon disoluciones de gelana 0.00156% con cloruro de sodio en concentraciones de 10, 20, 50, 80 y 100 mM para determinar la viscosidad intrínseca. Las disoluciones se filtraron con membrana de nitrocelulosa de 3 μm .

3.3.7 Relación estequiométrica

Se determinó la cantidad estequiométrica de iones que tiene la gelana en su forma sódica, y así saber si se tienen que adicionar a las disoluciones con las que se trabajaron para asegurar que estén en su forma sódica. Con base en la estructura ideal de la unidad repetitiva $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_{24}$, el peso molecular es 776 g/mol. El peso molecular de la forma sódica $\text{C}_{29}\text{H}_{43}\text{O}_{24}\text{Na}$ es 798 g/mol.

Entonces

$$\left[\frac{23 \text{ g Na}^+}{798 \text{ g GAANa}} \right] \left[\frac{1 \text{ mol Na}^+}{23 \text{ g Na}^+} \right] \left[\frac{1000 \text{ mmol Na}^+}{1 \text{ mol Na}^+} \right] \left[\frac{1 \text{ meq Na}^+}{1 \text{ mmol Na}^+} \right] = 1.253 \frac{\text{meq Na}^+}{\text{g GAANa}}$$

$$1.253 \frac{\text{meq Na}^+}{\text{g GAANa}} = 1.253 \frac{\text{mmol Na}^+}{\text{g GAANa}} \left[\frac{23 \text{ mg Na}^+}{1 \text{ mmol Na}^+} \right] = 28.82 \frac{\text{mg Na}^+}{\text{g GAANa}} = 2.88\%$$

Este resultado indica que para la sal de sodio la cantidad estequiométrica es de 2.88% de iones sodio. Como esta cantidad es mayor que la obtenida por absorción atómica, la gelana no está totalmente en su forma sódica. Para que la disolución con 0.05% de gelana esté totalmente en su forma sódica se debe tener una concentración de

$$\left[\frac{28.82 \text{ mg Na}^+}{1 \text{ g GAANa}} \right] \left[\frac{0.05 \text{ g GAANa}}{100 \text{ mL solución}} \right] \left[\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right] \left[\frac{1 \text{ mmol Na}^+}{23 \text{ mg Na}^+} \right] = 0.626 \text{ mM Na}^+$$

Si la gelana en polvo tiene 1.36% (0.591 mmol/g) de iones sodio (Cuadro 6), una disolución 0.05% de GAA ya tiene una concentración de iones de,

$$\left[\frac{0.591 \text{ mmol Na}^+}{1 \text{ g GAA}} \right] \left[\frac{0.05 \text{ g GAA}}{100 \text{ mL solución}} \right] \left[\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right] = 0.296 \text{ mM Na}^+$$

La cantidad de iones presentes en la gelana en polvo no es suficiente para que en disolución esté completamente en su forma sódica, por lo tanto se adicionaron iones en concentraciones de 1, 3, 5, 7 y 9 mM para así asegurar la interacción entre estos y el polisacárido.

3.3.8 Análisis estadístico

Los resultados se expresan como el promedio de varias repeticiones, se incluye la desviación estándar y el coeficiente de variación correspondientes. Se hizo un análisis de t de student y se estableció la hipótesis nula donde no existen diferencias significativas entre concentraciones de 3 mM de NaCl y CaCl₂, y la hipótesis alterna donde sí existen diferencias significativas a un nivel de significancia de 0.05%. Se usó el programa de Excel 2007 de Microsoft 2007. Los resultados se muestran en el ANEXO A.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 COMPORTAMIENTO REOLOGICO DE DISOLUCIONES DE GELANA DE ALTO ACILO SIN ADICION DE SALES

4.1.1 Cizalla estacionaria

La Figura 6 muestra una curva de flujo para distintas concentraciones de gelana de alto acilo sin adición de contraiones externos. Las disoluciones con concentraciones de 0.10, 0.050, 0.0250, 0.0125, 0.00625, 0.00450, 0.00315 y 0.00225% mostraron un comportamiento de adelgazamiento por cizalla, mientras que las restantes, 0.00156, 0.00112 y 0.000780%, un comportamiento newtoniano (Figura 7).

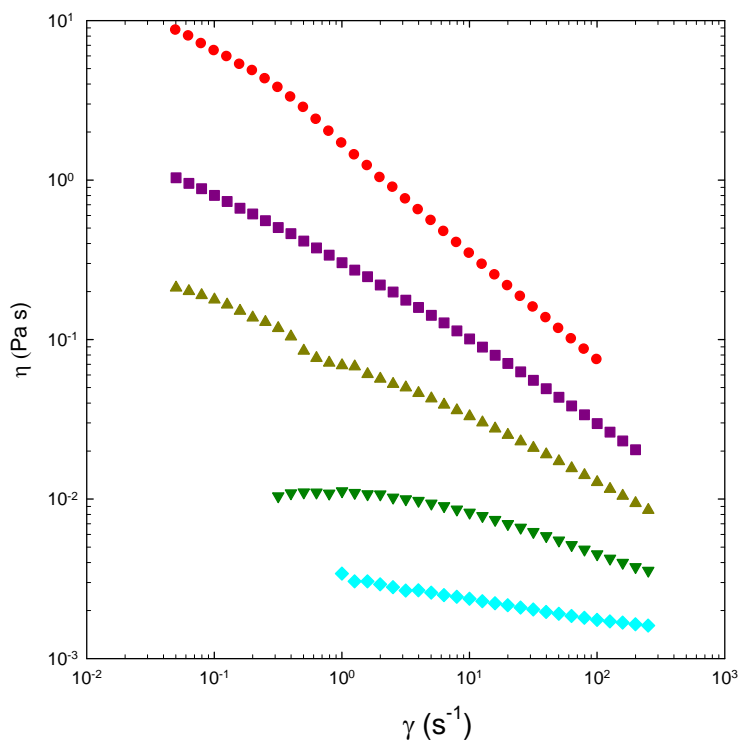


Figura 6. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación a 25 °C de disoluciones con distintas concentraciones de gelana sin adición de contraiones externos: 0.10% (círculo rojo), 0.050% (cuadrado morado), 0.0250% (triángulo verde olivo), 0.0125% (triángulo invertido verde oscuro) y 0.00625% (rombo cian).

Las concentraciones que mostraron comportamiento newtoniano (Figura 7) son de especial interés pues con estas se puede determinar la viscosidad intrínseca. Conforme las concentraciones fueron menores, la viscosidad disminuyó hasta llegar a un punto en donde a partir de 0.00315% el descenso fue menos notable.

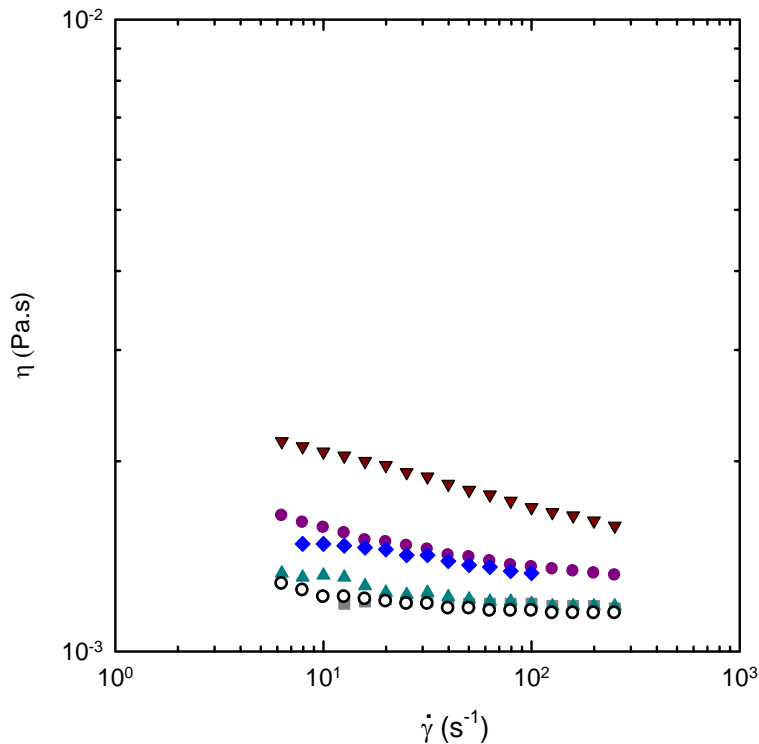


Figura 7. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación a 25 °C de disoluciones con distintas concentraciones de gelana sin adición de contraiones externos: 0.00450% (triángulo invertido vino), 0.00315% (círculo morado), 0.00225% (rombo azul), 0.00156% (cuadrado gris), 0.00112% (triángulo cian oscuro) y 0.000780% (círculo blanco).

4.1.2 Cizalla oscilatoria

El barrido de deformación permite conocer la extensión de la zona de viscoelasticidad lineal, la cual para la gelana de alto acilo se localizó en 0.1 a 60% de deformación dependiendo de su concentración en las disoluciones. En la Figura 8 se puede observar la relación entre los módulos dinámicos, G'

y G'' , con la deformación para disoluciones de gelana de concentraciones 0.10, 0.050, 0.0250 y 0.0125%. Para la concentración de 0.10% el módulo de almacenamiento G' fue superior al modulo de pérdida G'' con moderada dependencia de ambos módulos con la frecuencia, lo que lo caracteriza como gel débil e indicando el predominio del carácter elástico sobre el viscoso en la disolución. Para la concentración de 0.050% los dos módulos se empalman indicando igual predominio del carácter elástico y el viscoso. Para las cuatro siguientes concentraciones el módulo de pérdida predominó, por lo tanto a bajas concentraciones el polímero tiene carácter viscoso.

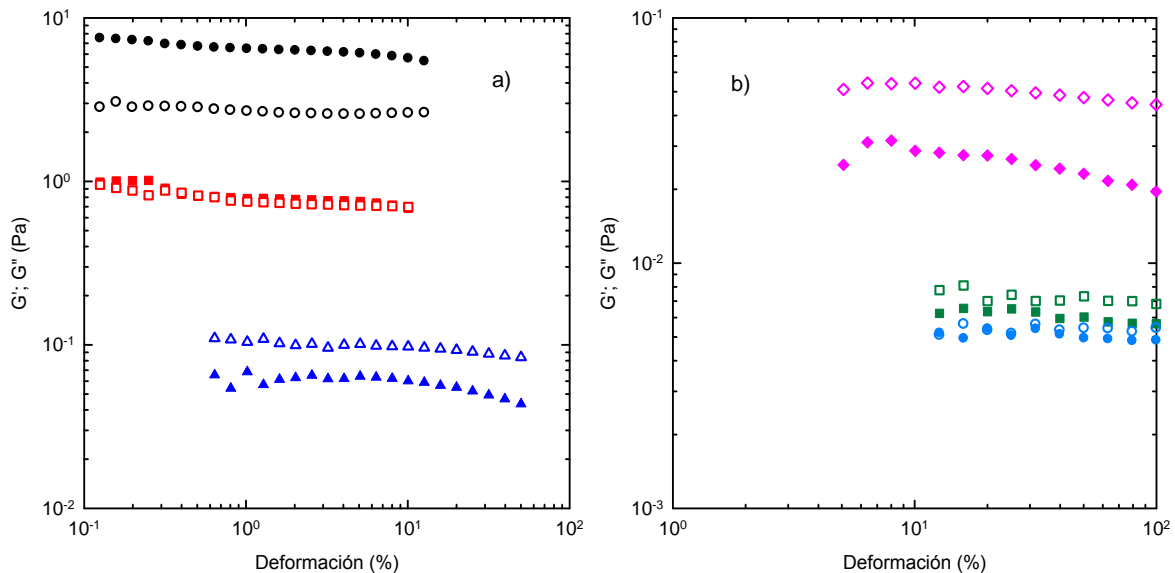


Figura 8. Barridos de deformación a 25 °C de disoluciones con distintas concentraciones (%) de gelana de alto acilo sin adición de contraiones externos. (a) 0.010 (negro), 0.050 (rojo) y 0.0250 (azul). (b) 0.0125 (fucsia), 0.00315 (verde), 0.00156 (azul claro). G' (símbolos llenos), G'' (símbolos vacíos).

En el barrido de frecuencia se empleó el porcentaje de deformación determinado en los barridos de deformación ya que la extensión de la zona de viscoelasticidad lineal varía en función de la concentración. La Figura 9 muestra la variación de los módulos dinámicos con la frecuencia. Para la

concentración de 0.10% al igual que en la Figura 8, G' fue claramente superior a G'' sobre todo el intervalo de frecuencia, pero conforme la concentración disminuyó, G'' fue superior a G' lo cual es característico de disoluciones diluidas.

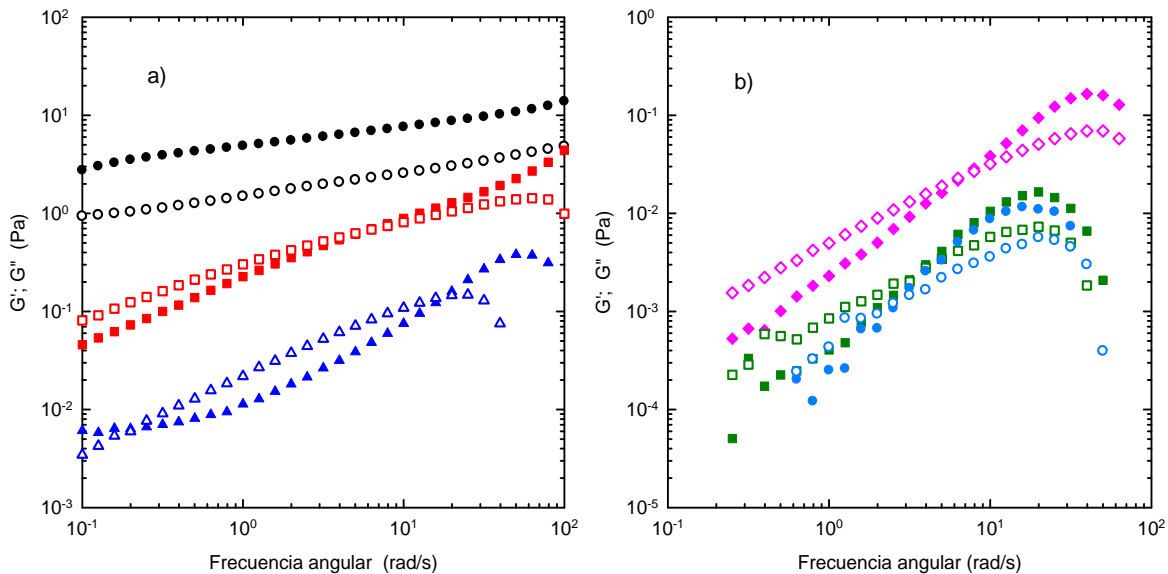


Figura 9. Barridos de frecuencia a 25 °C de disoluciones con distintas concentraciones (%) de gelana de alto acilo sin adición de contraiones externos. (a) 0.10 (negro), 0.050 (rojo) y 0.0250 (azul). (b) 0.0125 (fucsia), 0.00315 (verde) y 0.00156 (azul claro). G' (símbolos llenos), G'' (símbolos vacíos).

4.2 COMPORTAMIENTO REOLOGICO DE DISOLUCIONES DE GELANA DE ALTO ACILO (GAANa) CON NaCl

Con los resultados del comportamiento de la gelana en disolución sin iones, se continuó el estudio con la adición del ion monovalente sodio. De acuerdo a la Figura 6 se puede observar que conforme disminuyó la concentración de gelana la viscosidad también disminuyó. Debido a esta tendencia para las pruebas reológicas de las disoluciones de gelana de alto acilo con iones mono y divalentes se decidió trabajar con una concentración de 0.05% para

observar de qué manera los iones afectan las propiedades de las disoluciones de gelana de alto acilo.

4.2.1 Cizalla estacionaria

En la Figura 10 se muestra el efecto de la concentración de Na^+ sobre la viscosidad de las disoluciones de gelana dentro del intervalo de 10 a 300 s^{-1} .

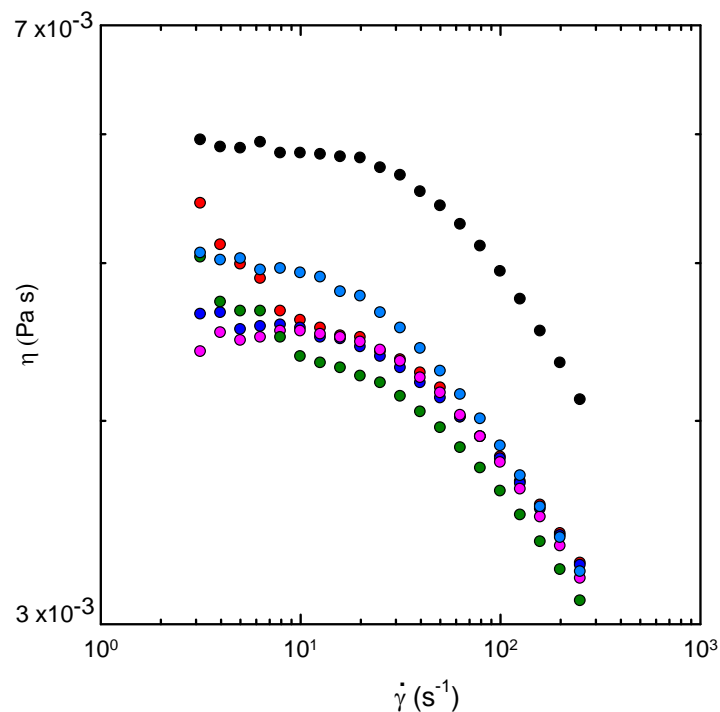


Figura 10. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ de disoluciones de gelana (GAANA) 0.05% y distintas concentraciones (mM) de ion sodio; 0 (negro), 1 (rojo), 3 (azul), 5 (fucsia), 7 (verde) y 9 (azul claro).

4.2.2 Cizalla oscilatoria

En la Figura 11 para todas las concentraciones se observa que el módulo de pérdida G'' es superior al módulo de almacenamiento G' , indicando el predominio del carácter viscoso sobre el elástico. Para el caso de las concentraciones 7 y 9 mM se ve que el módulo G' se va acercando al módulo

G'' , pensando así que al seguir aumentando la concentración de iones el modulo G' será predominante. Para todas las concentraciones se ve dependencia de ambos módulos con la frecuencia.

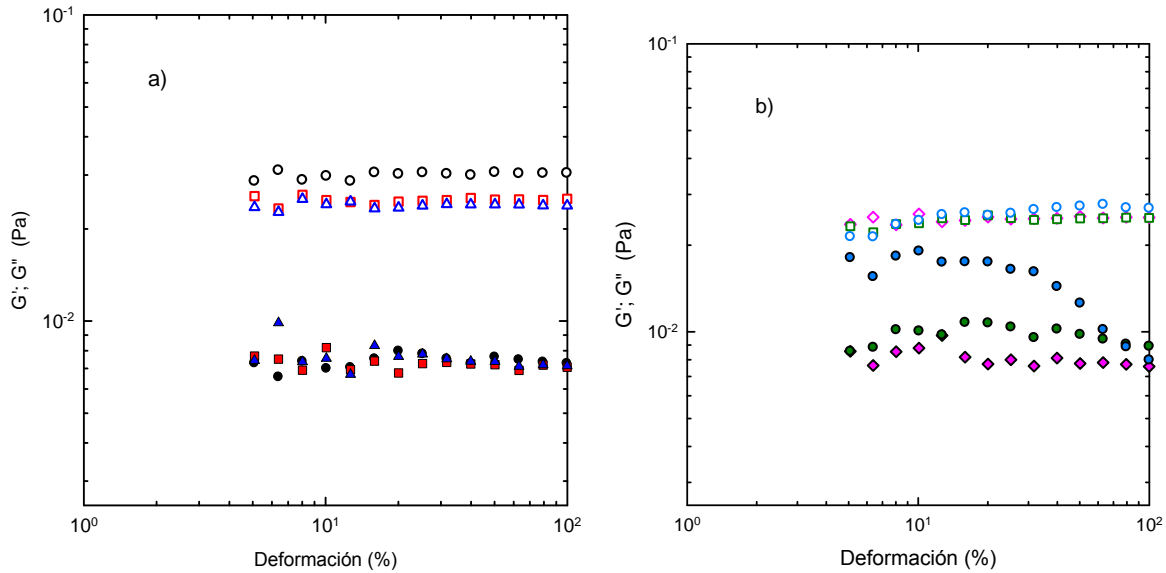


Figura 11. Barridos de deformación a 25 °C de disoluciones de gelana (GAANA) 0.050% con distintas concentraciones (mM) de NaCl. (a) 0 (negro), 1 (rojo) y 3 (azul). (b) 5 (fucsia), 7 (verde), 9 (azul claro). G' (símbolos llenos), G'' (símbolos vacíos).

La Figura 12 muestra la variación de los módulos dinámicos con la frecuencia. En este caso al agregar el ion sodio para todas las concentraciones el modulo G'' fue superior a G' , se observa dependencia de los módulos con la frecuencia y a frecuencias altas se igualan mostrando esto que se tratan de disoluciones diluidas.

4.3 COMPORTAMIENTO REOLOGICO DE DISOLUCIONES DE GELANA DE ALTO ACILO CON CaCl₂

4.3.1 Cizalla estacionaria

En la Figura 13 se observa para el caso de las concentraciones 1, 3, 5 mM que el módulo de pérdida G'' es superior al modulo de almacenamiento G' , indicando el predominio del carácter viscoso sobre el elástico; para la concentración 7 y 9 mM se ve que el módulo G' se va acercando al modulo G'' . Pensando así que al seguir aumentando la concentración esta tendencia se mantendrá, y se podría llegar a la concentración en donde haya una disminución nuevamente.

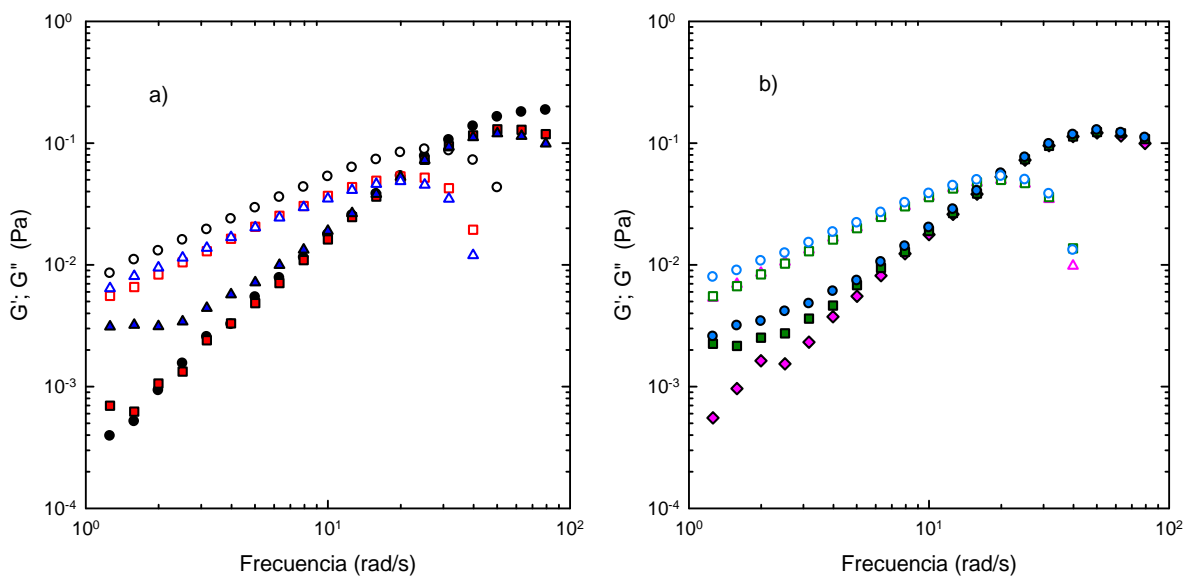


Figura 12. Barridos de frecuencia a 25 °C de disoluciones de gelana (GAANA) 0.05% con distintas concentraciones (mM) de NaCl. (a) 0 (negro), 1 (rojo), 3 (azul). (b) 5 (fucsia), 7 (verde), 9 (azul claro). G' (símbolos llenos), G'' (símbolos vacíos).

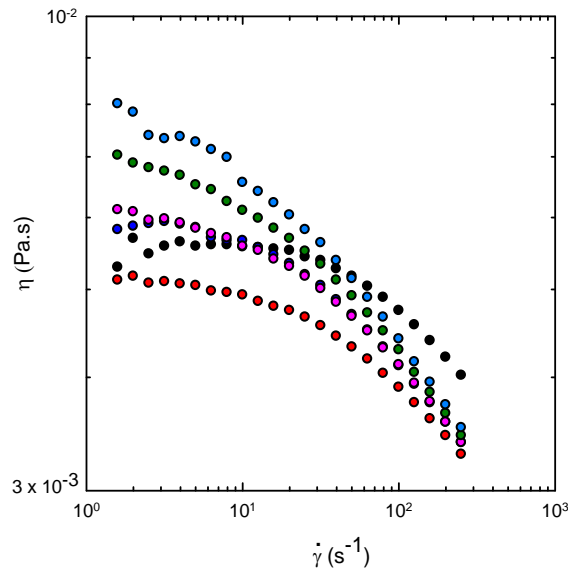


Figura 13. Variación de la viscosidad con la velocidad de deformación a 25 °C de disoluciones de gelana (GAANA) 0.05% con distintas concentraciones (mM) de CaCl_2 : 0 (negro), 1 (rojo), 3 (azul), 5 (fucsia), 7 (verde) y 9 (azul claro).

4.3.2 Cizalla oscilatoria

En la Figura 14 se observa para el caso de las concentraciones de 1, 3, 5 mM que el módulo de pérdida G'' es superior al modulo de almacenamiento G' , indicando el predominio del carácter viscoso sobre el elástico; para la concentración 7 y 9 mM se ve que el modulo G' se va acercando al modulo G'' . Esta afirmación lleva a inferir que al aumentar la concentración del ion los dos módulos se empalmen y G' será superior a G'' .

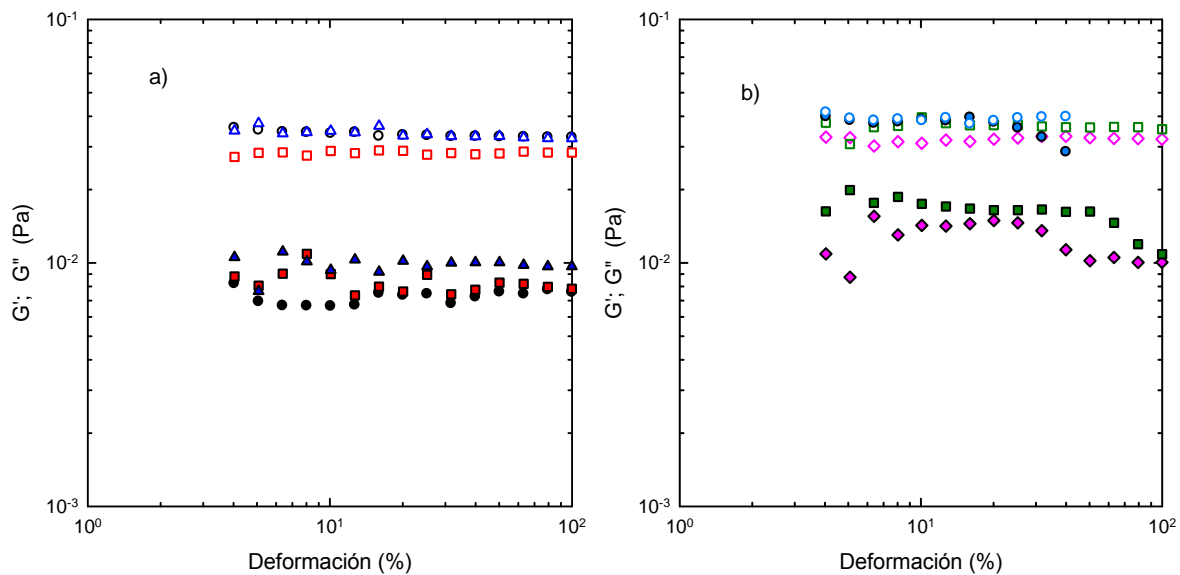


Figura 14. Barridos de deformación a 25 °C de disoluciones de gelana (GAANA) 0.05% con distintas concentraciones (mM) de CaCl_2 . (a) 0 (negro), 1 (rojo), 3 (azul). Para (b) 5 (fucsia), 7 (verde), 9 (azul claro). G' (símbolos llenos), G'' (símbolos vacíos).

El barrido de frecuencia (Figura 15) muestra al igual que el barrido de deformación que para las disoluciones de gelana con sodio en 1, 3 y 5 mM el módulo G'' es superior al módulo G' . Para las concentraciones 7 y 9 mM se observa que el módulo G' se comienza a empalmar con el módulo G'' .

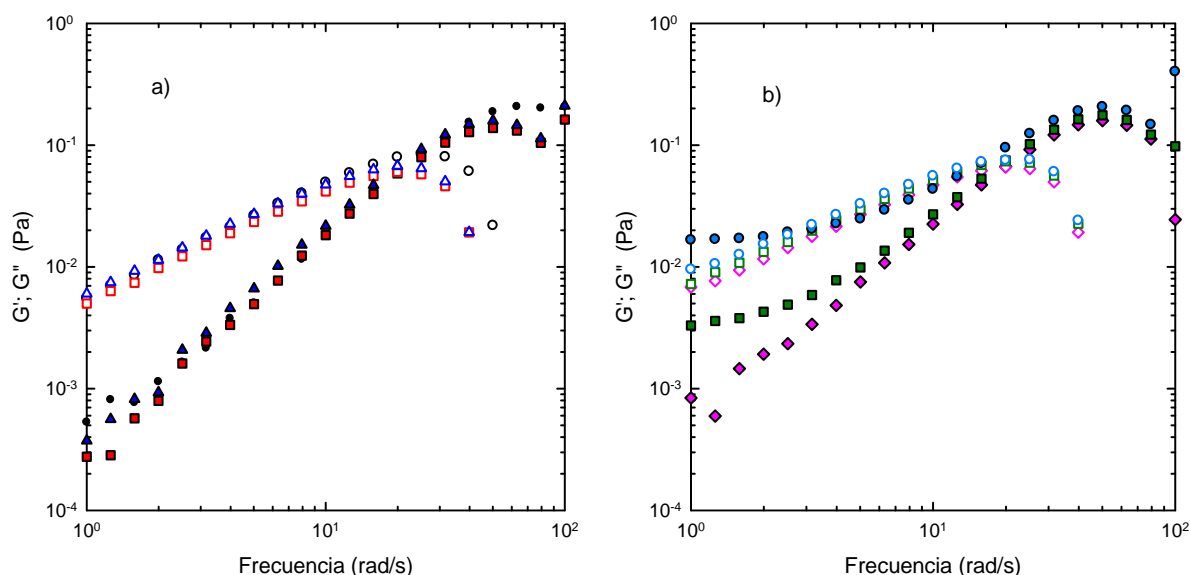


Figura 15. Barridos de frecuencia a 25 °C de disoluciones de gelana (GAANA) 0.05% con distintas concentraciones (mM) de CaCl_2 . (a) 0 (negro), 1 (rojo) y 3 (azul). (b) 5 (fucsia), 7 (verde) y 9 (azul claro). G' (símbolos llenos), G'' (símbolos vacíos).

4.4 EFECTO DE LOS CONTRAIONES SOBRE LA VISCOSIDAD DE DISOLUCIONES DE GELANA DE ALTO ACILO SODICA

En la Figura 16 se observa que al adicionar el ion sodio e ir aumentando su concentración la viscosidad de la disolución de gelana 0.05% comienza a disminuir paulatinamente, al llegar a la concentración 9 mM la viscosidad comienza a aumentar de nuevo.

Para el caso del ion calcio, en la Figura 17 se observa que al aumentar su concentración, la viscosidad de la disolución comienza a disminuir, este descenso es mayor que con el ion sodio pues es un ion divalente (Anexo A); pero al tener una concentración de 3 mM comienza a aumentar y continúa con esa tendencia. Pensando así que al seguir aumentando la concentración esta tendencia se mantendrá, y se podría llegar a la concentración en donde haya una disminución nuevamente.

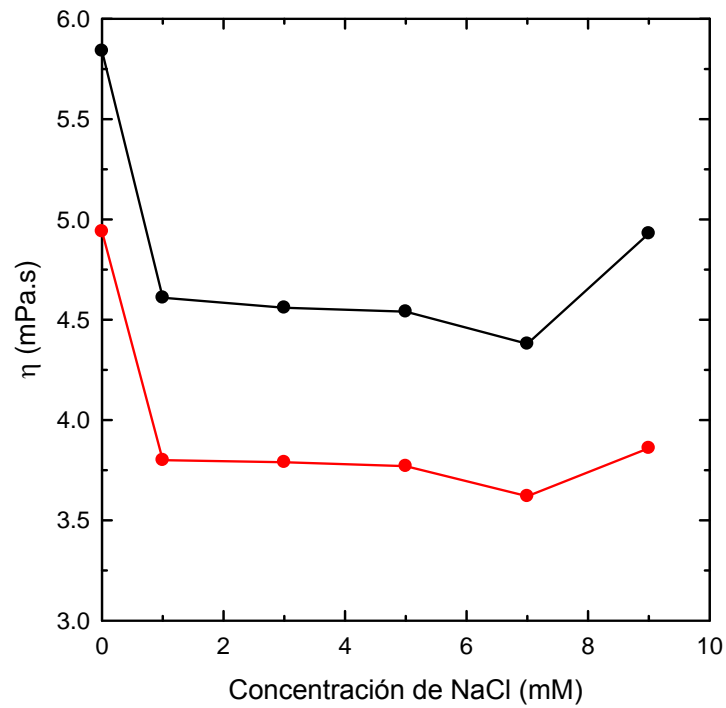


Figura 16. Variación de la viscosidad con la concentración de NaCl de gelana (GAANa) 0.05% para una velocidad de deformación de 10 s^{-1} (negro) y de 100 s^{-1} (rojo).

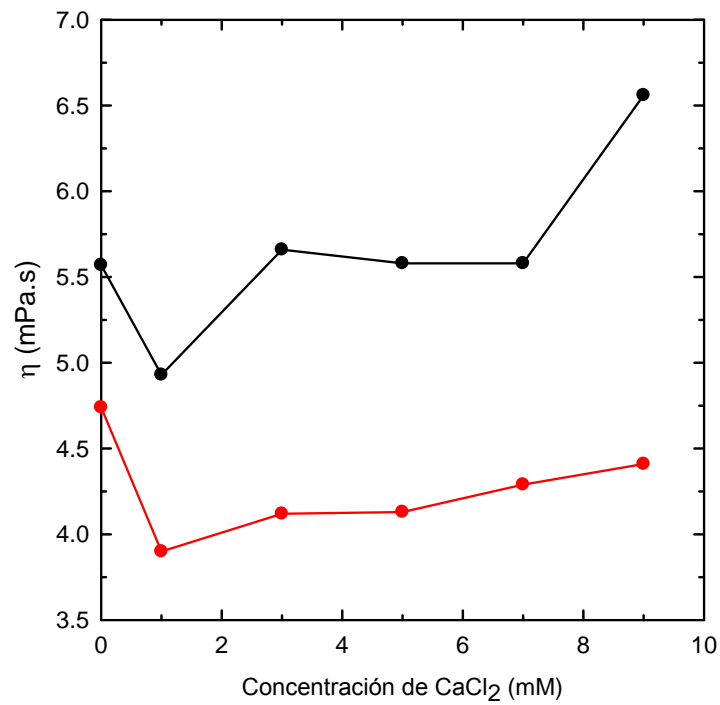


Figura 17. Variación de la viscosidad con diferentes concentraciones de CaCl_2 de gelana (GAANa) 0.05% para una velocidad de deformación de 10 s^{-1} (negro) y de 100 s^{-1} (rojo).

En ambos casos se observa que al agregar iones la viscosidad disminuye pero en determinada concentración de iones la viscosidad de la disolución comienza a aumentar. Este comportamiento es debido a que el ión interacciona con la molécula de gelana teniendo una unión "doble hélice - M^+ - agua - M^+ - doble hélice" para el sodio y "doble hélice - M^{++} - doble hélice" para el calcio haciendo que la molécula se compacte y disminuya su viscosidad; al continuar agregando iones se tiene una mayor concentración de estos, por lo tanto existe mayor repulsión entre las uniones de gelana y iones ya mencionadas arriba y los iones en exceso, creando esto el aumento de la viscosidad.

4.5 EFECTO DE LA FUERZA IONICA SOBRE LA VISCOSIDAD DE DISOLUCIONES DE GELANA DE ALTO ACILO SODICA

En la Figura 18 se observa la relación entre el inverso de la raíz cuadrada de la fuerza iónica, $I^{-1/2}$, con la viscosidad de las disoluciones de gelana con 0 a 7 mM de NaCl. La concentración de 9 mM NaCl no se incluyó porque para esta concentración la viscosidad aumentó nuevamente como se aprecia en la Figura 16. A medida que la fuerza iónica es mayor, es decir cuando el inverso de la raíz cuadrada de la fuerza iónica es menor, la viscosidad de la disolución es menor lo que significa que conforme la viscosidad es mayor cuando la fuerza iónica es pequeña. Dado que la fuerza iónica representa el efecto de las cargas y la concentración de los iones involucrados, al aumentar dicho efecto las cadenas de gelana se contraen haciendo que disminuya la viscosidad. La teoría de Fixman (1964) de los polielectrolitos predice que la viscosidad intrínseca $[\eta]$ es directamente proporcional a $I^{-1/2}$. Dado que la viscosidad intrínseca se calcula a partir de la viscosidad, se

puede esperar que la predicción de la teoría de Fixman también aplique para la viscosidad. La Figura 18 muestra una relación razonablemente lineal ($r = 0.9507$) entre la viscosidad e $I^{-1/2}$. Sin embargo, es necesario determinar la viscosidad de manera más precisa, en un viscosímetro capilar por ejemplo, para bajas concentraciones de NaCl para disminuir la dispersión de los datos. No obstante, esta primera aproximación al estudio del comportamiento de la gelana de alto acilo en presencia de NaCl añadido, sugiere que la predicción de la teoría de Fixman para polielectrolitos se cumple para la gelana, con lo cual el comportamiento polielectrolítico se satisface.

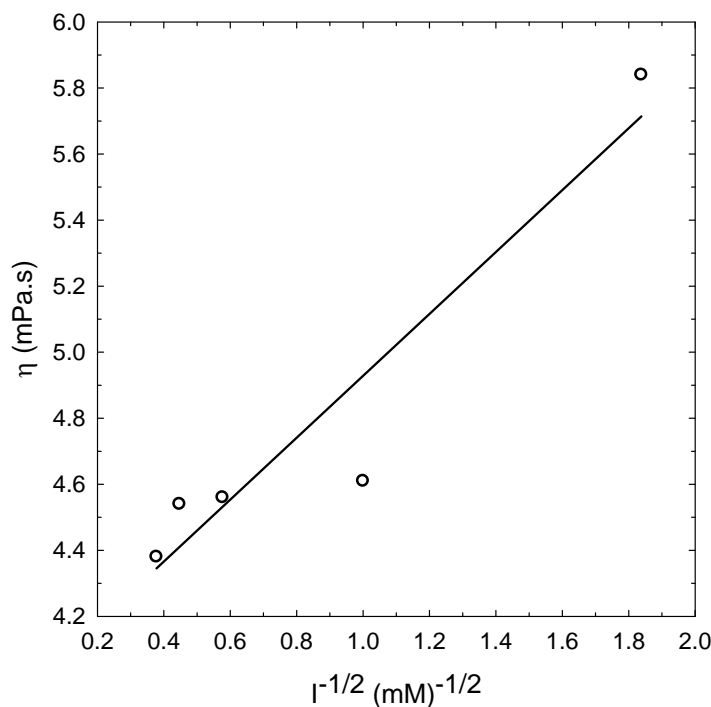


Figura 18. Relación entre la viscosidad y el inverso de la raíz cuadrada de la fuerza iónica de disoluciones de gelana (GAANA) 0.05% con concentraciones de 0, 1, 3, 5 y 7 mM de NaCl para una velocidad de deformación de 10 s^{-1} .

La Figura 19 muestra la relación entre la viscosidad y el inverso de la raíz cuadrada de la fuerza iónica para el ion Ca^{2+} . En concordancia con la Figura 17 la relación de proporcionalidad entre la viscosidad e $I^{-1/2}$ solo se observa entre 0 y 1 mM de CaCl_2 . Concentraciones superiores producen un incremento en la viscosidad el cual se traduce en el incremento mostrado en

la Figura 19 para $I^{-1/2} < 0.4 \text{ mM}^{-1/2}$. En esa región, la pendiente negativa significa que una mayor fuerza iónica produce una viscosidad mayor. Este efecto tiene lugar en polielectrolitos cuando la concentración de contraiones es tal que hay un exceso de estos que impide a la macromolécula interactuar con el disolvente ya que este solvata a los contraiones haciéndolos menos disponibles para interactuar con el polielectrolito.

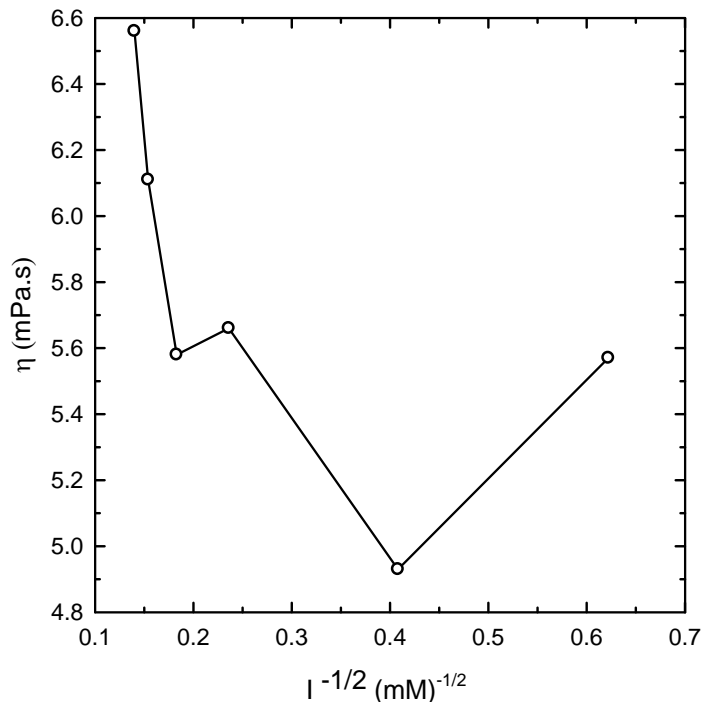


Figura 19. Relación entre la viscosidad y el inverso de la fuerza iónica de disoluciones de gelana (GAANA) 0.05% con concentraciones de 0, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0 y 9.0 mM de CaCl_2 a una velocidad de deformación de 10 s^{-1} .

El comportamiento mostrado en la Figura 19 sugiere que la teoría de Fixman se cumpliría solamente para concentraciones de Ca^{2+} menores o iguales a 1 mM, mientras que para el ion sodio el límite sería 5 mM. Estos límites tan bajos pudieran deberse al hecho de que la gelana es capaz de formar geles al interactuar con contraiones mono y divalentes. Aunque 0.05% de gelana en ausencia de contraiones externos no forma geles, sino soluciones como lo muestra claramente la Figura 15, la adición de contraiones podría inducir

cambios de conformación de la gelana de hebra aleatoria a doble hélice lo que explicaría el aumento de viscosidad al incrementar la concentración de contraiones externos. No obstante, no habría formación de gel porque para ello tiene que ocurrir la agregación de las dobles hélices para formar una red tridimensional. La mayor sensibilidad de la gelana a contraiones divalentes explica por qué en caso de estos últimos el límite de concentración para el cual la teoría de Fixman se cumple es inferior que el de los monovalentes.

4.6 VISCOSIDAD INTRINSECA

En la Figura 20 se muestran las curvas de flujo para concentraciones de 10, 20, 50, 80 y 100 mM de NaCl. La adición de esta sal a la disolución de gelana 0.00156% no influyó en la viscosidad. La cantidad de polímero es muy baja y tendría que aumentarse para que hubiera una mayor interacción con el ión monovalente. Para determinar la viscosidad intrínseca se requieren disoluciones diluidas de comportamiento newtoniano. En la Figura 7 se muestran las concentraciones de gelana que satisfacen estos dos criterios. Por ello se decidió que de estas 5 concentraciones la concentración de trabajo con adición de sal fuera 0.00156%.

Para determinar la viscosidad intrínseca se trabajó con concentraciones de 10, 20, 50, 80 y 100 mM de NaCl. La Figura 21 muestra la relación entre la viscosidad intrínseca y la concentración de NaCl. Al igual que en la Figura 16 para la viscosidad, en este caso la viscosidad intrínseca disminuyó al agregar 10 mM de Na⁺ pero inmediatamente aumentó para 20 a 100 mM.

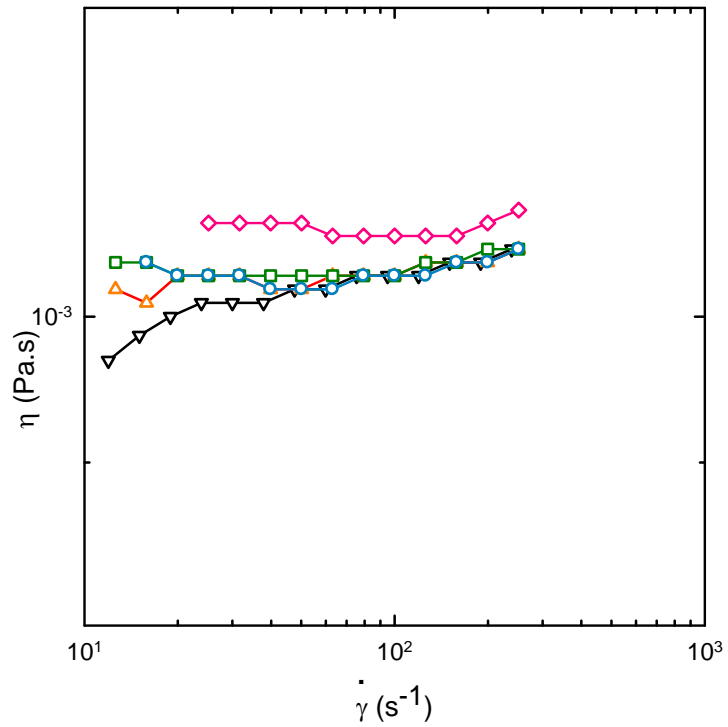


Figura 20. Curva de flujo a 25 °C de gelatina 0.00156% con distintas concentraciones (mM) de Na⁺; 10 (negro), 20 (naranja), 50 (verde), 80 (azul) y 100 (rosa).

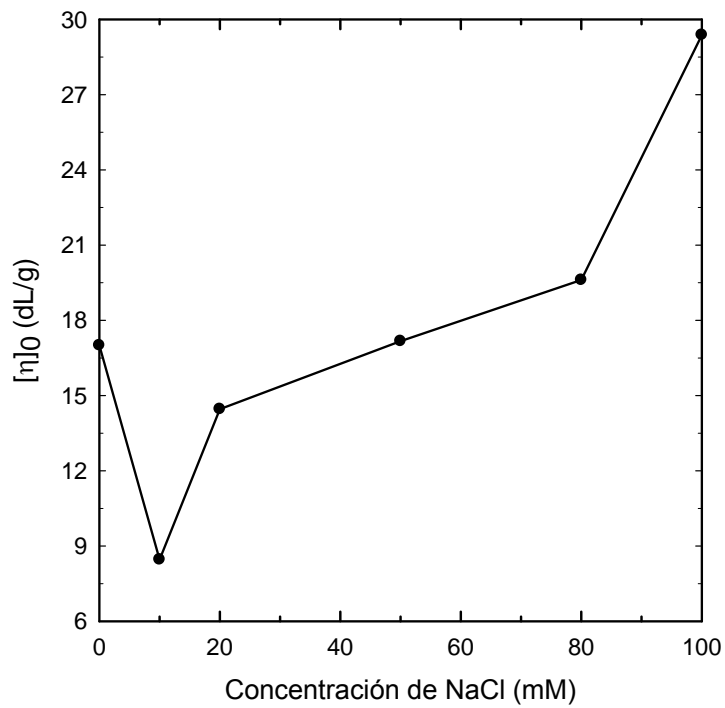


Figura 21. Variación de la viscosidad intrínseca con la concentración de NaCl en una disolución de gelana 0.00156%.

Este resultado muestra que cuando la concentración de gelana es muy baja, i.e. 0.00156% el efecto de reducción de viscosidad provocado por la adición de contraiones externos desplaza el límite hacia mayores concentraciones. Por ejemplo, para gelana 0.050% dicho límite para NaCl es 7 mM. Esto significa que debe encontrarse la combinación más adecuada de concentración de gelana y concentración de contraiones que permita comprobar la teoría de Fixman sobre un mayor intervalo de fuerza iónica. Esta combinación no es necesariamente fácil de encontrar porque deben satisfacerse los requisitos de comportamiento newtoniano y disolución diluida. No obstante, ha sido posible en este trabajo identificar los órdenes de magnitud de concentración de polisacárido y NaCl que permitirán ir refinando la búsqueda de la mejor proporción de componentes posible.

4.7 DETERMINACIÓN DE PARAMETRO DE RIGIDEZ DE LA GELANA DE ALTO ACILO

En este punto de avance del trabajo, no es aún posible determinar de manera contundente los parámetros S y B, siendo este ultimo el llamado parámetro de rigidez (Smidsrød & Haug, 1971). No obstante, a manera de ejemplo, se presenta el procedimiento a seguir para tal propósito. La Figura 22 muestra la relación entre la viscosidad intrínseca e $I^{-1/2}$ para concentraciones de 0, 10, 20, 50, 80, 100 mM NaCl. En párrafos anteriores ya se ha discutido la razón por la cual aparece la porción con pendiente negativa. Para obtener S y B se trabaja únicamente en la región de pendiente positiva, la cual en este caso está formada únicamente por dos puntos.

Dado que en esta región se cumple que $y = mx + b$, se tiene que $y = 0.846x + 8.19$. Considerando la relación (Smidsrød & Haug, 1971)

$$S = B([\eta]_{0.1})$$

donde $[\eta]_{0.1}$ es la viscosidad intrínseca determinada para 100 mM de NaCl, se tiene que $S = 0.846$ y $[\eta]_{0.1} = 29.38$ dL/g. Por lo tanto $B = 0.0288$. Un valor pequeño de B indica una molécula rígida. Si se acepta esta aproximación para calcular B , el resultado sugiere la gelana de alto acilo es una macromolécula rígida cuando está en disolución acuosa en presencia de contraiones de NaCl. Este resultado es consistente con el hecho de que a temperatura ambiente, la gelana de alto acilo está en una conformación de doble hélice y que los sustituyentes acilo y glicerilo obstaculizan el plegamiento y desdoblamiento de la macromolécula haciéndola menos flexible y por lo tanto más rígida.

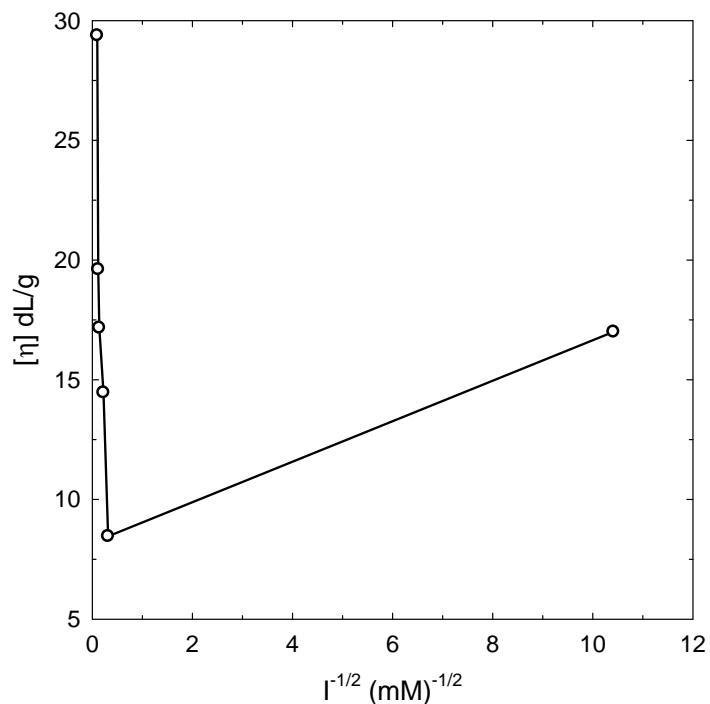


Figura 22. Relación entre la viscosidad intrínseca y el inverso de la fuerza iónica de disoluciones de gelana 0.00156% con concentraciones de 0, 10, 20, 50, 80 y 100 mM de NaCl.

CONCLUSIONES

Las disoluciones de gelana con y sin contraiones externos muestran comportamientos no newtonianos fluidificados por cizalla y comportamientos newtonianos dependiendo de la concentración de polisacárido y de contraiones. La adición de contraiones monovalentes y divalentes abate la viscosidad pero estos últimos lo hacen a concentraciones menores que los primeros. Un aumento en la concentración de contraiones externos hace que la viscosidad aumente una vez que se ha producido un abatimiento inicial. El abatimiento se atribuye al apantallamiento de las cargas de la cadena polimérica por el contraion, mientras que el subsecuente aumento es atribuido a la solvatación de los contraiones externos debido a su alta concentración, lo que obstaculiza la interacción entre el agua y la gelana. Sin embargo, la probable interacción entre dobles hélices inducida por un aumento en la concentración de contraiones externos podría también explicar este comportamiento. El límite de concentración de contraion externo para el cual la viscosidad aumenta después de un abatimiento inicial depende de la concentración de gelana y del tipo de contraion. Cuando la concentración de gelana es 0.00156% el límite es aproximadamente 10 mM de Na^+ , mientras que cuando la concentración de gelana es 0.050% el límite es aproximadamente 7 mM. Este último límite disminuye hasta 1 mM cuando se usa contraion Ca^{2+} .

El comportamiento viscoelástico también se ve afectado por la concentración de gelana y de contraion externo así como de su tipo. Todos los sistemas estudiados muestran el comportamiento característico de disoluciones de polímeros en las cuales los módulos dinámicos dependen notablemente de la frecuencia angular y G'' es superior a G' prácticamente sobre todo el intervalo de frecuencia. No hay evidencia reológica de formación de geles en ninguna de las proporciones entre gelana y contraion examinadas.

Se estimó el parámetro de rigidez de la gelana de alto acilo, por medio de la relación entre la viscosidad intrínseca y el inverso de la raíz cuadrada de la fuerza iónica. Sin embargo, debido al aumento de viscosidad inducido por el aumento en la concentración de contraiones externos, el valor del parámetro de rigidez es solo aproximado y sugiere que la gelana es una molécula rígida. Este hallazgo es congruente con el hecho de que el polímero a temperatura ambiente adopta una conformación de doble hélice, pero debido a que no hay agregación de dobles hélices no se forma una red tridimensional que conduzca a la formación de un gel. A pesar de que el valor del parámetro de rigidez es solo aproximado, se encontraron las condiciones que permitirán refinar el procedimiento para la determinación más precisa de este parámetro en estudios futuros.

REFERENCIAS

- Arockiasamy, S. & Mohak Banik, R., (2008), Optimization of Gellan gum production by *Sphingomonas paucimobillis* ATCC 31461 with nonionic surfactants using central composite design. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **105**(3), 204-210.
- AOAC (1990). Official Methods of Analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Barnes, H. A. (2000). A Handbook of Elementary Rheology. 1^o edición. Cambrian Printers. (Inglaterra). pp. 19-24.
- Carranza, J. (2000). Compendio de hidrocoloides: Fundamento y aplicaciones en la industria alimentaria. Tesis de licenciatura. Facultad de Química. UNAM
- Chandrasekaran, R. & Radha, A. (1995). Molecular architectures and functional properties of gellan gum and related polysaccharides. *Trends in Food Science and Technology* **6**, 143-148.
- Chávez Castellanos, A. E., Noguez Méndez., N. A., Rubio Martínez, A. & Burgos Jara, D. (2004). Reología y sistemas farmacéuticos. Asociación Farmacéutica Mexicana AC., México.
- CPKelco (2005) Kelcogel Gellan Gum Book. 5^o edición. (Estados Unidos).
- Dobrynin, A., Colby, R. H. & Rubinstein, M. (1995). Scaling theory of polyelectrolyte solutions. *Macromolecules* **28**, 1859-1871.

- Escamilla-Loeza, G. M. (2006). Propiedades Mecánicas y Estructura de geles de gelana y almidón de maíz ceroso no modificado. Tesis de Licenciatura, FQ-UNAM, pp. 7-10.
- Fixman, M. (1964). Polyelectrolytes: A fuzzy sphere model. *Journal of Chemistry & Physics* **41**, 3772-3777.
- Jin, H., Lee N., Shin M., Kim S., Kaplan D., Lee J. (2003). Production of Gellan gum by *Sphingomonas paucibillis* NK2000 with soybean pomace. *Biochemical Engineering Journal* **16**, 357-360.
- Lapasin, R. & Prici, S. (1995). Rheology of Industrial Polysaccharides: Theory and Application. New York: Chapman and Hall. pp. 267-281.
- Roudot, A. (2004). Reología y análisis de la textura de los alimentos. Acribia SA. pp. 273-290.
- Sanderson, G.R. (1990). Gellan Gum en Food Gels. Harris P. (editor). Elsevier Applied Science, London, New York, pp. 201-232.
- Smidsrød, O. & Haug, A. (1971). Estimation of the relative stiffness of the molecular chain in polyelectrolytes from measurements of viscosity at different ionic strengths. *Biopolymers* 10, 1213-1227.
- Sperling, L.H. (1992). Introduction to Physical Polymer Science. 2º edición. John Wiley & Sons Inc. Estados Unidos de América. pp. 100-107.
- Steffe, J.F. (1996). Rheological Methods in Food Process Engineering. Freeman Press, 2nd edition, United States of America.

Sutherland, W.I. (1994). Structure – function relationships in microbiological exopolysaccharides. *Biotechnology Advances* **12**, 393-448.

Tanford, C. (1961). *Physical Chemistry of Macromolecules*. John Wiley & Sons, Inc. N.Y. USA.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar si hay diferencia significativa entre las viscosidades de disoluciones con 0.050% de gelana con 3mM de Na⁺ y Ca²⁺, se hizo un análisis t de Student con las siguientes hipótesis:

HIPÓTESIS

$$H_0: \alpha_1 - \alpha_2 = 0$$

$$H_1: \alpha_1 - \alpha_2 \neq 0$$

Se rechaza la hipótesis nula (H₀) si

$t > t^{1-\alpha/2}$ por lo tanto si hay diferencia en la viscosidad de las disoluciones de gelana entre el ion Na⁺ y Ca²⁺

Gelana 0.050%			
	NaCl 3 mM	CaCl₂ 3 mM	
γ (s⁻¹)	η_{Na} (Pa.s)	η_{Ca} (Pa.s)	$\Delta\eta = \eta_{Na} - \eta_{Ca}$ (Pa.s)
1.00	0.00616	0.00633	-0.00017
1.26	0.00601	0.00472	0.00129
1.58	0.00582	0.00451	0.00131
2.00	0.00587	0.00488	0.00099
2.51	0.00591	0.00451	0.0014
3.16	0.00594	0.00465	0.00129
3.98	0.0059	0.00466	0.00124
5.01	0.00585	0.00455	0.0013
6.31	0.0057	0.00457	0.00113
7.94	0.00566	0.00458	0.00108
10.0	0.00566	0.00456	0.0011
12.6	0.00556	0.0045	0.00106
15.9	0.00546	0.00449	0.00097
19.95	0.00534	0.00444	0.0009
25.12	0.00519	0.00438	0.00081
31.62	0.00505	0.00431	0.00074
39.81	0.00487	0.00422	0.00065
50.12	0.00469	0.00413	0.00056
63.10	0.00451	0.00402	0.00049
79.43	0.00432	0.00391	0.00041
100	0.00412	0.00379	0.00033
126	0.00393	0.00366	0.00027

159	0.00375	0.00353	0.00022
200	0.00357	0.0034	0.00017
251	0.00339	0.00326	0.00013
		Promedio	0.0007868
		Desv Est	0.0004526
		n	25
		Desv Est / \sqrt{n}	9.052E-05
		t = (Prom-0)/Desv Est \sqrt{n}	8.6919825
		t_{24α(0.05)}	1.711
t > t_{24α(0.05)}, si hay diferencia entre el ión Na⁺ y Ca²⁺			

De acuerdo a los resultados obtenidos con una $t = 8.69$ que es mayor que **t_{24 α (0.05)} = 1.711** se rechaza la hipótesis nula y se encuentra que sí hay diferencia significativa entre el ion Na⁺ y Ca²⁺.