



10561
2
UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

REOCINÉTICA DE GELIFICACIÓN DE
GELANA: EFECTO DE LA
CONCENTRACIÓN DEL POLISACÁRIDO,
TIPO DE CONTRAÍÓN Y FUERZA IÓNICA

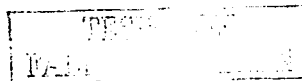
T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
FISICOQUÍMICA (MÉTODOS Y METROLOGÍA)
P R E S E N T A:
GRACIELA MARTÍNEZ CRUZ

ASESOR:
DR. ALBERTO TECANTE CORONEL

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO DE MÉXICO

2003

A





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.

PAGINACION

DISCONTINUA



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO

CARTA DE VOTOS APROBATORIOS

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

Coordinación General de Estudios de Posgrado
FES-Cuautitlán
Presente.

Por medio de este conducto nos permitimos comunicar a usted que revisamos la tesis titulada "REOCINÉTICA DE GELIFICACIÓN DE GELANA: EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL POLISACÁRIDO, TIPO DE CONTRAÍÓN Y FUERZA IÓNICA" que presenta la alumna MARTINEZ CRUZ GRACIELA con número de cuenta 7220766-8 y número de expediente 100931031 para obtener el grado de Maestro en Físicoquímica (Métodos y Metrología). Consideramos que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el Examen de Grado correspondiente. otorgamos el voto aprobatorio.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, a 12 de Junio del 2002

NOMBRE DE LOS SINODALES

Presidente: DRA. LAURA PATRICIA MARTÍNEZ PADILLA

Vocal: M. en C. MARIA DEL CARMEN NÚÑEZ SANTIAGO

Secretario: DR. ELIGIO PASTOR RIVERO MARTÍNEZ

Primer Suplente: DR. RAFAEL HERRERA NAJERA

Segundo Suplente: DR. ALBERTO TECANTE CORONEL



DEDICATORIAS

A mi padre
Por enseñarme la importancia de la honestidad
y el amor al trabajo.

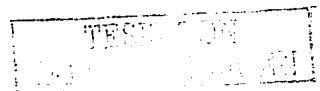
A mi madre
Por ser una mujer tenaz y nunca dejarse
vencer por la adversidad.

Guillermo:
Porque las fuerzas interactivas nos
mantengan en una fase.

A mis hijos
Alheli, Erika y Jorge Alberto:
La vida esta llena de retos y es imperativo aceptarlos.
A ustedes que son lo más importante de mi existencia,
les doy las gracias por su tiempo cedido y les pido
perdón por el tiempo robado.

A mis hermanos
Felipe, Susana, Emma, Oscar, Adrián, Arcadio, Mago y Jorge:
En cada uno de ustedes hay algo que aprender porque todos son exitosos y no
obstante, que somos muy diferentes existe una lazo irrompible entre nosotros
llamado fraternidad.

A mis amigos:
Ana Mary, Toño, Vere, Vicky, Juanita, Mago, Gerardo, Paula, Julieta y Porfirio.
Gracias por su apoyo incondicional y por sus alicientes que me han ayudado a
superar los tiempos difíciles.



AGRADECIMIENTOS

A los sinodales:

Agradezco profundamente sus valiosas y acertadas recomendaciones.

A mi asesor:

Dr. Alberto Tecante C.

Le doy las gracias, en primer lugar por haber creído en mí y brindarme la oportunidad de trabajar con él, en segundo lugar por su experta guía en este estudio, y finalmente, por su infinita paciencia y comprensión.

A mi amigo de toda la vida:

Q. Antonio García Osomio.

Agradezco sus valiosas aportaciones a este trabajo; que sin ellas no sería posible escribir estas líneas.

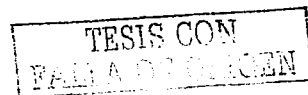
Al Dr. Víctor Manuel González Robles:

Por su devoción, su cariño y su entrega absoluta a la docencia.

Q. Cecilia González Ibarra:

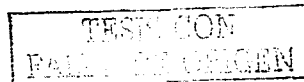
Por su desinteresada contribución en las determinaciones de absorción atómica.

D



CONTENIDO

	Página
Contenido	i
Índice de figuras	iii
Índice de cuadros	v
Nomenclatura	vi
Resumen	vii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
HIPÓTESIS	3
1 ANTECEDENTES DE GELANA	
1.1 Historia	4
1.2 Estructura	5
1.3 Producción	10
1.4 Propiedades reológicas de geles	11
2 FUNDAMENTOS	
2.1 Geles	18
2.2 Reología	21
2.3 Cinética Química	36
3 MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 Materiales	42
3.2 Determinación de iones metálicos	42
3.3 Cinética de gelificación de los geles de gelana	45
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Determinación del tiempo de gelificación	48
4.2 Temperatura del tiempo de gelificación	50
4.3 Influencia de la fuerza iónica	55



	Página
4.4 Influencia de la concentración de gelana	58
4.5 Influencia del tipo de catión	59
4.6 Determinación de los parámetros cinéticos	63
CONCLUSIONES	67
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
ANEXO A	72
ANEXO B	78
ANEXO C	79

TESIS CON
SELLO DE ORIGEN

INDICE DE FIGURAS

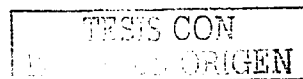
	Página
Figura 1.1 Unidad tetrasacárida de gelana de bajo acilo.	6
Figura 1.2 Viscosidad intrínseca $[\eta]$ y rotación óptica específica $[\alpha]_D$.	14
Figura 2.1 Modelo de un sólido hookeano.	23
Figura 2.2 Modelo de un amortiguador para un fluido newtoniano.	24
Figura 2.3 Respuesta de materiales al aplicar un esfuerzo constante.	25
Figura 2.4 Modelo de Maxwell.	26
Figura 2.5 Representación del modelo de Kelvin-Voigt.	27
Figura 2.6 Curva de fluencia.	28
Figura 2.7 Curva de relajación de esfuerzos.	29
Figura 2.8 Curvas de flujo de materiales de diferente conducta.	31
Figura 2.9 Curvas de estímulo-respuesta de diferentes tipos de material.	34
Figura 4.1 Determinación del tiempo de gelificación.	48
Figura 4.2 Cinética de gelificación con KCl.	49
Figura 4.3 Temperatura del baño vs tiempo del reómetro.	50
Figura 4.4 Influencia de la fuerza iónica (I).	55
Figura 4.5 Influencia de la fuerza iónica (II).	56

	Página
Figura 4.6 Variación del módulo elástico de equilibrio (G'_{eq}) con respecto a la fuerza iónica (I), utilizando la sal KCl.	57
Figura 4.7 Influencia de la concentración de gelana.	58
Figura 4.8 Influencia del tipo de catión.	60
Figura 4.9 Regresión lineal del modelo cinético.	65
Figura A.1. Curva patrón del magnesio.	73
Figura A.2. Curva patrón del calcio.	75

TESIS CON
FOLIOS DE ORIGEN

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 4.1 Propiedades generales de geles utilizando NaCl.	52
Cuadro 4.2 Propiedades generales de geles utilizando KCl.	53
Cuadro 4.3 Propiedades generales de geles utilizando MgCl ₂ .	53
Cuadro 4.4 Propiedades generales de geles utilizando CaCl ₂ .	54
Cuadro 4.5 Tiempo de gelificación (t_g) de geles con NaCl.	63
Cuadro 4.6. Tiempo de gelificación (t_g) de geles con KCl.	63
Cuadro 4.7 Tiempo de gelificación (t_g) de geles con MgCl ₂ .	64
Cuadro 4.8 Tiempo de gelificación (t_g) de geles con CaCl ₂ .	64
Cuadro 4.9 Parámetros cinéticos de la formación de geles de los distintos cationes.	64
Cuadro A.1 Datos de la curva patrón de magnesio.	72
Cuadro A.2 Datos de la curva patrón de calcio.	74
Cuadro A.3 Concentración de sodio en gelana.	76
Cuadro A.4 Concentración de potasio en gelana.	77
Cuadro B.1 Parámetros estadísticos de geles con sales monovalentes.	78
Cuadro B.2 Parámetros estadísticos de geles con sales divalentes.	78



NOMENCLATURA

G'	Módulo de almacenamiento, Pa
G''	Módulo de pérdida, Pa
G^*	Módulo complejo, Pa
S	Desviación estándar
T_g	Temperatura de gelificación, °C
t_g	Tiempo de gelificación, min

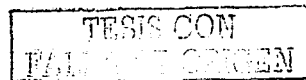
Letras griegas

γ	Deformación relativa
η	Viscosidad de cizalla, Pa-s
$\dot{\gamma}$	Velocidad de cizalla, s^{-1}
σ	Esfuerzo de cizalla, Pa
ω	Frecuencia, $rad\ s^{-1}$

RESUMEN

La gelana es un polisacárido aniónico, extracelular microbiano, producido por la bacteria *Sphingomonas elodea*. Ha tenido un auge comercial increíble en los últimos años debido a sus características reológicas. Su importancia radica en su poder gelificante a muy bajas concentraciones y además forma geles con diferentes texturas. Las propiedades funcionales de este polisacárido han despertado el interés en estudiarla en las diferentes áreas. En esta investigación se estudiaron las propiedades reocinéticas de gelificación, a través de mediciones dinámicas (G' , G'') con una deformación (γ) del 2.0 % y una frecuencia (ω) de 0.924 rad/s.

Como es un polímero aniónico la adición de cationes induce su gelificación, para este fin fueron utilizados cloruros de magnesio, calcio, sodio y potasio. Sin embargo, fue necesario determinar la concentración de cationes ya presentes en la preparación comercial, usada en este trabajo, para ello, el calcio y el magnesio fueron determinados por absorción atómica, mientras que los análisis de sodio y potasio fueron hechos por flamometría. El catión que más favoreció la gelificación fue el magnesio hasta concentraciones de 0.2 % (m/m) de gelana y para concentraciones mayores fue el calcio. El inductor de menor fuerza, fue el sodio; pero no se debe descartar ya que los geles elaborados con este catión son más suaves, esta característica es deseada para varias aplicaciones, además que es la sal más económica de todas.



El aumento de la concentración del polisacárido como era de esperarse favorece la gelificación, disminuyendo el tiempo de fraguado y aumentando el módulo de almacenamiento (G'), lo que significa geles con mayor consistencia.

En los parámetros cinéticos resultó la constante de velocidad más grande, en los geles de magnesio ($k = 1.3 \text{ min}^{-1}$) y con orden de reacción mayor ($n = 1.8$); mientras los geles de sodio resultó tener la constante cinética menor ($k = 9.3 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$). Estos valores significan que la formación de los geles de magnesio es más rápida que la de los geles de sodio.

Se pueden combinar condiciones para lograr el gel requerido con la textura y el tiempo de gelificación necesarios, para un uso específico; porque este polisacárido tiene versatilidad en sus propiedades reológicas y este estudio proporciona las herramientas para establecer esas condiciones, de una manera aproximada.

INTRODUCCIÓN

La textura de los alimentos es un factor sumamente importante para su aceptación por el consumidor, por lo que siempre se están buscando nuevos caminos para lograrlo. Los estabilizantes y espesantes son ingredientes que juegan un papel primordial en esta propiedad.

Dentro de estos aditivos alimenticios, se encuentra el almidón, la celulosa y sus respectivos derivados; las gomas son también empleadas para los mismos fines, y son igualmente polisacáridos de alto peso molecular, de origen natural o modificados. En los últimos años se han desarrollado algunos agentes estabilizantes (gelificantes) y espesantes de origen microbiano, con excelentes propiedades. Uno de ellos es la gelana, la cual es obtenida por fermentación microbiana. Este producto representa una fuente importante por sus características de formación de geles termorreversibles de rigidez controlada, en concentraciones sumamente bajas. Como este polisacárido es un producto de fermentación, se puede producir a gran escala, con mejor control de calidad en su pureza y propiedades.

La gelana, un agente gelificante relativamente joven; por su gran auge comercial, ha despertado el interés de muchos científicos, porque es importante conocer mejor su comportamiento y de este modo obtener mayor beneficio de ella. Existen varias investigaciones realizadas en forma de patentes, en donde se expone su producción



por fermentación microbiana y su uso como aditivo en diferentes alimentos. En las revistas científicas, los estudios realizados sobre la determinación de su estructura y mecanismos de gelificación son numerosos; pero en cuanto a estudios cinéticos de la formación de geles de este polisacárido, no existe un solo tratado: por lo que en el presente proyecto se pretende establecer los parámetros cinéticos de este proceso, en diferentes condiciones de gelificación, a través de mediciones reométricas, específicamente G' (módulo de almacenamiento) y G'' (módulo de pérdida). Así de esta manera se puede predecir su comportamiento y por ende, aprovechar mejor sus propiedades

OBJETIVOS

Objetivo General

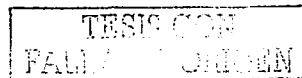
Determinar experimentalmente los parámetros cinéticos del proceso de gelificación de gelana, a través de mediciones reológicas, con el fin de caracterizar su comportamiento reocinético.

Objetivos Particulares

- 1) Estudiar cuantitativamente las propiedades reológicas y cinéticas en geles de gelana, en función de la presencia de cationes monovalentes (Na^+ , K^+) y divalentes (Mg^{2+} , Ca^{2+}), para conocer el efecto de su concentración y su naturaleza.
- 2) Determinar la influencia de la concentración de la gelana en el comportamiento de las propiedades reológicas y cinéticas de geles de este polisacárido.

HIPÓTESIS

La variación de la concentración de gelana, el tipo de catión y su concentración, tendrá una notable influencia en la cinética de gelificación y en la propiedades reológicas de los geles.



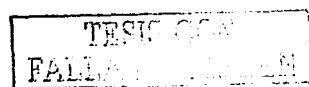
CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1.1 HISTORIA

En 1977, un estudiante de la Universidad del Estado de Pennsylvania, mientras trabajaba en un proyecto de aislamiento de una bacteria fotosintética, tomó una muestra de un cojincillo de un lirio acuático de las cercanías del lago Stone Valley, la muestra tenía una sustancia de aspecto mucilaginoso, lo cuál llamó la atención de George Veeder, jefe de Fermentación de Kelco, quien por ese tiempo, visitaba este lugar. Veeder aisló algunos cultivos de las bacterias que poseía esta muestra y los llevó a los laboratorios de Kelco, en donde se identificó el microorganismo, productor de la goma, como una especie desconocida de *Pseudomonas* y le dieron el nombre de *Pseudomonas elodea*, elodea por la planta acuática de donde se obtuvo la muestra (Pszczola, 1993). Posteriormente, se encontró que la bacteria que producía esta sustancia no era de la especie de *Pseudomonas* sino específicamente la de *Sphingomonas*, por lo cual tuvo que ser cambiado más tarde por *Sphingomonas elodea* (Kasapis *et al.*, 1999).

Se encontró que este polisacárido gelificaba, después de ser calentado y posteriormente enfriado; resultando un gel transparente, anteriormente nunca visto,



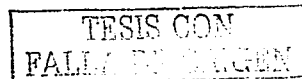
por esta propiedad la gelana se concibió como diferente de otros agentes gelificantes. Pese a esto, poco tiempo después de su descubrimiento y al inicio de su investigación su desarrollo fue discontinuo, a pesar de que esta sustancia es un eficiente gelificante: inicialmente el potencial de sus aplicaciones no fue reconocido y el problema de la fermentación a gran escala resultó también un obstáculo. Sin embargo, la experiencia de la compañía en procesos de fermentaciones viscosas, desarrolladas en los años treinta, facilitó superar las dificultades encontradas en su producción.

Desde el descubrimiento de la gelana, George Sanderson, el decano del departamento de Investigación de Kelco, se ha encargado de su estudio y ha trabajado para establecer las propiedades y aplicaciones de ésta en alimentos, esta persona es reconocida como el padre de la gelana. Fue hasta este momento que se reconoció todo el potencial que posee este polisacárido.

1.2 ESTRUCTURA

La gelana es un polisacárido aniónico, extracelular, microbiano, puede tener un peso molecular de 450, 000 Daltons.

La elucidación de su estructura molecular es muy importante para entender los mecanismos de gelificación, para conocer su conducta funcional y de esta manera poder realzar las propiedades deseadas.



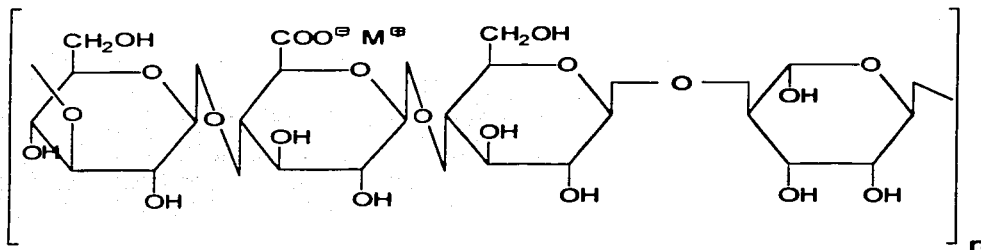


Figura 1.1 Unidad tetrasacárida de gelana de bajo acilo:(1-3) β ,D-Glucosa--(1-4) β ,D-Ac. Glucurónico--(1-4) β ,Glucosa--(1-4) α ,L-Ramnosá (Smidsrød y Grasdalen, 1982).

Su estructura primaria está conformada por una unidad estructural repetitiva de un tetrasacárido, constituido por L-ramnosa, D-glucosa y ácido D-glucurónico. En la forma nativa este polisacárido está acetilado, existe aproximadamente uno y medio del grupo O-acetilo por cada unidad repetitiva. Este agente gelificante puede ser parcialmente desacetilado, por lo que se puede obtener gelana de alto y bajo grado de acetilo. En estudios de Kuo *et al.* (1986), sugirieron que ésta contiene, tanto grupos O-acetilos como grupos O-glicerilos, substituyentes en el carbono 3 de la unidad de glucosa. Los análisis en el laboratorio indicaron que la substitución del glicerato predomina sobre el acetato. Indudablemente, estos grupos voluminosos de gliceratos impiden la asociación de cadenas y esto provoca cambios significantes en la textura del gel.

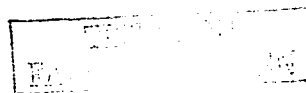
La estructura de los geles ha sido investigada por varios años usando difracción de rayos-X. La calidad de los primeros modelos no fueron apropiados, para proporcionar los elementos necesarios para detallar un análisis estructural; pero posteriormente en el trabajo de Upstill *et al.* (1986), se obtuvieron modelos de difracción de rayos-X de alta calidad de fibras policristalinas orientadas, de este polisacárido microbiano. Para estos estudios, en la preparación de la muestra se utilizaron métodos normalizados, bien documentados de fibras de polisacáridos los cuales fueron aplicados a esta sustancia. La gelana se dispersó en agua y se le añadió sal de litio para la promoción de la gelificación. Posteriormente, se formó una película delgada, después de haber sido extendida en completo estado de gel; esta película fue objeto de investigación en un intervalo de esfuerzos, de temperatura de 20°C a 95°C y una sucesión de humedades relativas, cercanas al 100%. Uno de los principales obstáculos en este estudio, es que en este tipo de sustancias existen pocas zonas de cristalinidad, esta propiedad puede ser mejorada por recocción, por lo cual la muestra se mantuvo a 70°C durante 8 semanas. En este trabajo se usó una cámara de plato plano alimentada con helio para reducir la difracción del aire, en intervalo de exposición de 24 a 36 horas . La difracción de la sal de litio de este polisacárido tuvo como resultado una celda unitaria con dimensiones $a = b = 1.56 \pm 0.03$ nm, c (eje de la fibra) = 2.82 ± 0.05 nm; los ángulos $\alpha = \beta = 90^\circ$, $\gamma = 120^\circ$, con fuertes reflexiones meridionales observadas en la 3^a, 6^a y 9^a capa. Se ha examinado que estas conformaciones moleculares son consistentes con la estructura química, con la medición de densidad de 1.47 g mL^{-1} y con las dimensiones de la celda unitaria. La mayor parte de la intensidad difractada es concentrada en el ecuador y permanece por reducción de la cristalinidad manteniendo la orientación. Estas observaciones sugieren modelos con concentraciones de densidad electrónica en



planos paralelos al eje de la fibra, esto es lógico para una cadena de polisacárido completamente extendida.

En el estudio anterior, los mejores modelos de difracción de rayos X se obtuvieron de las muestras desacetiladas, mientras que para los materiales acetilados los modelos de difracción resultaron difusos. Los resultados en su estructura secundaria para ambos indicaron tres desdoblamientos helicoidales conformacionales para las moléculas, con un espacio lineal correspondiente de 2.82 nm. La proyección axial es de $2.82 \text{ nm}/3 = 0.94 \text{ nm}$ es un dato extraordinariamente pequeño para un tetrasacárido repetitivo lineal, menos de la mitad del máximo teórico no ramificado, unidad para la cual se tiene un extensión máxima teórica de 1.92 nm; una explicación para esto, es que se trata de hélices muy contraídas, exactamente tres pliegues hacia la izquierda, con doble hélice paralela. La discrepancia entre los factores de estructura medidos y calculados, se asoció a la distribución general de la intensidad difractada vista en el modelo de rayos-X.

Los primeros ensayos de análisis de difracción de la gelana en forma de las sales monovalentes que se realizaron a mitad de los ochenta, proporcionaron algunas ideas en los detalles de la estructura molecular. En un estudio posterior de rayos X de una sal de Li-gelana, elaborado por Chandrasekaran y Radha (1995), mostró que la estructura molecular es una doble hélice, la cual está formada por el entrelazamiento de dos pliegues helicoidales hacia la izquierda y tres pliegues hacia la derecha con un longitud de 56.4 \AA (5.64 nm) en forma paralela. Esta asociación se fortalece por puentes de hidrógeno intercadena a lo largo de la hélice, entre los



grupos hidroximetil del enlace 4-glucosil de una cadena y los grupos carboxilatos de la otra.

En esta investigación se confirmó la morfología de K-gelana y se reveló la posición de los iones K^+ , los cuales se encuentran en la vecindad del grupo carboxilato de cada unidad de tetrasacárido. Este ion está coordinado hexaédricamente, rodeado por tres ligandos en una cadena (los dos átomos de oxígeno de carboxilato y un grupo hidroxilo), dos ligandos de la otra cadena (dos grupos hidroxilo) y una molécula de agua. Este arreglo confiere excelente estabilidad estructural a la doble hélice de la gelana. Con la presencia de iones monovalentes, tales como K^+ , los pares de gelana de doble hélice se alinean en forma antiparalela con una distancia de 9.1 \AA (0.91 nm) y conectadas fuertemente por las interacciones carboxilato--- K^+ ---agua--- K^+ ---carboxilato. De otra manera, cuando iones divalentes, como el ion calcio, se emplean para la gelificación, las cadenas de gelana son unidas, por las interacciones carboxilato--- Ca^{2+} ---carboxilato, obviamente este enlace resulta más fuerte que el anterior, todo esto proporciona geles con fuerza y textura deseada a fuerza iónicas más bajas con sales de calcio.

La inclusión de sustituyentes más voluminosos en el esqueleto de la gelana ha tenido un impacto más fuerte en las propiedades. Por ejemplo, las gomas de welana y ramsana, que son de la familia de este polisacárido, tienen el mismo esqueleto, pero tienen sustituyentes diferentes, la primera tiene cadenas de monosacáridos y la segunda, cadenas de disacáridos, lo cual hace que tengan una conducta distinta en solución, que la gelana (Morris *et al.*, 1996).



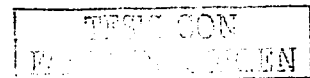
1.3 PRODUCCIÓN

La gelana es obtenida por la inoculación de la bacteria *Sphingomonas elodea*, en un medio de fermentación formulado cuidadosamente. El medio consiste de una fuente de carbono tal como la glucosa, una fuente de nitrógeno y diferentes sales inorgánicas.

La fermentación se verifica en condiciones estrictas de esterilidad, con riguroso control de aeración, agitación y pH. Cuando la fermentación es completa, el caldo viscoso se pasteuriza, para eliminar las células vivas y entonces subsecuentemente se procede a recuperar el polisacárido, tanto en su forma nativa (completamente acetilado) como desacetilado (Nussinovicht, 1997).

Como este polisacárido es un producto de fermentación, se puede producir a gran escala y a bajo costo, sin que intervengan factores como son: época del año, condiciones adversas de temporal, problemas de tipo ecológico, etc. Además, de esta manera se puede producir bajo condiciones más controladas, utilizando microorganismos seleccionados y con substratos simples, asegurando con ello la estabilidad de su producción y precio; así mismo se asegura un mejor control en su calidad, pureza y propiedades.

La gelana fue la primera en aprobarse como agente gelificante de origen microbiano, para usarse en helados, rellenos de panadería, confitería, jaleas y mermeladas; a partir del 28 de septiembre de 1990, por la Food and Drug Administration (FDA) (Dziedzak, 1990).

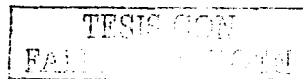


1.4 PROPIEDADES REOLÓGICAS DE GELES DE GELANA

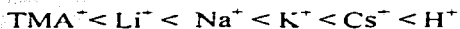
La importancia de este polisacárido radica en que los geles que forma son termorreversibles, con gran versatilidad en sus propiedades reológicas, dependiendo de las condiciones de su elaboración; además tiene gran compatibilidad con los otros ingredientes de los alimentos incluyendo con otros agentes gelificantes, lo que permite la preparación de productos especiales.

La gelana necesita la presencia de cationes para que ocurra la gelificación; tanto la valencia como la concentración de éstos tienen una notable influencia en la naturaleza de los geles. Estudios fisicoquímicos sugieren que las zonas de unión de los geles aparecen gracias a la asociación y una posible cristalización de secciones de la cadena polimérica. Los grupos aniónicos inhiben y los cationes promueven la agrupación intermolecular.

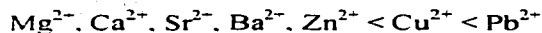
Las soluciones acuosas de la gelana y sus geles han sido estudiadas por osmometría, viscometría, dispersión de luz, polarimetría, NMR, mediciones de fuerza del gel y selectividad de intercambio catiónico (Grasdalen y Smidsrød, 1987). En soluciones de sales de tetrametilamonio (TMA), al incrementar la concentración de este catión, se induce contracción, ordenamiento y asociación de las cadenas, esto es revelado por la viscometría y las mediciones de rotación óptica. El ordenamiento de la cadena ocurre entre una fuerza iónica de 0.005 M y 0.05M, y la dispersión de luz indica una elongación de la estructura de la cadena en $I = 0.025M$ de TMACl. Además del TMA, en este estudio se trabajó también con otros cationes: monovalentes (Li^+ , Na^+ , K^+ , Cs^+ , H^+) y divalentes (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} ,



Cu^{2+} , Pb^{2+}). La gelificación es dependiente tanto de la naturaleza del catión como de su fuerza iónica. Para iones monovalente a una $I = 0.1\text{M}$, la rigidez del gel incrementa en el orden:



Para los iones divalentes la serie fue



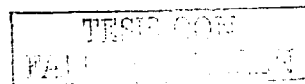
En los cationes alcalinos la especificidad existe marcadamente en la formación de geles de este gelificante y con otros polisacáridos como son alginatos y pectinas. Mientras que entre los cationes alcalinotérreos no es notable la influencia en este proceso.

En los estudios de intercambio catiónico no hay selectividad tanto en los cationes alcalinos como en los cationes alcalinotérreos; pero sí en los otros cationes divalentes y la serie de afinidad resulta de la siguiente manera:



Las mediciones de rotación óptica y de espectroscopia de NMR indican que la gelificación ocurre en dos pasos: ordenamiento de cadenas y asociación de ellas.

Grasdalen y Smidsrod (1987) también realizaron otros estudios, en estado de gel y estos fueron osmometría, viscometría, dispersión de luz y mediciones de



consistencia de gel. La viscosidad fue obtenida a 20°C en un viscosímetro Cannon-Ubbelohde. La viscosidad relativa fue determinada para cinco concentraciones diferentes del polímero, a partir de la cual la viscosidad intrínseca fue calculada. a bajas fuerzas iónicas (I), los iones del polímero contribuyeron con esta propiedad. Se establecieron tres zonas. La zona I, es en el intervalo de $I = 0.00125 \text{ M}$ a $I = 0.005 \text{ M}$, en este sitio la viscosidad intrínseca disminuye con el incremento de la fuerza iónica, esto es porque el polisacárido sufre una contracción electrostática sin transición conformacional. En la zona II, intervalo de $I = 0.005 \text{ M}$ a $I = 0.05 \text{ M}$, la viscosidad intrínseca incrementa cerca de tres veces, indicando algún ordenamiento conformacional de cadenas sencillas. En la zona III, el intervalo de $I = 0.05 \text{ M}$, de nuevo es observado un ligero decremento en la viscosidad intrínseca; también es advertida turbidez, lo cual es indicativo de agregación de cadenas (Figura 1.2).

Las propiedades reológicas de los geles también fueron estudiadas por Moritaka *et al.* (1991), quienes mostraron que estas propiedades fueron fuertemente influenciadas por la presencia de iones metálicos. Se utilizaron concentraciones de 0.2 a 1.5 (% masa) de gelana y sales de KCl, NaCl, MgCl_2 , CaCl_2 y $\text{Ca}[\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{COO}]_2$. La temperatura de transición sol-gel (temperatura de gelificación) fue determinada por mediciones dinámicas, en un "Rheograph-sol", usando como variable la temperatura, la cual fue descendida de 60°C con una rapidez de 1°C/min, la frecuencia y la amplitud permanecieron constantes a 2 Hz y 50 μm respectivamente. La temperatura de gelificación fue establecida en el punto donde el módulo de almacenamiento (G') se levanta de la línea basal. Este parámetro mostró dependencia con la concentración de la sal, así como con la concentración del polímero. Estos resultados sugieren que la asociación molecular

en las soluciones de gelana fue promovida por los cationes debido al campo electrostático de repulsión entre los grupos carboxilo en las moléculas de este polisacárido. La temperatura de gelificación de los geles donde se utilizó KCl es mucho más grande que en aquéllos donde se utilizó NaCl, a las mismas condiciones de concentración de gelana y fuerza iónica. Los iones potasio tienen más habilidad gelificante que los iones sodio y estos a su vez que los iones litio.

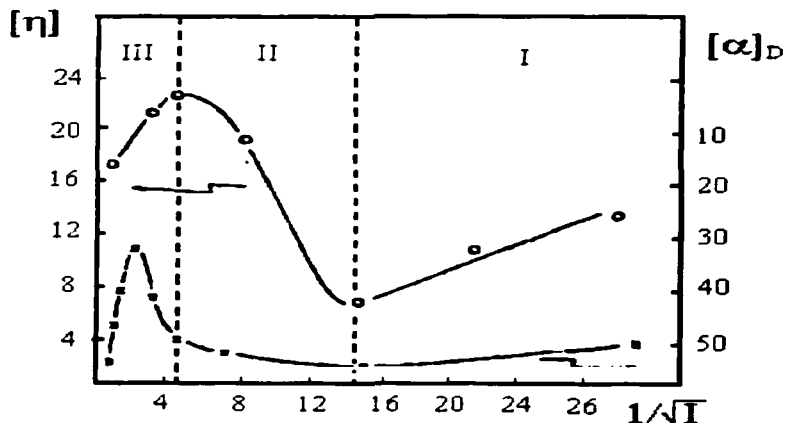


Figura 1.2 Viscosidad intrínseca $[\eta]$ y rotación óptica específica $[\alpha]_D$ a 20°C, contra $1/\sqrt{I}$, para 0.1 % (w/v) de gelana (Grasdalen y Smids, 1987).

La efectividad del catión va en el siguiente orden



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Este mismo comportamiento se observó en el estudio de Grasdalen y Smidsrød (1987), lo cual significa congruencia en los hechos.

El potasio es un ion rompedor de estructura mientras que el sodio es un formador de estructura, por lo tanto, las moléculas de agua alrededor de los iones potasio son más móviles que aquéllas que se encuentran alrededor de los iones sodio, y los iones potasio pueden obtener más acceso a los grupo carboxilo. Las fuerzas atractivas de Coulomb entre los iones potasio y los grupos carboxilo vienen a ser más grandes que las que existen entre los iones sodio y los grupo carboxilo porque la distancia efectiva entre las cargas eléctricas es más pequeña (Jampen *et al.*, 2000).

En estos experimentos, la temperatura de gelificación de los geles que contienen cationes divalentes es más alta que aquéllos que contienen iones monovalentes. Utilizando iones divalentes, se requirieron concentraciones más bajas de gelana que para aquéllos en donde se emplean sales de metales monovalentes, para la formación de geles. Esto representa que los divalentes son más efectivos que los monovalentes. Los cationes monovalentes apantallan la repulsión electrostática de los grupos carboxilos con lo que da lugar a enlaces compactos y por ende agregación de las hélices. Con la presencia de cationes divalentes forma un enlace iónico entre el átomo de oxígeno carboxilo de una molécula y con el oxígeno carboxilo de otra molécula de gelana. Por otra parte, la gelificación de soluciones de gelana sin sales es promovida por la agregación de dobles y hélices simples de las moléculas. También se encontró que los geles poseen zonas de unión de cadenas flexibles y los extremos de éstas están enlazadas a dos zonas de unión por interacciones débiles secundarias tales como enlaces de hidrógeno.

En la medición del módulo de Young complejo y dinámico (E^*) (Moritaka *et al.*, 1991), se emplearon geles moldeados de 20 mm de diámetro y 30 mm de longitud, preparados el día anterior. Las mediciones oscilatorias longitudinales fueron realizadas en un "Rheolograph-gel", en un intervalo de temperatura de 10°C a 50°C. La frecuencia y la amplitud fueron constantes con un valor de 2 Hz y 100 μm , respectivamente. Entonces, la deformación relativa fue de 0.0033. El comportamiento de E^* fue que aumentó al incrementar la concentración del polímero, debido al crecimiento de formación de la red estructural del gel. La influencia de la concentración de la sal en el módulo de Young elástico fue el siguiente: primero tuvo lugar un crecimiento al incrementar la concentración de la sal, hasta llegar a un máximo y posteriormente disminuyó. Los cationes promueven los enlaces estrechos de los polímeros helicoidales y por lo tanto favorecen las zonas de unión y cuando se tiene un exceso de cationes, es muy probable que la conformación cambie de las moléculas de gelatina, de cualquier manera, el mecanismo de este fenómeno no ha sido completamente esclarecido, y esta interpretación debe de ser explorada en el futuro. En lo que corresponde a la dependencia de la temperatura del módulo de Young con y sin sal, se observó un decremento uniforme de éste con el incremento de la temperatura; la explicación es que los segmentos son liberados de las zonas de unión con el incremento de la temperatura y son entretejidos con el decremento de la temperatura.

En las determinaciones de consistencia, se usaron geles de 5.5 cm de diámetro, empleando compresión uniaxial, en un "Rheolometer", el diámetro del émbolo fue de 40 mm. La distancia entre el émbolo y el plato fue de 2 mm. Este aparato fue diseñado para que el émbolo se mueva hacia arriba y hacia abajo a una amplitud de

50 mm y a un frecuencia de 12 ciclos/min. La fuerza del gel de los geles que contienen KCl fue más grande que los que contienen NaCl. La fuerza de gel para los geles de CaCl_2 fue mayor que aquéllos que contienen MgCl_2 , hasta una concentración de las sales de 0.1 % (m/m); para concentraciones mayores, la conducta fue inversa. La fuerza del gel fue menor para los que contienen CaCl_2 , que para los que contienen MgCl_2 .

CAPÍTULO 2

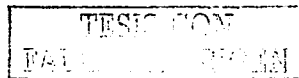
FUNDAMENTOS

En este capítulo se presentan algunos conceptos importantes; así como el lenguaje, convenciones y relaciones matemáticas que soportan este estudio, permitiendo analizar los datos experimentales y, finalmente, derivar algunas conclusiones útiles dando como resultado un mejor entendimiento del proceso de gelificación.

2.1 GELES

2.1.1 Definición de geles

Siguiendo la definición de Hermans (1965), un gel es considerado como un sistema disperso coloidalmente coherente con un mínimo de dos componentes, con una conducta mecánica similar a la de un sólido, en el cual el componente disperso forma redes interpenetrantes, las cuales atrapan al disolvente. La gelificación es explicada como la formación de fase sólida (amorfa o cristalina) de tal manera que produce una red tridimensional continua. Los puntos de contacto entre las cadenas son tomadas como cristalinas, sin embargo el tamaño de estas zonas de unión, puede variar desde pequeñas regiones conteniendo pocas cadenas ordenadas a grandes regiones cristalinas involucrando muchas cadenas. Los geles son estados de no



equilibrio, existen factores importantes como son las condiciones de preparación, que son determinantes para la estabilidad de estos sistemas dispersos o la separación de sus fases.

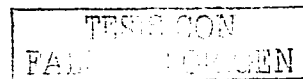
Diferentes autores dan una definición similar de este sistema disperso, a continuación se mencionan otras dos: un gel es un material que posee propiedades parecidas a los sólidos, cuando se encuentra presente una gran cantidad de disolvente líquido. Otra descripción de gel podría ser "Un sistema substancialmente diluido, el cual no presenta flujo estacionario" (Ferry, 1948). Los geles de biopolímeros contienen más 90 % de agua en masa .

El gel puede ser verdadero cuando es totalmente inmóvil ó débil cuando su naturaleza sólida es menos clara, en el momento que este tipo de gel es sometido a mínimo esfuerzo, exhibe flujo.

2.1.2 Tipo de interacciones de enlace en los geles

Este sistema disperso se puede clasificar como gel físico y químico. El gel químico presenta enlaces covalentes y gel físico enlaces físicos. La mayoría de geles en alimentos son de este último tipo.

Los entrecruzamientos entre las cadenas son originadas por cualquiera de las siguientes interacciones.



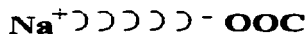
PUENTES DE HIDRÓGENO

Este tipo de interacción es una atracción intermolecular excepcionalmente fuerte y consiste en que una molécula contiene un átomo de hidrógeno enlazado con un átomo de alta electronegatividad y que posee un par electrónico o más sin compartir como el oxígeno. El núcleo del hidrógeno es un protón, el cual es atraído por el par electrónico vecino y oscila entre los dos átomos.



FUERZAS ELECTROSTÁTICAS

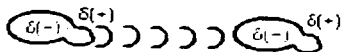
Cuando dos iones de carga diferente se encuentran a una distancia adecuada, experimentan atracción entre sí, formándose un enlace iónico.



FUERZAS DE VAN DER WAALS

En un molécula constituida por átomos con diferentes electronegatividades, se forma un momento dipolar, un $\delta(+)$ para el átomo con menor electronegatividad, porque puede retener menos tiempo a los electrones compartidos, y un $\delta(-)$ para el átomo de mayor electronegatividad, porque retiene los electrones mayor tiempo. Debido a esta polaridad las moléculas pueden establecer interacciones y formar enlaces.





FUERZAS HIDROFÓBICAS

Existen algunas moléculas que debido a su conformación se encuentran dispersas en agua; pero una vez que pierden esa estructura, la dispersión se rompe para conglomerarse atrapando una parte de agua entre ellas.



El nivel de energía de todas estas fuerzas es mucho menor, comparado con los enlaces covalentes. Por ejemplo, mientras que el enlace covalente H-H tiene una energía de 435 kJ mol^{-1} , un enlace de hidrogeno posee un valor de 20 kJ mol^{-1} y para un enlace hidrofóbico es de 4 kJ mol^{-1} (Laidler y Meiser, 1997).

2.2 REOLOGÍA

2.2.1 Definición

Literalmente es la ciencia que estudia el flujo de los materiales; pero la reologia es mucho más que esto, incluye todos los aspectos del estudio de la deformación de los

materiales cuando se les aplica un esfuerzo: es el análisis de las respuestas internas del material a las fuerzas aplicadas (Rao, 1999).

2.2.2 Tipo de comportamientos de los materiales

Existen dos tipos de comportamientos extremos que son, el fluido puramente viscoso y el sólido puramente elástico. Entre estas conductas extremas, existen comportamientos intermedios.

Reológicamente para determinar si un material se comporta como un sólido o como un fluido, se emplea el número de Deborah (**De**), el cual establece la siguiente relación (Reiner, 1964):

$$\mathbf{De = tiempo\ de\ relajaci3n / tiempo\ de\ observaci3n}$$

Si **De < 1**, el tiempo de observaci3n es muy grande, o el tiempo de relajaci3n del material es muy peque1o; entonces el material se comporta como un fluido.

Un fluido es un material que se deforma continuamente (fluye) cuando se le aplica un esfuerzo. La deformaci3n aumenta mientras se le aplica el esfuerzo y permanece al suspender el mismo.

Si **De > 1**, el tiempo de relajaci3n del material es mayor que el tiempo de observaci3n; por lo tanto se est1 hablando de un comportamiento s3lido.

Un sólido es un material que al aplicarle un esfuerzo se deforma. La deformación es directamente proporcional al esfuerzo. en otras palabras depende de su magnitud y si el esfuerzo persiste, la deformación se mantiene.

deformación \propto esfuerzo

Al aplicar el esfuerzo la deformación puede o no ser instantánea. al dejar de aplicar el esfuerzo, la deformación cesa y el material puede o no recuperar su forma original; dependiendo de la elasticidad del material.

SÓLIDO HOOKEANO: es aquél también llamado sólido puramente elástico y recupera instantáneamente y por completo su forma original al suspender el esfuerzo. Muchos autores usan un resorte para representar un sólido totalmente elástico (Figura 2.1). Para los sólidos elásticos, la deformación siempre es directamente proporcional a el esfuerzo e independiente de la velocidad de deformación de acuerdo a la ley de Hooke. Para líquidos viscosos clásicos, el esfuerzo es siempre directamente proporcional a la velocidad de deformación (velocidad de cizalla); pero independiente de la magnitud de ésta (Muller, 1978).



Figura 2.1. Modelo de un sólido Hookeano

FLUIDO NEWTONIANO: es aquél cuya viscosidad es independiente de la velocidad de cizalla (γ). El modelo de este comportamiento es representado por un amortiguador, por medio del esquema mostrado en la Figura 2.2. se puede examinar que al aplicar una fuerza en el pistón, la sustancia que se encuentra en el amortiguador es continuamente deformada: cuando la fuerza es suspendida, el pistón permanece en la posición que ha alcanzado, y la sustancia permanece deformada. La energía cinética que actúa en el cuerpo viscoso es proporcionada a los alrededores en forma de calor por la sustancia en deformación.

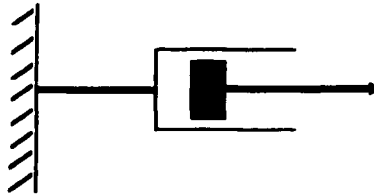


Figura 2.2. Modelo de un amortiguador para un fluido newtoniano.

La conducta de un fluido newtoniano es encontrada en una sustancia que tiene poca interacción entre sus moléculas; en otras palabras, esta conducta es debida a la baja interacción de las fuerzas que mantienen unido este material.

SUSTANCIAS VISCOELÁSTICAS. Como quiera que sea, un sistema puede exhibir una conducta combinada de características tanto de líquido como de sólido, por lo que se dice que en esta situación se trata de una sustancia viscoelástica.



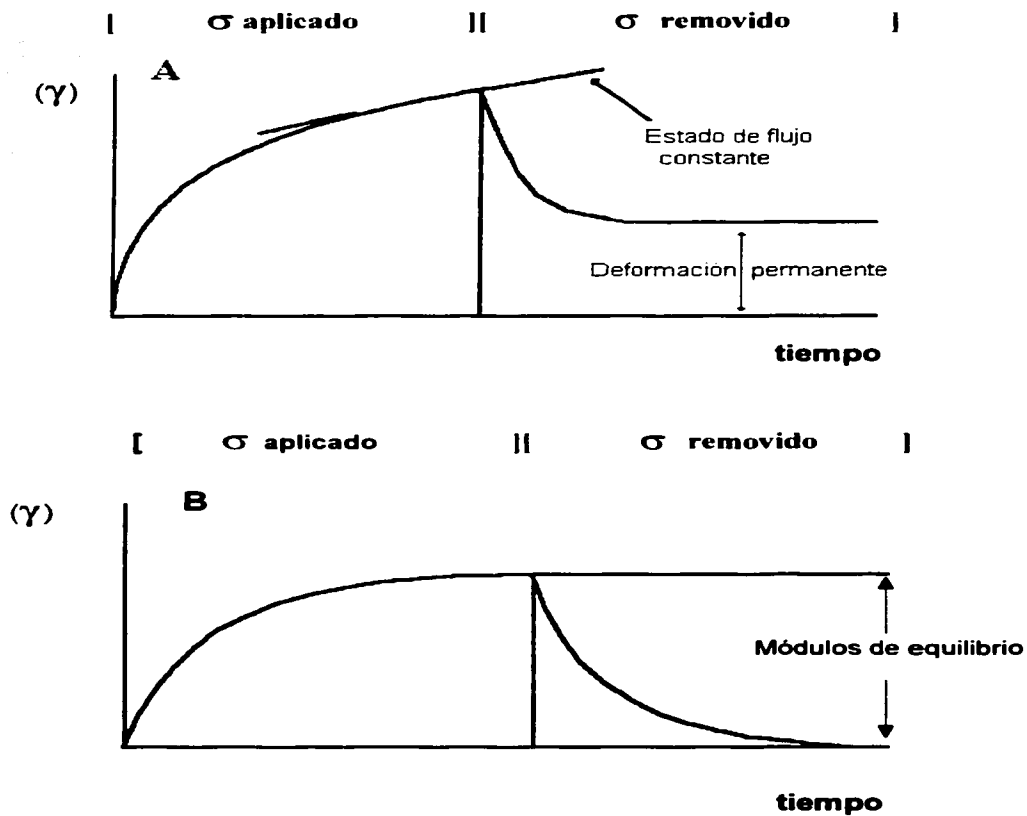


Figura 2.3 Respuesta de materiales al aplicar un esfuerzo constante: (A) un líquido viscoelástico, (B) un sólido viscoelástico.

La viscoelasticidad puede ser caracterizada por experimentos transientes como fluencia o relajación de esfuerzos, o por pruebas dinámicas. En la Figura 2.3 (A), se observa el comportamiento de un líquido viscoelástico, al aplicarle un esfuerzo éste se deforma y cuando se suspende, la deformación continúa (fluye). En la figura 2.3 (B), se contempla un sólido viscoelástico, la conducta es la misma hasta que se suspende el esfuerzo, en este caso el material queda deformado; pero no fluye.

Un modelo que representa el comportamiento de sustancias viscoelásticas, es un modelo constituido por la combinación de un amortiguador y un resorte, conectados en serie, éste fue propuesto por James C. Maxwell (Figura 2.4). La porción elástica del fluido viscoelástico se comporta de acuerdo con la ley de Hooke (resorte), la porción viscosa se conduce de acuerdo con la ley de Newton (amortiguador)

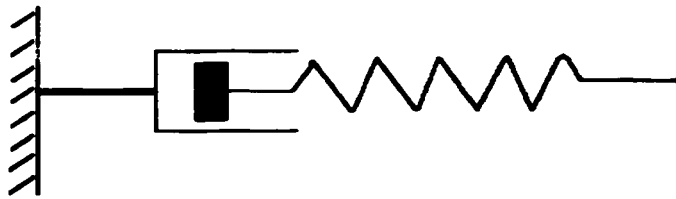


Figura 2.4 . Modelo de Maxwell.

Bajo una fuerza el resorte se deforma inmediatamente, mientras que el amortiguador reacciona con demora. Cuando la fuerza es removida, el resorte retorna

inmediatamente a su posición original y el amortiguador permanece completamente estirado, la sustancia permanece parcialmente deformada. La porción que retorna corresponde a la porción elástica, la porción que permanece deformada a la porción viscosa del material.

El material sólido viscoelástico puede ser representado por la combinación (montaje en paralelo) del resorte y el amortiguador, de acuerdo al modelo Kelvin-Voigt (Figura 2.5).

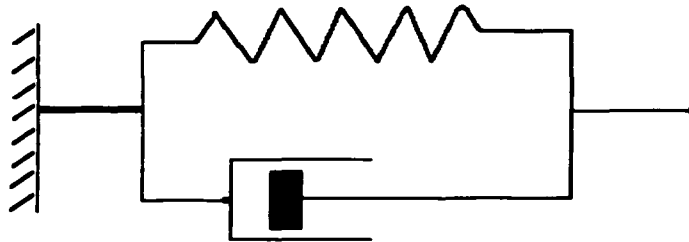


Figura 2.5. Representación del modelo de Kelvin-Voigt

Bajo una fuerza hay una demora en la deformación, el estiramiento del resorte es moderado por el amortiguador. Cuando la fuerza es suspendida el estado inicial no retorna completamente, debido a que sí existe un poco de deformación por la presencia del amortiguador. Un sólido viscoelástico deformado regresa a la mayor parte de su forma original cuando la fuerza que lo distorsionó es suspendida.

2.2.3 Capacitancia de fluencia y relajación de esfuerzos

Fluencia y relajación de esfuerzos son cambios dependientes del tiempo de un material. en otras palabras es una manifestación de una conducta viscoelástica. En fluencia una sustancia es sujeta a esfuerzo constante y muestra deformación dependiente del tiempo y es irreversible. A valores más altos de esfuerzos dan deformaciones más grandes. El esfuerzo es constante y la deformación va cambiando. Generalmente, la capacitancia de fluencia es determinada y graficada como una función del tiempo, la curva resultante de fluencia está indicada en la Figura 2.6. A tiempo cero con el esfuerzo aplicado, resulta una deformación γ_0 y posteriormente incrementa con el tiempo. Cuando el esfuerzo es suspendido, la deformación inmediatamente disminuye, indicada por la porción recta vertical de la curva al tiempo t_r , y después continua disminuyendo con el tiempo, la conducta de fluencia depende de la temperatura del experimento.

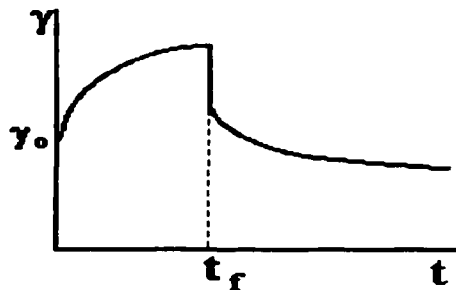


Figura 2.6 Curva de fluencia (esfuerzo constante)

En un experimento de relajación de esfuerzos, el material es sujeto a deformación constante fija. Se observa que el esfuerzo disminuye en función del tiempo, la representación gráfica de este fenómeno se encuentra en la Figura 2.7. El módulo de relajación es determinado como una función del tiempo a deformación constante. A un tiempo corto se tendría un valor de un módulo no relajado y para tiempos muy largos se tendría un valor de un módulo relajado.

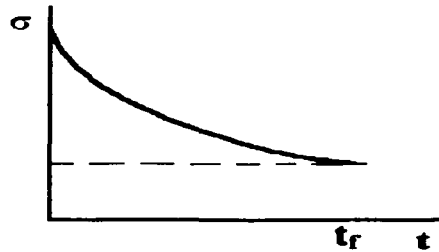


Figura 2.7 Curva de relajación de esfuerzos (deformación constante).

En ambos, fluencia y relajación de esfuerzos, la relación entre el esfuerzo y la deformación es lineal a valores bajos de estos parámetros. En esta zona se tiene la región lineal viscoelástica y es generalmente utilizada para determinar las propiedades del material. A valores altos de esfuerzos o de deformación la relación no es lineal y se tiene la región no lineal viscoelástica. En la región lineal viscoelástica la capacitancia de fluencia puede ser usada para determinar relajación

de esfuerzos y viceversa; mientras esto no es posible en la región no lineal (Muller 1978).

FLUIDOS NO NEWTONIANOS: en este tipo de fluidos la viscosidad es dependiente de la velocidad de cizalla y pueden ser inelásticos y viscoelásticos. Los viscoelásticos ya se mencionaron anteriormente. Los inelásticos se clasifican de la siguiente manera:

1. Independientes del tiempo: existen dos tipos de conductas que no dependen del tiempo. La conducta fluidificante (pseudoplástica) observadas en aquellas sustancias en las que disminuye su viscosidad con respecto a la velocidad de cizalla ($\dot{\gamma}$). El reoespesante (dilatante); su viscosidad aumenta conforme aumenta la velocidad de cizalla. En la Figura 2.8, se observa las curvas de η en función de $\dot{\gamma}$ de los tres tipos de fluidos, incluyendo el newtoniano.

2. Dependientes del tiempo: hay dos tipos de conducta que son dependientes del tiempo. La tixotropía, que consiste en la disminución de la viscosidad con respecto al tiempo, a velocidad de cizalla constante. La reopexia (anti-tixotropía), la poseen aquellas sustancia, en cuales aumenta su viscosidad con respecto al tiempo, a velocidad de cizalla constante.

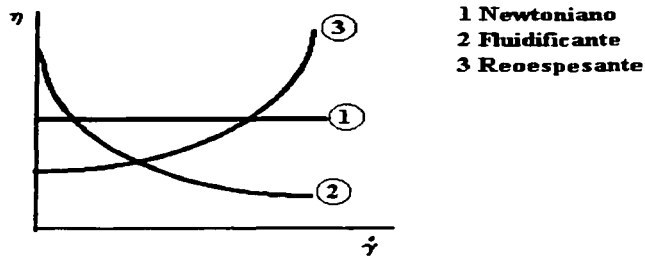


Figura 2.8. Curvas de flujo de materiales de diferente conducta.

2.2.4 Flujo de cizalla oscilatoria

Existen dos clases de métodos de mediciones reológicas, que se pueden realizar en los materiales para caracterizarlos: las mediciones rotatorias y oscilatorias. Las mediciones rotatorias consisten en que la geometría gira completamente y en las oscilatorias el giro no es completo; sino una fracción y se regresa. En este trabajo sólo se utilizaron la segunda clase de mediciones y en consecuencia sólo se presentan aquí el estudio de estas últimas.

El flujo de cizalla oscilatoria de baja amplitud de sus siglas en inglés SAOS (Rao, 1999), es también llamado mediciones dinámicas, puede ser utilizado para determinar propiedades viscoelásticas de alimentos y otras sustancias. El experimento puede ser efectuado con las geometrías de cono y plato, cilindros concéntricos y placas paralelas.

En las pruebas de flujo de SAOS, es aplicado al material un esfuerzo o deformación oscilante sinusoidal con una frecuencia (ω), y entonces, la diferencia de fase entre el esfuerzo oscilante y la deformación, es medida; así como también la razón de la amplitud. La información obtenida debe de ser equivalente a los datos de un experimento transiente al tiempo $t = 1/\omega$.

La deformación (γ) varía con el tiempo de acuerdo a la siguiente ecuación

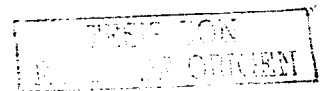
$$\gamma = \gamma_0 \text{sen } \omega t \quad (1)$$

donde, γ_0 es la amplitud de la deformación.

El correspondiente esfuerzo (σ) puede ser representado como la suma de los componentes que están en fase y de los que están 90° desfasados con la deformación:

$$\sigma = \gamma_0 [G'(\omega) \text{sen}\omega t + G''(\omega) \text{cos}\omega t] \quad (2)$$

donde, $G'(\omega)$ es el módulo de "almacenamiento" (módulo elástico), la cual es una medida de la energía almacenada y representa la parte sólida del material. $G''(\omega)$ es el módulo de "pérdida" (módulo viscoso), es una medida de la energía disipada en forma de calor y corresponde la parte fluida del material. Para un sólido perfectamente elástico, toda la energía es almacenada, y por consiguiente $G''(\omega)$ es igual a cero. En este caso, el esfuerzo y la deformación estarán en fase. En las



sustancias líquidas, donde no existen propiedades elásticas, toda la energía es disipada como calor, por lo tanto $G'(\omega)$ es igual a cero y el esfuerzo y la deformación estarán desfasados 90° . En la Figura 2.9 se muestran las respuestas de los diferentes tipos de materiales cuando se les aplica una deformación.

El esfuerzo correspondiente a la ecuación (1), también puede ser expresado como

$$\sigma = \sigma_0 \text{ sen } (\omega t + \delta) \quad (3)$$

Denotando como δ el ángulo de desfase entre la deformación y el esfuerzo y σ_0 es la amplitud del esfuerzo. Las ecuaciones (2) y (3) pueden ser combinadas para obtener

$$G'(\omega) = (\sigma_0 / \gamma_0) \cos \delta \quad (4)$$

$$G''(\omega) = (\sigma_0 / \gamma_0) \text{ sen } \delta \quad (5)$$

$$G''(\omega)/G'(\omega) = \tan \delta \quad (6)$$

Frecuentemente es conveniente expresar el esfuerzo variante sinusoidal como una cantidad compleja, el cual está dado por

$$\frac{\sigma^*}{\gamma^*} = G^*$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

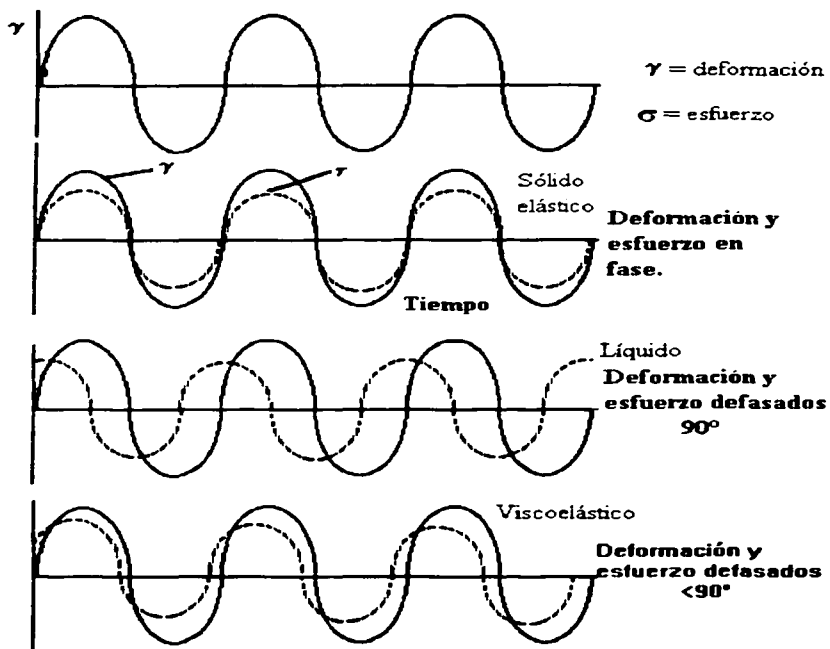


Figura 2.9 Curvas de estímulo-respuesta de diferentes tipos de material (Rao, 1999).

donde σ^* y γ^* son el esfuerzo y la deformación al tiempo t , respectivamente. La razón entre estos dos parámetros es el módulo complejo (G^*)

Utilizando la notación de números complejos se define el modulo complejo $G^*(\omega)$ y su magnitud es

$$|G^*| = (G' ^2 + G'' ^2)^{1/2} \quad (7)$$

Las pruebas oscilatorias proporcionan datos sobre un amplio intervalo de frecuencias. Como quiera que sea, si los parámetros fundamentales son requeridos, las pruebas se deben restringir a la conducta viscoelástica lineal. Esto puede ser verificado con lecturas de los módulos tanto de G' como G'' en un barrido de deformación manteniendo la frecuencia constante, en una muestra de gel. El límite de la zona lineal puede ser detectado cuando exista un cambio súbito en estos parámetros (G' , G''), una vez que han permanecido constantes durante un intervalo de deformación.

Es importante enfatizar que si G' es mucho más grande que G'' , el material presenta una conducta parecida a un sólido, las deformaciones serán esencialmente elásticas o recuperables. En cambio, si G'' es mucho mayor que G' , la energía usada a deformar el material es disipada viscosamente, en otras palabras el material se comporta como un fluido. El módulo viscoelástico determinado sobre un intervalo de frecuencias indicará zonas de transición correspondiente a procesos de relajación dependientes de la estructura del material.

2.3. CINÉTICA QUÍMICA

Esta ciencia se encarga de estudiar la variación de propiedades de un sistema reaccionante con respecto al tiempo. Esta disciplina se puede dividir en dos partes: homogénea y heterogénea. Las reacciones homogéneas ocurren completamente en una sola fase; mientras que las heterogéneas ocurren en la interfase de dos fases. Las reacciones homogéneas se pueden separar en reacciones en fase gaseosa y reacciones en fase líquida.

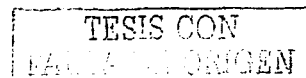
2.3.1 Definiciones

VELOCIDAD DE REACCIÓN

Es costumbre definir este parámetro como el cambio del número de partículas (N_i) con respecto al tiempo.

$$r = \frac{dN_i}{dt} \quad (8)$$

Normalmente conviene trabajar en términos de número de moles (n_i) y no de partículas, por lo que se puede definir la velocidad de reacción como



$$r = \frac{dn_i}{dt} \quad (9)$$

Definida de esta forma la velocidad de reacción sería una propiedad extensiva, o sea que depende del tamaño del sistema, lo cual no es muy conveniente. Por otra parte, si el volumen del sistema permanece constante, la velocidad de reacción se expresa en términos de concentraciones (C_i).

$$r = \frac{dC_i}{dt} \quad (10)$$

De esta manera la velocidad de reacción se convierte en una propiedad intensiva, en otras palabras no depende del tamaño del sistema.

La velocidad de reacción depende de las concentraciones de las especies involucradas. Si se trata de un reactivo, la velocidad es de desaparición por lo que se antepone un signo negativo y si es un producto el signo es positivo.

CONSTANTE DE VELOCIDAD DE REACCIÓN (k)

La velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración

$$\frac{dC}{dt} \propto C \quad (11)$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Al eliminar la proporcionalidad, la ecuación se convierte en

$$\frac{dC}{dt} = kC \quad (12)$$

La constante de proporcionalidad k se llama constante de velocidad de reacción; también es conocida como constante cinética o coeficiente de velocidad de reacción. Entre mayor sea el valor de esta constante, más rápida es la reacción

2.3.2 Cinética de gelificación

Mecanismos Cinéticos de Gelificación.

Cuando las condiciones de gelificación son favorecidas, tiene lugar un entrecruzamiento progresivo de los polímeros y es formado un grupo cada vez más grande de cadenas agregadas, hasta alcanzar el punto crítico. Este punto crítico se define como el tiempo de gelificación (t_g).

El tiempo de gelificación es inversamente proporcional a la velocidad de reacción, o sea entre más grande es la velocidad de reacción más pequeño es el tiempo de gelificación y viceversa (Oakefull y Morris, 1987); (Ross-Murphy, 1991), por lo tanto

$$t_g \propto \left[\frac{d[C]}{dt} \right]^{-1} \quad (13)$$

por otro lado sabemos que

$$\frac{d[C]}{dt} = k C^n \quad (14)$$

dónde: k es la constante cinética.

C es la concentración del polímero entrecruzado

n es el orden de reacción

Relacionando la ecuación (13) con la (14), se tiene

$$t_g = \frac{1}{k C^n} \quad (15)$$

ó bien

$$\frac{1}{t_g} = k C^n$$

En forma logarítmica la ecuación anterior se convierte en

$$\log\left(\frac{1}{t_g}\right) = \log k + n \log C \quad (16)$$

Siguiendo este argumento, la pendiente de la gráfica de $\log(1/t_g)$ vs $\log(C)$, es el orden de reacción, mientras que la ordenada al origen es el logaritmo de la constante de velocidad (k).

Criterios para la determinación del tiempo de gelificación (t_g) (Ross-Murphy, 1991).

1° A un tiempo igual a t_g , la viscosidad tiende a ∞ .

No es muy recomendable seguir el curado de gel por esta medición, ya que al efectuarla, se rompe la estructura. Es más aconsejable hacerlo por medio de mediciones oscilatorias (G' , G''), puesto que el sistema no es alterado cuando se realiza a pequeñas amplitudes de deformación, como lo sería si se cizallara.

2° Cuando G' (módulo elástico) diverge del ruido.

En el intervalo donde existe ruido, el sistema disperso todavía no tiene el número suficiente de entrecruzamientos para que la sensibilidad del equipo pueda establecer mediciones, por lo tanto estas fluctúan. En el momento que en el sistema ya tiene los entrecruzamientos necesarios, para que éste se comporte como un gel incipiente, entonces los valores del módulo elástico se levantan del ruido.

3° Se puede tomar como tiempo de gelificación cuando G'' es un máximo.

4° En el momento que $G' = G''$.

Si el módulo elástico es igual al módulo viscoso, existe el punto exacto de la transición, porque el parámetro que representa la parte sólida es igual al que representa la parte líquida.

5° En el punto que $\tan \delta = 1$.

Esta propiedad es la razón del módulo elástico y el módulo viscoso, por consiguiente la explicación es la misma que en el punto anterior.

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

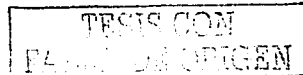
3.1 Materiales

En este trabajo se usó una preparación comercial de gelatina grado alimenticio (Kelcogel, No. 07254A, San Diego, USA) a la cual se le determinó el contenido de iones metálicos de calcio, magnesio, potasio y sodio. Todos los reactivos fueron grado analítico y se utilizó agua destilada.

3.2 Determinación de iones metálicos

El contenido de iones metálicos de calcio y magnesio fue determinado por absorción atómica, el de sodio y potasio por flamometría; estos dos últimos iones no pudieron ser analizados por absorción atómica, porque no se contaba con las lámparas correspondientes. El contenido de estos iones es importante, porque la gelificación se indujo agregando sales de los mismos. Por lo tanto, es necesario saber su concentración, para poder conocer la fuerza iónica agregada y la total.

Ácido clorhídrico 1M: Se midió 3.1 mL de ácido concentrado y se diluyó en agua. Se aforó a 100 mL.



Disolución de gelana: Se pesó 0.1 g de gelana en un vaso de precipitados de 100 mL y se agregó 30 mL de ácido clorhídrico 1 M. El vaso se cubrió con un vidrio de reloj y la mezcla se calentó a ebullición durante dos horas. Una vez hidrolizada la gelana, se evaporó casi a sequedad para eliminar el exceso de ácido. El residuo fue enfriado y diluido con 60 mL de agua. La dilución se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó al aforo, incluyendo los lavados del recipiente de dilución. Se tomó 10 mL de esta disolución con una pipeta volumétrica, se colocaron en un matraz de 100 mL y se llevó al aforo. Se prepararon tres muestras, con el mismo procedimiento.

Patrones de Magnesio: El cloruro de magnesio fue deshidratado a 80 °C en una estufa, durante dos horas y enfriada en un desecador (Pollman, 1982). Para obtener una disolución madre de 100 ppm de magnesio, una masa de 392.1 mg de la sal se disolvió en agua y se aforó a 100 mL. En cuatro matraces volumétricos diferentes, se vertieron con pipetas volumétricas, 1, 2, 3 y 4 mL de la solución madre y se aforó a 100 mL, para obtener patrones de 1, 2, 3 y 4 ppm.

Patrones de calcio: El cloruro de calcio se secó como la sal precedente. Una masa de 277.5 mg se disolvió y aforó a 100 mL. A partir de esta disolución madre de 100 ppm, se colocaron 3, 6 y 9 mL en matraces volumétricos y se aforó a 100 mL. Se midieron 20 mL de cada una de estas disoluciones y se aforó a 100 mL, para obtener patrones de 0.6, 1.2, y 1.8 ppm.

TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

La determinación de magnesio y calcio se realizó en un espectrofotómetro de absorción atómica (Varian, modelo AA6) usando agua como blanco. El magnesio fue determinado usando una lámpara del magnesio, con el quemador aire-acetileno, a una longitud de onda de 285.2 nm y una ranura (slit) de 0.2 nm. El calcio se determinó usando la lámpara de calcio, con el quemador óxido nítrico-acetileno, a una longitud de onda de 422.7 nm y una ranura (slit) de 0.5 nm (Pollman, 1982). La concentración de magnesio y calcio en la gelatina se determinó por referencia a una curva patrón. La concentración promedio de calcio y magnesio fue de 0.1545 y 0.1420 mmol/g, respectivamente (ver Anexo A).

Patrones de sodio: El cloruro de sodio fue deshidratado a 80 °C en una estufa y enfriada en un desecador. Para obtener una disolución madre de 100 ppm de sodio, una masa de 25.43 mg de sal se disolvió en 70 mL de agua y se aforó a 100 mL, incluyendo los lavados del recipiente de dilución. En matraces volumétricos diferentes se vertieron con pipetas volumétricas, 5, 10 y 15 mL de la disolución madre y se aforó a 100 mL, para obtener patrones de 5, 10 y 15 ppm, respectivamente.

Patrones de potasio: El cloruro de potasio se secó como la sal precedente. Una masa de 19.08 mg se disolvió en 70 mL de agua y se aforó a 100 mL, incluyendo los lavados del recipiente de dilución. A partir de esta disolución madre de 100 ppm, se colocaron 10, 20 y 30 mL en matraces volumétricos y se aforó a 100 mL, para obtener los patrones de 10, 20, 30 ppm, respectivamente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La concentración de ambos iones se determinó en un flamómetro (Corning, modelo Mark II), usando el filtro apropiado y con un suministro de aire de 10 psia. El suministro de gas fue ajustado hasta obtener una flama central cónica grande azul. Se usó agua como blanco. La solución patrón de mayor concentración se introdujo y se ajustó el galvanómetro a 100, posteriormente se introdujeron el resto de las disoluciones. La concentración de sodio y potasio en la gelana se determinó por referencia una curva patrón. La concentración de sodio y potasio fue 0.423 y 0.690 mmol/g, respectivamente (ver Anexo A).

3.3 Cinética de gelificación de los geles de gelana

Se prepararon geles con concentraciones de gelana de 0.05 a 0.4 % masa. La fuerza iónica¹ (I) fue de 0.02 a 0.30 mol/kg utilizando sales de iones monovalentes, NaCl y KCl, y de iones divalentes, CaCl₂ y MgCl₂. Los resultados se expresan como fuerza iónica y no como concentración de iones, porque la primera toma en cuenta, además de la concentración, el número de iones que contiene la sal y la carga de éstos; aspectos muy importantes para la formación de los enlaces iónicos para la constitución de los entrecruzamientos.

En los geles de sodio y potasio no se utilizaron concentraciones de gelana menores de 0.1 porque a esta concentración no se formó el gel. En el caso del sodio tampoco se empleó fuerza iónica baja, por la misma razón; para el potasio sólo se usaron

¹ La fuerza iónica está definida por la siguiente ecuación: $I = \frac{1}{2} \sum m_i z_i^2$, donde m_i es la molalidad de cada ion y z_i es la carga de cada ion.

fuerzas iónicas bajas para concentraciones de gelana de 0.4%. En los geles de magnesio y calcio no se emplearon fuerzas iónicas tan altas como de 0.3 (mol/kg) como en el caso de los cationes monovalentes, porque el proceso de gelificación fue tan rápido en estas condiciones, que no se pudo determinar el punto de fraguado.

Disoluciones de gelana y reología

La cantidad exacta de polisacárido fue suspendida lentamente y con agitación. Se continuo la agitación de 3 a 10 minutos, dependiendo de la concentración de gelana; mientras más grande fue la cantidad de gelana más tiempo se requirió para homogeneizar la dispersión. La dispersión fue calentada a 75 °C y una vez alcanzada esta temperatura se agregó la sal correspondiente, se agitó vigorosamente y una muestra fue colocada entre las placas paralelas del reómetro previamente llevado a la misma temperatura para empezar el ensayo.

Considerando que en el momento en que existen las condiciones de la gelificación las cadenas de polimero se van entrecruzando, con la participación de los iones, y se va formando la red tridimensional inmovilizando cada vez más el disolvente, en este caso agua, hasta llegar al equilibrio. La reología se convierte en una herramienta muy útil y poderosa, para observar y cuantificar el fenómeno de gelificación, a través del seguimiento del cambio con el tiempo de los módulos dinámicos G' y G'' . El cambio con el tiempo de ambos módulos fue seguido en un reómetro de deformación controlada (Haake CV20N), usando la geometría de placas paralelas con una separación de 1 mm. Una vez colocada la muestra, se hizo un descenso

programado de temperatura con una velocidad de aproximadamente 1 °C/min. El cambio de los módulos dinámico con el tiempo fue seguido a una deformación de 2 % y una frecuencia constante de 0.924 rad/s. Estos valores fueron determinados previamente en geles ya formados y se encontraron en la zona de viscoelasticidad lineal. Se realizaron tres réplicas por cada concentración de gelana y fuerza iónica, se tomó la media de cada experimento. En el anexo B se muestra los parámetros estadísticos en los cuadros B.1 y B.2.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE GELIFICACIÓN

El criterio que se empleó en este trabajo fue cuando el módulo elástico (G') se levanta del ruido. Se consideró el más adecuado, porque en el tiempo que ocurre

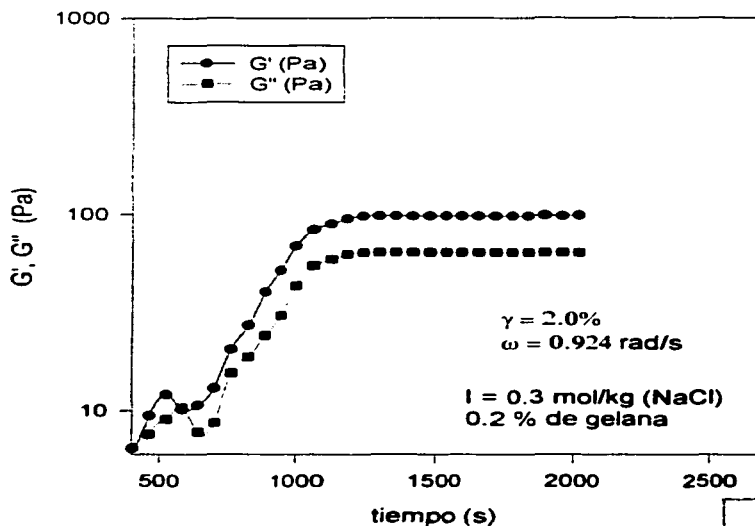


Figura 4.1 Determinación del tiempo de gelificación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

esto, coincide con el tiempo de gelificación que se obtuvo en algunas pruebas preliminares, en donde el tiempo fue tomado, cuando existía fraguado naciente; también la señal del equipo aparece más nitida. En algunas ocasiones los tres criterios (El módulo elástico se levanta del ruido, $G' = G''$ y G'' es un máximo) coincidieron como aparece en la Figura 4.1, tomando en cuenta estos tres criterios, el tiempo de gelificación fue de 10.73 minutos. En varios experimentos, el primer y el tercer criterio concordaron, como se muestra en la Figura 4.2. El segundo criterio en muy pocas ocasiones se presentó; pero como siempre se tomó el primer criterio no hubo dificultad.

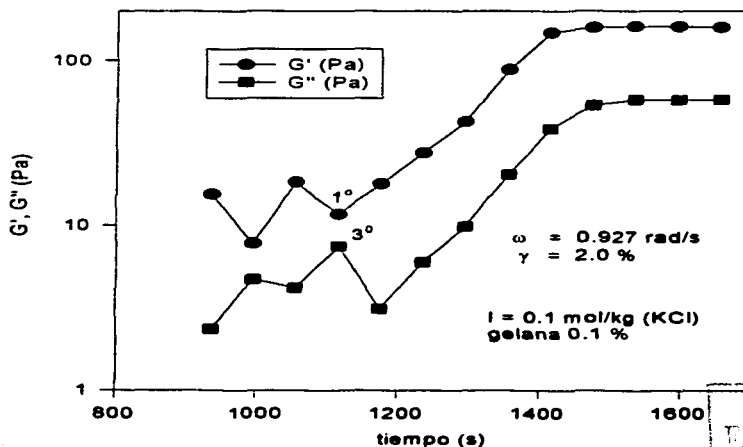


Figura 4.2. Cinética de gelificación con KCl.

4.2 TEMPERATURA DE GELIFICACIÓN

La temperatura de gelificación, es aquella en la cual el sol de la goma deja de serlo para convertirse en un gel. En otras palabras es la temperatura a la cual este material empieza a fraguar.

El equipo que se utilizó para realizar las mediciones dinámicas no registraba temperatura; pero eso no fue obstáculo, porque se elaboraron varios ensayos de temperatura contra tiempo y la gráfica resultante se muestra en la Figura 4.3. Con los tiempos de gelificación en esta gráfica se determinaron las temperaturas respectivas.

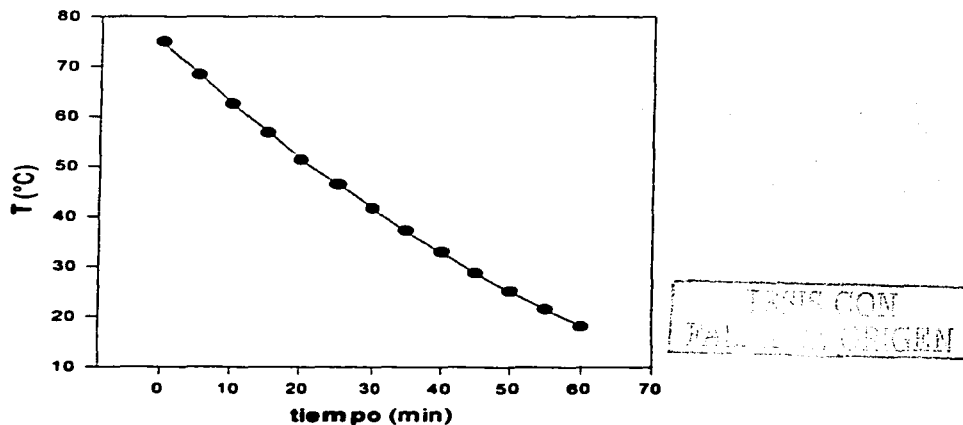


Figura 4.3 Temperatura del baño vs tiempo del reómetro (Haake CV20N).

La dependencia de la temperatura en el módulo elástico de estos geles puede ser entendida por un modelo de cadena real (Jampen *et al.*, 2000): Los geles se forman gracias a las zonas de unión de cadenas flexibles, los dos extremos de éstas son enlazados a zonas de unión de interacciones débiles secundarias, tales como enlaces de hidrógeno; además de las interacciones electrostáticas, entre los grupos carboxilo existentes a lo largo de la cadena del polisacárido y los cationes. Estas zonas de unión son las responsables de la formación de la red tridimensional, que da lugar al gel. Por lo tanto la magnitud del módulo de almacenamiento dependió más de la concentración de gelana, de la fuerza iónica y la naturaleza del catión que de la temperatura de gelificación. Para ejemplificar, podemos observar en el cuadro 4.1 muestra 1.3.2² tiene una T_g de 61.8°C y una G' de 94 Pa; mientras que la muestra 2.4.1 (Cuadro 4.2) tiene una T_g de 62.4°C y una G' de 1045.0 Pa, como se puede ver, la diferencia de la temperatura es pequeña; en tanto que la del módulo de almacenamiento es muy grande. Tomando otro evento, en las muestras 3.2.1 y 3.1.1 (cuadro 4.3) tienen similar temperatura de gelificación: 54.8 y 55.4 °C, respectivamente, la diferencia es seis décimas de grado, sin embargo su módulo de almacenamiento es muy diferente: 882.0 Pa y 106.8 Pa, respectivamente, en este caso, el gel tiene el mismo ión (Mg^{2+}), a la misma fuerza iónica; pero diferente concentración de gelana.

El efecto que ejerció la fuerza iónica sobre la temperatura de gelificación fue que a mayor fuerza iónica mayor temperatura de gelificación para todos los casos, sin

² La clave de las muestras está dado de la siguiente manera: el primer dígito significa el tipo de ión, 1 para el sodio, 2 para el potasio, 3 para el magnesio y 4 para el calcio. El segundo dígito representa la concentración de gelana en % masa y los últimos dígitos la fuerza iónica de la sal.



ninguna excepción, esto se puede corroborar en los cuadros de resultados (4.1, 4.2, 4.3, 4.4) para los geles de todas las sales. La explicación de este comportamiento sería que al existir más partículas, la probabilidad de los entrecruzamientos aumenta, lo que reduce el tiempo de gelificación y por ende incrementa la T_g . Esta dependencia está totalmente de acuerdo con el trabajo de Moritaka *et al.*, (1991).

Muestra	% gelana (masa)	I (mol/kg)	G [•] eq (Pa)	G ^{**} eq (Pa)	tan δ	t _g (min)	T _g (°C)
1.2.1	0.2	0.1	345.5	217.0	0.628	29.61	42.3
1.2.2	0.2	0.2	170.0	87.0	0.512	19.60	51.2
1.2.3	0.2	0.3	98.0	64.0	0.650	10.73	61.8
1.3.1	0.3	0.1	392.3	222.1	0.566	21.45	50.2
1.3.2	0.3	0.2	456.1	244.3	0.535	13.6	58.6
1.3.3	0.3	0.3	312.1	112.0	0.359	9.58	63.1
1.4.05	0.4	0.05	270.7	125.1	0.462	34.03	38.4
1.4.1	0.4	0.1	451.0	259.0	0.574	19.65	52.1
1.4.2	0.4	0.2	760.0	469.0	0.617	12.94	54.2
1.4.3	0.4	0.3	316.2	173.3	0.548	7.62	59.4

Cuadro 4.1 Propiedades generales de geles, utilizando NaCl

La influencia que tuvo la concentración de gelana en la temperatura de gelificación conservando la fuerza iónica constante, es que es mayor T_g con el incremento de la concentración y el aumento de la fuerza iónica. Manteniendo la fuerza iónica y la concentración del polisacárido constante, la temperatura de gelificación presenta el



Muestra	% gelana (masa)	I (mol/kg)	G'eq (Pa)	G''eq (Pa)	tan δ	t _g (min)	T _g (°C)
2.1.1	0.1	0.1	173.4	58.9	0.340	20.25	49.7
2.1.2	0.1	0.2	210.7	71.4	0.339	18.05	52.9
2.2.1	0.2	0.1	569.7	194.8	0.342	17.92	50.5
2.2.2	0.2	0.2	298.0	110.7	0.371	12.33	60.6
2.2.3	0.2	0.3	192.0	51.0	0.266	3.58	69.9
2.3.1	0.3	0.1	742.5	340.0	0.458	12.35	51.4
2.3.2	0.3	0.2	400.7	184.3	0.460	5.58	68.3
2.4.03	0.4	0.03	492.0	129.7	0.263	27.36	44.6
2.4.05	0.4	0.05	790.0	341.5	0.432	20.13	51.6
2.4.1	0.4	0.1	1045.0	412.5	0.395	10.1	62.4
2.4.2	0.4	0.2	1125.0	685.0	0.609	0.68	74.2

Cuadro 4.2 Propiedades generales de geles, utilizando KCl

Muestra	% gelana (masa)	I (mol/kg)	G'eq (Pa)	G''eq (Pa)	tan δ	t _g (min)	T _g (°C)
1.2.1	0.2	0.1	345.5	217.0	0.628	29.61	42.3
1.2.2	0.2	0.2	170.0	87.0	0.512	19.60	51.2
1.2.3	0.2	0.3	98.0	64.0	0.650	10.73	61.8
1.3.1	0.3	0.1	392.3	222.1	0.566	21.45	50.2
1.3.2	0.3	0.2	456.1	244.3	0.535	13.6	58.6
1.3.3	0.3	0.3	312.1	112.0	0.359	9.58	63.1
1.4.05	0.4	0.05	270.7	125.1	0.462	34.03	38.4
1.4.1	0.4	0.1	451.0	259.0	0.574	19.65	52.1
1.4.2	0.4	0.2	760.0	469.0	0.617	12.94	54.2
1.4.3	0.4	0.3	316.2	173.3	0.548	7.62	59.4

Cuadro 4.1 Propiedades generales de geles, utilizando NaCl



siguiente comportamiento con los diferentes iones, para concentraciones menores de 0.20 % (m/m) de gelana

$$T_g(\text{Mg}^{2+}) > T_g(\text{K}^+) > T_g(\text{Ca}^{2+}) > T_g(\text{Na}^+)$$

y la siguiente conducta para concentraciones mayores de 0.20 % (m/m).

$$T_g(\text{Ca}^{2+}) > T_g(\text{Mg}^{2+}) > T_g(\text{K}^+) > T_g(\text{Na}^+)$$

Muestra	% gelana (masa)	I (mol/kg)	G'eq (Pa)	G''eq (Pa)	tan δ	t _g (min)	T _g (°C)
4.1.1	0.1	0.100	410.0	220.0	0.537	32.91	39.1
4.2.05	0.2	0.05	513.0	214.5	0.418	26.51	45.3
4.2.1	0.2	0.10	415.0	201.0	0.291	20.09	49.8
4.2.2	0.2	0.20	100.0	44.7	0.447	16.6	55.5
4.3.05	0.3	0.05	832.3	310.7	0.373	9.88	62.7
4.3.075	0.3	0.075	979.0	353.7	0.361	7.62	65.5
4.3.1	0.3	0.100	424.0	201.0	0.474	5.58	66.6
4.4.01	0.4	0.01	1107.5	541.5	0.489	35.6	37.0
4.4.02	0.4	0.02	1628.0	710.0	0.436	17.60	54.3
4.4.03	0.4	0.03	1355.0	661.0	0.488	14.10	58.0
4.4.1	0.4	0.10	254.0	149.0	0.587	3.58	71.6

Cuadro 4.4 Propiedades generales de geles, utilizando CaCl₂.

Como se puede observar la temperatura de gelificación para las muestras sodio (con la misma concentración de polisacárido y fuerza iónica) siempre fue menor que para todas las demás, seguida por las muestras de potasio.



4.3 INFLUENCIA DE LA FUERZA IÓNICA

Se utilizó la fuerza iónica en vez de concentración, por las razones expuestas en el capítulo anterior.

Entre mayor es la fuerza iónica, menor es el tiempo de gelificación como se puede constatar en las Figuras 4.4 y 4.5; y también se puede observar que el módulo de almacenamiento de equilibrio cada vez es mayor, conforme se aumenta la fuerza

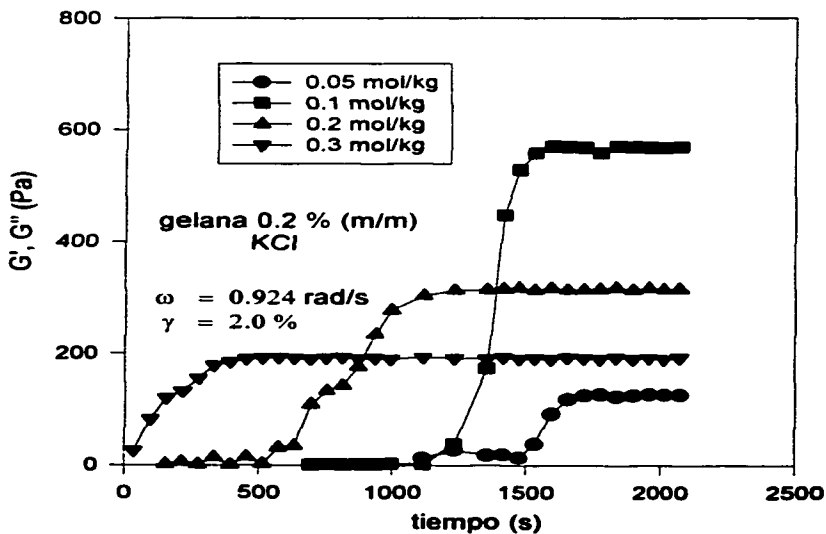
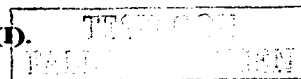


Figura 4.4 Influencia de la fuerza iónica (I).



iónica, hasta llegar a un máximo, y posteriormente éste desciende. En la Figura 4.6, este fenómeno se puede observar mejor. En esta ocasión se graficó el módulo elástico de equilibrio contra fuerza iónica, en esta figura se vislumbra más claramente el comportamiento del módulo de almacenamiento de equilibrio (G'_{eq}) con respecto a la fuerza iónica. Nótese en este mismo gráfico que a mayor concentración de gelana, el máximo de G'_{eq} ocurre a mayor fuerza iónica.

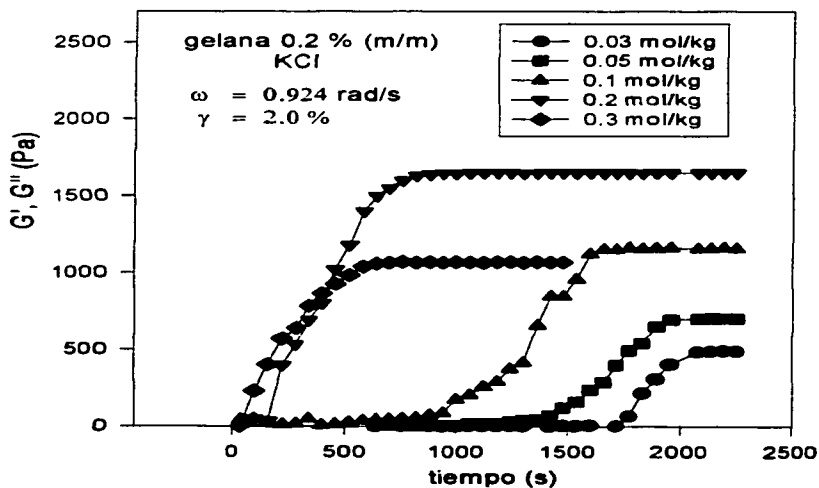


Figura 4.5 Influencia de la fuerza iónica (II).



El aumento de G'_{eq} es debido a que al haber más cationes disponibles existen más entrecruzamientos iónicos, por lo tanto más fortalecimiento del gel. Ahora bien, surge la pregunta ¿por qué al seguir aumentando la fuerza iónica, en un punto dado empieza a decrecer G'_{eq} ?, la explicación es la siguiente: al ir aumentando la concentración de cationes se forman más enlaces hasta llegar a la saturación de los grupos aniónicos del polímero, esto depende del peso molecular y de estequiometría, y cuando ya no existe la posibilidad de más enlaces, los cationes quedan libres y alrededor de ellos se forma una atmósfera de aniones, la cual debilita los entrecruzamientos, debido a que la goma es aniónica.

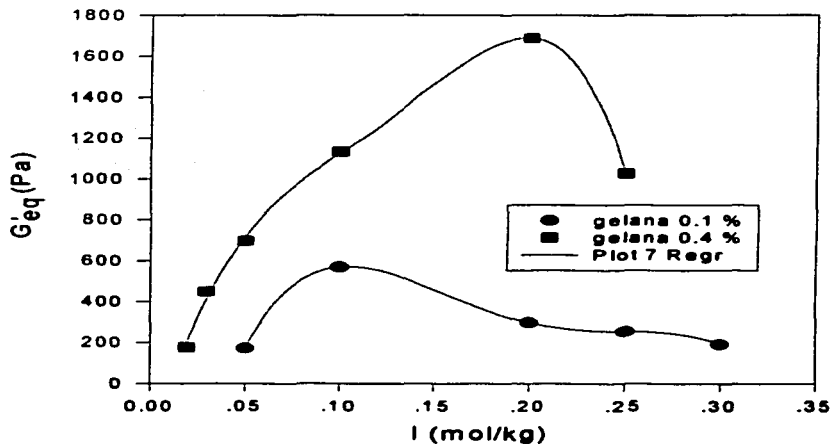


Figura 4.6 Variación del módulo elástico (G'_{eq}) con respecto a la fuerza iónica (I), utilizando la sal KCl.



Es claro que para un mejor entendimiento de este fenómeno y más completo, es necesario realizar otros estudios. como podria ser la difracción de rayos X.

4.4 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE LA GELANA

Las dispersiones más concentradas de gelana gelifican más rápido que la dispersiones más diluidas y en consecuencia el tiempo de gelificación disminuye.

Esta conducta es completamente lógica, porque a mayor concentración existen mayor número de cadenas de polímero, lo cual favorece la interacción entre ellas, facilitando los entrecruzamientos, y por ende la formación de la red es más rápida, acortando el tiempo de gelificación.

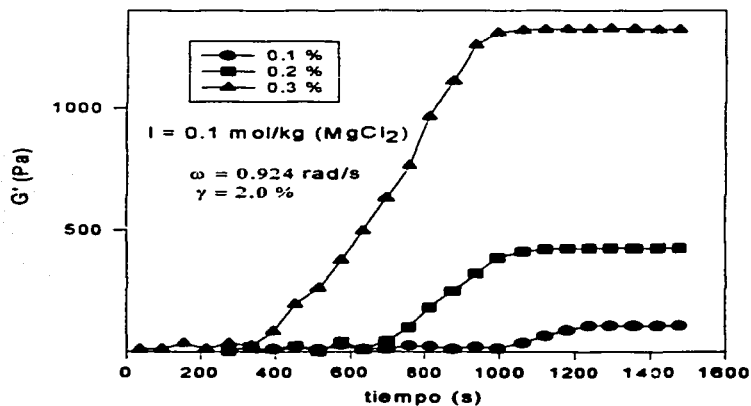


Figura 4.7 Influencia de la concentración de gelana



A mayor concentración de polisacárido, el módulo de almacenamiento de equilibrio (G'_{eq}) aumenta, este comportamiento tiene una explicación sencilla, al encontrarse más cadenas, la red que conforma el gel es más cerrada, o sea que las distancias de los entrecruzamientos son más cortas, dando una mayor consistencia al gel, por lo tanto la propiedad de sólido crece y con ello la G'_{eq} (Figura 4.7).

4.5 INFLUENCIA DEL TIPO DEL CATION

Las propiedades reológicas de los geles de gelana son fuertemente influenciadas por la presencia de los iones metálicos.

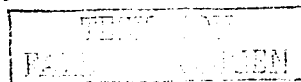
En la Figura 4.8 se observa el comportamiento de la cinética de gelificación, usando los diferentes tipos de cationes propuestos. Se aclara que este comportamiento se sigue solo para concentraciones de gelana hasta de 0.2 %.

Analizando la identidad del ión, manteniendo la concentración de la goma y fuerza iónica constantes, el tiempo de gelificación presenta la siguiente conducta para concentraciones de gelana menores o igual a 0.20 % (m/m) de gelana.

$$t_g(\text{Mg}^{2+}) < t_g(\text{K}^+) < t_g(\text{Ca}^{2+}) < t_g(\text{Na}^+)$$

para concentraciones mayores 0.2 % (m/m), exhibe el siguiente comportamiento.

$$t_g(\text{Ca}^{2+}) < t_g(\text{Mg}^{2+}) < t_g(\text{K}^+) < t_g(\text{Na}^+)$$



Los geles del ión sodio siguen mostrando la misma conducta, su velocidad de gelificación sigue siendo la más lenta.

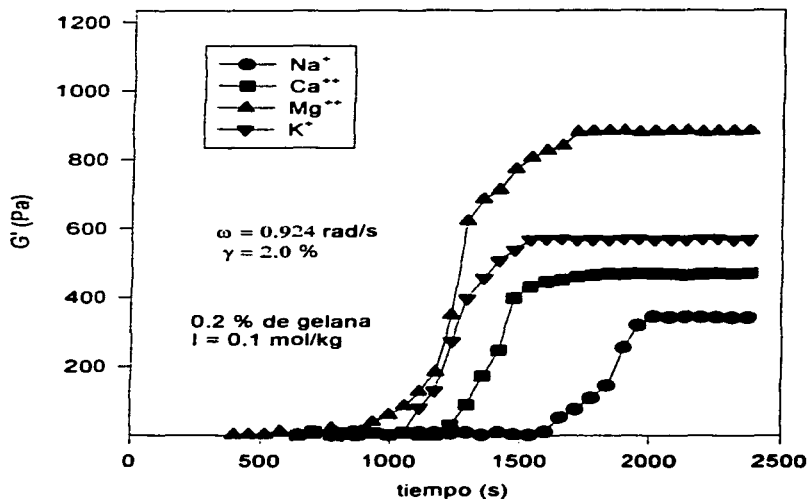
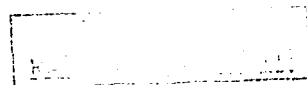


Figura 4.8 Influencia del tipo de catión.

Estos comportamientos concuerdan parcialmente con el estudio de Grasdalen y Smidsrød (1987), donde el tiempo de gelificación de los geles con el potasio es menor que aquellos elaborados con el sodio, esto coincide con los resultados obtenidos en este trabajo; pero en donde existe discrepancia es en los metales



divalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+}) aquí si se obtuvo diferencia entre los tiempos de gelificación: mientras que ellos reportan la no selectividad entre estos dos cationes.

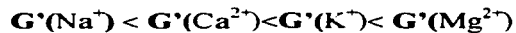
La relación de la temperatura de gelificación entre los diferentes cationes es inversa la relación del tiempo de gelificación, este comportamiento se describió en la sección 4.2 de este mismo capítulo.

La diferencia que existe entre el ión potasio y el sodio, se puede explicar por las fuerzas atractivas de Coulomb, entre el ión potasio y el grupo carboxilo de la gelana son más grandes que las que existen entre el ión sodio y el grupo carboxilo, a pesar de que el radio iónico de Pauling del primero es más grande que la del último, pero el efecto pantalla del potasio es mayor, por lo tanto tiene más carácter iónico y por consiguiente el enlace es más fuerte y más fácil de formarse, es por esto que los tiempos de gelificación de geles conteniendo iones potasio siempre fueron menores, que aquellos que contenían iones sodio, y por estos mismos motivos, los módulos de almacenamiento siempre fueron mayores para la muestras de iones potasio que las de sodio.

En lo que respecta entre los iones divalentes, el ión magnesio tiene un radio iónico menor que el del ión calcio, la distancia entre los enlaces del grupo carboxilo y ión magnesio es menor por lo tanto la fuerza de atracción es mayor, resultando un enlace más fuerte y más lábil.

Mientras que el módulo elástico se vio afectado de la siguiente manera:





Esta relación se da porque las cargas eléctricas de los iones divalentes son más grandes que la de los iones monovalentes, los cationes divalentes pueden apantallar más efectivamente las fuerzas electrostáticas de repulsión de los grupos aniónicos de la gelatina que los monovalentes, por lo tanto, los entrecruzamientos establecidos por enlaces iónicos, formados por los grupos aniónicos del polisacárido y los cationes añadidos, son más fuertes para los cationes divalentes que para los monovalentes. No obstante, que este comportamiento se puede clasificar como general, no necesariamente se cumple en todas las condiciones, por lo que hay que analizar cada una de ellas, ya que se tiene influencia de la concentración de la gelatina, el tipo de ión y la fuerza iónica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.6 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS

Se exhibe nuevamente en su forma logarítmica el modelo cinético de gelificación, expuesto anteriormente en el capítulo de fundamentos.

$$\log\left(\frac{1}{t_g}\right) = \log k + n \log C$$

A continuación se presentan los diferentes cuadros, de cada uno de los cationes empleados, para la determinación de la cinética de gelificación de esta goma. En ellos se encuentran los datos de este modelo cinético

C(% masa)	t _g (min)
0.20	29.61
0.25	25.12
0.30	21.45
0.35	20.15
0.40	19.65

Cuadro 4.7. Tiempo de gelificación (t_g) de geles con NaCl.

C (% masa)	t _g (min)
0.10	20.25
0.15	18.81
0.20	17.92
0.25	14.16
0.35	11.91
0.4	10.10

Cuadro 4.8. Tiempo de gelificación (t_g) de geles con KCl.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C (% masa)	t_g(min)
0.05	24.10
0.10	16.08
0.15	11.72
0.20	9.79
0.25	8.48
0.30	6.59

Cuadro 4.7. Tiempo de gelificación (t_g) de geles con MgCl₂.

C (% masa)	t_g(min)
0.10	32.91
0.15	24.1
0.20	20.09
0.25	9.95
0.30	6.58
0.35	5.75
0.40	2.58

Cuadro 4.8. Tiempo de gelificación (t_g) de geles con CaCl₂.

Utilizando una fuerza iónica igual a 0.1 mol/kg a diferentes concentraciones de gelana, se obtuvo la regresión lineal (Figura 4.9) del modelo cinético propuesto se obtuvieron los resultados, los cuales se encuentran en el Cuadro 4.9.

Ión	$k(\text{min}^{-1})$	n	r^2
Na^+	9.3×10^{-2}	0.62	0.98
K^+	14.3×10^{-2}	0.51	0.95
Ca^{++}	33.8×10^{-2}	0.78	0.99
Mg^{++}	1.3	1.8	0.95

Cuadro 4.9 Parámetros cinéticos de la formación de geles de los distintos cationes.

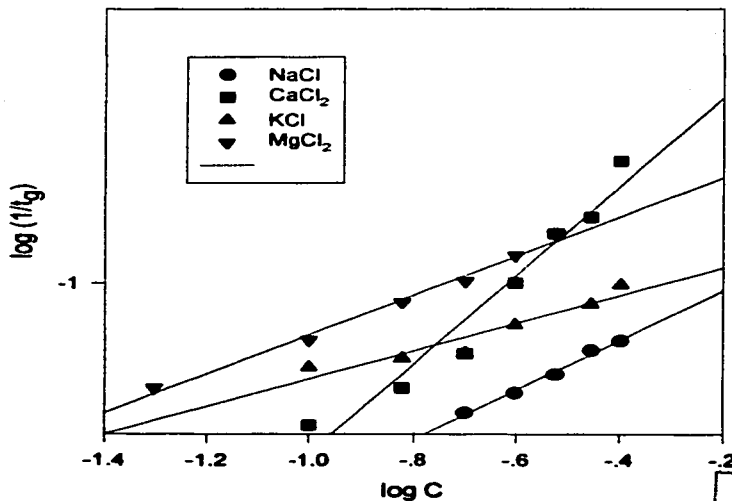


Figura 4.9. Regresión lineal del modelo cinético

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para dar una explicación más amplia de estos hechos, es necesario recordar que la gelana es un polisacárido aniónico, por lo tanto el ión que participa en los entrecruzamientos para la formación del gel es el catión, por lo que se tiene que estudiar cada una de las propiedades de éste, como se puede observar, la constante k más pequeña corresponde a los geles de gelana de NaCl, lo que significa que la gelificación es la más lenta de todas, esto es de esperarse, debido a que los electrones de valencia del sodio se encuentran en el tercer periodo, mientras que los electrones de valencia del potasio se encuentran en el cuarto periodo, lo que significa que tiene más carácter iónico el potasio que el sodio, lo cual facilita más las interacciones electrostáticas y en consecuencia la gelificación.

Los electrones de valencia del magnesio igual que el los del sodio se encuentran en el tercer periodo; pero los de magnesio son dos, la carga es lo doble y por lo tanto la fuerza de atracción también, es por esto que su constante es mucho más grande que los geles donde se usó cloruro de sodio, porque la doble carga favorece aún más los enlaces iónicos entre el polisacárido y el catión.

La relación entre el calcio y el magnesio es muy similar entre el sodio y el potasio; así como entre el potasio y el calcio, ya que tanto el potasio y el calcio se encuentran en el cuarto periodo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

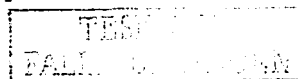
Los geles que tienen el tiempo de gelificación más corto, a las mismas condiciones de fuerza iónica y concentración de goma de gelana ($< 0.2 \% \text{ m/m}$) son los de cloruro de magnesio y los de tiempo de gelificación más grandes son los de cloruro de sodio.

Los geles más suaves son los de la sal de sodio, mientras los más consistentes son los de la sal de magnesio, por lo que los geles más elásticos son los de esta sal y poseen los módulos elásticos más grandes.

Los tiempos de gelificación de este polisacárido son más cortos comparados con cualquier otro agente gelificante; además por su gran versatilidad en sus propiedades reológicas, se pueden combinar las condiciones antes mencionadas, para lograr el gel requerido con la textura y el tiempo de gelificación necesarios, para su uso específico.

En lo que toca a los parámetros cinéticos obtenidos, aunque existe diferencia clara entre ellos son más o menos del mismo orden, los que se alejan son los de los geles de MgCl_2 , principalmente en el orden de reacción.

La hipótesis es aceptada porque existe una notable influencia de los parámetros trabajados, en la cinética y reología de los geles de gelana. Con este estudio se puede predecir su comportamiento, aprovechando mejor sus propiedades.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chandrasekaran, R. y Radha, A. (1995). Molecular architecture and functional properties of gellan gum and related polysaccharides. *Trends Foods & Technol.* **6**: 143-148.

Dziezak, J. (1990), Gellan gum receives FDA approval. *Food Technol.* **44**: 88-90.

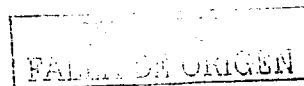
Ferry, J.D. (1948). Protein gels. *Adv. Protein Chem.* **4**: 1-78.

Grasdalen, H. y Smidsrød, O. (1987). Gelation of gellan gum. *Carbohydr. Polym.* **7**: 371-393.

Hermans, J. (1965). Investigation of elastic properties of the particle network in gelled solutions of hydrocolloids. *J. Polym. Sci. A.* **3**: 1859-68.

Jampen, S., Britt, I. J. y Tung M.A. (2000). Gellan polymer solution properties: dilute and concentrated regimes. *Food Res. Int.* **33**: 579-586.

Jansson, P-E y Lindberg, B. (1983). Structural studies of gellan gum. *Carbohydr. Res.* **124**: 135-139.



Kasapis, S., Giannouli, P., Hember, M. W. N., Evageliou, V., Poulard, C., Tort-Bourgeois, B. y Sworn, G. (1999). Structural aspects and phase behaviour in deacelated and high acyl gellan systems. *Carbohydr. Polym.*, **38**: 145-154.

Kuo, M.S., Mort, A.J. y Dell A. (1986). Identification and location of L-glicerate, an unusual acyl substituent in gellan gum. *Carbohydr. Res.* **156**: 173-187.

Laidler, K. y Meiser, J. H. (1997). *Fisicoquímica*. México: C.E.C.S.A. P 535.

Mitchell, J:R: y Ledward D.A. (1986). *Functional properties of food macromolecules*. Nueva York: Elsevier Applied Science. P 121, 122.

Miyoshi, E., Takaya, T. y Nishinari, K. (1994), Gel-sol transición in gellan gum solutions. rheological studies on the effects of salts. *Food Hydrocoll.* **6**: 505-527.

Moritaka, H., Fukuba, H., Kumeno, K., Nakahama, N. y Nishinari, K. (1991). Effect of monovalente and divalente cations on the rheological propierties of gellan gels. *Food Hydrocoll.* **4**: 495-507.

Morris, E.R., Gothard, M.G., Hember, M.W. Manning, C.E. y Robinson, G. (1996). Conformational and rheological transtitions of welana rhamsan y acylated gellan. *Carbohydr. Polym.* **30**: 165-175.



Muller, H.G. (1978). *Introducción a la reología de los alimentos*. España Acribia. P 16, 23, 75-76.

Nakamura, K.; Harada, K. y Tanaka, Y. (1993). Viscoelastic properties of aqueous gellan solutions: the effects of concentration on gelation. *Food Hydrocoll.* 7: 435-447.

Nussinovitch, A. (1997). *Hydrocolloid Applications*. Gran Bretaña: Chapman & Hall. 63-80.

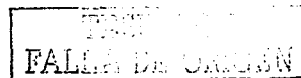
Oakefull, D. y Morris, V. (1987). A kinetic investigation of the extent of polymer aggregation in carrageenan and furcellaran gels. *Chem. Ind.* 52: 201-202.

Pollman, R. M. (1991). Atomic spectrophotometric determination of calcium and magnesium. *J. Assoc. Anal. Chem.* 74: 27-31.

Pszczola, D. E. (1993). Gellan gum IFT's food technology industria achievement award. *Food Technol.* 44: 94-96.

Rao, M. A. (1999). *Rheology of Fluid and Semisolid Foods*. E.U. A. An Aspen Publication, P 105-139.

Reiner, M. (1964). The Deborah number. *Physics Today*. 17: 62,63.

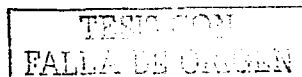


Ross-Murphy, S.B. (1991). Incipient behaviour of gelatin gels. *Rheol. Acta.* 30: 401-411.

Sanderson, G.R. (1990). Gellan Gum, *en Food Gels.* (ed. P. Harris). Londres y Nueva York: Elsevier Applied Science. P 201-232.

Smidsrød, O. y Grasdalen, H.(1982). Structure of gellan gum. *Carbohydr. Polym.* 2: 270-275.

Upstill, C., Atkins, E.D.T. y Attwood, P.T. (1986). Helical conformation of gellan gum. *J. Biol. Macromol.* 8: 275-289.



ANEXO A

RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CATIONES (Na^+ , K^+ , Mg^{++} , Ca^{++}) EN GELANA

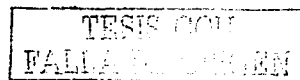
Determinación de Magnesio y Calcio

La composición iónica de la concentración de calcio y magnesio, en la muestra comercial de la gelana que fue determinada por absorción atómica, se realizó a través del uso de curvas patrón, cuyos resultados son mostrados en el siguiente cuadro.

Magnesio.

C(ppm)	A
0.1	0.053
0.2	0.103
0.3	0.157
0.4	0.217

Cuadro A.1 Datos de la curva patrón del magnesio.



CURVA PATRÓN DE MAGNESIO

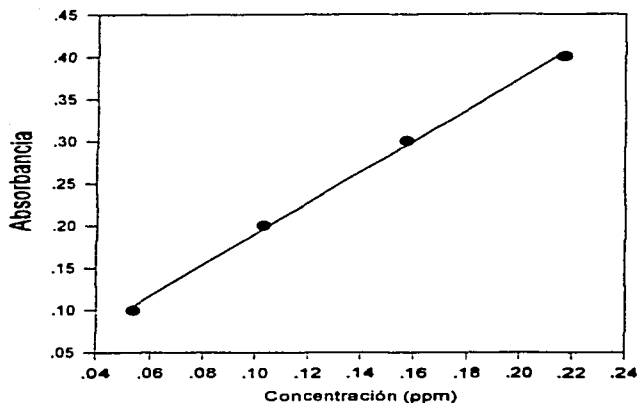


Figura A.1. Curva patrón del magnesio

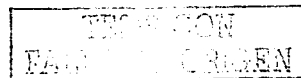
Ecuación de la curva patrón ajustada.

$$A = -0.006 + 0.528 C$$

$$r^2 = 0.998$$

Muestras de solución de gelana

No	A	C(ppm)
1	0.154	0.303
2	0.149	0.294
3	0.157	0.309



Concentración de magnesio en gelana

No. de muestra	mg de Mg/g	mmol/g
1	3.03	0.125
2	2.94	0.121
3	3.09	0.127

Valor promedio de magnesio en mmol/g = 0.124

S = 0.00306 mmol/g

C.V. = 2.47 %

3.1.6.2 Calcio.

C (ppm)	A
0.6	0.115
1.2	0.229
1.8	0.345

Cuadro A.2 Datos de la curva patrón del Calcio.

TESIS
FALLA DE ORIGEN

CURVA PATRÓN DE CALCIO

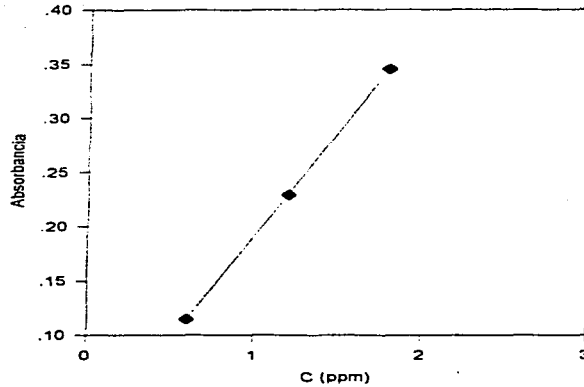


Figura A.2. Curva patrón del Calcio

Ecuación de la curva patrón ajustada.

$$A = 0.0001 + 0.191 C$$

$$r^2 = 0.999$$

Muestras de gelana

No.	A	C (ppm)
1	0.120	0.628
2	0.117	0.613
3	0.118	0.618

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Concentración de calcio en gelana

No. de muestra	mg de Ca/g	mmol/g
1	6.28	0.157
2	6.13	0.153
3	6.18	0.154

Valor promedio de calcio en mmol/g = 0.1545

S= 0.00208 mmol/g

C.V. = 1.35 %

Determinación de sodio y potasio en gelana por flamometría

Determinación de Sodio.

No. de muestra	Na (ppm)	mg de Na/g	mmol de Na/g
1	9.9	9.9	0.430
2	9.5	9.5	0.413
3	9.8	9.8	0.426

Cuadro A.3 Concentración de sodio en gelana.

mmol de Na / g de gelana = 0.423

S= 0.00889 mmol/g

C.V. = 2.10 %

Determinación de Potasio.

No. de muestra	K (ppm)	mg de K/g	mmol K/g
1	27.0	27.0	0.690
2	26.1	26.1	0.667
3	27.9	27.9	0.713

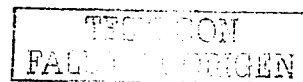
Cuadro A.4 Concentración de potasio en gelana.

mmol de K / g de gelana = 0.690

S=0.230 mmol/g

C.V. = 3.33 %

Nota: Por cada unidad estructural se necesita una mol de potasio, para formar un entrecruzamiento; para cada gramo de gelana se necesita 1.553 mmol de potasio y la gelana tiene 0.690 mmol, o sea menos de la mitad de la requerida estequiométricamente.



ANEXO B

PARÁMETROS ESTADÍSTICOS: DESVIACIÓN ESTÁNDAR (S) Y COEFICIENTE VARIABLE (C.V.)

Como se puede advertir en cada caso existe un intervalo, se tomó el límite inferior y superior de cada parámetro reológico. El valor más pequeño de porcentaje de error relativo fue de 1.36 % y el más grande de 4.31 %, niveles de error que son aceptables para datos experimentales.

Parámetro	NaCl		KCl	
	S	C.V. (%)	S	C.V.(%)
G' (Pa)	4.78-16.39	2.15-2.97	5.91-17.45	2.13-3.82
G'' (Pa)	4.01-10.45	2.23-4.31	3.16-11.52	1.72-3.95
tan δ	(8.06-8.83)10 ⁻³	1.36-3.39	(7.48-10.43)10 ⁻³	2.16-3.73
t _g (min)	0.68-0.89	2.53-3.62	0.58-0.78	2.33-3.68
T _g (°C)	1.01-1.62	2.49-3.56	0.95-1.43	2.28-3.65

Cuadro B.1 Parámetros estadísticos de los geles con sales monovalentes.

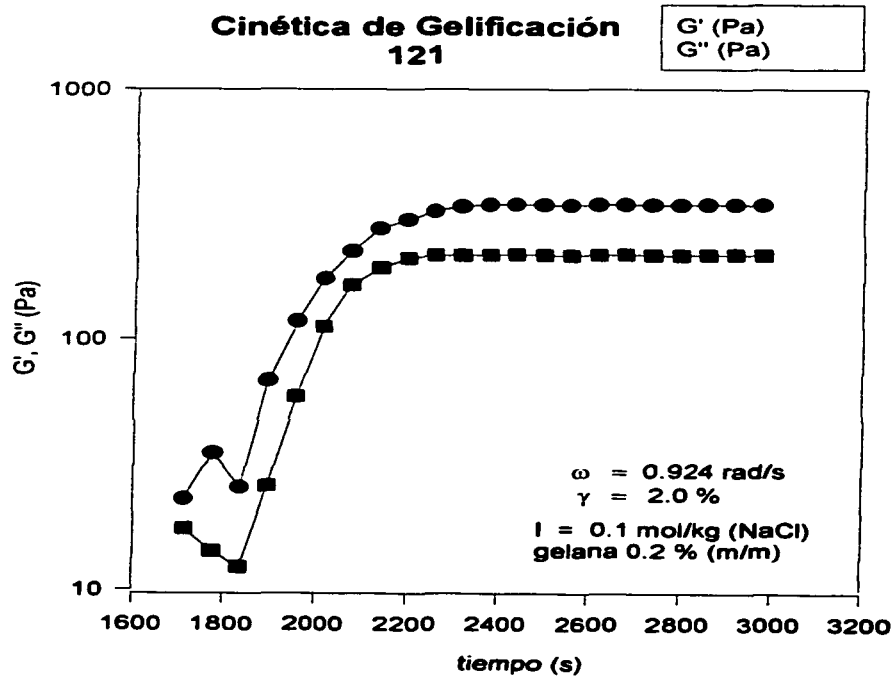
Parámetro	MgCl ₂		CaCl ₂	
	S	C.V. (%)	S	C.V.(%)
G' (Pa)	5.07-14.56	1.56-3.49	3.89-12.6	1.97-3.58
G'' (Pa)	3.56-12.1	2.27-4.12	3.16-10.19-	2.57-3.81
tan δ	(8.16-9.35)10 ⁻³	2.18-3.65	(7.98-9.24)10 ⁻³	2.15-3.78
t _g (min)	0.72-0.93	2.01-4.06	0.76-0.91	2.19-3.95
T _g (°C)	1.21-1.72	2.05-3.99	1.06-1.67	2.16-3.92

Cuadro B.2 Parámetros estadísticos de los geles con sales divalentes.



ANEXO C

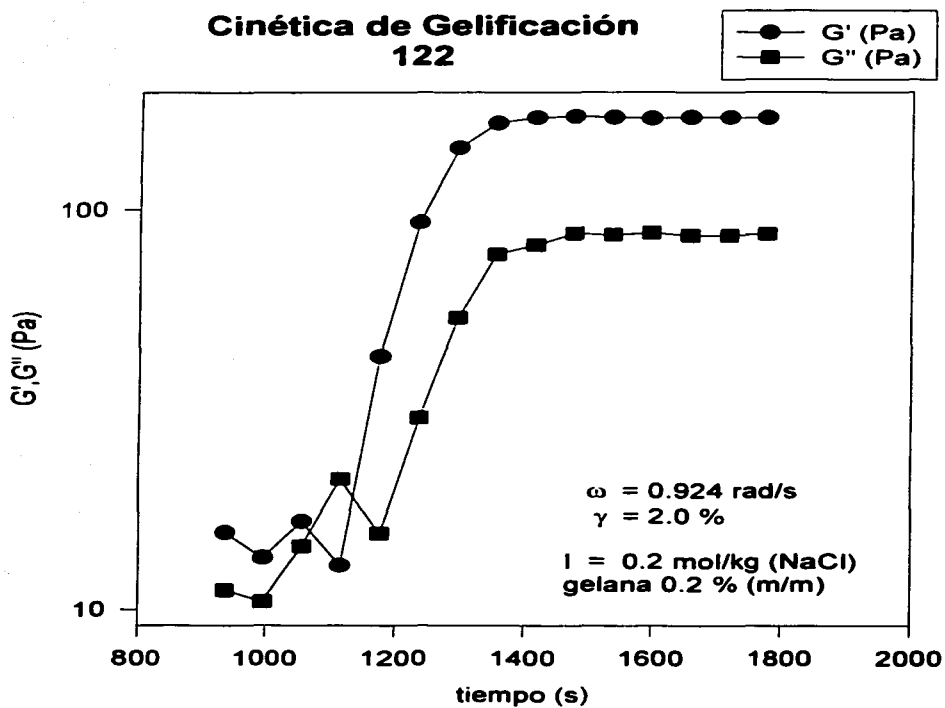
CURVAS DE GELIFICACIÓN DE GELANA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

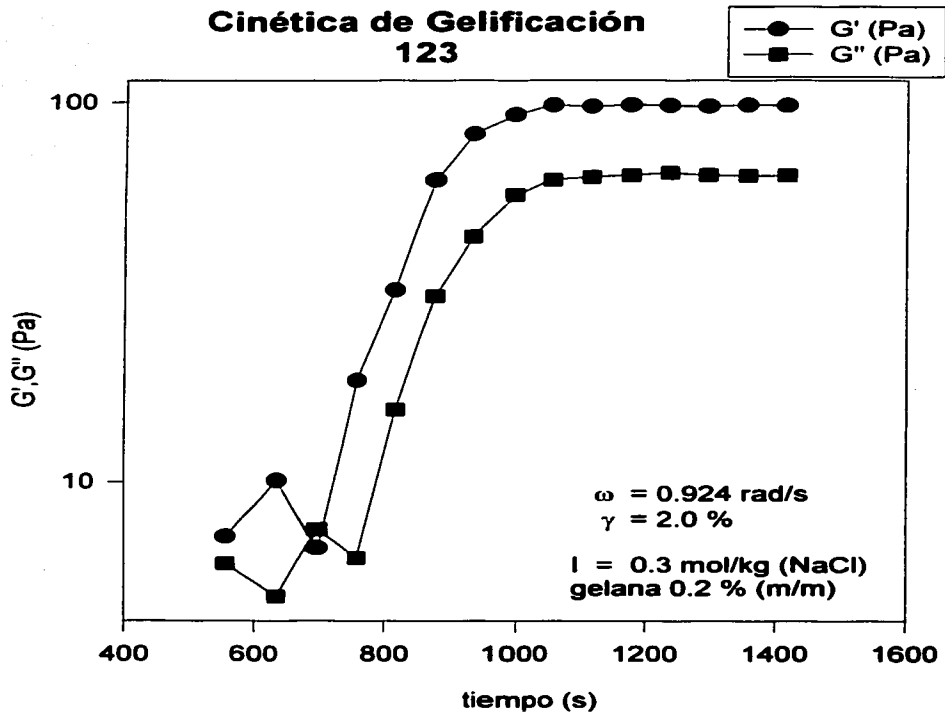
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Cinética de Gelificación 122



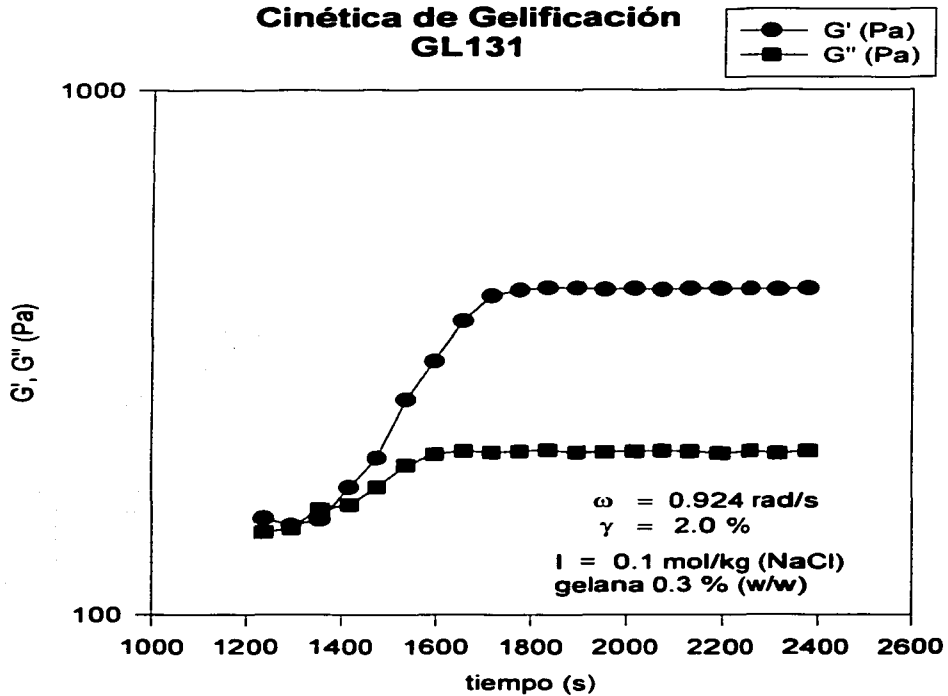
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 123



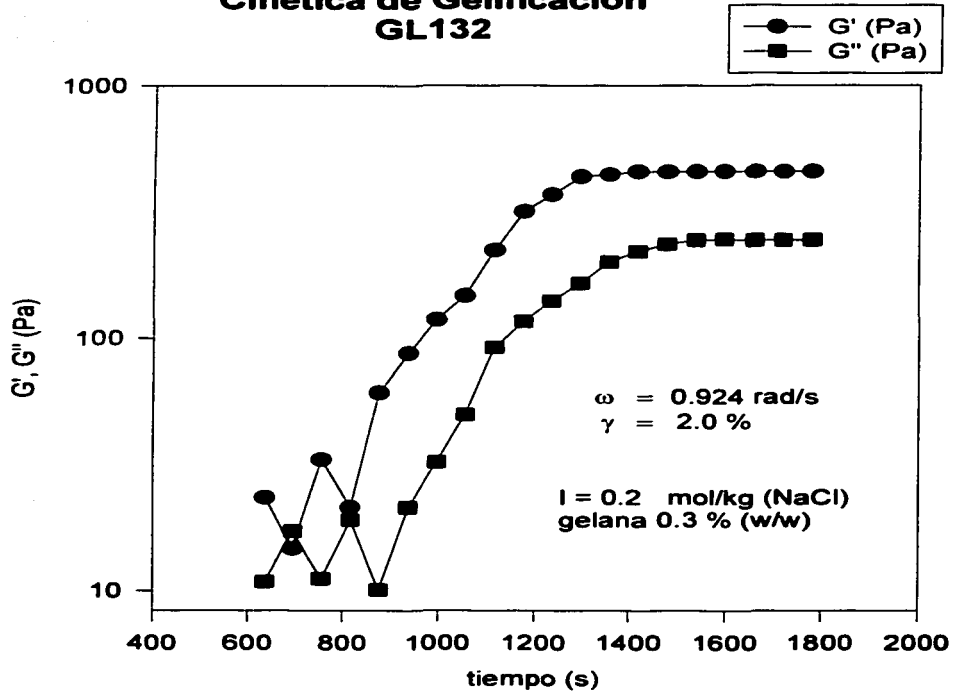
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación GL131



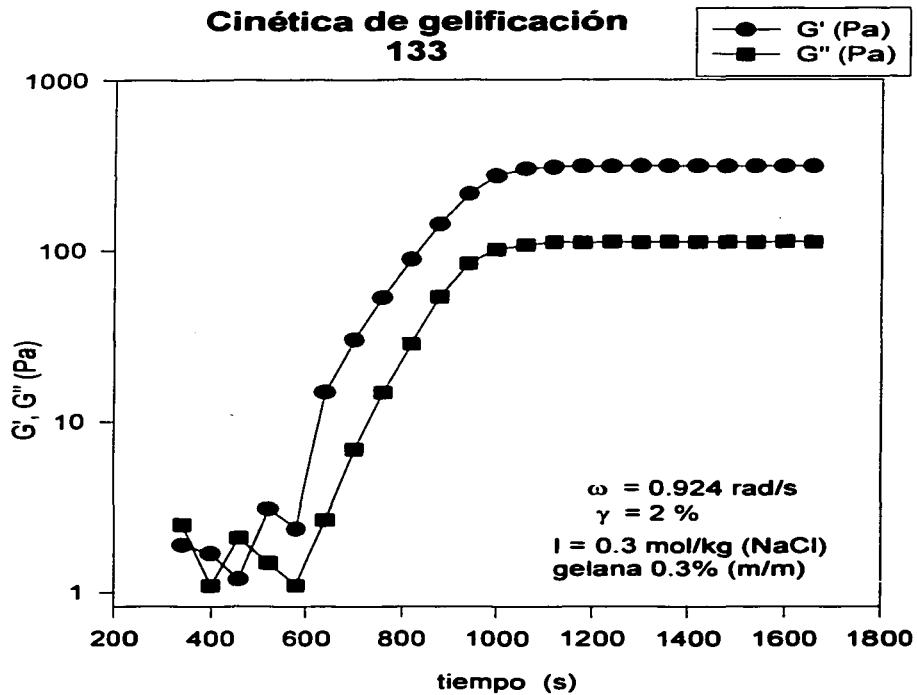
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación GL132



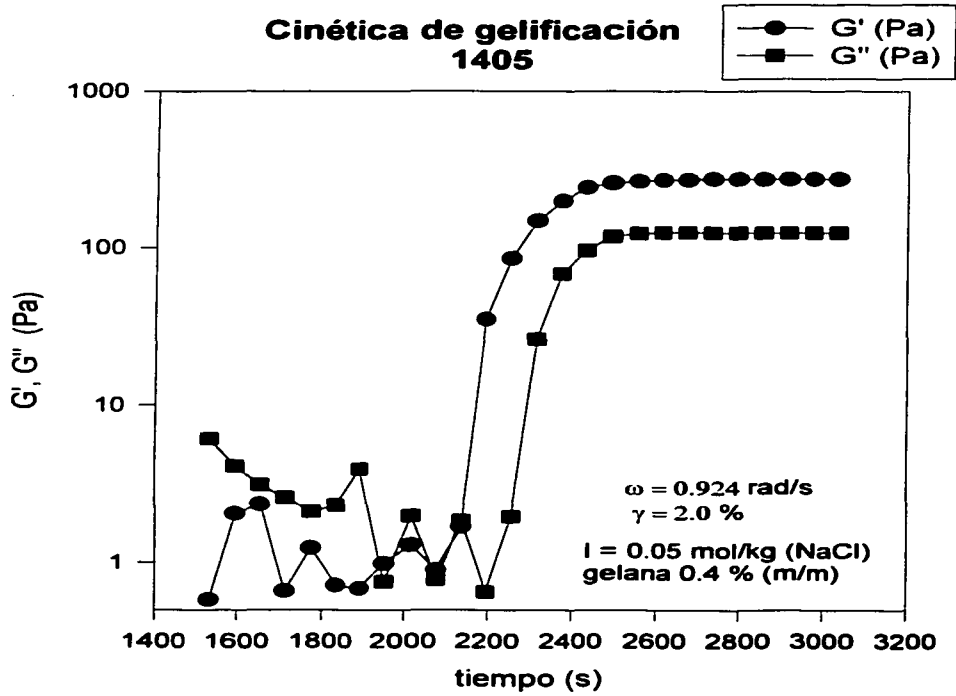
TRABAJOS DE INVESTIGACION
EN CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

Cinética de gelificación 133



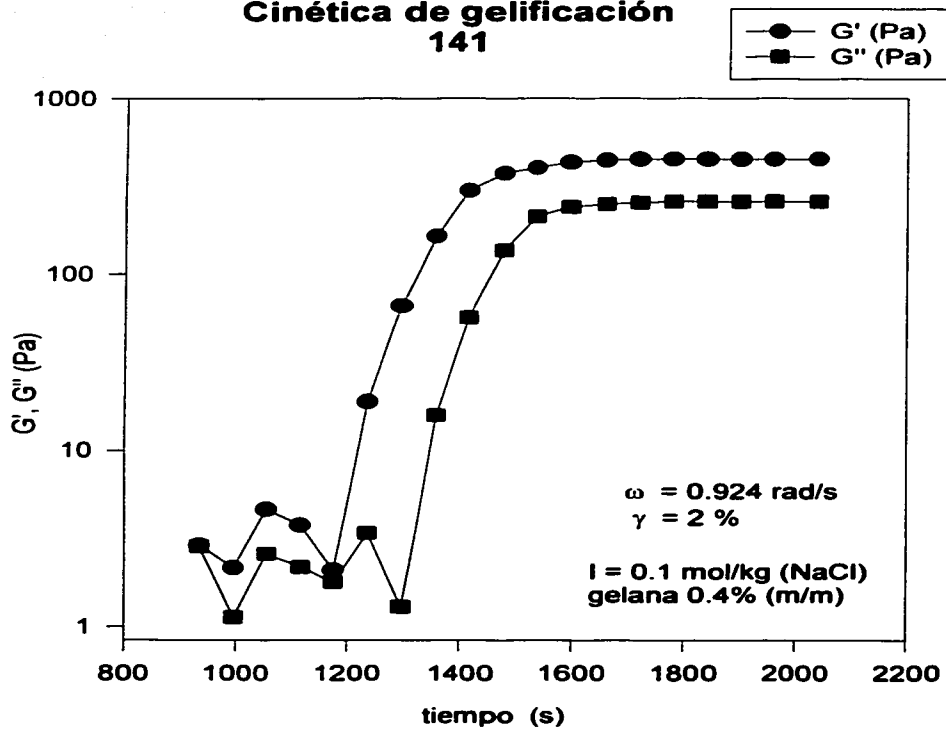
TESIS CON
FAMILIA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 1405



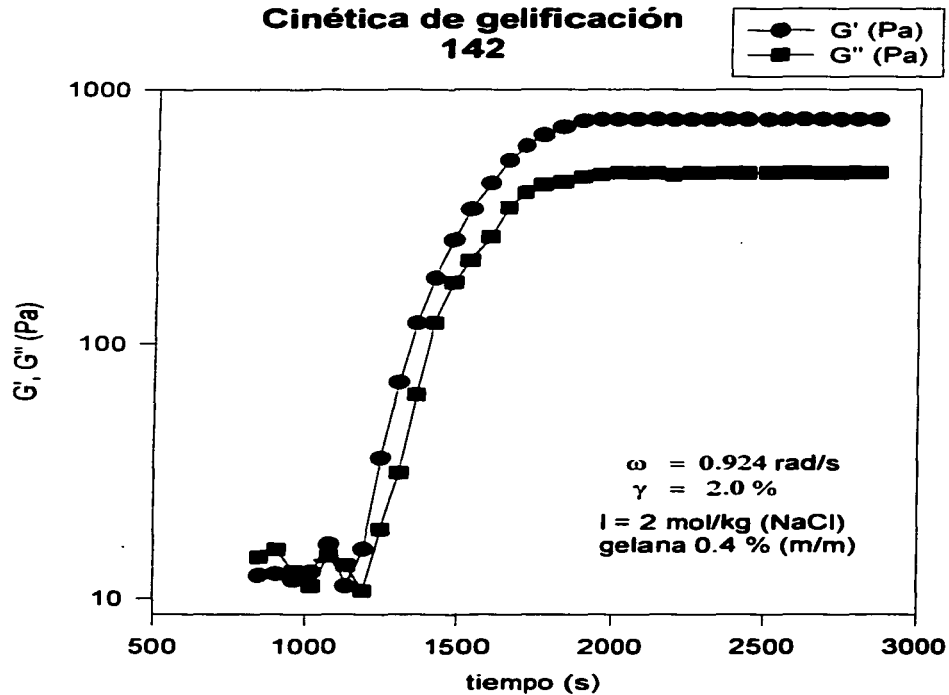
TESIS CON
PAPA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 141



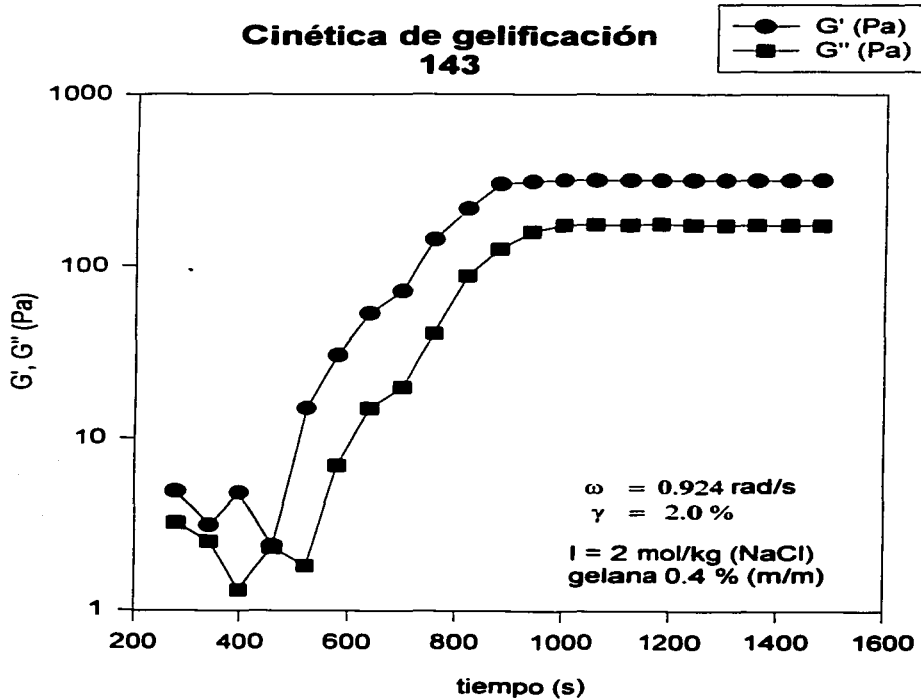
TESIS CON
FALLA EN ORIGEN

Cinética de gelificación 142



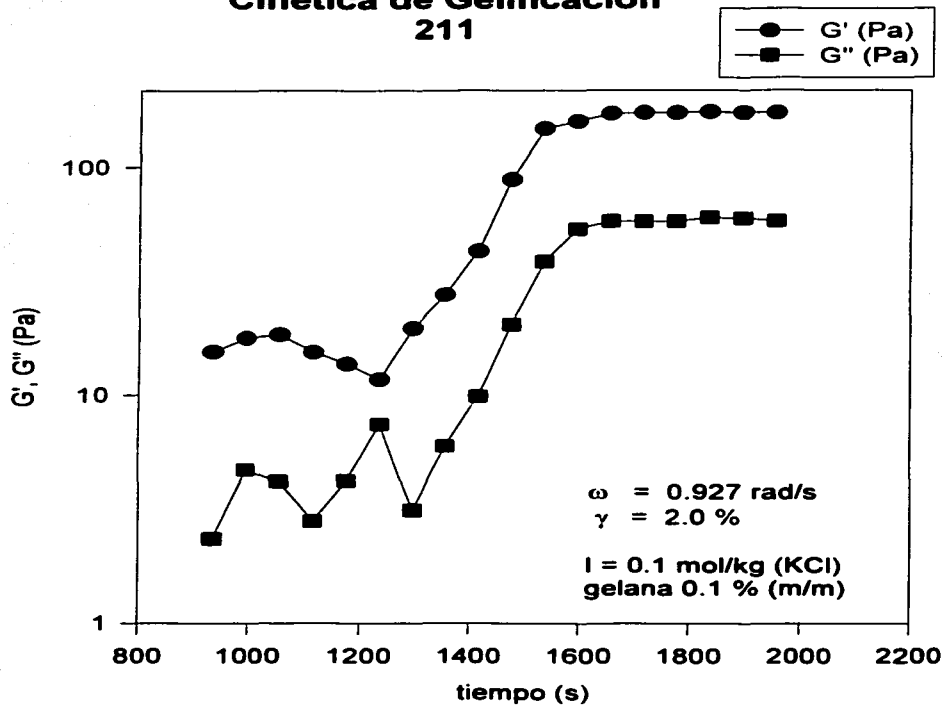
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 143



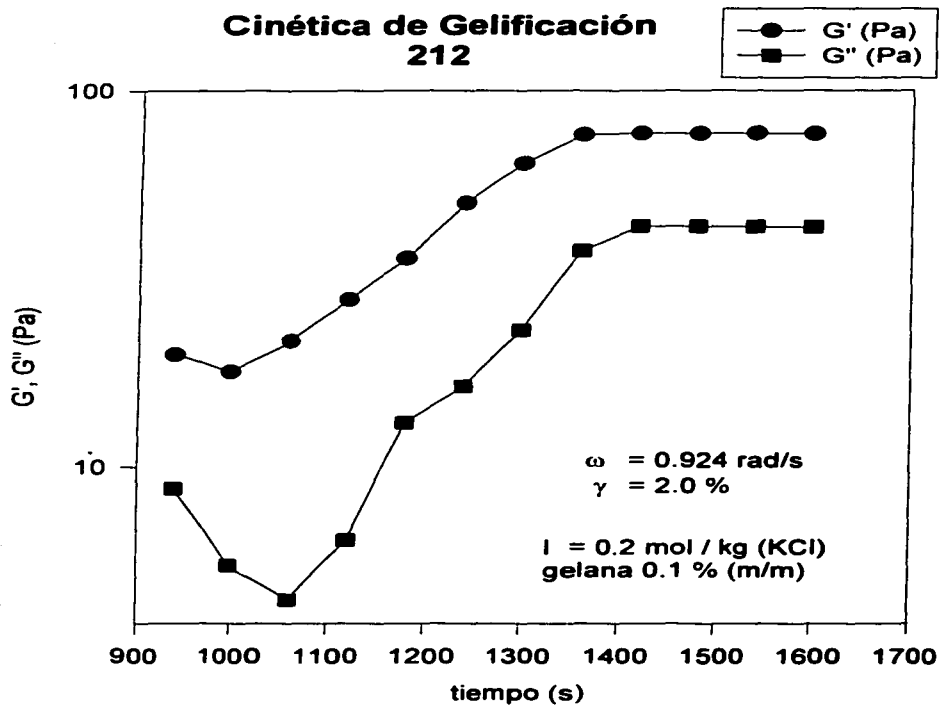
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 211



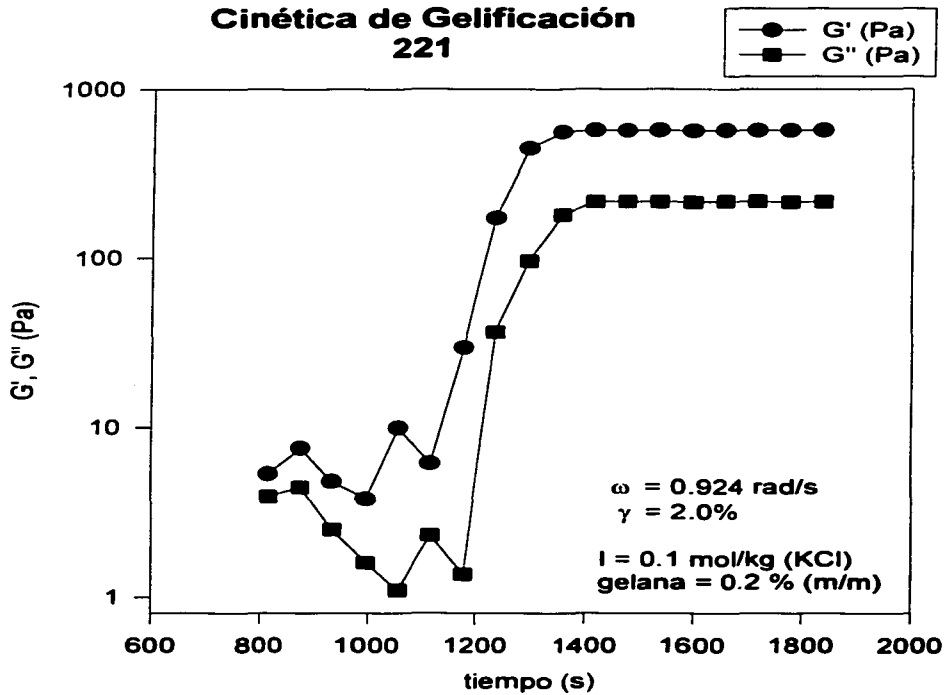
TESIS CON
FALSO ORIGEN

Cinética de Gelificación 212



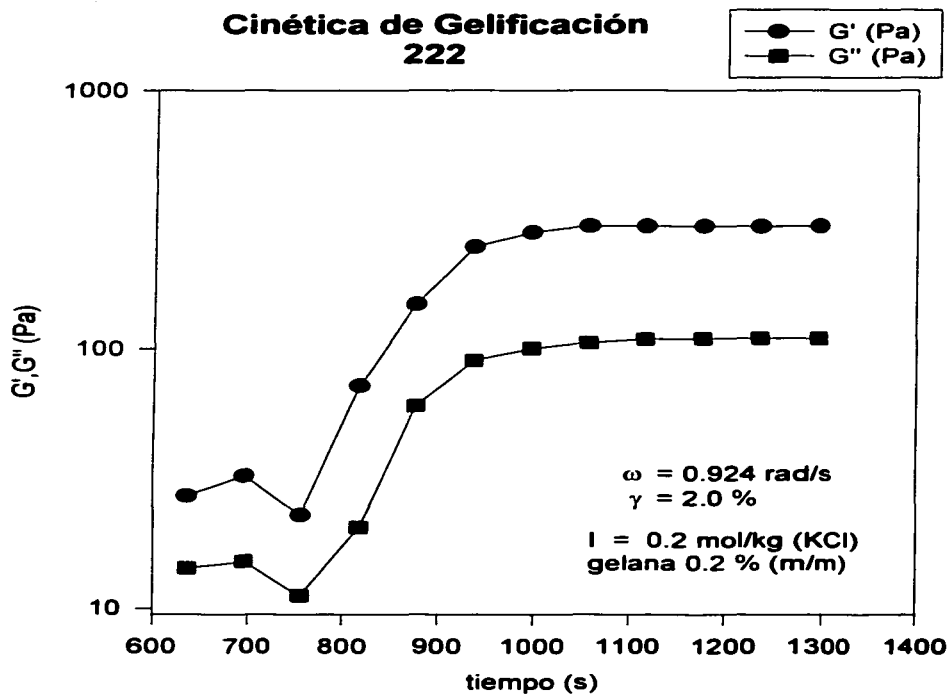
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 221



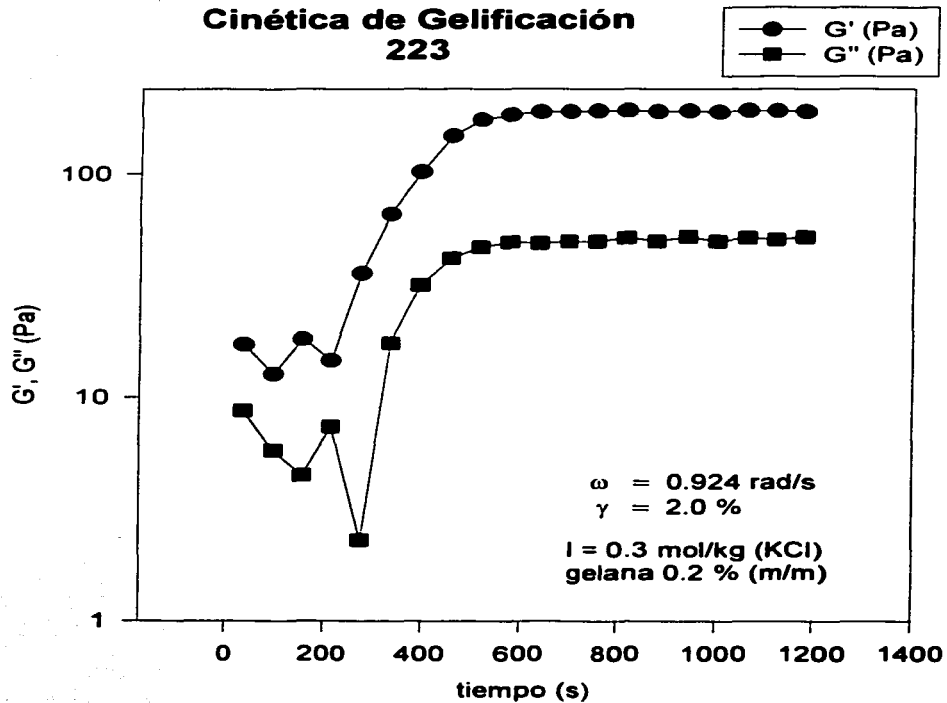
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 222



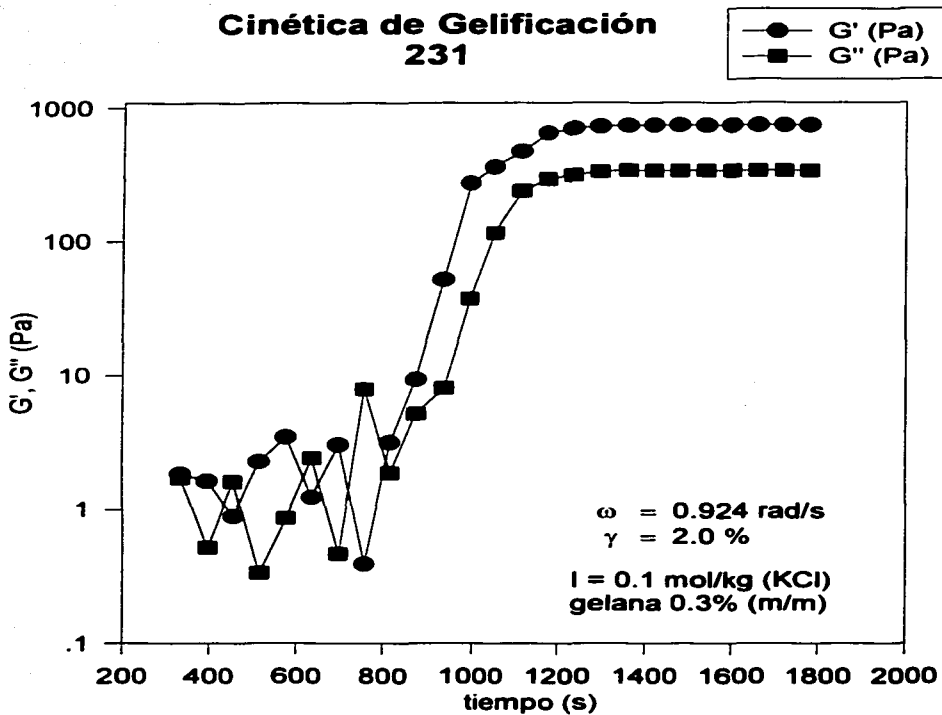
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 223



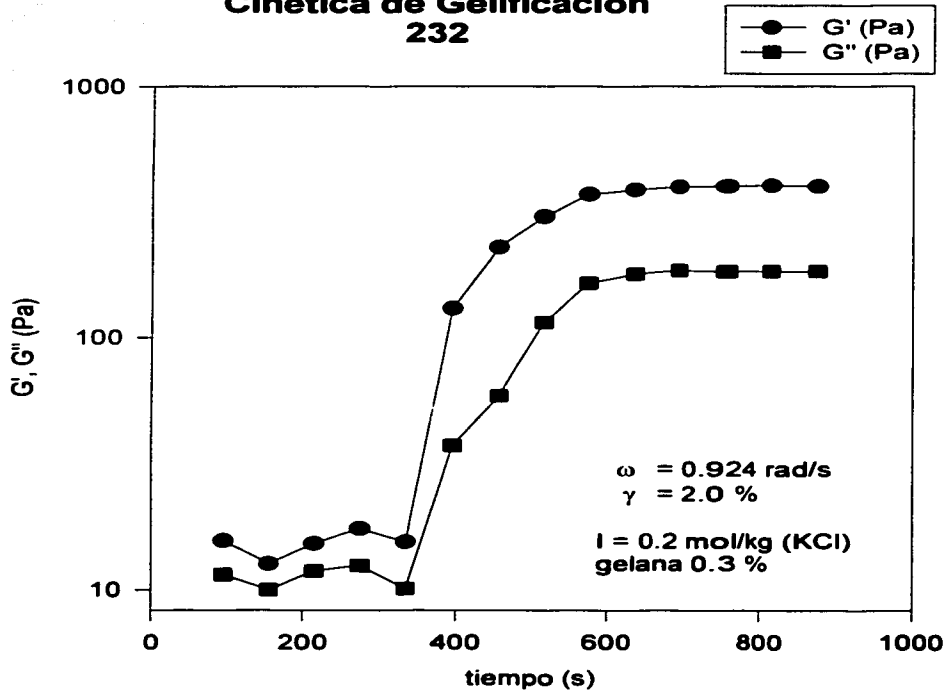
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 231



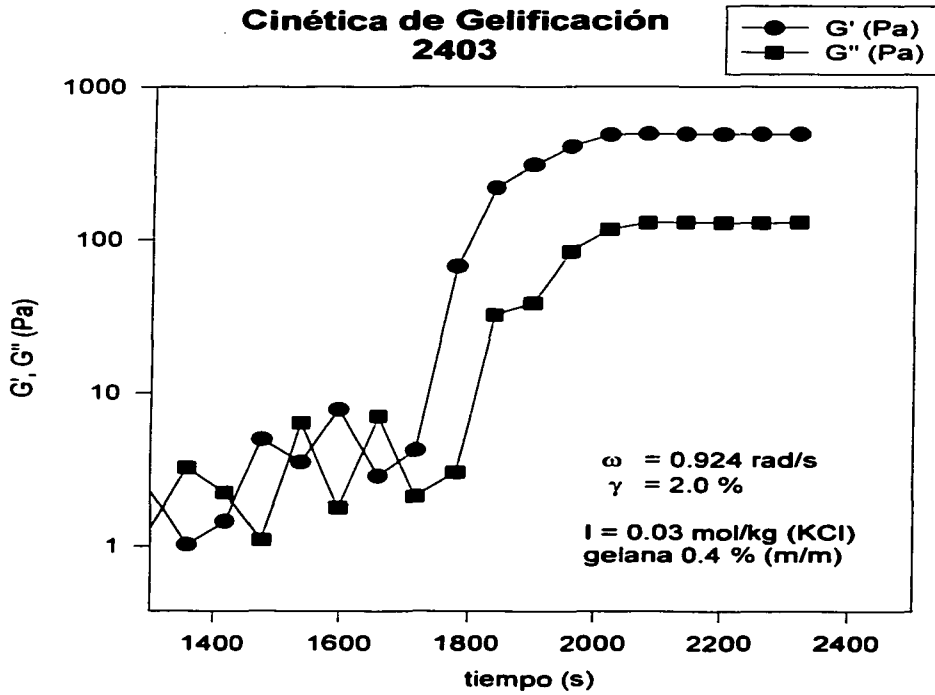
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 232



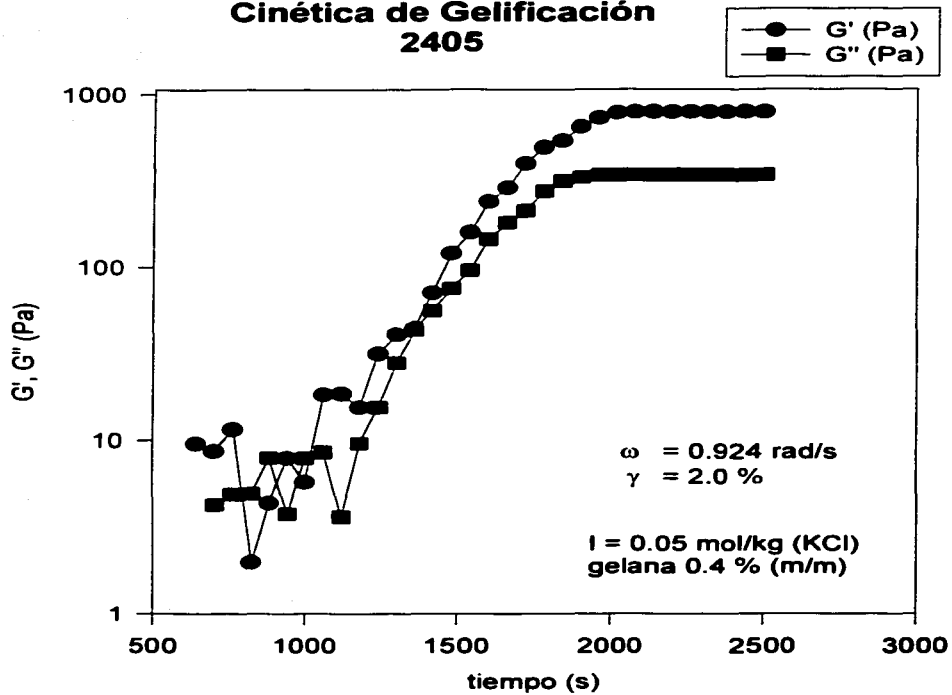
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 2403



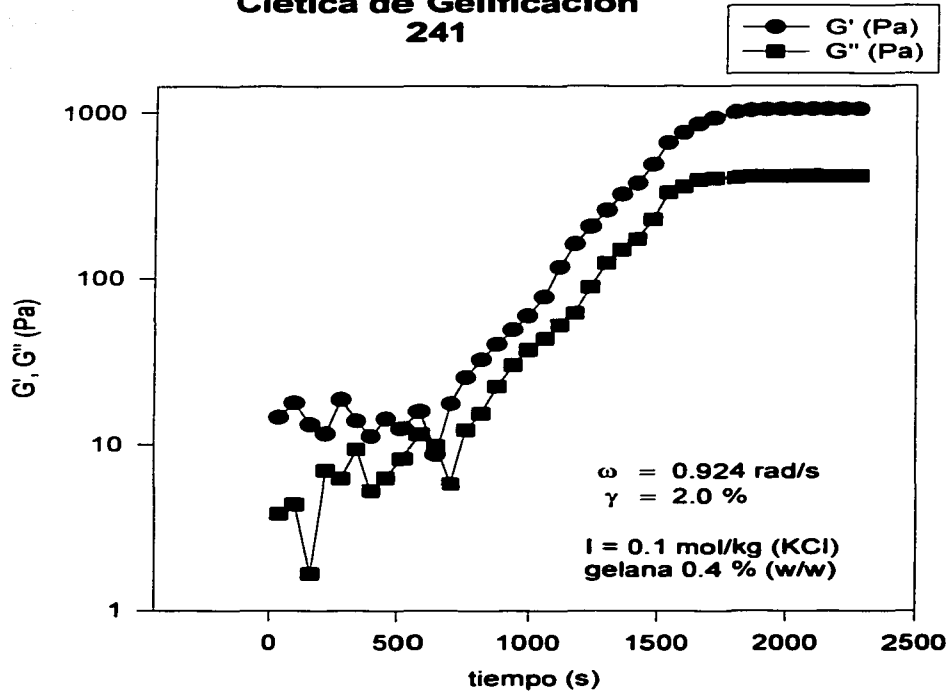
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 2405



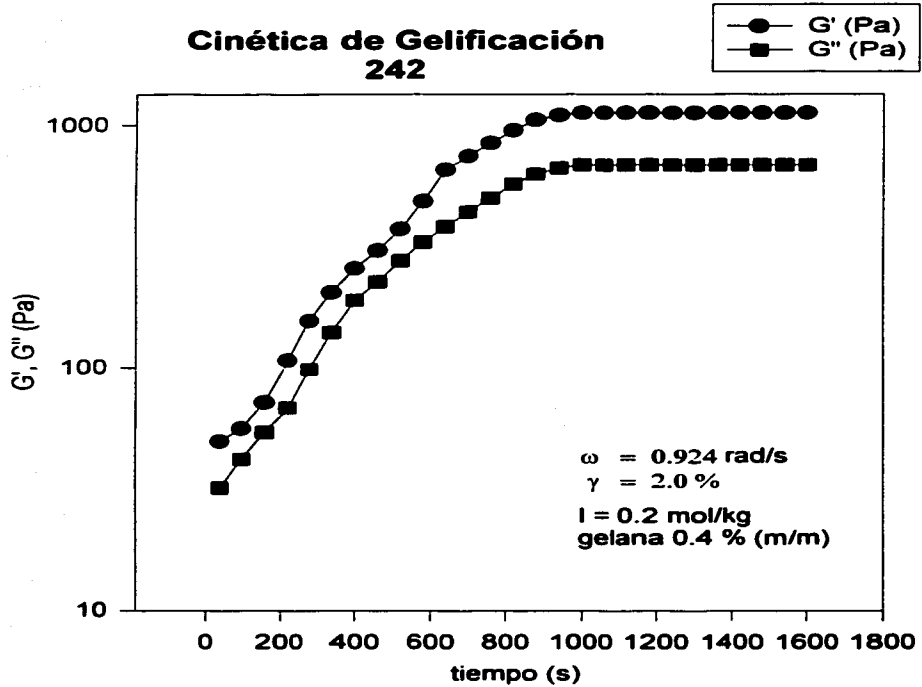
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 241



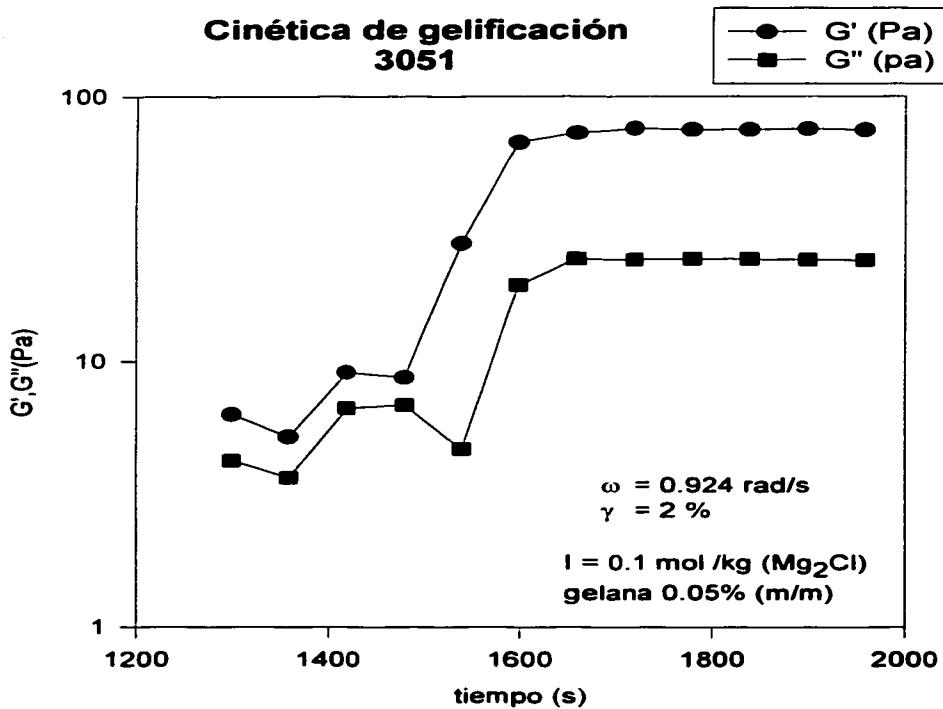
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 242



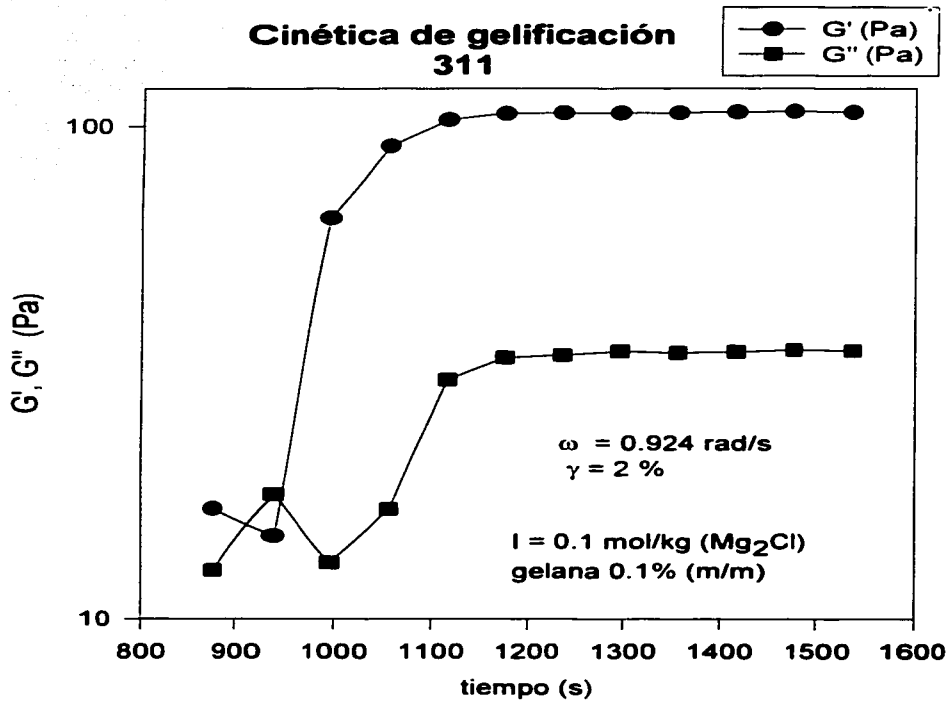
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 3051



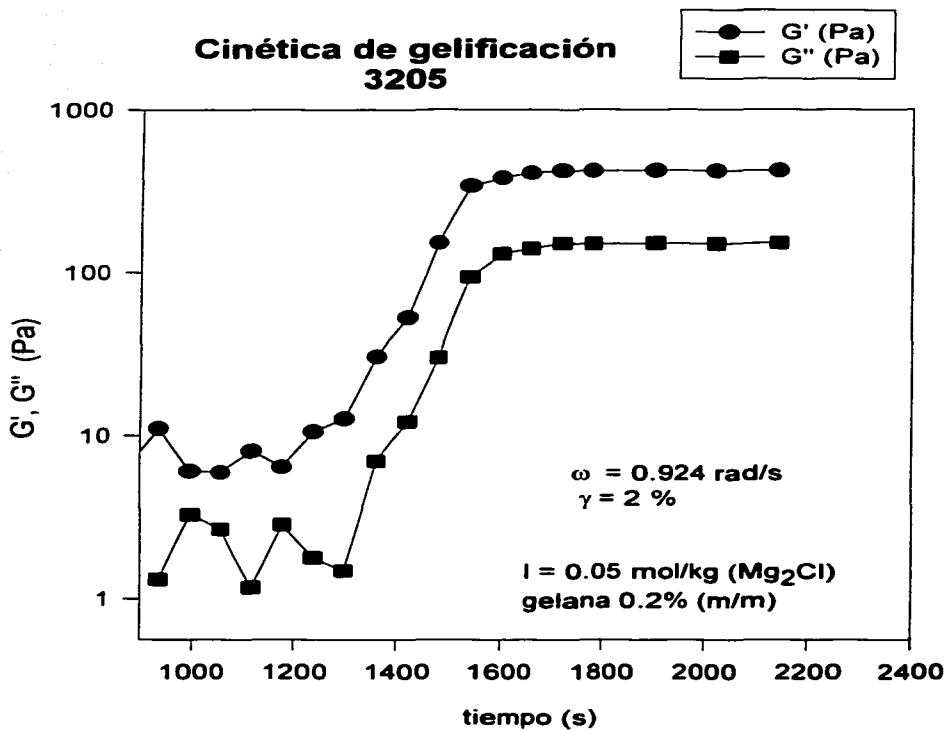
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 311



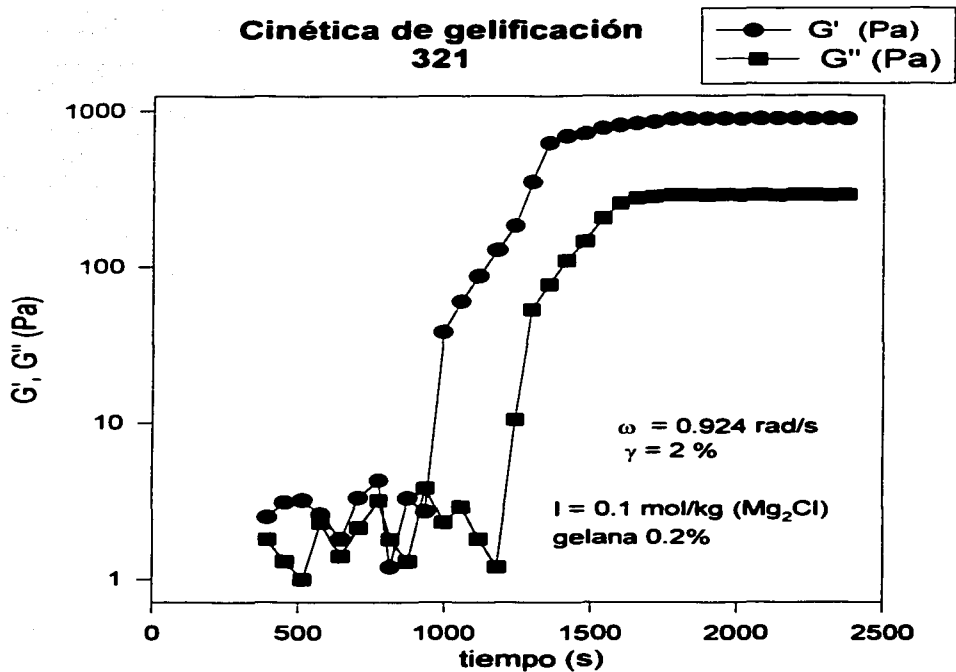
USAR CON
PAIS DE ORIGEN

Cinética de gelificación 3205



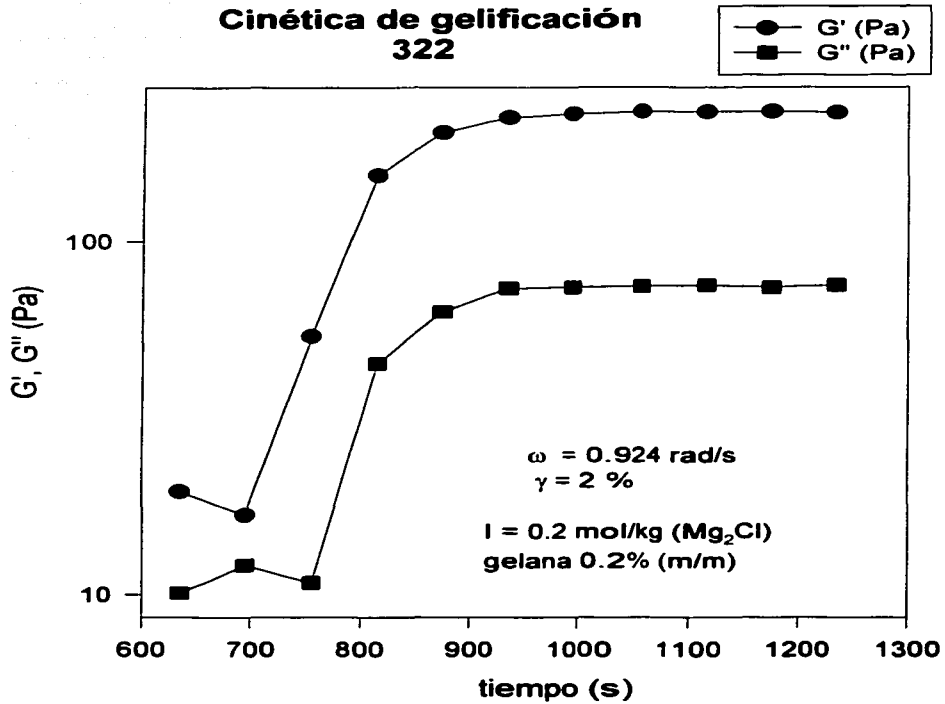
HECHO CON
MATERIA ORIGINAL

Cinética de gelificación 321



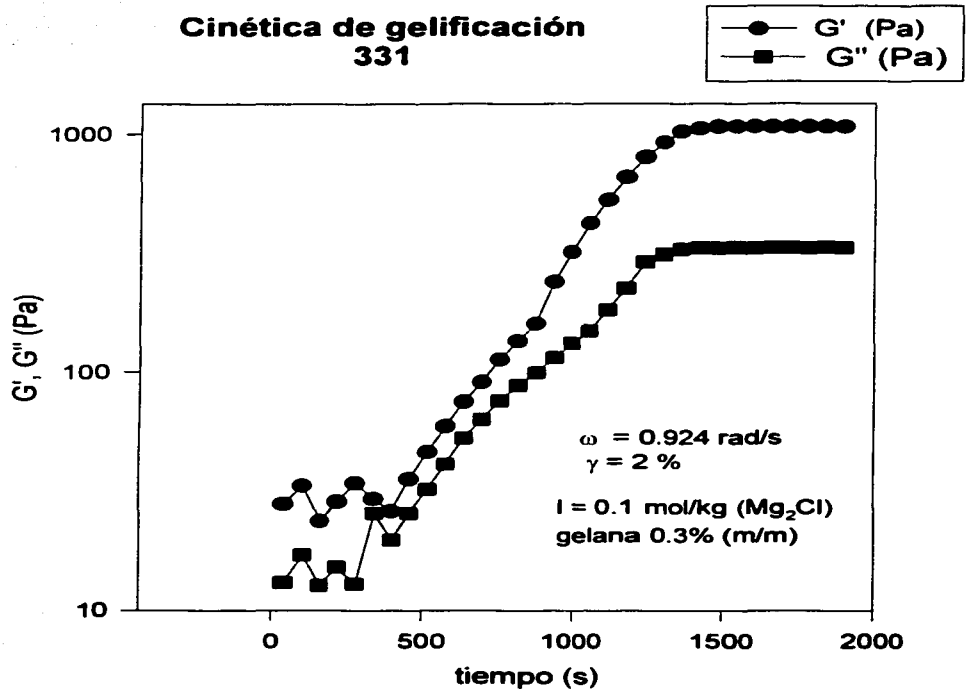
ANÁLISIS CON
PALETA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 322



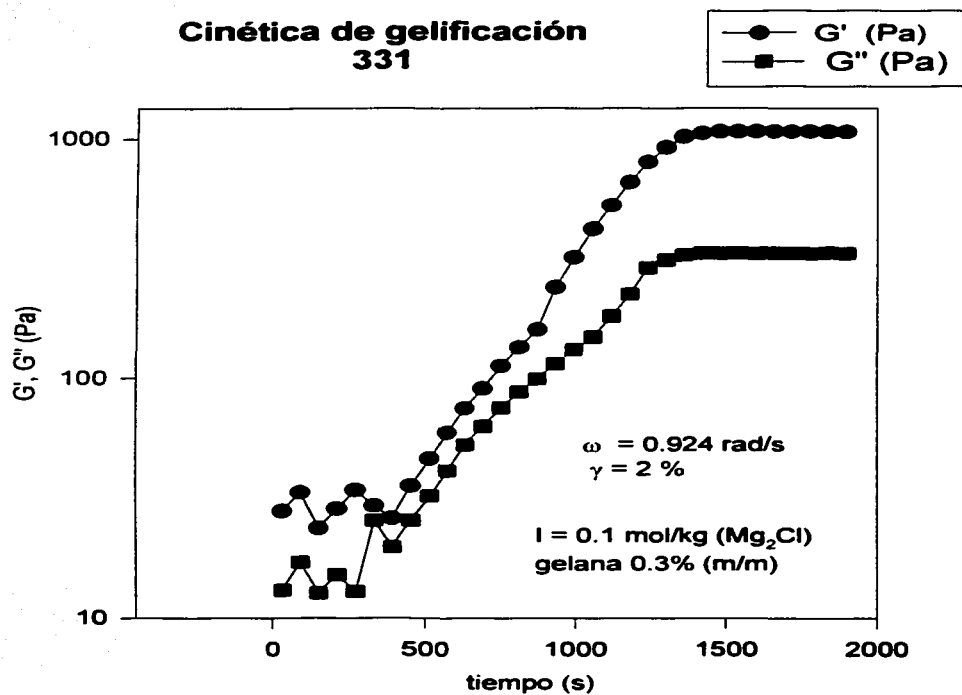
EXPERIMENTOS CON
MATERIA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 331



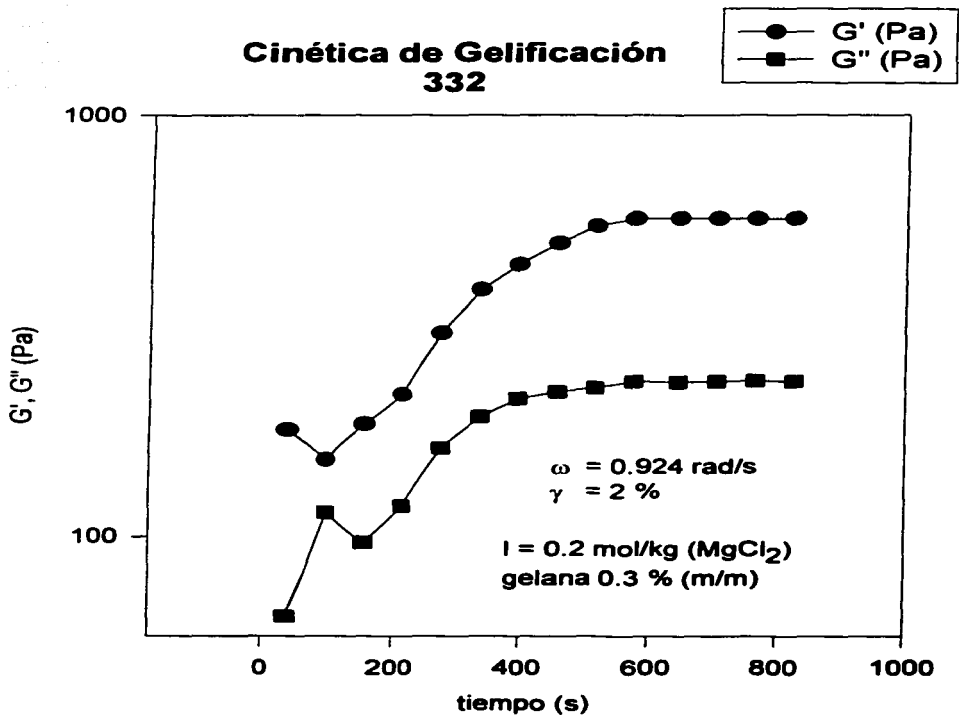
TRABAJO CON
FINANCIA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 331



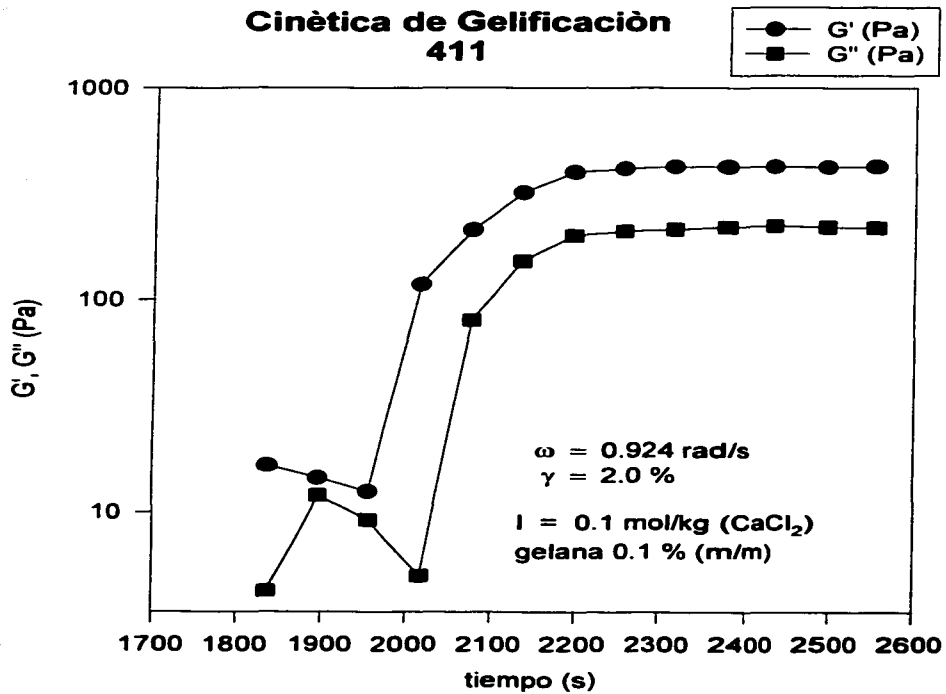
TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 332



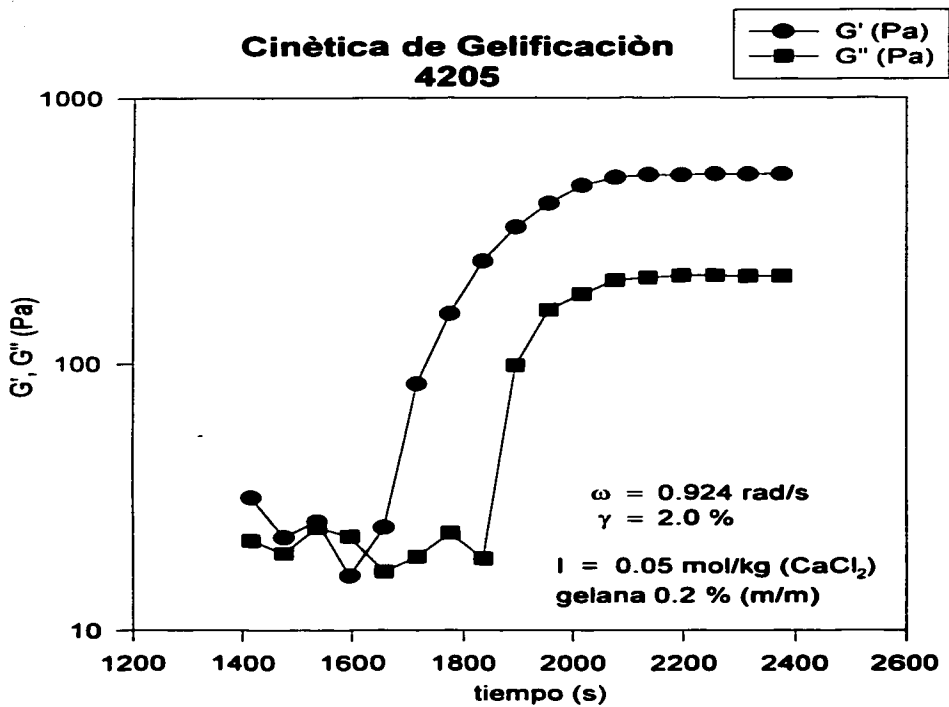
HECHO CON
MATERIA DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 411



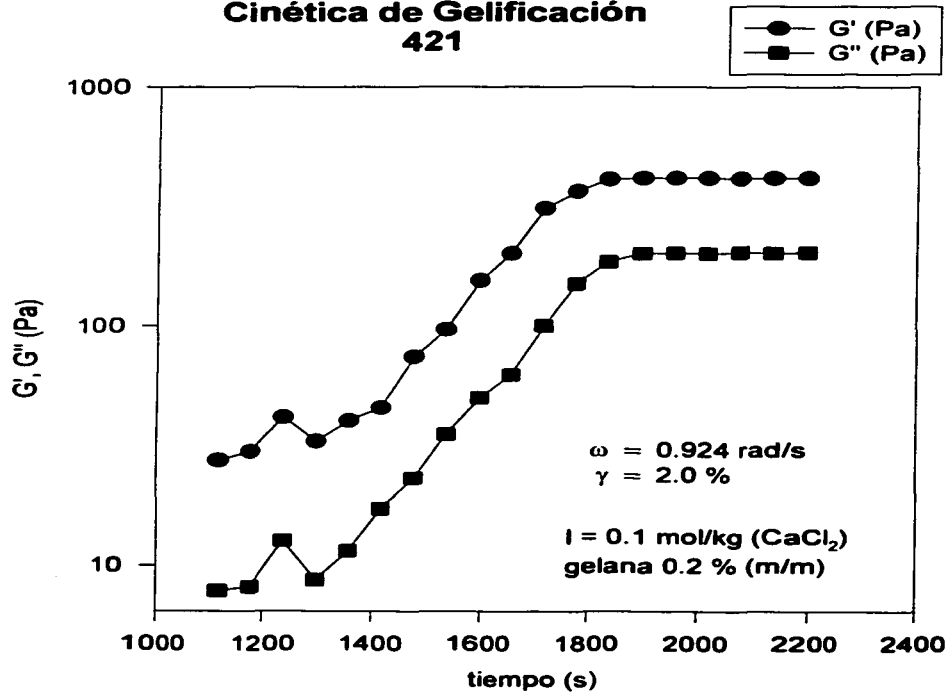
TESIS CON
FOLIO DE ORIGEN

Cinètica de Gelificaci3n 4205



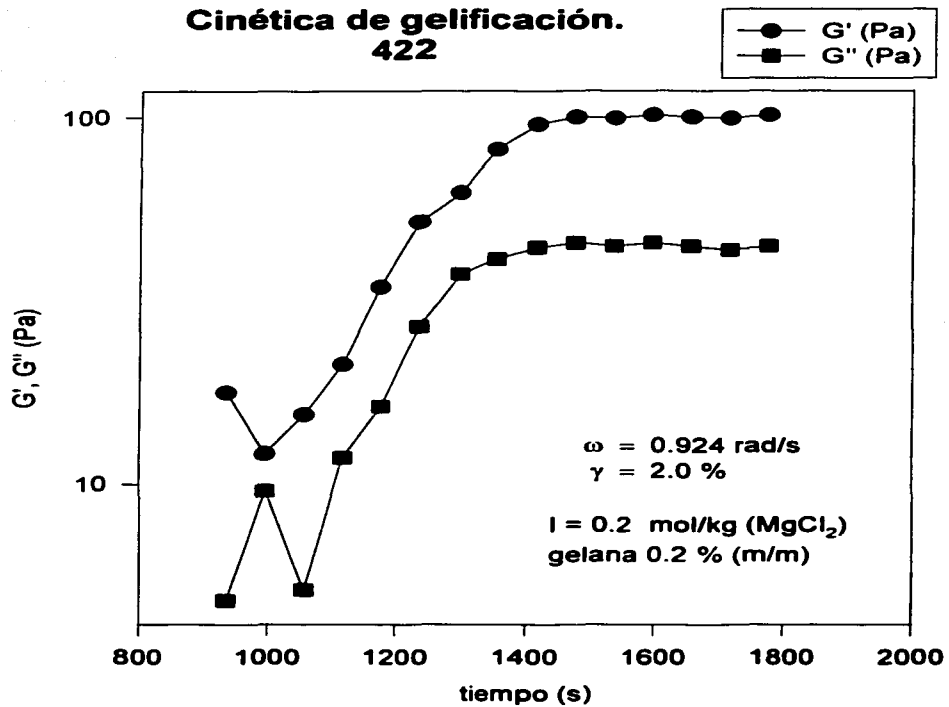
TEXTOS CON
FIRMAS DE ORIGEN

Cinética de Gelificación 421



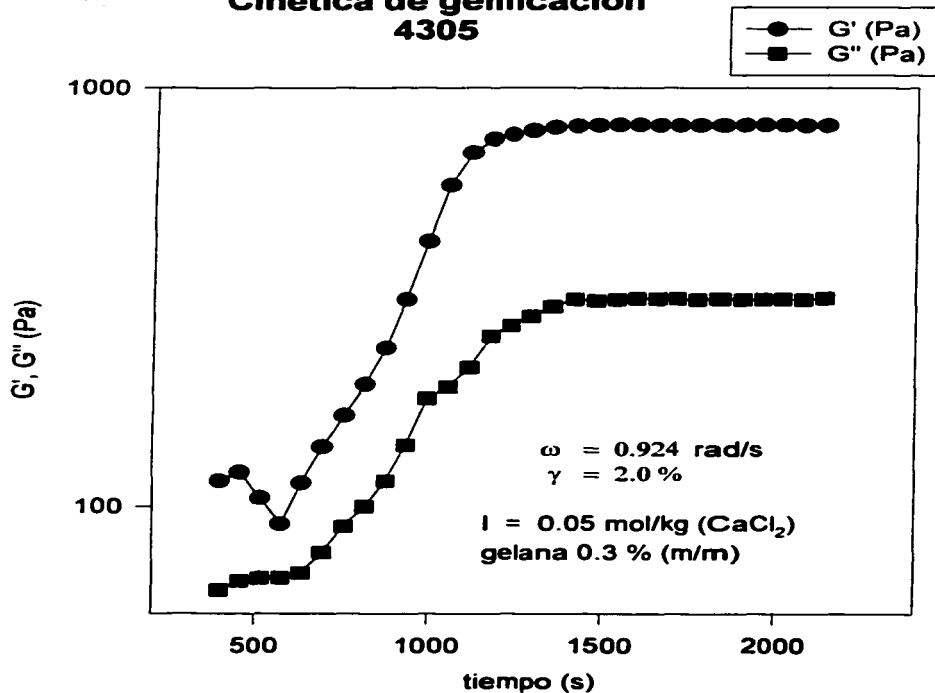
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de gelificación.
422



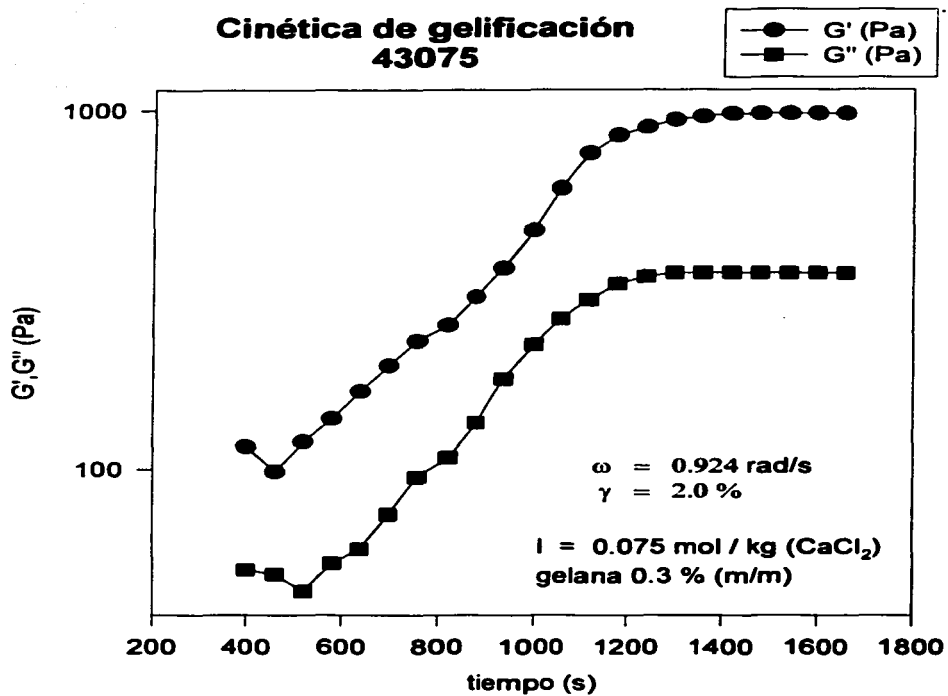
TESIS CON
FOLIO DE ORIGEN

Cinética de gelificación 4305



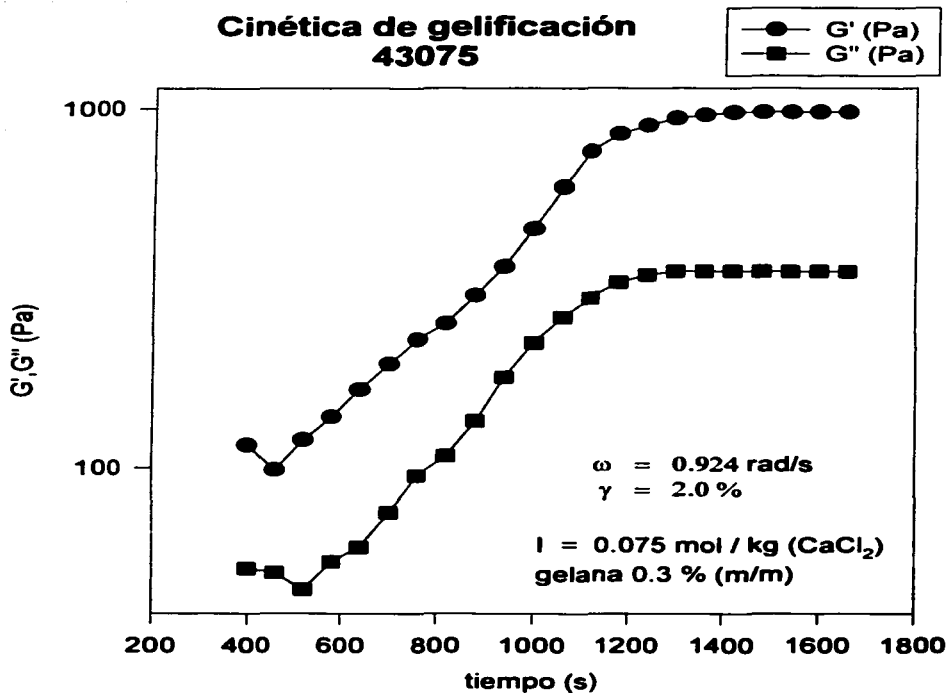
TESIS CON
ANEXO DE ORIGEN

Cinética de gelificación 43075



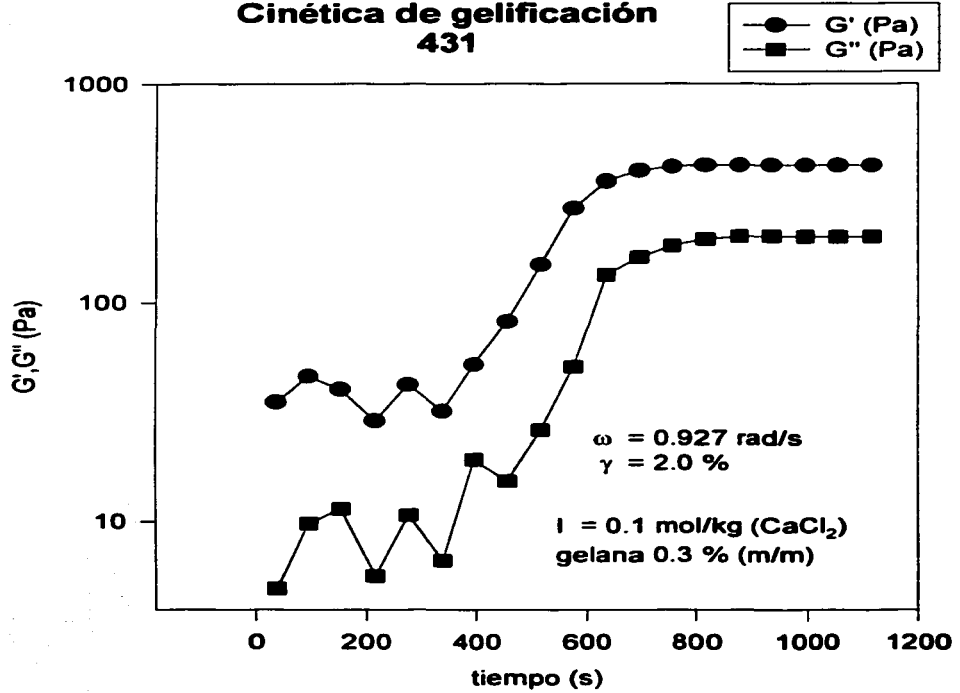
TESIS CON
FOLIO DE ORIGEN

Cinética de gelificación 43075



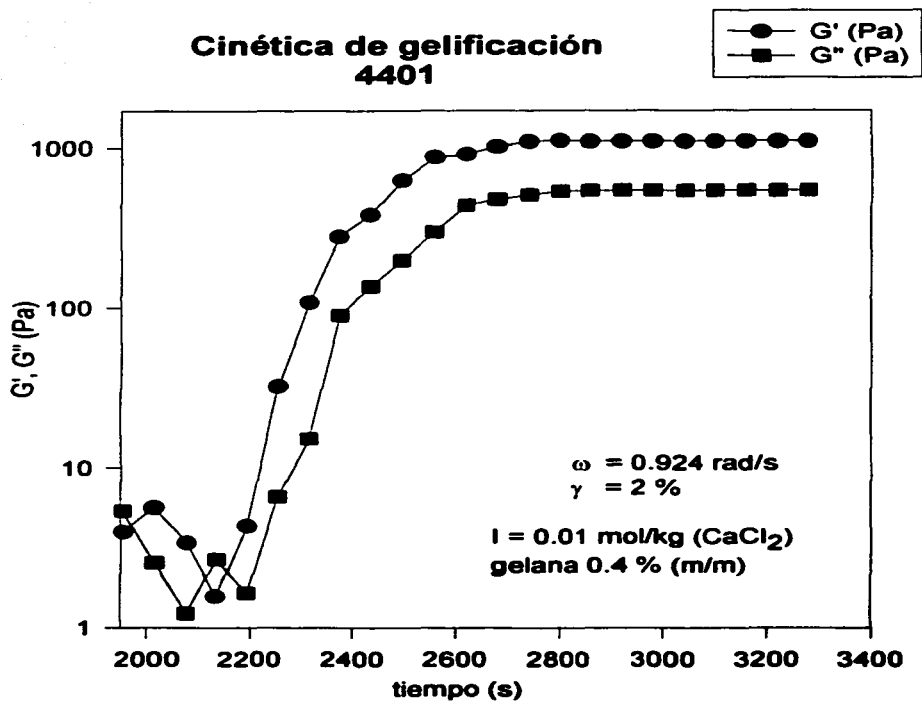
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 431



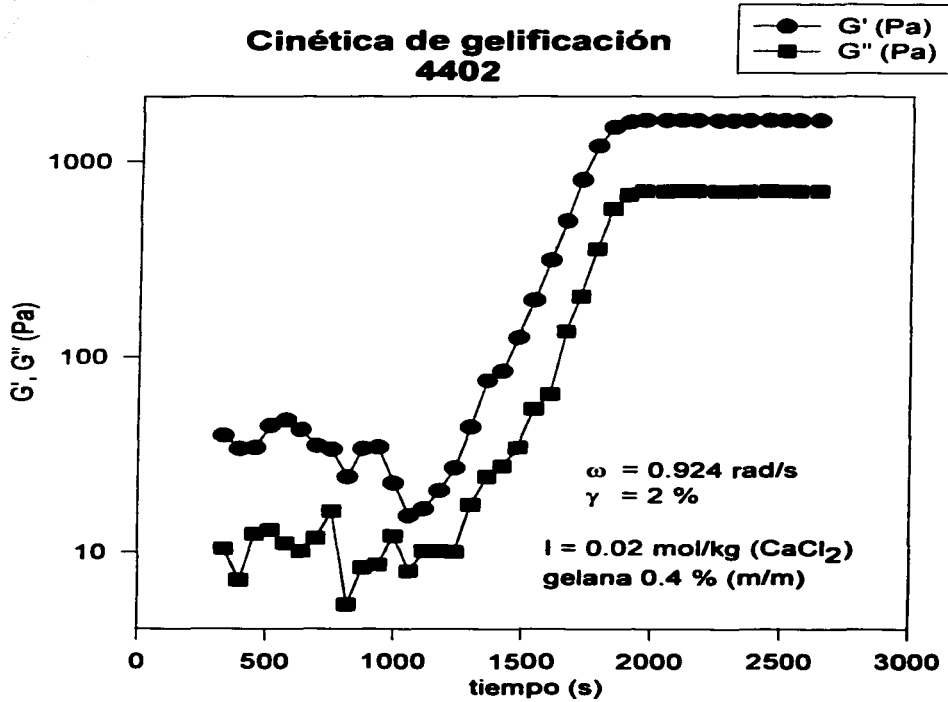
TESIS CON
PÁGINA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 4401



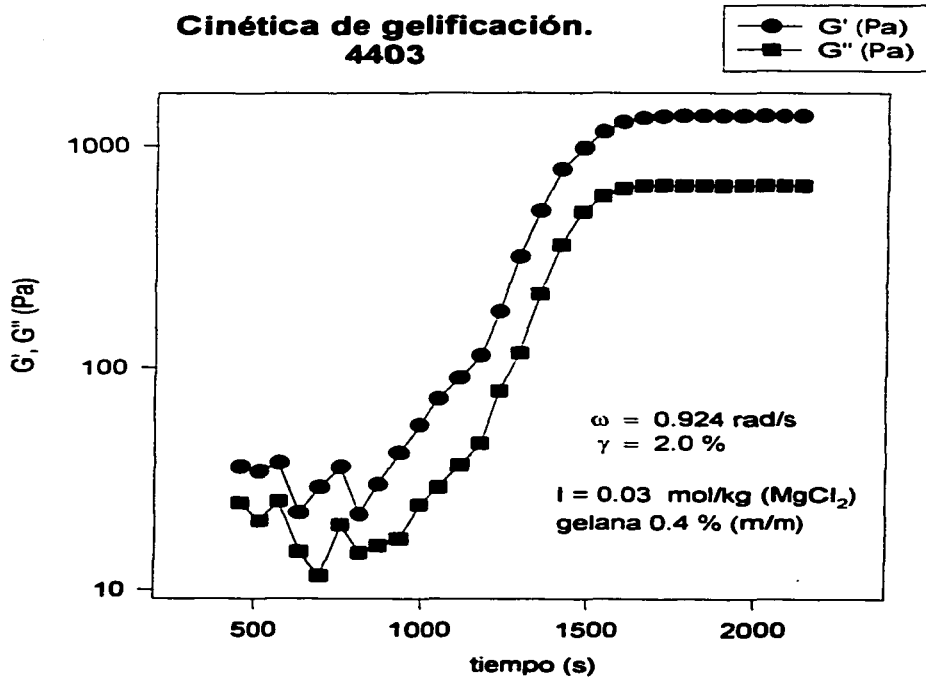
TESIS CON
FALSA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 4402



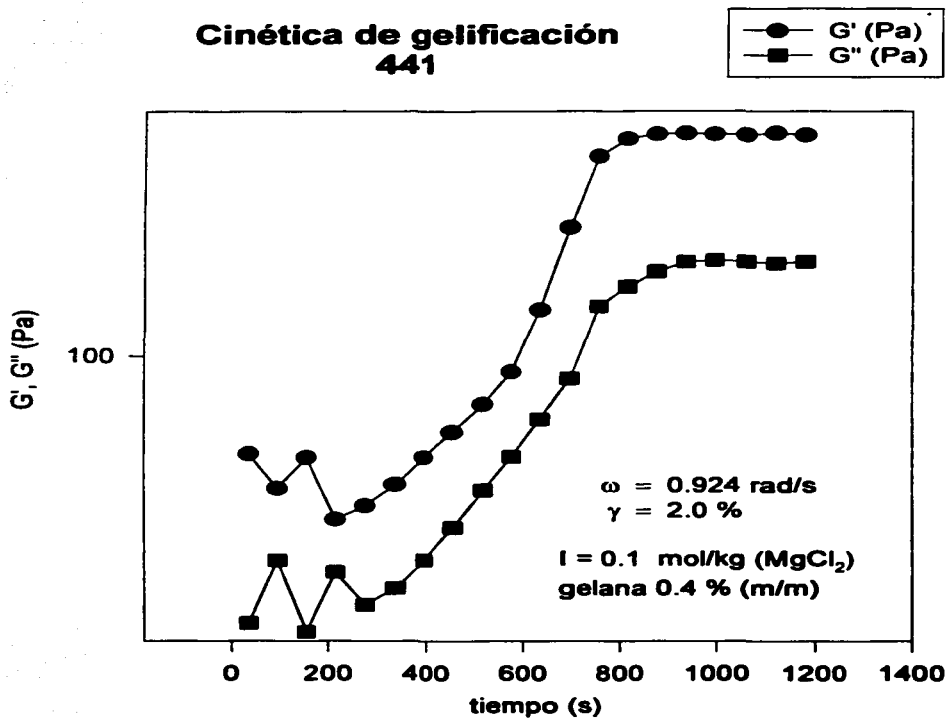
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**Cinética de gelificación.
4403**



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de gelificación 441



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN