



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA - *Iztapalapa*

## Maestría en Ingeniería Química

Proyecto: Estructuración de hidrogeles  
autosoportables mediante la complejación de  
coacervados goma de mezquite-quitosano

Jonathan Solano Neri

Asesor: Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter

Co-Directora: Dra. Angélica Román Guerrero

---

## Resumen

En este trabajo se realizó un estudio acerca del fenómeno de autoensamblaje entre la goma de mezquite (GM) y el quitosano (Q), polielectrolitos polisacáridos de carga opuesta, con la finalidad de explorar la factibilidad de formular hidrogeles autosoportables, cuyo uso eventual este dirigido a la liberación controlada y protección de bioactivos. La carga relativa y la relación másica entre los biopolímeros, la concentración total de los biopolímeros y el pH del medio tuvieron una influencia significativa en la formación y rendimiento de los complejos coacervados GM-Q. El mejor rendimiento (68%) de coacervados complejos GM-Q ocurrió para una concentración total de biopolímero del 6%, una relación 6:1 GM:Q, y un pH de 5. La obtención de hidrogeles a partir de los coacervados GM-Q liofilizados, mostraron alta capacidad de retención de agua 8.15 g/g. El hidrogel con máxima capacidad de retención de agua presentó características fluidas. Debido a que estos hidrogeles no eran autosoportables se evaluó el efecto de calentar las soluciones biopoliméricas de partida a 75°C. Las condiciones de máxima interacción entre los biopolímeros resulto en un desplazamiento de relación másica de 4:1 GM:Q y pH 5. El mejor rendimiento (55%) de coacervado complejo ocurrió a una concentración total de los biopolímeros del 4%. Bajo estas condiciones, el hidrogel con máxima capacidad de absorción de agua formado a partir del coacervado complejo liofilizado fue autosoportable, al cual se le determinaron sus propiedades viscoelásticas por pruebas oscilatorias y estructurales a través de su espectro de infrarrojo.

Este trabajo demuestra que se pueden obtener geles autosoportables a través de la interacción de GM-Q sometiendo a un tratamiento de calentamiento a las soluciones biopoliméricas de GM-Q, con un menor rendimiento de coacervado complejo.

## Contenido

Resumen .....	1
1. Introducción .....	6
2. Antecedentes.....	8
2.1. Hidrogeles.....	8
2.1.1. Características de los hidrogeles.....	8
2.1.2. Polímeros y polielectrolitos .....	9
2.1.3. Autoensamblaje de polielectrolitos .....	10
2.1.4. Formación de coacervados complejos de polielectrolitos.....	12
2.1.5. Factores que influyen en el proceso de complejos de polielectrolito .....	14
2.1.6. Polisacáridos .....	16
2.1.6.1 Quitosano.....	17
2.1.6.2. Goma de Mezquite .....	20
3. Justificación .....	22
4. Hipótesis.....	23
5. Objetivos.....	24
5.1. General.....	24
5.1.1. Particulares.....	24
6. Materiales y métodos.....	25
6.1. Materiales .....	25
6.2. Estrategia experimental.....	25
6.3. Preparación de dispersiones de trabajo ( <i>stock</i> ) de los biopolímeros.....	28
6.4. Punto de equivalencia.....	28
6.5. Potencial- $\zeta$ de las soluciones biopoliméricas.....	28
6.6. Preparación de mezclas de biopolímeros.....	29
6.7. Mediciones turbidimétricas fase sobrenadante .....	29
6.8. Morfología de los coacervados de complejo polielectrolito .....	29
6.9. Rendimiento de coacervado .....	30
6.10. Formación de hidrogeles.....	30
6.11. Capacidad de retención de agua (CRA).....	31
6.12. Tratamiento térmico .....	31
6.13. Mediciones turbidimétricas de la fase en equilibrio.....	31

6.14.	Morfología de coacervado después del efecto de la temperatura.....	31
6.14.	Rendimiento de coacervado después del tratamiento térmico .....	32
6.15.	Capacidad de retención de agua de coacervados deshidratados después del tratamiento térmico.....	32
6.16.	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	32
6.17.	Comportamiento reológico .....	33
7.	Resultados y discusión.....	34
7.1.	Potencial- $\zeta$ de las dispersiones biopoliméricas .....	34
7.2.	Punto de equivalencia entre los biopolímeros .....	35
7.3.	Pruebas de turbidez en la “fase en equilibrio”. .....	36
7.4.	Rendimiento de los coacervados.....	38
7.5.	Morfología de los coacervados .....	40
7.6.	Capacidad de retención de agua de los coacervados deshidratados.....	42
7.7.	Calentamiento de las soluciones biopoliméricas y efecto sobre las interacciones entre la GM-Q .....	44
7.8.	Turbidez de la “fase en equilibrio” después del tratamiento térmico .....	46
7.9.	Rendimiento del coacervado después del tratamiento térmico .....	47
7.10.	Morfología de los coacervados después del tratamiento térmico.....	49
7.11.	Capacidad de retención de agua de los coacervados deshidratados después del tratamiento térmico.....	51
7.12.	Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier.....	53
7.13.	Caracterización estructural .....	55
7.13.1.	Reología de los coacervados complejos de polielectrolito .....	55
8.	Conclusiones .....	58

---

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama esquemático que representa el autoensamblaje de los polielectrolitos (goma de mezquite-quitosano). Elaboración propia.....	11
Figura 2. Proceso de obtención de la quitina, quitano y quitosano (Vallejo-Domínguez, 2019).....	18
Figura 3. Obtención de quitosano mediante desacetilación parcial de la quitina. (Colina y Col. 2014).....	18
Figura 4. Estructura química de la quitina y quitosano parcialmente desacetilado. ....	19
Figura 5. Diagrama de flujo de estrategia experimental. ....	27
Figura 6. Potencial- $\zeta$ del Q (■) y GM (●), y fuerza de interacción electrostática del Q:GM (▲) en función del pH. ....	35
Figura 7. a) Perfil de pH durante la determinación de los miliequivalentes químicos presentes en 2 g de quitosano; y b) 10 g de goma de mezquite. ....	36
Figura 8. Turbidez de la “fase de equilibrio” en función de la relación y concentración de biopolímeros después de 24 h a 25°C.....	37
Figura 9. Rendimiento del coacervado complejo insoluble en función de la relación de biopolímeros para distintas CTB (6,7 y 8 % p/p), después de 24 h de interacción a 25°C. ....	38
Figura 10. Formación de complejos goma de mezquite-quitosano en función de la relación total de biopolímeros (4:1, 5:1, 6:1, 7:1 y 8:1, con una CTB 6% p/p a 25°C). ....	39
Figura 11. Micrografías que ilustran la morfología de coacervados complejos de polielectrolito de GM-Q, con una concentración total de biopolímero de 6% p/p a 25°C. ....	41

---

Figura 12. Retención de agua de los hidrogeles en función del tiempo para distintas relaciones de GM:Q, con una concentración total de biopolímero de 6% p/p a 25°C. ....	42
Figura 13. Potencial- $\zeta$ en función de la relación de biopolímeros de goma de mezquite-quitosano. ....	44
Figura 14. Turbidez en función de la relación de biopolímeros después del tratamiento térmico de las soluciones biopoliméricas a 75°C.....	46
Figura 15. Rendimiento de coacervación como función de la relación de biopolímeros para distinta concentración total de biopolímeros. ....	48
Figura 16. Turbidez de la “fase en equilibrio” en función de la relación y concentración total de biopolímero de 4% en peso después de 24 h a 75°C. ....	49
Figura 17. Micrografías que ilustran la morfología de coacervados complejos de polielectrolito de GM-Q, a una concentración total de biopolímero de 4% p/p a 75°C. ....	50
Figura 18. Retención de agua de los hidrogeles en función del tiempo para distintas relaciones de GM:Q, con una concentración total de biopolímero de 4% p/p después del tratamiento térmico. ....	52
Figura 19. Espectro FTIR de la goma de mezquite, quitosano y la fase coacervada. ....	53
Figura 20. Curvas de frecuencia para los coacervados complejos de polielectrolito a CTB de 4%. ....	56

---

## 1. Introducción

Los hidrogeles son redes poliméricas entrelazadas que pueden absorber y retener grandes cantidades de agua o fluidos biológicos manteniendo una estructura tridimensional. Esta característica única los hace candidatos para aplicaciones como la entrega de compuestos bioactivos, en la ingeniería de tejidos, en sistemas de remediación de contaminación, entre otras (Dragan y col., 2019). Los hidrogeles pueden formarse a partir de entrelazamiento (entrecruzamiento) entre polímeros sintéticos o naturales, y hoy en día, estos últimos en comparación con los sintéticos, han recibido mayor atención como biomateriales debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad, disponibilidad y renovabilidad.

A pesar de la demanda que tienen los hidrogeles hechos a partir de polímeros naturales, estos son capaces de presentar altas deformaciones y liberar grandes cantidades de agua bajo la influencia de esfuerzos cortantes, por lo que, para mejorar su integridad se han empleado métodos de entrecruzamiento químico, lo cual ha limitado su aplicación en productos biomédicos, farmacéuticos, cosméticos y alimentarios, de uso directo por los consumidores, ya que involucran compuestos que no son generalmente reconocidos como seguros por las agencias de salud (Hu y col., 2020a). Estas limitaciones pueden superarse a través del autoensamblaje entre polímeros naturales aniónicos y catiónicos en hidrogeles de complejos polielectrolitos (CPE). Los CPE se consideran hidrogeles físicos, que básicamente se obtienen mezclando disoluciones acuosas de polímeros naturales con carga opuesta (polisacárido-polisacárido, proteína-proteína, polisacárido-proteína), sin que se use ningún entrelazante químico. El mecanismo de formación se debe básicamente a las fuertes interacciones electrostáticas entre los grupos funcionales de los polímeros con cargas opuestas, y algunas interacciones adicionales como puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, que actúan cooperativamente para mantener estable la estructura de los CPE (Hu y col., 2020b). El autoensamblaje entre polímeros de cargas opuestas permite obtener una gran diversidad de estructuras acomplejadas en forma de nanopartículas, hidrogeles, andamios moleculares, coacervados, a través de la modulación de los parámetros

---

ambientales (pH, fuerza iónica, temperatura, concentración y relación másica entre los polímeros), y de la estructura de los polímeros (Lv y col., 2018). Por lo tanto, el reto es establecer las condiciones termodinámicas que permitan fomentar el autoensamblaje entre los polímeros de carga opuesta, de manera que se obtengan las estructuras deseadas que den lugar a las propiedades funcionales requeridas para una aplicación específica.

Si bien la formación de complejos a partir de proteína-polisacárido se han estudiado ampliamente, solo hay escasos trabajos acerca de la formación de CPE por interacciones polisacárido-polisacárido. Todos ellos involucran al quitosano (Q), que posee carga positiva, con un polisacárido que posea una carga negativa, como ocurre con la goma arábica (Espinosa-Andrews y col., 2007; Espinosa-Andrews y col., 2013; Huang y col., 2017; Roldán-Cruz, 2019; Vuillemin y col., 2019), la goma de xantana (Argin y col., 2009) o la goma de mezquite (GM) (Ruíz-Ramos y col., 2006; Sandoval-Silva, 2010; Pérez-Orozco y col., 2011; García-Márquez y col., 2015; Rodríguez-Rodríguez y col., 2018). Sin embargo, no se conoce si el Q y la GM forman hidrogeles autosoportados por sí mismos y no hay ningún reporte en la literatura de que las combinaciones electrostáticas entre ellos lo logren. Este es un aspecto que amerita consideración.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue conformar hidrogeles físicos mediante el autoensamblaje electrostático entre la goma de mezquite (GM) y el quitosano (Q), y evaluar las propiedades mecánicas de los hidrogeles obtenidos.



---

## 2. Antecedentes

### 2.1. Hidrogeles iónicos

#### 2.1.1. Características de los hidrogeles iónicos

Un hidrogel es un sistema en estado coloidal que forma una red polimérica tridimensional capaz de absorber y retener una significativa fracción de agua dentro de su estructura, pero sin disolverse en ella, la capacidad que poseen los hidrogeles para absorber agua resulta de los grupos funcionales hidrofílicos, tales como amina ( $-\text{NH}_2$ ), grupos carboxilo ( $-\text{COOH}$ ) y grupos de sulfato ( $-\text{SO}_3\text{H}$ ) unidos a la estructura del polímero, mientras que su resistencia a disolverse surge de la reticulación y entrecruzamiento de las cadenas de la red (Ahmed, 2015). Por lo general, los hidrogeles pueden estar formados por polímeros naturales o sintéticos. En comparación con los sintéticos, la ventaja de los polímeros naturales como los polisacáridos es su excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad, así como su carencia de toxicidad.

En el proceso de formación de hidrogeles se involucra la asociación aleatoria entre las cadenas del biopolímero disperso, resultando en el arreglo de una red tridimensional en donde es necesario que cada cadena de biopolímero se entrelace en dos o más puntos con otras cadenas, las regiones de entrelazamiento son conocidas como 'zonas de unión o nodos' formados comúnmente por enlaces covalentes o interacciones físicas, el entrelazamiento de las cadenas poliméricas produce sitios vacíos o sitios intersticiales los cuales permitirán la entrada de moléculas de agua al interior de la estructura tridimensional (García-Hernández y col., 2016).

El arreglo físico de las zonas de unión en la red polimérica puede ser afectado por distintos parámetros como temperatura, estructura inherente del hidrogel y presencia de iones. La formación de estas zonas de unión es conocida como gelificación.

---

Existen tres mecanismos para la gelificación de hidrogeles: gelificación iónica, por enfriamiento, y por calentamiento. La estructura rígida resultante presenta resistencia al flujo, pero se deforma, es decir, tiene propiedades de un material viscoelástico (exhibe tanto características de un líquido como de un sólido) (García-Hernández y col., 2016).

### 2.1.2. Polímeros y polielectrolitos

Un polímero que posee un gran número de grupos funcionales y que se ioniza en un medio acuoso es llamado un polielectrolito o macroión, por lo que una gran cantidad de polímeros naturales (polisacáridos y proteínas) son polielectrolitos. El grado de ionización está en función de la estructura del polímero, del solvente, del pH, de la fuerza iónica del medio entre otros (Pasika, 1977).

Cuando un polielectrolito es disuelto en una solución salina de baja concentración, se genera un efecto de interacción iónica entre las moléculas del medio acuoso y los iones del polielectrolito, provocando que se presente una expansión o contracción en la estructura principal de la macromolécula, generando cambios en la repulsión electrostática entre grupos ionizados de mismo signo en el macroión, lo cual origina cambios en la viscosidad (Pasika, 1977). Por lo que, la formación de la red tridimensional de hidrogeles entre dos polielectrolitos dependerá en gran medida de la carga y del signo que tengan en disolución. Los polielectrolitos pueden clasificarse como.

1. *Polímeros catiónicos*; contienen grupos amino ( $-\text{NH}_2$  o  $=\text{NH}$ ) los cuales pueden ser protonados a pH suficientemente alcalinos (normalmente 7-10), como es el caso del quitosano.
2. *Polímeros aniónicos*; contienen grupos carboxilo ( $-\text{COOH}$ ), los cuales se encuentran en el ácido glucurónico o residuos semejantes presentes en la mayoría de los polisacáridos como la goma Arábiga, xantana, así como en pectinas y alginatos.
3. *Polianfolitos*; contienen grupos catiónicos y aniónicos. Estas moléculas muestran un punto isoeléctrico, a un pH dado bajo ciertas condiciones en

---

solución en las cuales las magnitudes de las cargas positivas y negativas son iguales, como es el caso de las proteínas (Hoagland, 2001).

### 2.1.3. Autoensamblaje de polielectrolitos

Los polielectrolitos se han estudiado en términos de su autoensamblaje en solución, formación de redes, comportamiento de hinchamiento y fenómenos interfaciales, Actualmente se considera que el autoensamblaje es un método prometedor para incorporar nanopartículas en estructuras funcionales. Sin embargo, antes de seguir es necesario tener una mejor comprensión de la palabra autoensamblaje.

El autoensamblaje, como principio de construcción fundamental, enseña que el material de todo tipo, ejemplificada por átomos, coloides y polímeros, puede experimentar una organización espontánea a un nivel más alto de complejidad estructural, impulsada por fuerzas que operan en múltiples escalas de longitud (Ozin y col., 2009), dando lugar a componentes predefinidos en estructuras ordenadas que puede ser explotado en diversas aplicaciones.

Por lo tanto, el término autoensamblaje implica espontaneidad, una estructura se construye sin ayuda externa a partir de unidades de construcción modulares, una estructura ordenada se forma a partir de un estado desordenado. La fuerza que impulsa el ensamblaje es la interacción entre los componentes básicos en lugar de la fuerza de unión generalmente más fuerte dentro de ellos (Ozin y col., 2009).

Así que, 'ensamblar' implica 'armar y construir' y el 'auto' evoca 'sin ayuda externa o por sí mismo'. Así que, estamos hablando de estructuras y patrones, grandes y pequeños que se unen a sí mismo impulsados por fuerzas entre ellos (Ozin y col., 2009), que generalmente en polielectrolitos de carga opuesta, son las fuerzas coulombicas (electrostáticas) que surgen entre ellos, y los llevan a autoensamblarse (Fig. 1).

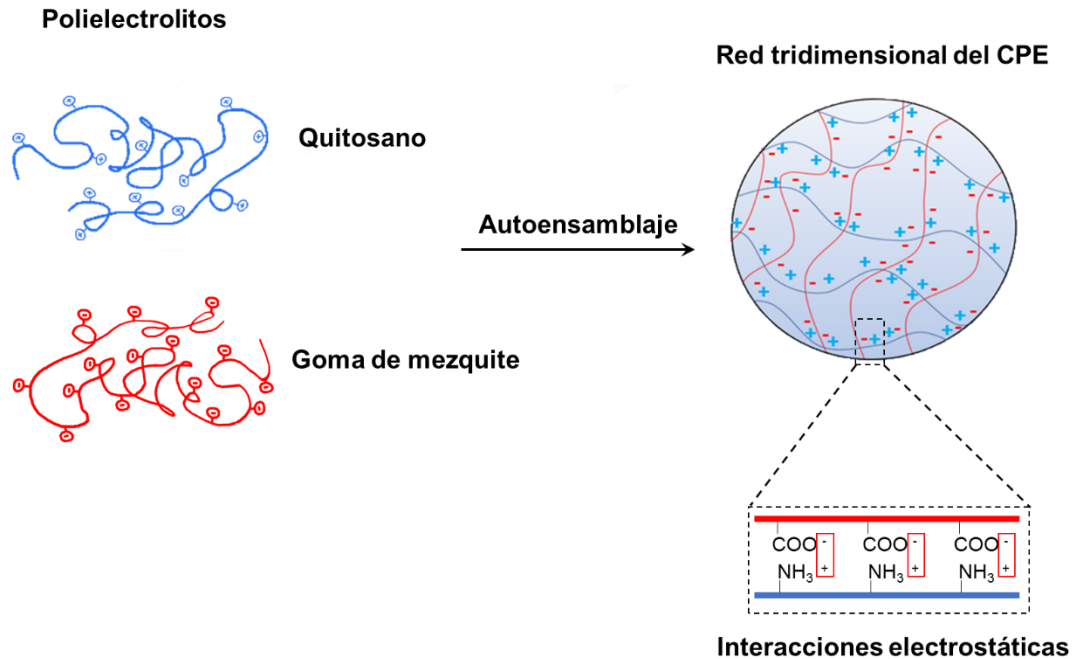


Figura 1. Diagrama esquemático que representa el autoensamblaje de los polielectrolitos (goma de mezquite-quitosano). Elaboración propia.

#### 2.1.4. Principios de autoensamblaje

Actualmente, el autoensamblaje se ha dividido en dos categorías: estático y dinámico. En ausencia de fuerzas externas, el autoensamblaje es denominado estático, y es impulsado por un mínimo de energía para formar estructuras en equilibrio que no disipan energía. Este tipo de ensamblaje puede llevar un tiempo considerable. En la práctica, el proceso de autoensamblaje de nanoestructuras puede ser acelerado aplicando fuerzas externas, como lo es una agitación, y a estos sistemas se le conoce como autoensamblado dinámico debido a que existe energía disipada por el sistema (Dahman, 2017)

Para que suceda el autoensamblaje es necesario incluir componentes que interactúen entre sí. Estos componentes en hidrogeles son las moléculas de carga opuesta que se asocian de forma aleatoria mediante las interacciones entre sus grupos funcionales. La estabilidad que posea el autoensamblaje entre las moléculas es el resultado entre las fuerzas atractivas y repulsivas, en donde se involucran

---

interacciones covalentes débiles o no covalentes (fuerzas de van der Waals, interacciones electrostáticas, interacciones hidrófobas, puentes de hidrogeno, etc.), estas interacciones poseen energía en el orden de la energía térmica, por lo que, la energía térmica tiene un impacto significativo en los materiales en nanoescala, ya que los enlaces no covalentes a menudo se rompen y vuelven a estructurarse, formando una nueva configuración. Debido a estas interacciones no covalentes entre moléculas, se pueden obtener cambios de estructura mediante cambios en las condiciones proporcionadas para las moléculas. Por ejemplo, los cambios de temperatura y pH ayudan a iniciar la transición de una estructura a otra (Dahman, 2017).

Dependiendo del grado de interacción entre las moléculas de carga opuesta, puede resultar en la formación de un, a) un gel débil homogéneo, si las interacciones son débiles, b) un gel fuerte si las interacciones son fuertes. La morfología de los hidrogeles formados puede resultar en diversas estructuras, así como sus funcionalidades. Es por ello que es preciso estudiar los principios del autoensamblaje y las estructuras formadas para emplearlas en aplicaciones alimentarias para poder beneficiar la salud del consumidor.

#### 2.1.5. Formación de coacervados complejos de polielectrolitos

A las estructuras ensambladas por polímeros de cargas opuestas mediante interacciones electrostáticas se les llama complejos coacervados, debido a que existe una precipitación del sistema. Entonces, el proceso de coacervación se define como la separación en dos fases líquidas en sistemas coloidales, donde la fase rica en coloide es conocida como fase coacervada, y la otra fase es la solución en equilibrio (IUPAC, 1997).

Con base en los sistemas poliméricos involucrados en relación y mecanismo de separación de fases, existen dos tipos de procesos de coacervación: estos son coacervación simple y compleja. En el proceso de coacervación simple, se involucra un solo polímero y se forman coacervados debido a un mecanismo de deshidratación o “déficit de agua” causado por la adición de una sal. Un buen

---

ejemplo de coacervación simple es la separación de fases de la gelatina cuando se agrega sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) o etanol a su solución. Por otro lado, en los procesos de coacervación compleja, las interacciones iónicas entre dos o más biopolímeros con carga opuesta, generalmente proteínas y polisacáridos o polielectrolitos, impulsan la formación de coacervados y la separación de fases (Timilsena y col., 2018).

La formación de estos coacervados complejos puede ser clasificado en solubles e insolubles, de acuerdo a las interacciones atractivas en donde ocurre neutralización de los grupos ionizables de ambas macromoléculas, provocando una disminución en la carga neta del sistema y, a su vez una disminución de la movilidad de las partes hidrofílicas, lo que puede o no generar la separación de las fases (Weinbreck, 2004; Tolstoguzov, 2003; Kruif y Tuinier, 2001). Los complejos de polielectrolito solubles son aquellos que se forman cuando las interacciones electrostáticas intermoleculares entre los biopolímeros son relativamente débiles, v. gr., no existe una estequiometría entre las cargas de signo opuesto, por lo que la carga neta del sistema es alta, y los complejos se mantienen solubles. Cuando existe una estequiometría entre las cargas opuestas de los biopolímeros, las fuerzas de atracción entre ellos tienden a neutralizarse, formando complejos insolubles cuya tendencia es precipitarse, lo que da como resultado una separación de fase líquido-líquido, una fase rica en solvente (fase de equilibrio o complejos solubles) y otra fase precipitada rica en coacervado complejo (We y col., 2014; Weinbreck y col., 2003; Rodríguez-Rodríguez y col., 2018).

Por otro lado, la formación de complejos de polielectrolito también se lleva a cabo cuando espontáneamente el cambio total de energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) disminuye. La posibilidad de que los polielectrolitos formen o no un complejo es determinado por el valor de  $\Delta G$ , y este es obtenido debido a un delicado equilibrio entre las contribuciones entrópicas favorables ( $-\Delta S$ ) y las contribuciones entálpicas desfavorables (Turgeon y col., 2007). Las contribuciones entrópicas favorables incluyen principalmente la liberación de contraiones (de Kruif y col., 2004, Laugel y col., 2006) y de moléculas de agua (Jelesarov y Bosshard, 1999). Las

---

contribuciones entálpicas no favorables provienen de la disminución de la movilidad de los polielectrolitos al unirse y las interacciones no covalentes en la interfase de los complejos (Jelesarov y Bossahard, 1999). Debido a la complejidad de las estructuras y a la delicadeza de los procesos involucrados es difícil estimar ambas contribuciones (Laugel y col., 2006).

#### 2.1.6. Factores que influyen en el proceso de complejos de polielectrolito

La coacervación compleja de polielectrolitos es conocida por su simplicidad, bajo costo, escalabilidad y reproducibilidad en la encapsulación de bioactivos que produce una alta eficiencia de encapsulación incluso con una carga útil muy alta (hasta el 99%). Por lo que, las interacciones entre los polielectrolitos juegan un papel importante en el control de la estructura y estabilidad de los coacervados y el bioactivo atrapado (Timilsena y col., 2018)

Así que, una mayor comprensión de los factores que influyen es fundamental para la obtención de coacervación compleja de polielectrolito, en donde la principal fuerza impulsora de coacervación es la reducción de la energía electrostática resultante de la interacción entre polielectrolitos con carga opuesta, la temperatura, la fuerza iónica y el pH del medio de reacción, la relación de mezcla de los biopolímeros, su peso molecular, la concentración total, también las densidades de carga juegan un papel importante al inicio, continuación y termino del proceso de coacervación compleja, incluso la velocidad juega un papel importante en el tamaño de los coacervados. Además de que las cargas deben ser suficientemente grandes para inducir la interacción, pero no lo suficientemente grandes para causar precipitación. (Timilsena y col., 2018). Por lo que, numerosos estudios han destacado estas condiciones, así como los parámetros capaces de controlar el proceso de coacervación.

##### 2.1.5.1. pH

El grado de ionización de los grupos funcionales (grupos amino y grupos carboxilo) en los polisacáridos depende del pH del medio en el que existen. Por lo tanto, el

---

ajuste del pH es esencial para iniciar la formación de coacervados complejos de polielectrolito. Cabe aclarar que el rango de pH óptimo para la máxima coacervación compleja es diferente para cada sistema de biopolímero (Timilsena y col., 2018).

#### 2.1.5.2. Fuerza iónica

Cuando dos macroiones con carga opuesta forman un complejo, sus capas dobles se cancelan hasta cierto punto y los contraiones se liberan en una forma de solución salina ordinaria. Esto conduce a un aumento de la entropía y, por tanto, a una disminución de la energía libre. Dicho comportamiento dependerá de los detalles químicos de los macroiones y de la concentración de sal (fuerza iónica) (Spruijt, 2012).

La fuerza iónica favorece el acceso a las cargas del biopolímero, ya que, expande la macromolécula, lo que facilita la interacción electrostática (Weinbreck y col., 2003). Sin embargo, a fuerza iónica alta, la competencia creada por los iones  $\text{Na}^+$  por los sitios negativos de la molécula de polisacárido, y los iones  $\text{Cl}^-$  por los sitios cargados positivamente de la proteína, protegen las cargas del biopolímero, disminuyendo la interacción entre ellos, conduciendo a un cambio de energía que en general es positivo y una complejación endotérmica (Santos y col., 2018).

#### 2.1.5.3. Peso molecular y relación entre biopolímeros

Los hidrogeles exhiben propiedades moleculares y fisicoquímicas y éstas dependen de su peso molecular, debido a que, en la fase de coacervación, los aglomerados moleculares se superponen entre sí y aumentan la densidad iónica, lo que da como resultado una ganancia de energía electrostática. Las fuerzas que gobiernan esta separación son proporcionales al peso molecular y la densidad de carga (Burgess, 1990). El peso molecular corresponderá al volumen que ocupa la biomolécula y, por lo tanto, un volumen mayor conduce a más interacciones que pueden conducir a la formación de complejos.

El pH de mayor interacción entre los biopolímeros en la formación de complejos puede aumentar o disminuir a medida que se incrementa la relación entre los



---

polisacáridos. Por lo que, la relación entre los biopolímeros es un elemento clave que puede definir el pH óptimo.

### 2.1.7. Polisacáridos

Polisacáridos y proteínas son los dos biopolímeros más empleados en la formación de hidrogeles. Estos polímeros naturales en gran abundancia en la naturaleza han encontrado múltiples aplicaciones como agentes texturizantes y estabilizantes en un amplio intervalo de productos de grado alimentario debido a su disponibilidad, fácil procesamiento y alta biocompatibilidad, pueden ser obtenidos a partir de plantas, animales y microorganismos. Estas biomoléculas pueden encontrarse en diferentes plantas, algas, gomas exudadas o en la fermentación bacteriana. De interés en este estudio están el quitosano y la goma de mezquite cuya disponibilidad y potencial de explotación en México brinda importantes oportunidades de negocio.

Los polisacáridos se clasifican como homopolisacáridos, formados por unidades repetitivas de un solo tipo de monosacárido, o heteropolisacáridos, formados por una secuencia de distintos monómeros. Los polisacáridos difieren uno de otro químicamente en términos del tipo, número, secuencia y enlaces de la unidad de repetición dentro de la cadena de polímero. Estas diferencias químicas permiten diferencias en sus propiedades moleculares, como su peso molecular, grado de ramificación, estructura, flexibilidad y carga eléctrica. Sucesivamente, estas diferencias moleculares permiten diferencias en las propiedades funcionales, como es solubilidad, espesante, gelación, capacidad de ligar agua, actividad superficial, emulsificación y digestibilidad (Estrada-Fernández y col., 2018).

Las propiedades fisicoquímicas de un polisacárido son importantes, y deben de ser consideradas, especialmente sus características eléctricas (potencial  $\zeta$  vs pH), de la carga eléctrica depende la naturaleza de los grupos iónicos a lo largo de la cadena y las condiciones de la solución.

---

Los polisacáridos con alta afinidad por el agua y con capacidad de aumentar la viscosidad de una solución, aun en concentraciones bajas, son clasificadas como gomas. Entre estas gomas se encuentra la arábica, xantana y la goma de mezquite.

Las gomas vegetales son complejos polisacáridos/ polímeros de carbohidratos y la composición química puede derivarse de los monómeros de azúcar, es decir del almidón y celulosa, hialuronano y unidad de alginato. A veces, estas gomas de polisacáridos también se denominan “hidrocoloides” y también se pueden clasificar como polielectrolitos, es decir, biopolímeros con carga catiónica o aniónica (Ahmad y col., 2019).

#### 2.1.7.1 Quitosano

El quitosano (Q) es el segundo polisacárido más abundante en la tierra después de la celulosa, y es obtenido a partir de la desacetilación alcalina parcial de la quitina; la mayor fuente de quitina se encuentra en los exoesqueletos de los crustáceos proveyendo de quitina de un 2-12% del total de la masa corporal (Colina y Col., 2014). Tanto la quitina como el quitosano son biopolímeros funcionales con aplicación en biotecnología debido a que presentan propiedades como biodegradabilidad y biocompatibilidad y no toxicidad.

El proceso de obtención de la quitina y el quitosano puede resumirse en los siguientes pasos: (1) extracción de la proteína (desproteínización), (2) eliminación de las impurezas inorgánicas (desmineralización), y (3) decoloración de la quitina. La quitina resultante es desacetilada, si el porcentaje de quitina se desacetila arriba del 50% se produce quitosano, cuando el grado de desacetilación llega al 100% el polímero se conoce como quitano Figura 2. (Vallejo-Domínguez, 2019).

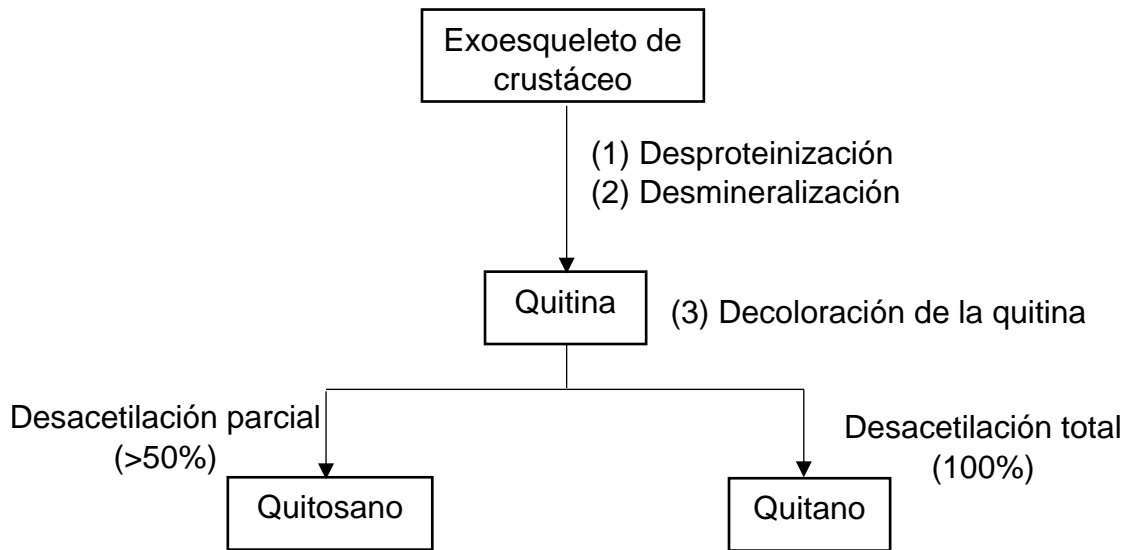


Figura 2. Proceso de obtención de la quitina, quitano y quitosano (Vallejo-Domínguez, 2019).

La obtención de quitosano mediante N-desacetilación parcial de quitina ocurre comúnmente con hidróxido de sodio mediante hidrólisis, en donde el ión hidróxido, fuertemente nucleófilo reacciona con los grupos acetamido con carga parcial positiva presente en el C mediante un mecanismo de adición-eliminación nucleófila, para generar el quitosano. Fig. 3.

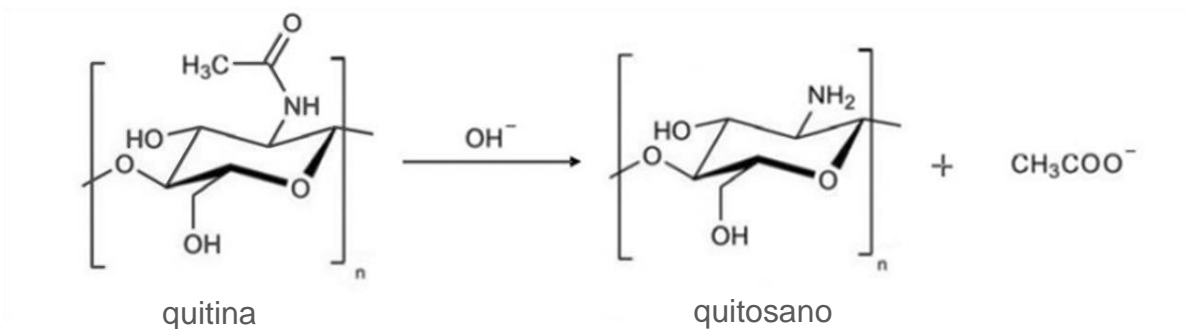


Figura 3. Obtención de quitosano mediante desacetilación parcial de la quitina. (Colina y Col. 2014).

Un quitosano razonable estará constituido de residuos acetamido y grupos amino debido a que hay un grado de desacetilación, lo grupos amino son los responsables de su carga catiónica en pH ácidos. Las propiedades del Q en solución dependen de su peso molecular, su grado de desacetilación, el pH y la fuerza iónica. El valor de la constante de disociación ácida (pKa) de los segmentos de glucosamina es de 6.3-7.35. A bajo pH y baja fuerza iónica, la viscosidad intrínseca del Q aumenta rápidamente (es decir, la molécula se ioniza y su volumen hidrodinámico aumenta) debido a una fuerte repulsión electrostática entre sus segmentos, por lo que adopta una configuración extendida (Espinosa-Andrews y col., 2007).

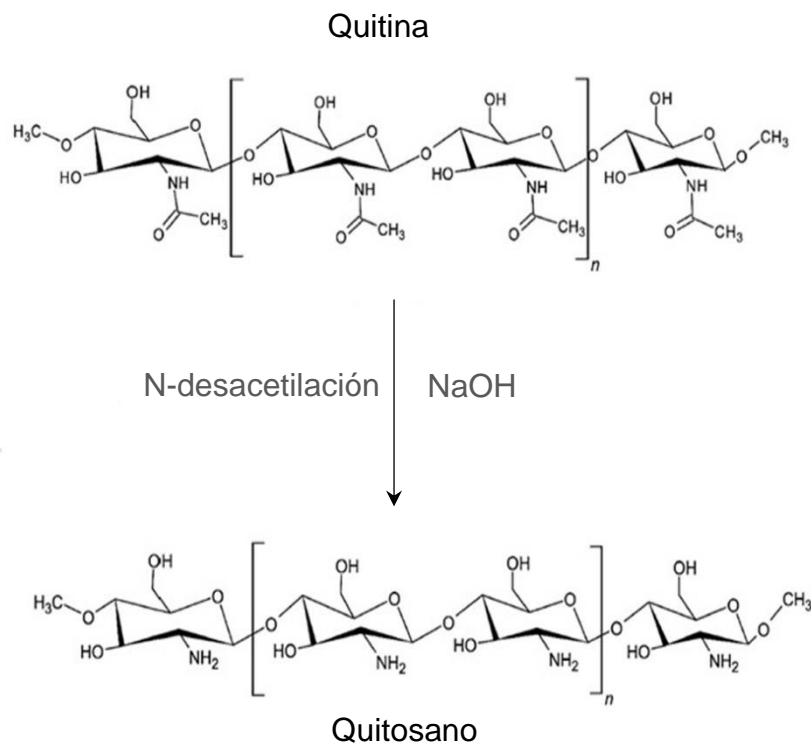


Figura 4. Estructura química de la quitina y quitosano parcialmente desacetilado.

---

### 2.1.7.2. Goma de Mezquite

Las gomas son usadas en la industria alimentaria, farmacéutica, textil, cosmética y vinícola debido a sus propiedades funcionales como su habilidad para encapsular aromas, sabores y nutraceúticos, (propiedades encapsulantes); su capacidad para enlazar moléculas de agua y grasa (propiedades emulsificantes); su efecto sobre la reología y textura, capacidad de formar geles y efectos sobre la cristalización (Román-Guerrero y col., 2009).

Conocidas también como hidrocoloides debido a que son un grupo heterogéneo de polímeros de cadena larga (polisacáridos y proteínas) caracterizados por su propiedad de formar dispersiones viscosas y/o geles cuando se dispersan en agua; y debido a que en su estructura presentan un gran número de grupos hidroxilo (-OH) estos aumentan notablemente su afinidad por el agua creando puentes de hidrógeno produciendo una dispersión que exhibe propiedades de un coloide. (Saha y Bhattacharya, 2010).

La goma de mezquite (GM) es un polisacárido natural exudado por el árbol de mezquite (*Prosopis laevigata*) formado principalmente por L-arabinosa, D-galactosa, 4-O-metil-D-glucurónico y L-ramnosa, en una relación 2:4:1:1 con una fracción de proteína asociada covalentemente con los residuos polisacáridos, de 2.0 a 4.8 % lo que le proporciona propiedades emulsificantes; tiene una estructura globular, pero capaz de presentar una transición de una estructura expandida a una estructura contraída, que depende del grado de disociación de sus unidades de ácido urónico o sus sales. A un valor de pH cercano a 7, los grupos carboxílicos se encuentran extensamente disociados, que resulta en una repulsión Coulómbica entre los grupos carboxilatos cargados negativamente que le confiere a la molécula una estructura abierta, expandida, altamente cargada (Román-Guerrero y col., 2009; Espinosa-Andrews y col, 2007).

La GM químicamente es muy similar a la goma arábica, que es utilizada como una goma de referencia en la industria. Ambas gomas son heteropolielectrolitos

---

altamente ramificados que forman soluciones poco viscosas a muy altas concentraciones, debido a su estructura ramificada. Existe un gran interés en remplazar la GA por la GM en diversos productos alimentarios y farmacéuticos en México, buscando además contribuir a la detención del crecimiento las zonas áridas en donde crece el árbol de mezquite debido a su tala por la obtención de madera para carbón, promoviendo su uso no destructivo.

---

## **2. Justificación**

La aplicación de los hidrogeles a partir de polisacáridos en la industria alimentaria está en constante incremento, porque se utilizan como sistemas acarreadores de compuestos inestables, los reportes en la literatura de hidrogeles a partir interacciones electrostáticas entre polisacáridos de goma de mezquite-quitosano, presentan características físicas similares a las de un líquido, obteniendo así hidrogeles débiles, debido a que las macromoléculas no están organizadas unas respecto de otras, conduciendo así a pocas interacciones entre los biopolímeros. Por lo que, en este trabajo, se busca mejorar las interacciones entre la goma de mezquite-quitosano para formar hidrogeles reforzados (autosostenibles), debido a sus propiedades que están estrechamente relacionadas con el grado de entrelazamiento entre los biopolímeros, con la posibilidad de ser empleados en la producción de diferentes sistemas alimentarios como los nutraceuticos.

---

### **3. Hipótesis**

El establecimiento de una ventana de interacción entre biopolímeros de carga opuesta GM-Q con peso molecular constante, basada en el efecto del pH, relación másica, concentración total de biopolímeros, y tratamiento térmico, permitirán obtener hidrogeles autosoportables basados en fenómenos de coacervación compleja entre quitosano y goma de mezquite.



---

## 4. Objetivos

### 4.1. General

Conformar hidrogeles físicos autosoportables a partir de la coacervación compleja de la goma de mezquite (GM) y quitosano (Q).

#### 5.1.1. Particulares

- Establecer condiciones de proceso para la formación de complejos coacervados de goma de mezquite y quitosano.
- Determinar el rendimiento en la formación de complejos coacervados de goma de mezquite y quitosano.
- Evaluar la capacidad máxima de retención de agua en hidrogeles obtenidos a partir de coacervados liofilizados.
- Evaluar la formación de hidrogeles autosoportables a través de sus propiedades reológicas y estructurales a dos temperaturas diferentes (25 y 75 °C)

---

## 6. Materiales y métodos

### 6.1. Materiales

Quitosano (Q) de peso molecular medio fue adquirido de Sigma-Aldrich México (# cat. 448877; grado de desacetilación; viscosidad 200-800 cp, 1% p/p en 1% ácido acético, Toluca, Edo. Mex.). La goma de mezquite (GM) exudada por árboles de *Prosopis laevigata* localizados en el Estado de San Luis Potosí, se recolectó en forma de lágrimas. La goma fue pulverizada en un mortero, disolvió en agua (30% p/p) a 75 °C por 1 h con agitación leve para inactivar enzimas, se filtró a través de papel filtro Whatman No. 40 conteniendo una capa de ayuda filtro (Hyflo® Super-Cel® CP; # cat.68855-54-9; Sigma-Aldrich México). Toda el agua utilizada en los experimentos fue bidestilada y desionizada.

### 6.2. Estrategia experimental

Esta investigación se dividió en dos etapas: Dado que se supone que la coacervación es impulsada principalmente por las interacciones electrostáticas, primero se realizaron titulaciones ácido-base para obtener los miliequivalentes químicos y definir la ventana de mayor interacción entre los polisacáridos en función del pH mediante mediciones de potencial- $\zeta$ , lo que permitió establecer las condiciones de coacervación compleja de los polielectrolitos de goma de mezquite y quitosano, posteriormente se realizaron distintas mezclas partiendo del punto de equivalencia entre los biopolímeros manteniendo una concentración total de biopolímero del 6% en peso, un análisis turbidimétrico en la fase soluble permite determinar si están interactuando los dos biopolímeros, mientras que la fase precipitada fue liofilizada para obtener el rendimiento de coacervado y realizar pruebas de absorción de agua, si la prueba de hinchamiento presenta un hidrogel con características de un fluido, es decir, no es autoportable, se calientan las soluciones biopoliméricas y/o se disminuye la concentración total de biopolímero de tal forma que nos conduzca a la obtención de un hidrogel autoportable, esto dentro de la etapa 1; la segunda etapa consistió en evaluar la organización

---

molecular de los grupos funcionales y caracterización de propiedades estructurales de los coacervados de goma de mezquite-quitosano.

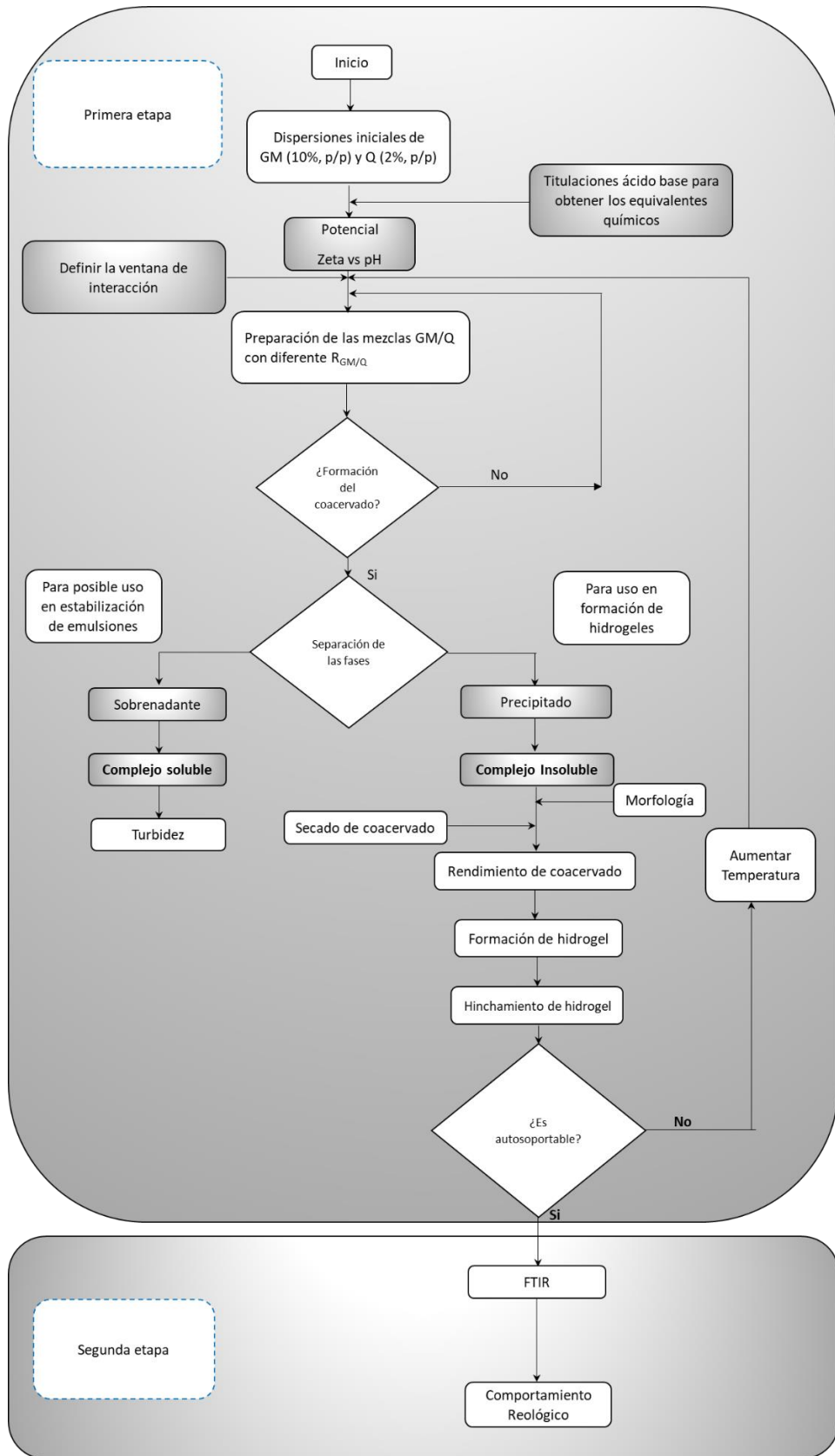


Figura 5. Diagrama de flujo de estrategia experimental.

---

### 6.3. Preparación de dispersiones de trabajo (*stock*) de los biopolímeros

En primer lugar, se preparan dispersiones de Q (2% p/p en ácido acético al 1% p/p), y de GM (30% p/p en agua). Las dispersiones se agitaron suavemente por 4 h, se pusieron en refrigeración a 4°C durante 12 h para garantizar la hidratación completa de los biopolímeros. La dispersión de GM fue diluida agregando la cantidad de agua necesaria hasta obtener dos dispersiones al 10% p/p.

### 6.4. Punto de equivalencia

Se obtuvieron curvas de titulación potenciométrica de Q (2% p/p) y GM (10% p/p) para determinar su punto de equivalencia. Las dispersiones de Q y GM se mantuvieron bajo agitación suave y se titularon con alícuotas de 0.5 mL de NaOH 0.1 N, permitiendo que transcurriera un tiempo de 1 min entre dos alícuotas para permitir que la reacción lograra el equilibrio. El pH de las soluciones biopoliméricas fue monitoreado continuamente con un medidor de pH (Hanna Instruments, modelo HI 98240, Smithfield, RI, EUA) a 25 °C. El punto de inflexión en las curvas de titulación se consideró como el punto de equivalencia entre las disoluciones biopoliméricas.

### 6.5. Potencial- $\zeta$ de las soluciones biopoliméricas

El potencial- $\zeta$  se determinó con Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido). Las soluciones stock fueron diluidas a 0.01% p/p con agua desionizada. Las muestras de 10 mL se transfirieron al Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Worcestershire, Reino Unido) con una celda capilar plegada (DTS 1060) a 25°C, para ajustar el pH de las dispersiones ya fuese con 0.1 N HCl o 0.1 N NaOH. El pH se varió de 2.0 a 7.0 con incrementos de 0.5. El potencial- $\zeta$  se determinó midiendo la dirección y la velocidad con que las moléculas biopoliméricas se movieron en el campo eléctrico aplicado. El software del equipo calculó el potencial- $\zeta$  a partir de la movilidad electroforética usando el modelo matemático de Smoluchowsky.

---

## 6.6. Preparación de mezclas de biopolímeros

A partir de las dispersiones de biopolímeros de Q (2% p/p) y GM (10% p/p) se realizaron mezclas de las disoluciones a un pH de 5, de manera que hubiera diferente relación másica ( $R_{GM/Q}$ ) con una concentración total de biopolímero (CTB) de 6, 7 y 8% en peso. No se agregó conservador a la mezcla de disoluciones biopoliméricas, ya que se ha reportado que el quitosano tiene propiedades bactericidas, y además así se evitan interferencias. Las disoluciones se agitaron por 15 min, se dejaron reposar por 24 h a temperatura ambiente antes de realizar los análisis correspondientes.

## 6.7. Mediciones turbidimétricas fase sobrenadante

Para las mediciones de turbidez se empleó un espectrofotómetro Spectronics Genesys 2 UV/Vis (Spectronic Unicam, Rochester, N.Y. UEA) para conocer la turbidez de la fase de equilibrio a 600 nm a  $25^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . Las muestras fueron colocadas en una celda de cuarzo de 1 cm. La transmitancia y la turbidez de las muestras fue calculada con la siguiente ecuación:

$$\tau = -\left(\frac{1}{L}\right) \ln\left(\frac{I_t}{I_0}\right) \quad (1)$$

Donde,  $\tau$  es la turbidez ( $\text{cm}^{-1}$ ),  $L$  es la longitud óptica de la celda (cm),  $I_t$  es la intensidad de la luz transmitida y  $I_0$  es la intensidad de referencia.

## 6.8. Morfología de los coacervados de complejo polielectrolito

Las muestras de los coacervados complejos de polielectrolitos fueron observadas con un microscopio óptico (Olympus BX45, Olympus Optical Co., Tokio, Japan) acoplado a un sistema analizador de imágenes (Cámara digital Olympus, C3030 y el software Imagen Pro plus versión 4.5, Media Cybernetics, Inc, Rockville, MD, USA) Seleccionando las mejores micrografías.

---

Las micrografías fueron tomadas una hora después de su preparación bajo el siguiente método: Las muestras fueron colocadas en un micro portaobjetos con cuidado para reducir la posible destrucción de las estructuras del coacervado complejo por tensión de cizallamiento. Posteriormente se cubrieron con un cubreobjetos y se sellaron usando grasa de vacío para minimizar la evaporación de agua. La intensidad de luz se mantuvo a valores mínimos para reducir el calentamiento de la muestra. Se presentan micrografías tomadas a 4x.

### 6.9. Rendimiento de coacervado

La fase de equilibrio (sobrenadante) se separó de la fase coacervada (precipitado) por decantación, y esta última se secó a 40 °C en un horno de convección forzada hasta lograr un peso constante. El rendimiento de coacervado se calculó por balance de materia usando la siguiente ecuación (2):

$$\% \text{ rendimiento} = (m_0 - m_i) / m_0 \times 100 \quad (2)$$

donde  $m_0$  es la masa total de los polvos de los biopolímeros utilizados para hacer la disolución y  $m_i$  es el peso total de coacervado complejo seco.

### 6.10. Formación de hidrogeles

Los coacervados precipitados de la fase insoluble fueron liofilizados, para posteriormente ser hidratados y poder calcular el hinchamiento, donde el coacervado hinchado con máxima capacidad de absorción de agua es el hidrogel que se le hace la prueba visual, si es autosoportable o no.

---

### 6.11. Capacidad de retención de agua (CRA)

La capacidad de retención de agua (CRA) de los hidrogeles se evaluó gravimétricamente. Las muestras secas se pesaron primero ( $m_0$ ) y luego se les agregó agua desionizada en distintos intervalos de tiempo, posteriormente se eliminó el exceso de agua empleando papel filtro y se pesaron cuidadosamente para evaluar la capacidad de retención de agua, se empleó con la siguiente ecuación:

$$\text{CRA (\%)} = (W_t - W_0) / W_0 \times 100 \quad (3)$$

donde  $W_t$  es el peso del hidrogel después del hinchamiento a distintos tiempos y  $W_0$  es el peso inicial del hidrogel.

### 6.12. Tratamiento térmico

Se les dio un tratamiento térmico a las soluciones biopoliméricas de goma de mezquite y quitosano a 75°C bajo agitación constante a 200 rpm en una placa magnética, durante 4 h para asegurarse de que los biopolímeros estuvieran completamente disueltos.

### 6.13. Mediciones turbidimétricas de la fase en equilibrio

Las mediciones de turbidez se llevaron a cabo empleando un espectrofotómetro Spectronics Genesys 2 UV/Vis (Spectronic Unicam, Rochester, N.Y. UEA) para conocer la turbidez de la fase de equilibrio a 600 nm a 25°C ± 0.5°C. Las muestras fueron colocadas en una celda de cuarzo de 1 cm. La transmitancia y la turbidez de las muestras fue calculada con la ecuación (1) mencionada en la sub-sección 6.7.

### 6.14. Morfología de coacervado después del efecto de la temperatura

Las muestras de los coacervados complejos después del tratamiento térmico fueron observadas con un microscopio óptico (Olympus BX45, Olympus Optical Co., Tokio,



---

Japón) acoplado a un sistema analizador de imágenes (Cámara digital Olympus, C3030 y el software Imagen Pro plus versión 4.5, Media Cybernetics, Inc, Rockville, MD, EUA) Seleccionando las mejores micrografías. El método empleado para la selección de las micrografías fue el mismo descrito en la sub-sección 6.8.

#### 6.15. Rendimiento de coacervado después del tratamiento térmico

El método utilizado para obtener el rendimiento de los coacervados deshidratados después del tratamiento de las soluciones biopoliméricas, fue el descrito en la sub-sección 6.9.

#### 6.16. Capacidad de retención de agua de coacervados deshidratados después del tratamiento térmico

Los coacervados precipitados fueron deshidratados para medir su capacidad de retención de agua, el hidrogel con máxima capacidad de agua es elegido para realizar una prueba visual, dicha prueba visual consiste en colocar el hidrogel en un tubo de ensayo de forma invertida, si el hidrogel fluye bajo la influencia de la gravedad entonces este es considerado como no autosoportable, en caso contrario, se dice que es un hidrogel autosoportable.

El método empleado para medir la CRA es descrito en la sub-sección 6.11.

#### 6.17. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

El análisis de FTIR se realizó con un espectrofotómetro infrarrojo (Perkin Elmer, Waltham. MA, EUA). Las muestras deshidratadas se pusieron en contacto con el cristal de diamante aplicando una presión de carga y se escanearon en el intervalo de  $650\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$ . Cada muestra fue secada y colocada en una celda vacía como fondo. Para cada muestra, el espectro representaba un promedio de 15 escaneos

---

con una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$ . Además, los espectros fueron corregidos en la línea base.

## 6.18. Comportamiento reológico

La caracterización reológica de los hidrogeles de polielectrolito, se llevó a cabo mediante el uso de un Reómetro Kinexus pro+ (Malvern Instruments), equipada con una geometría de cono-plato de 50 mm de diámetro y ángulo de cono de  $2^\circ$ . La separación entre la geometría fue de 0.07mm. Las curvas de flujo se obtuvieron variando la velocidad de corte de 0.001 a 1000 1/s y viceversa (para formar un ciclo), obteniendo como respuesta los valores de la velocidad aparente.

Para las pruebas oscilatorias se hizo un barrido de deformación de 0.1 a 1000% a una frecuencia constante de 1Hz a temperatura constante teniendo como respuesta el módulo elástico ( $G'$ ) y el viscoso ( $G''$ ). Estas pruebas se efectuaron a  $25^\circ\text{C}$ .

---

## 7. Resultados y discusión

El hidrogel de goma de mezquite/quitosano CPE se fabricó mediante el autoensamblaje de dos polisacáridos con cargas opuestas a través de fuertes interacciones electrostáticas.

### 7.1. Potencial- $\zeta$ de las dispersiones biopoliméricas

Dado que las interacciones entre polisacáridos aniónicos y catiónicos se deben a interacciones electrostáticas, se emplea el potencial- $\zeta$  para probar la formación de complejos coacervados. Las soluciones acuosas de GM y Q mostraron un comportamiento típico como la mayoría de los biopolímeros usados para la formación de complejos coacervados (Espinoza-Andrews y col., 2013; You y col., 2017; Rodríguez-Rodríguez, 2018). La variación del potencial- $\zeta$  con el pH de las dispersiones de GM y Q se muestran en la Fig. 6. El Q mostró un valor positivo de potencial- $\zeta$ , mientras que la GM mostró valores negativos de potencial- $\zeta$  en todo el rango de valores de pH estudiado. El valor del potencial- $\zeta$  de Q disminuyó considerablemente de aproximadamente 40 mV a pH 2.0 a 15 mV a pH 7.0, comportamiento atribuido a la pérdida de carga de los segmentos de glucosamino cuyo pK fluctúa entre 6.3-7.5. Por el otro lado, el potencial- $\zeta$  de la GM varió de aproximadamente -2.5 mV a pH 2.0 e incrementó a -25 mV a pH 7.0, debido al pK de los grupos carboxilo. Por lo tanto, el pH juega un papel importante en la formación de complejos coacervados debido a su efecto sobre el grado de ionización de los grupos funcionales amino ( $\text{NH}_2$ ) y carboxilo ( $-\text{COOH}$ ) unidos a las moléculas de biopolímeros como las proteínas y polisacáridos (Schmitt y col., 1998; Hong y McClements, 2007). La fuerza de la interacción electrostática (FIE) entre los polielectrolitos de carga opuesta se puede calcular como el producto del valor del potencial- $\zeta$  de ambos biopolímeros a un pH dado. En la Fig. 6 se puede observar el valor máximo de FIE ocurrió en un intervalo de pH de 4.0 a 5.0. Las partes sombreadas corresponden a los intervalos en donde se observa la máxima diferencia de carga correspondiente a las zonas de máxima interacción entre los

polisacáridos. Por lo que, se seleccionó el intervalo de pH de 4 a 5 para realizar los coacervados de GM-Q.

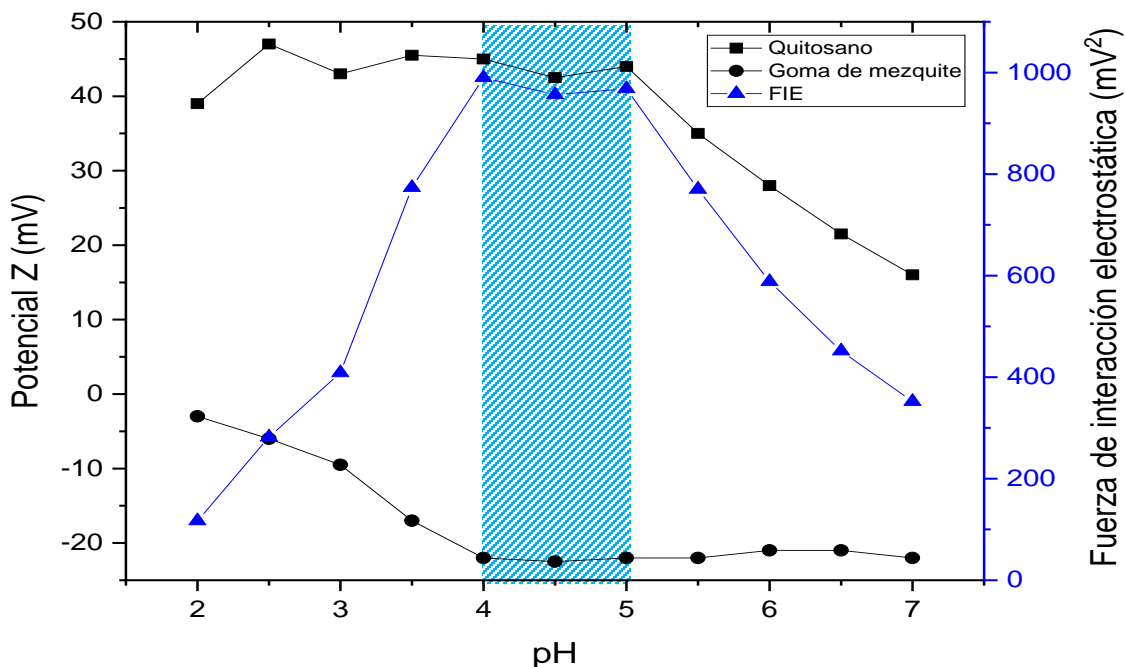


Figura 6. Potencial- $\zeta$  del Q (■) y GM (●), y fuerza de interacción electrostática del Q:GM (▲) en función del pH.

## 7.2. Punto de equivalencia entre los biopolímeros

El punto de equivalencia entre las dispersiones de Q (2% p/p) y GM (10% p/p) a 25°C se obtuvo a partir del punto de inflexión mostrado por la titulación de ambas dispersiones (Fig. 7). Cuando NaOH se añade a las dispersiones biopoliméricas se disocia produciendo cationes  $\text{Na}^+$  y aniones  $\text{OH}^-$  que neutralizan los grupos funcionales ionizados  $-\text{COO}^-$  de la GM y  $-\text{NH}_3^+$  del Q, respectivamente. La dispersión de Q (2% p/p) exhibe un punto de inflexión cuando se añade 0.25 mEq de NaOH, mientras que la de GM (10% p/p) exhibe su punto de inflexión cuando se añadieron 0.3 mEq de NaOH, de donde se puede establecer que la relación másica más conveniente a utilizarse entre ambos biopolímeros debería ser de 6 partes de GM por una parte de Q. A esta relación másica ( $R_{\text{MG/Q}}$ ) el número de grupos

funcionales ionizados en ambas moléculas, y por ende su densidad de carga, debería estar equilibrada (en relación estequiométrica), y la fuerza de interacción entre los polielectrolitos de carga opuesta debería maximizarse, impulsando la formación de complejos biopoliméricos insolubles (coacervados complejos).

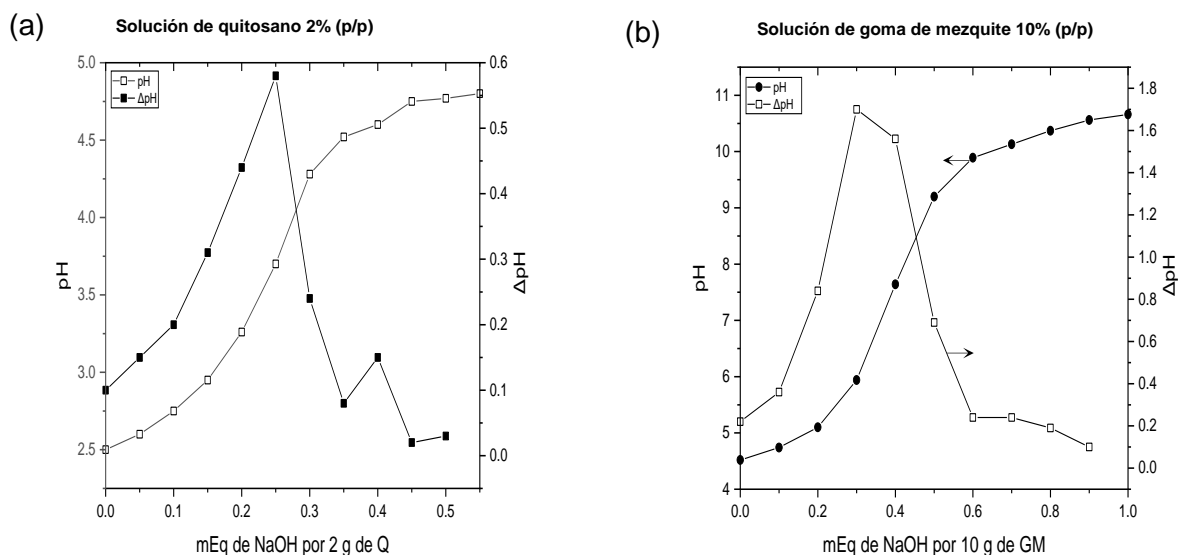


Figura 7. a) Perfil de pH durante la determinación de los miliequivalentes químicos presentes en 2 g de quitosano; y b) 10 g de goma de mezquite.

### 7.3. Pruebas de turbidez en la “fase en equilibrio”.

La coacervación compleja se puede seguir empleando mediciones turbidimétricas. La turbidez en la fase de equilibrio está relacionada con la formación de una fase insoluble, la cual puede precipitar o permanecer suspendida durante cortos o grandes periodos de tiempo. Si la fase insoluble permanece en suspensión por grandes periodos de tiempo, es conocida como “complejo soluble”. Esto implica que las soluciones con mayor turbidez tienen una mayor cantidad de macromoléculas que las soluciones translucidas, esto último indica un gran rendimiento de coacervados (Espinosa-Andrews y col., 2007). Los datos de turbidez de las “fase en equilibrio” del sistema mezquite-quitosano para diferente concentración total de biopolímero en función de la relación de biopolímero se muestra en la Fig. 8.

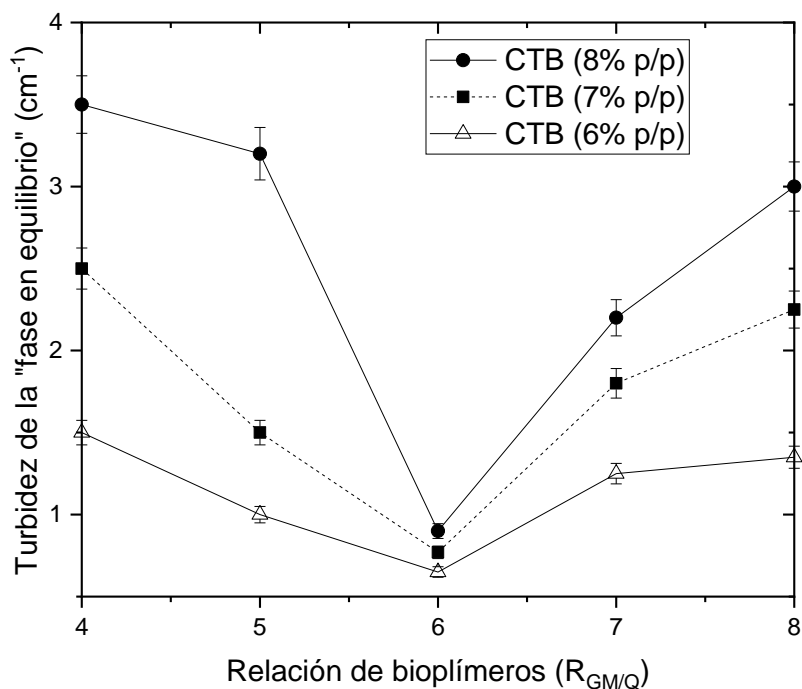


Figura 8. Turbidez de la “fase de equilibrio” en función de la relación y concentración de biopolímeros después de 24 h a 25°C.

Como se puede observar en la Fig. 8, la  $R_{GM/Q}$  en la cual existe menor turbidez en la “fase en equilibrio” ocurrió para cualquier CTB.

Así que, por debajo o por encima de una  $R_{GM/Q}$  de 6, la turbidez incrementa, debido a la formación de complejos solubles, esto probablemente debido a que no existe una estequiometría entre los biopolímeros, por lo que se generan muy pocas interacciones entre la GM-Q conduciendo así a absorbancias altas.

Por otro lado, la relación en peso de los biopolímeros a la que se produjo una turbidez mínima de la “fase en equilibrio” para cualquier concentración total de biopolímeros fue en  $R_{GM/Q}$  de 6. Este comportamiento de la “fase en equilibrio” con menor turbidez indica la precipitación de los complejos eléctricamente neutros, los cuales han formado la “fase coacervada” conduciendo así a una menor absorbancia.

#### 7.4. Rendimiento de los coacervados

El rendimiento del coacervado se empleó para comprender el efecto que tiene la  $R_{GM/Q}$ , el pH y la temperatura en la eficiencia de coacervación entre la GM-Q. Todos los factores mencionados influyen en la configuración y grado de entrecruzamiento de los biopolímeros; por lo tanto, estos factores poseen un efecto significativo en el grado de interacción entre ambos biopolímeros. La Fig. 9 muestra el rendimiento del coacervado en función de la  $R_{GM/Q}$  para diferente CTB.

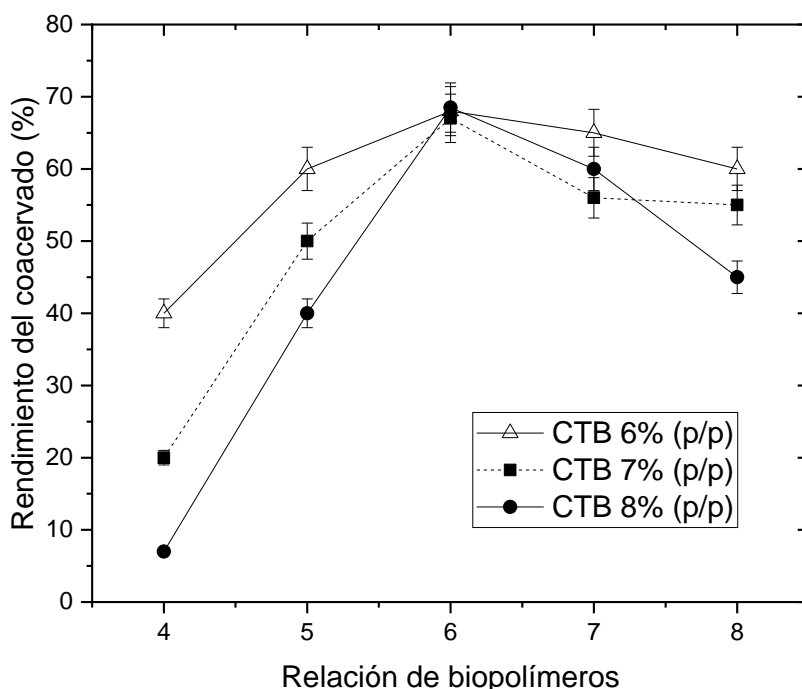


Figura 9. Rendimiento del coacervado complejo insoluble en función de la relación de biopolímeros para distintas CTB (6,7 y 8 % p/p), después de 24 h de interacción a 25°C.

Se observa el mayor rendimiento a una  $R_{GM/Q}$  de 6 con un valor de 68%, el cual es independiente de la CTB usado, esto indica que en esa relación estequiométrica existe la mayor neutralización de cargas, y conforme nos alejamos de la relación estequiométrica el rendimiento tiende a disminuir. Para obtener rendimientos arriba del 60% es necesario tener una concentración total de biopolímero de 6% en peso como se muestra en la Fig. 9 para relaciones de 5 y 7.

Los rendimientos a diferentes concentraciones de biopolímeros se pueden explicar en términos de las macromoléculas polielectrolíticas (Pasika, 1977). La ionización de compuestos polielectrolitos ayuda a solubilizar las macromoléculas, estas se disuelven produciendo polianiones y contraiones. Un polianión tiene un gran número de cargas en su proximidad cercana debido a que están unidas a la columna vertebral macromolecular, y aunque el polión tiene movilidad, las cargas individuales unidas a la cadena no tienen movilidad. Ahora no todos los contraiones pueden moverse libremente. Mientras que los iones libres forman una nube de contraiones alrededor del polión, los iones inmovilizados se unen en un sitio específico de la estructura molecular.

A concentraciones de biopolímeros relativamente altas, el grado de ionización de la macromolécula es mucho menor y el número de poliones es mucho mayor, lo que resulta en mayores rendimientos de coacervado. Sin embargo, existen sitios cargados que no se encuentran disponibles debido a que la macromolécula no se encuentra del todo expandida, obteniendo coacervados similares a líquidos viscosos, como los mostrados en la Fig.10.

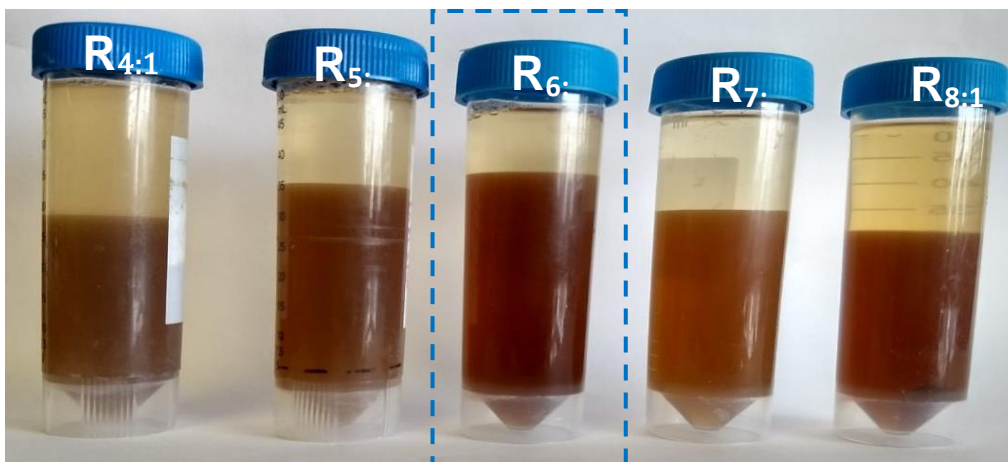


Figura 10. Formación de complejos goma de mezquite-quitosano en función de la relación total de biopolímeros (4:1, 5:1, 6:1, 7:1 y 8:1, con una CTB 6% p/p a 25°C).

Estos resultados son consistentes con los resultados del punto de equivalencia encontrado entre los dos biopolímeros que también fue a una  $R_{GM/Q}$  de 6 (Sub-



---

sección 7.2) y los resultados de turbidez de la “fase en equilibrio (Sub-sección 7.3). Por lo que, se selecciona una CTB de 6% p/p para micrografías, retención de agua y pruebas empíricas para determinar si el hidrogel es autosoportable.

## 7.5. Morfología de los coacervados

La Fig. 11 muestra la formación de complejos GM-Q a concentraciones total de biopolímero de 6% p/p a 25 °C, desde una relación 4:1 hasta 8:1. Para la relación 4:1 (Fig. 11a) la concentración de GM es tan baja, que solo son observadas las formaciones de estructuras incipientes con forma de oblea. La incorporación de más aniones de GM incrementa la interacción electrostática con los cationes de quitosano lo cual es observado como agregados (Fig. 11b), la morfología de este coacervado presenta la presencia de una membrana bien definida y rugosidad significativa. Con la adición de más moléculas de GM (Fig. 11c) a la dispersión de Q se presentan coacervados más aglomerados en una relación 6:1, mientras que para relaciones superiores a 6 implica adiciones de más aniones de GM lo que conduce a una irrupción del complejo coacervado de polielectrolito, en donde las cargas negativas tienen dominio, afectando la distribución de los coacervados y fraccionándolos en varios subdominios individuales (Fig. 11d y e). Por lo tanto, el tamaño característico de las estructuras coacervadas depende claramente de la  $R_{GM/Q}$  bajo condiciones de CTB de 6 % en peso y 25°C a un pH de 5.

Las interacciones electrostáticas entre los polielectrolitos de goma de mezquite-quitosano cargados en agua son los responsables del surgimiento de complejos (Fig.11), otros factores que influyen en el proceso de coacervados complejos son la el pH, relación másica, densidad de carga e incluso la temperatura.

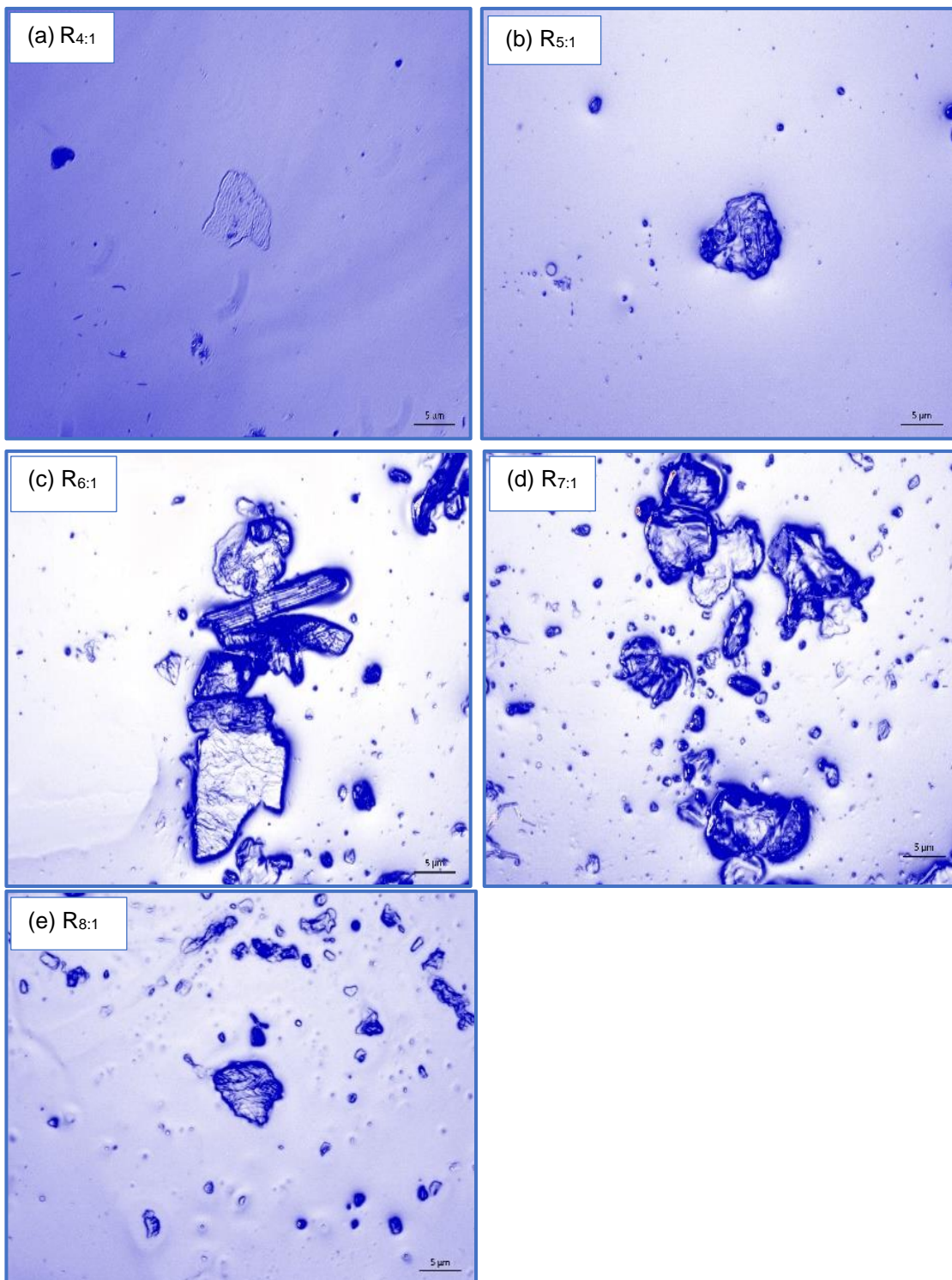


Figura 11. Micrografías que ilustran la morfología de coacervados complejos de polielectrolito de GM-Q, con una concentración total de biopolímero de 6% p/p a 25°C.

## 7.6. Capacidad de retención de agua de los coacervados deshidratados

Es importante estudiar la capacidad que tienen los hidrogeles de retener agua, ya que tienen una gran influencia en el comportamiento de liberación controlada de bioactivos en aplicaciones de ingeniería de alimentos. Las curvas de CRA en función del tiempo para los hidrogeles de polielectrolito se muestran en la Fig. 12. La capacidad de retención de agua aumenta significativamente con el aumento de la relación de GM/Q de 2:1 a 6:1. La muestra preparada con una relación de GM/Q de 6:1 presenta la máxima retención de agua de 8.15 g/g frente a otras relaciones de GM-Q. Esto se debió a que el aumento de la proporción de goma de mezquite hidrófilo en los hidrogeles mejoró la afinidad de la red de PEC por las moléculas de agua solo hasta una relación de GM/Q de 6.

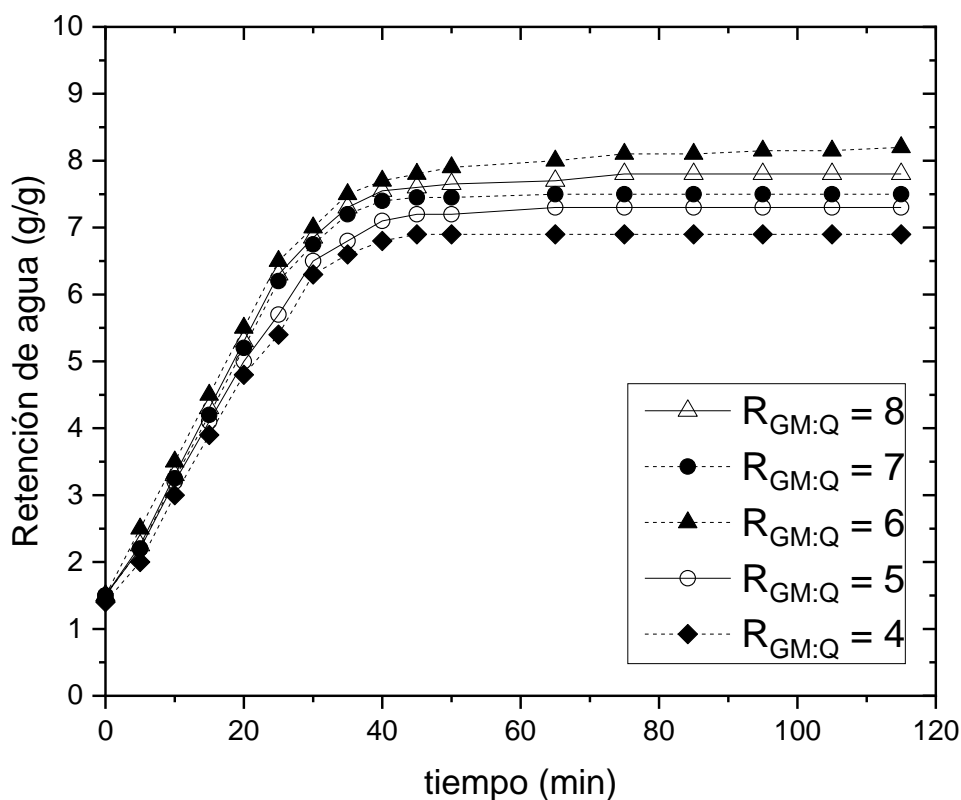


Figura 12. Retención de agua de los hidrogeles en función del tiempo para distintas relaciones de GM:Q, con una concentración total de biopolímero de 6% p/p a 25°C.

---

La capacidad de retención de agua del hidrogel para relaciones mayores e inferiores a 6 se mantuvieron por debajo de 8 g/g. Para las distintas relaciones de GM/Q se realizó una prueba visual para determinar si estos cumplen con los objetivos de este trabajo, se colocaron en tubos de ensayo de forma invertida, sin embargo, los hidrogeles poseían características similares a las de un fluido viscoso, es decir, no eran capaces de soportar su propio peso bajo influencia de gravedad, esto puede deberse al grado de entrecruzamiento entre las cadenas de los biopolímeros de GM-Q.

El grado de entrecruzamiento tiene una influencia en las propiedades de resistencia mecánica, retención de agua, además de brindar una estructura porosa y esta influenciado por parámetros como la concentración total de biopolímero, peso molecular, grado de desacetilación de quitosano y temperatura (Gonçalves y col., 2005).

Así que, se exploró un tratamiento térmico en las soluciones biopoliméricas debido a que existen biomoléculas que al ser calentadas pueden exhibir grupos funcionales que no se encontraban disponibles para la interacción.

### 7.7. Calentamiento de las soluciones biopoliméricas y efecto sobre las interacciones entre la GM-Q

Un tratamiento térmico en las soluciones biopoliméricas a 75°C conducirá al desdoblamiento de las biomoléculas. Así que, para notar este cambio una vez calentadas las soluciones biopoliméricas se realizaron mezclas de GM:Q, después de un día de la coacervación y ser centrifugados, cada muestra no mostró un cambio significativo en el tiempo, dichos análisis se muestran en la Fig. 13. en donde se observa que para una CTB de 6 % en peso a 25 °C, las cargas de Q dominan en el sistema cuando la  $R_{GM/Q}$  es menor a 6, obteniendo así un potencial- $\zeta$  positivo, por el contrario, para  $R_{GM/Q} > 6$  se tiene un exceso de las cargas de GM que no interaccionaron dando así cargas netas negativas. En el caso de la interacción GM-Q a una relación de 6:1 se encuentran en su mayoría neutralizadas las cargas para ambos polielectrolitos a una temperatura de 25°C. Esto es consistente con el punto de equivalencia entre ambos biopolímeros en donde la estequiometria de los biopolímeros se da a una  $R_{GM/Q}$  de 6:1 y de igual manera con las pruebas de turbidez de la “fase en equilibrio”, la fase de coacervados insolubles a 25°C permaneció viscosa similar a un líquido, muy similar a lo informado por Weinbreck y col. (2004)

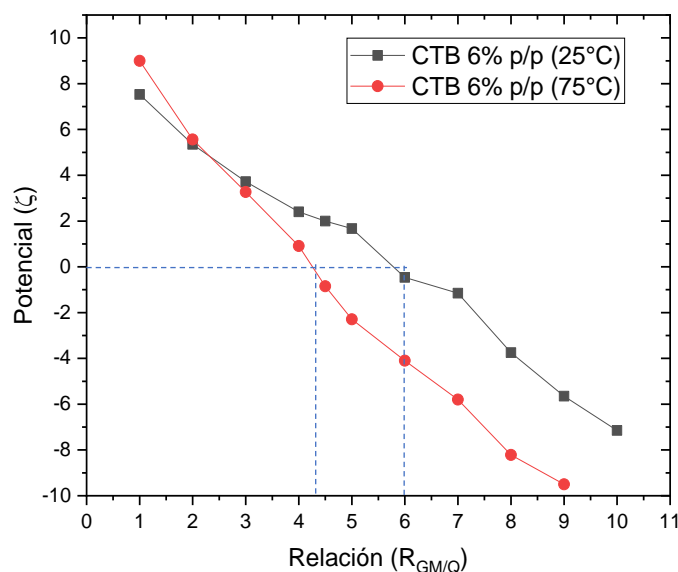


Figura 13. Potencial- $\zeta$  en función de la relación de biopolímeros de goma de mezquite-quitosano.

---

Se observa que la estequiometria disminuye cuando se explora un incremento en la temperatura según lo observado por la titulación aditiva de polielectrolitos (Fig. 13). De hecho, la  $R_{GM/Q}$  para la que el potencial- $\zeta$  aproximadamente es cercano a 0 mV varió con la temperatura de 6:1 a 25°C a 4:1 a 75°C, para la misma CTB de 6 % en peso. Vuillemin (2019) reportó un comportamiento similar al aumentar la temperatura en complejos de goma Arábica-quitosano.

Este fenómeno puede ser explicado, debido a que algunas macromoléculas al ser calentadas sufren un desdoblamiento de sus cadenas exponiendo los grupos internos, en este caso, son los grupos que causan las cargas electrostáticas (grupos amino y posiblemente los grupos ácidos), por lo que, mayor número de grupos se exponen y existe un mayor grado de interacción, al haber mayor número de grupos interaccionando. Posiblemente el Q fue más notorio, es decir, sus cargas eran más accesibles a altas temperaturas que las de la GM y por eso, se necesitó menos GM para contrarrestar las cargas de Q conduciendo a una disminución de la relación de 6:1 a 4:1.

El tratamiento térmico a las soluciones de GM y Q a una concentración total de biopolímero de 6% p/p no le proporcionó al hidrogel la capacidad de sostenerse bajo la influencia de la gravedad. Así que se decidió explorar el tratamiento térmico a las soluciones de GM y Q disminuyendo la concentración total de biopolímero, debido a que, a medida que se diluye la solución de polielectrolito, se liberan más y más contraiones, esto genera que la carga del macroión que se expanda, este fenómeno conducirá a la exposición de sitios cargados que no se encontraban disponibles, y puede así cambiar el comportamiento del hidrogel altamente viscoso a una estructura de hidrogel consolidada, es decir, un módulo elástico mayor que el modulo viscoso.

## 7.8. Turbidez de la “fase en equilibrio” después del tratamiento térmico

El objetivo de esta prueba fue confirmar el proceso de formación de complejos de polielectrolito entre la goma de mezquite y quitosano después del tratamiento térmico a 75°C que se les dio a las dispersiones a distinta concentración total de biopolímero.

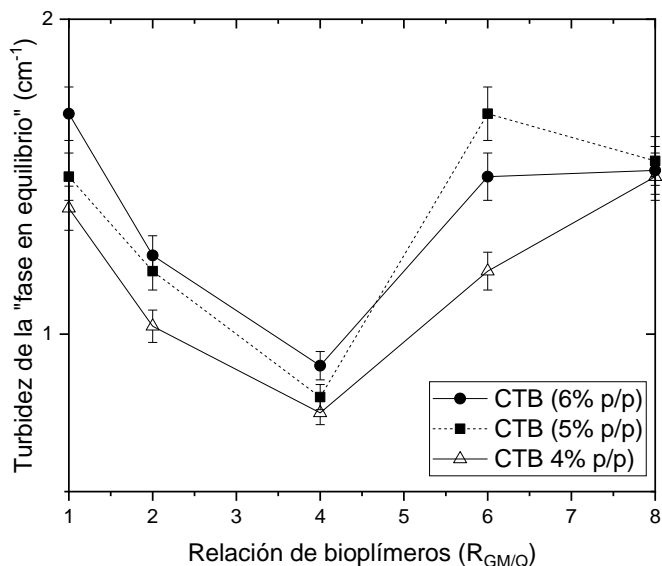


Figura 14. Turbidez en función de la relación de biopolímeros después del tratamiento térmico de las soluciones biopoliméricas a 75°C.

La Fig. 14 muestra que la relación en donde la  $R_{GM/Q}$  en la cual existe menor turbidez en la “fase en equilibrio” se dio en una  $R_{GM/Q}$  de 4 para cualquier CTB.

Se observa que, la relación en donde hay una menor absorbancia es en 4 independiente de la CTB, lo que indica que existe una fase precipitada con coacervado complejo con carga neutralizada en su mayoría, la absorbancia tiende a disminuir conforme se disminuye la concentración total de biopolímero de 1.7 a 0.75 cm<sup>-1</sup> para una CTB de 6 a 4% p/p respectivamente. La absorbancia de la “fase en equilibrio” es distinta de cero, esto se encuentra directamente relacionado con el rendimiento del coacervado insoluble, indicando que el rendimiento será menor al 100%.

---

Se elige una concentración total de biopolímero de 4% p/p tomando en cuenta que las pruebas turbidimétricas, tal CTB es la que tiene menor absorbancia, lo cual indica una mayor neutralización de cargas para las distintas relaciones de goma de mezquite-quitosano, y posiblemente bajo esas condiciones se puede hallar hidrogeles autosoportables.

### 7.9. Rendimiento del coacervado después del tratamiento térmico

El rendimiento de coacervado se utilizó para comprender el efecto de la relación en peso del biopolímero, el pH, y la concentración total de biopolímeros sobre la eficacia de la coacervación compleja entre la goma de mezquite y el quitosano. Todos estos factores influyen en la configuración tridimensional y la densidad de carga relativa entre ambos biopolímeros, lo que a su vez incide en el grado de interacción electrostática entre ambas moléculas.

El máximo rendimiento después del tratamiento térmico de las soluciones biopoliméricas se obtuvo a un valor de 55%, el cual es menor que los mostrados en la sub-sección 7.4 con un valor de 68% de rendimiento para los coacervados a 25°C. Tal disminución en el rendimiento de coacervado puede ser debido a que, a medida que se diluye la solución de polielectrolito, se liberan más y más contraiones, esto genera la carga del macroión que se expande, este fenómeno conducirá a la exposición de sitios cargados que no se encontraban disponibles. Sin embargo, esta expansión no ocurre indefinidamente, está limitada a la flexibilidad de la macromolécula (Espinosa-Andrews, 2013).



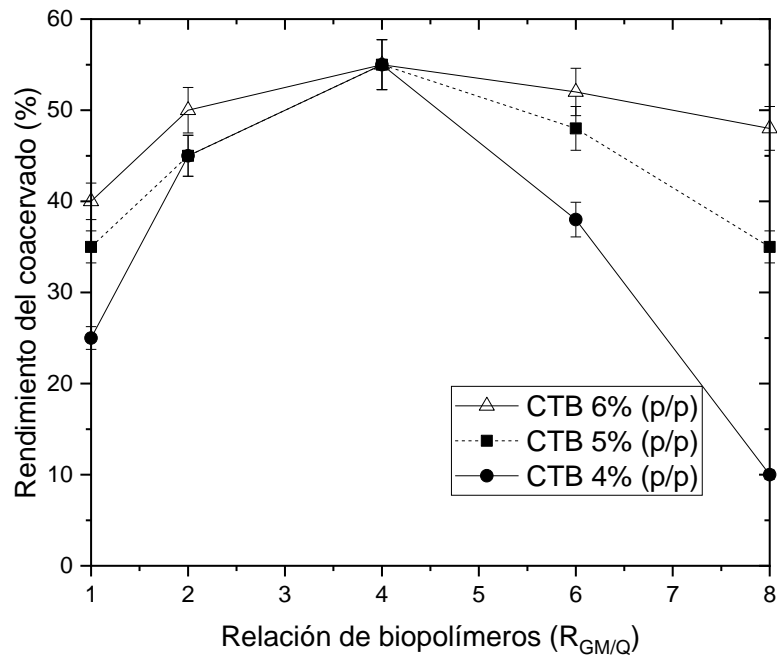


Figura 15. Rendimiento de coacervación como función de la relación de biopolímeros para distinta concentración total de biopolímeros.

Cuanto más expandido es el polión, mayor será la rigidez de la macromolécula, esto implica que los sitios cargados expuestos del polión poseen menos libertad de interacción. Este fenómeno, además del hecho de que el número de poliones disponibles en los sistemas diluidos, es menor, explica la fuerte disminución en el rendimiento de coacervados a baja CTB (Fig. 15).

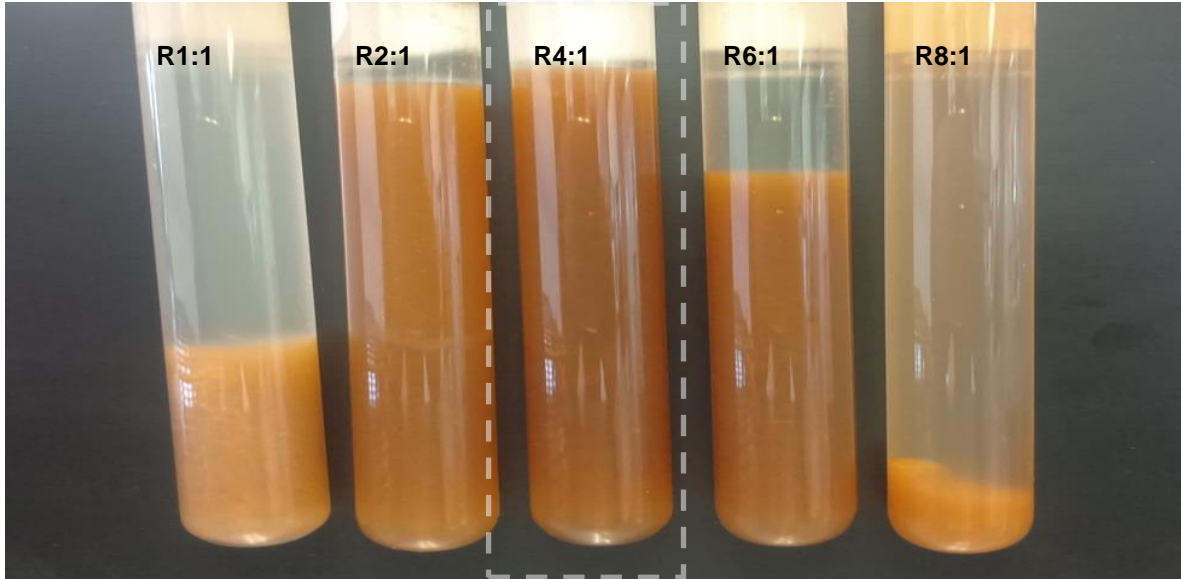


Figura 16. Turbidez de la “fase en equilibrio” en función de la relación y concentración total de biopolímero de 4% en peso después de 24 h a 75°C.

#### 7.10. Morfología de los coacervados después del tratamiento térmico

Para poder realizar una comparación visual de la influencia que puede tener el efecto conjugado de temperatura, así como una disminución en la concentración total de biopolímero, se realizaron micrografías a los coacervados insolubles a una CTB de 4% en peso a 75°C, mostrados en la Fig. 17.

Este efecto conjugado provocó que las dispersiones de GM-Q obtengan una consolidación estructural como un gel lo que se ve reflejado en la capacidad de soportar su propio peso. Estos complejos poseen estructuras irregulares y parecen estar aglomeradas donde posiblemente estén involucradas las interacciones electrostáticas, lo que le confiere a la red polimérica del hidrogel una mayor estabilidad. Este escenario puede ser apoyado cuando los coacervados son probados mecánicamente mediante mediciones viscoelásticas.

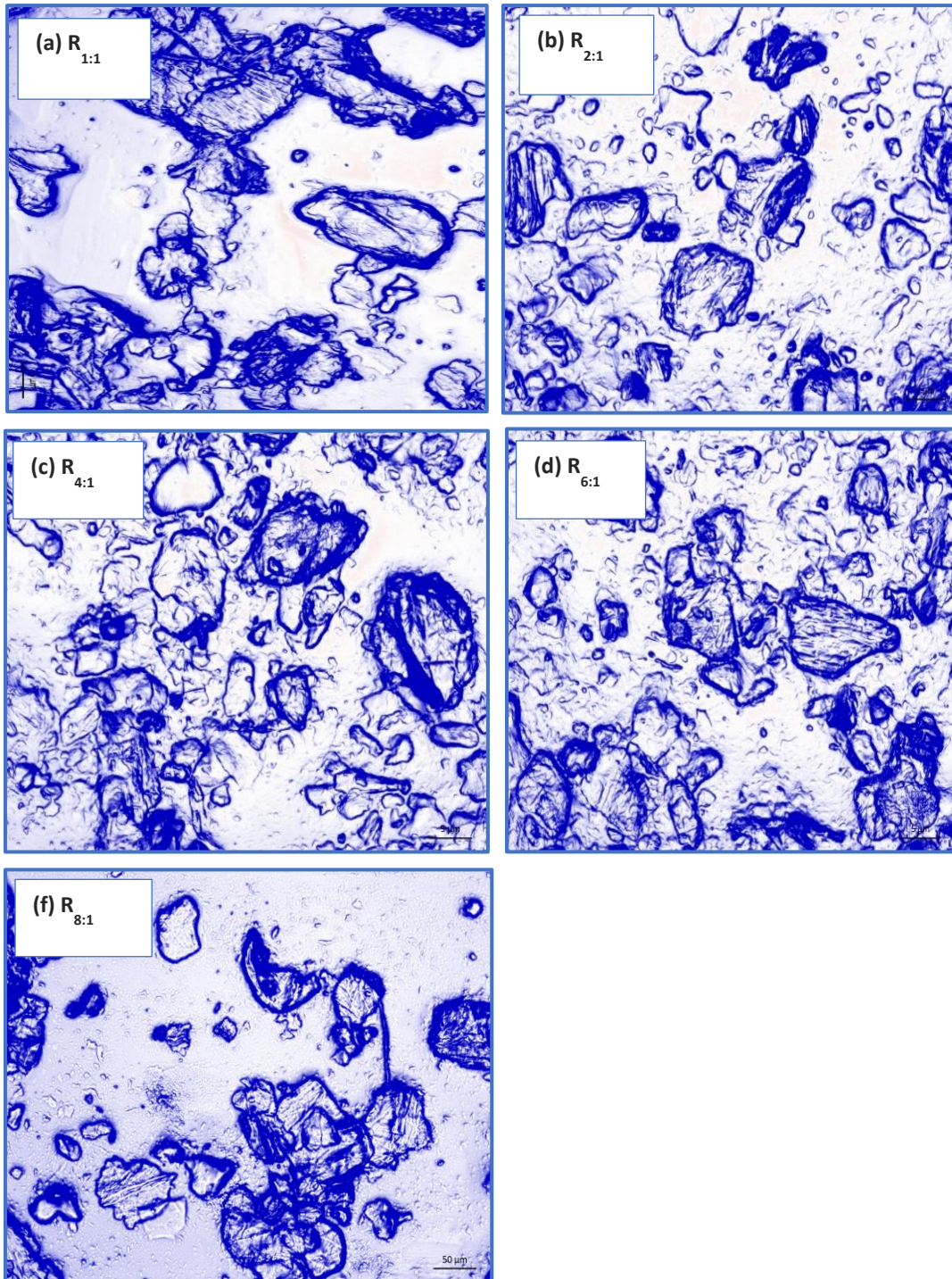


Figura 17. Micrografías que ilustran la morfología de coagervados complejos de polielectrolito de GM-Q, a una concentración total de biopolímero de 4% p/p a 75°C.

---

### 7.11. Capacidad de retención de agua de los coacervados deshidratados después del tratamiento térmico

Cuando el hidrogel es puesto en contacto con agua, esta se difunde dentro de la matriz polimérica causando que esta se hinche, este hinchamiento no es permanente, depende de la capacidad que tiene el hidrogel de retener el agua en el coacervado deshidratado.

Se observa que para muestras de coacervado deshidratado la máxima capacidad de retención de agua a distintas  $R_{GM/Q}$ , se dio para una relación de 4 datos mostrados en la Fig. 18 , con una CRA de 7.6 g/g, este valor es menor en comparación con el hidrogel mostrado en la sub-sección 7.6 que tuvo una CRA máxima de 8.15 g/g, esto puede deberse posiblemente al tratamiento térmico que se le dio a las soluciones biopoliméricas sumado a las interacciones entre GM-Q con menor concentración total de biopolímero.

Un cambio en la temperatura puede alterar la configuración de los biopolímeros de GM y Q, de tal forma que, influye en las interacciones de GM-Q, favoreciendo los enlaces de hidrogeno a bajas temperaturas, mientras que a altas temperaturas las interacciones hidrofóbicas toman más importancia; este fenómeno sumado a interacciones entre GM-Q con menor concentración total de biopolímero dieron como resultado hidrogeles con una mayor asociación entre las cadenas biopoliméricas de la GM y Q durante el autoensamblaje provocando que retuvieran menos agua en el interior de la red y capaz de soportar su propio peso.

Estos hallazgos indican que la influencia de cada parámetro no es completamente independiente de los demás y todos los parámetros influyen simultáneamente el proceso de coacervación. Es decir, que el enfoque tradicional, de cambiar un parámetro a la vez mientras todos los demás permanecen constantes no necesariamente arroja un resultado de la comprensión completa del mecanismo.

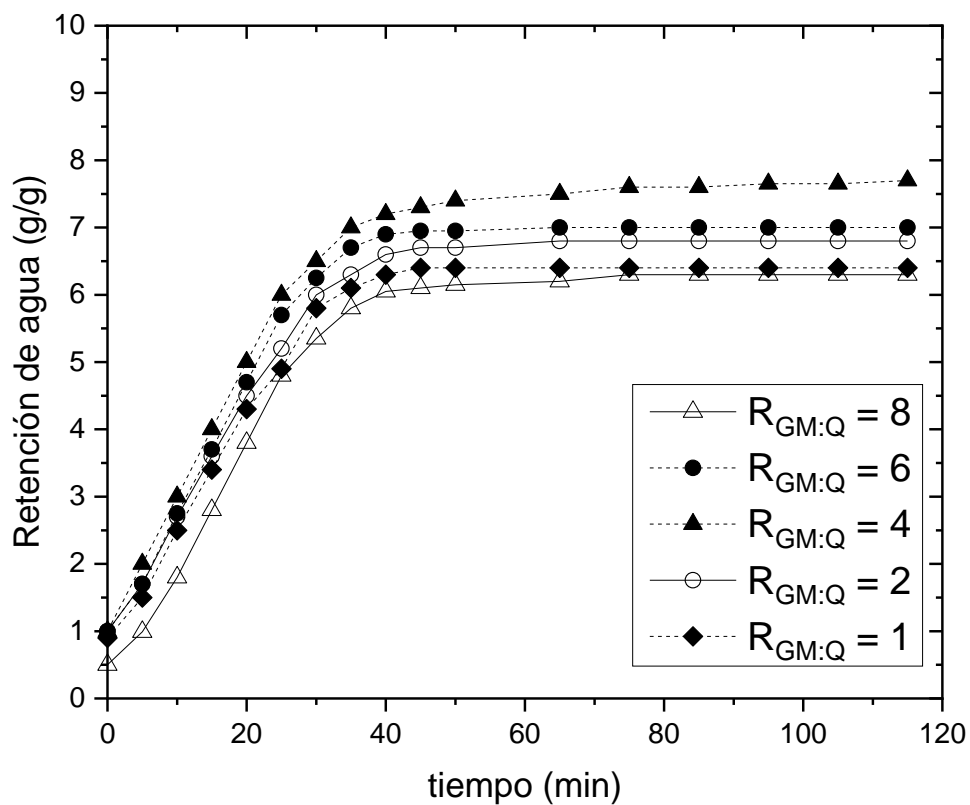


Figura 18. Retención de agua de los hidrogeles en función del tiempo para distintas relaciones de GM:Q, con una concentración total de biopolímero de 4% p/p después del tratamiento térmico.

## 7.12. Espectrometría infrarroja con transformada de Fourier

La Fig. 19 muestra los espectros de FTIR de la goma de mezquite, el quitosano y la fase coacervada con una concentración de 4% p/p de GM, sin variaciones del pH y fuerza iónica.

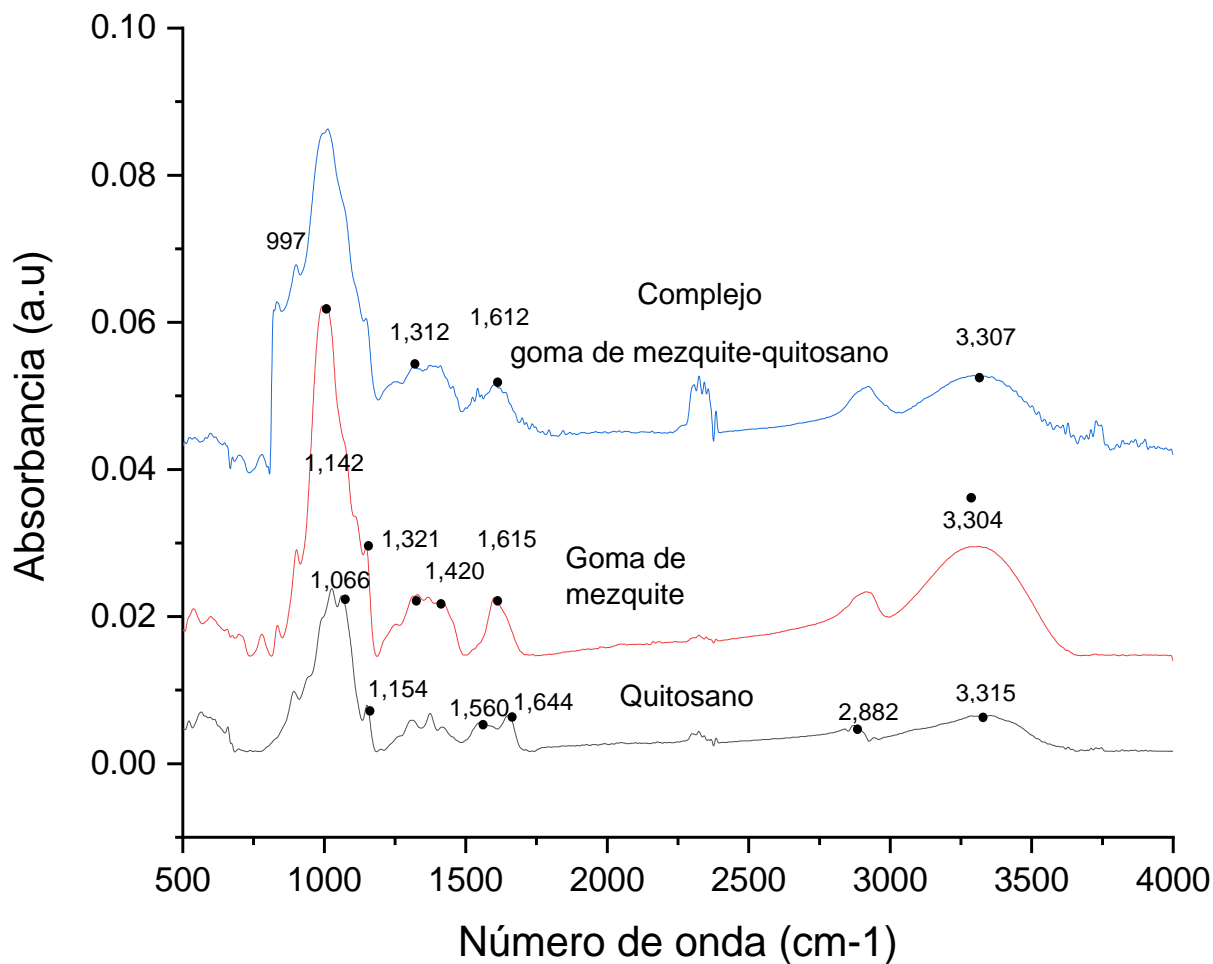


Figura 19. Espectro FTIR de la goma de mezquite, quitosano y la fase coacervada.

---

Los picos característicos básicos del Q se muestran en: 3,315  $\text{cm}^{-1}$  referentes a los grupos -OH, estas bandas son amplias debido al acoplamiento con las bandas de N-H; 2,882  $\text{cm}^{-1}$  asociadas a las vibraciones de estiramiento C-H, (Wang y col., 2016; Dong y col., 2002). La banda característica a 1,560  $\text{cm}^{-1}$  que está relacionada con la vibración de estiramiento del grupo amino de quitosano; 1,644  $\text{cm}^{-1}$  (curvatura N-H), 1,154  $\text{cm}^{-1}$  (estiramiento puente -O-), 1,066  $\text{cm}^{-1}$  (estiramiento C-O, grupo hidroxilo secundario) y el pico ancho a 1,035  $\text{cm}^{-1}$  indica estiramientos vibracionales de C-O, grupo hidroxilo primario (Anicuta y col., 2010; de Vasconcelos y col., 2006), como se informa en la literatura.

La GM muestra bandas a 3,304  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente a la vibración de estiramiento de grupos -OH. La banda a 1,615  $\text{cm}^{-1}$  se encuentra en la región amida, característica de vibraciones de enlaces peptídicos, en la que se localizan las bandas atribuidas a fracciones de péptido arabino galactano, proteínas arabino galactano y glicoproteína. Se identificó que las bandas del galactano enlazado se producían en aproximadamente 1142  $\text{cm}^{-1}$  mientras que la cadena principal que formaba arabina estaba a 997  $\text{cm}^{-1}$ . Además, también se identificaron bandas de estiramiento asimétricas de sales de ácido carboxílico  $-\text{COO}^-$  ubicadas en 1321 y 1420  $\text{cm}^{-1}$ .

El complejo de goma de mezquite/quitosano, muestra una banda a 3307  $\text{cm}^{-1}$  atribuida a vibraciones de los grupos  $-\text{NH}_2$  y -OH, como resultado de la interacción entre los biopolímeros, el espectro muestra cambios significativos en la región carboxilo-amida (1700-1400). Los grupos  $-\text{NH}_3^+$  (banda a 1644  $\text{cm}^{-1}$ ) y las vibraciones de alargamiento asimétricos del  $-\text{COO}^-$  (1321  $\text{cm}^{-1}$  y 1420  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente) desaparecen, indicando una interacción electrostática entre los grupos amino del quitosano y los grupos carboxilo de la goma de mezquite ( $-\text{NH}_3^+ \text{OOC}-$ ).

---

## 7.13. Caracterización estructural

### 7.13.1. Reología de los coacervados complejos de polielectrolito

Los estudios reológicos proveen de información valiosa para determinar la estabilidad y microestructura de los coacervados de complejo de polielectrolito. El coacervado que se usó para estos estudios se obtuvo directamente de la decantación de la fase precipitada (insoluble) después de ser centrifugados.

En términos reológicos, los hidrogeles son materiales viscoelásticos, por lo que presentan simultáneamente las propiedades elásticas de un sólido ideal y las características de flujo de un líquido ideal. Un sólido ideal es aquel que al retirarle el esfuerzo aplicado recupera su forma original, este comportamiento corresponde a un material que es capaz de almacenar toda la energía mecánica suministrada, por lo que, se le asigna el término de “memoria perfecta o infinita”. En cambio, un líquido ideal, no puede recuperar parte de su forma original cuando se retira el esfuerzo aplicado debido a que toda la energía mecánica suministrada se disipa en forma de calor, por lo que se trata de un material de “memoria nula” (Díaz-Ocampo, 2018).

Por lo tanto, parámetros como viscosidad aparente, esfuerzo de corte, módulo de elasticidad, módulo viscoso, viscosidad compleja, entre otros, son utilizados para la descripción del comportamiento reológico de estos materiales. La Fig. 20 muestra los módulos  $G'$  y  $G''$  de los coacervados complejos de polielectrolito preparados a partir de una CTB de 4% a distintas relaciones, se puede apreciar una región lineal viscoelástica (RLVE) al emplear una deformación menor al 1%. Una RLVE extensa indica que el hidrogel formado está bien consolidado y estable, resistiendo sus zonas de unión (nodos) en la red polimérica la deformación (García-Hernandez, 2016).

En los hidrogeles viscoelásticos es frecuente que se de una recuperación parcial, porque la red tridimensional elástica se desintegra bajo el efecto de tensión. Cuanto



mejor este ensamblada y resistente este la red, tendrá mayor elasticidad, por otro lado, cuanto mayor se desintegre la red, mayor será el componente viscoso.

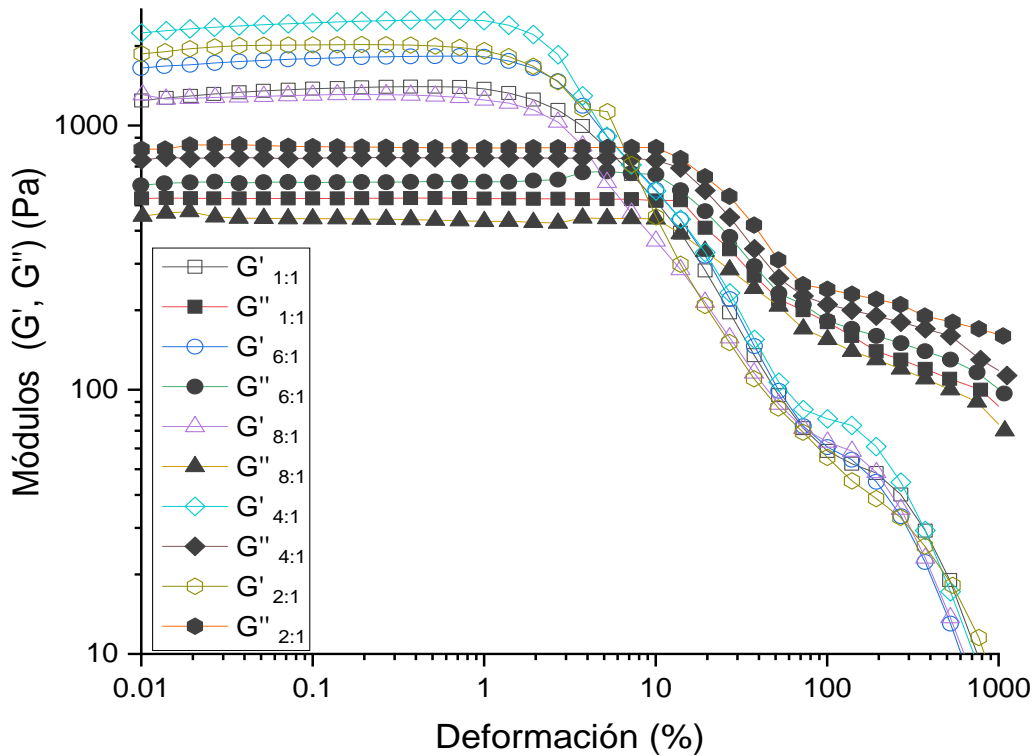


Figura 20. Curvas de frecuencia para los coacervados complejos de polielectrolito a CTB de 4%.

En la RLVE, el módulo elástico fue mayor que el módulo viscoso ( $G' > G''$ ), por lo que los hidrogeles presentaron características de materiales viscoelásticos sólidos. Este tipo de estructuras se encuentran fuertemente asociada, es decir, la estructura de la muestra no es fácilmente alterable, por lo que los coacervados permanecen en equilibrio dinámico. También se puede observar que, en la RLVE, el valor de ambos módulos incremento conforme se aumentó la adición de partículas de GM hasta una  $R_{GM/Q}$  de 4 sin afectar la RLVE, sin embargo, la adición de partículas de GM a la dispersión de Q tiene un efecto significativo en la magnitud de los valores de  $G'$  en esta región. Este resultado confirma que las partículas de GM reforzaron la red polimérica del hidrogel.

---

## 8. Resumen de los resultados

A continuación, se resumen los resultados obtenidos en la siguiente tabla, en donde se muestra los dos sistemas de coacervado para el autoensamblaje entre GM-Q.

Tabla 1. Resultados obtenidos de dos sistemas de coacervado.

Sistema coacervado	GM-Q-1	GM-Q-2
Condiciones de proceso	6 % en peso y 25°C	4 % en peso y 75°C
Proceso térmico	NO	SI
Autoensamblado	Débil	Fuerte
Hidrogel	SI	SI
Rendimiento	68 %	55%
Capacidad de retención de agua	8.15 g/g	7.6 g/g
Fluido	viscoso	viscoelástico

Ambos sistemas conformaron complejos coacervados, sin embargo, el sistema que se formuló a una CTB de 4% en peso y 75°C condujo a la elaboración de un hidrogel físico con una estructura mejor consolidada (autosoportable), con características hidrofílicas que le permitieron retener agua en su interior no perdiendo su forma original, esto debido al adecuado autoensamblaje entre los grupos funcionales de los biopolímeros mientras que el coacervado a una CTB de 6% en peso y 25°C llevo a la formación de un hidrogel físico débil, ya que al retener agua en su interior este poseía características de un fluido viscoso, esto se asocio a la débil asociación entre las cadenas biopoliméricas de los polielectrolitos.

---

## 9. Conclusiones

El efecto que tiene la concentración total de biopolímero al (6 y 4 % en peso) en combinación con la temperatura a (25 y 75 °C) en el proceso de complejación, revelaron que la influencia de cada parámetro no es completamente independiente de manera que todos los parámetros influyen simultáneamente en el proceso de coacervación compleja.

Se encontró que el tratamiento térmico a 75°C que se le dio a las soluciones biopoliméricas influyó favoreciendo las interacciones electrostáticas entre la GM y Q, lo que se relacionó con el desdoblamiento de las macromoléculas al sufrir un calentamiento exponiendo sus grupos internos (grupos amino y grupos ácidos) a la superficie, aumentando el número de grupos funcionales disponibles para obtener una mayor interacción, formando coacervados a relaciones  $R_{GM/Q}$  más bajas.

Los hidrogeles mecánicamente más elásticos, es decir, aquellos con mayores asociaciones entre las cadenas biopoliméricas de GM y Q que les permitió mantenerse firmes bajo la inversión del recipiente fueron los hidrogeles formados a una concentración total de biopolímero de 4% en peso y temperatura de 75 °C, presumiblemente debido a que a bajas concentraciones existe un menor número de macromoléculas de polielectrolito, permitiendo así que estas tengan la libertad de expandirse, pero no de forma indefinida, una vez expandidas las macromoléculas estas exponen sitios activos que no se encontraban cargados, estos sitios activos expuestos interaccionan con las macromoléculas de carga opuesta creando zonas de unión y un mayor grado de conexiones intramoleculares entre los biopolímeros.

Los cambios de configuración de las cadenas de ambos biopolímeros para formar una estructura tridimensional se ven influenciados simultáneamente por parámetros como la temperatura, concentración total del biopolímero y pH, dichos parámetros pueden ser modulados fácilmente para obtener hidrogeles mecánicamente más fuertes, clasificados como hidrogeles físicos fuertes.

---

## Referencias

- Ahmad, S., Ahmad, M., Manzoor, K., Purvar, R. y Ikram, S., (2019). A review on latest innovations in natural gums based hydrogels: Preparations & applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 870-890.
- Ahmed, E. M. (2015) Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of advanced research*, 6(2), 105-121.
- Anicuta, S., Dobre, L., Stroescu, M., y Jipa, I. (2010). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy for Characterization of Antimicrobial Films Contain Chitosan. *Zootehnie și Tehnologii de Industrie Alimentară*, 1234-1240.
- Argin, S., Kofinas, P., y Lo, M. (2009). Effect of Complexation Conditions on Xanthan-Chitosan Polyelectrolyte Complex Gels. *Food Hydrocolloids*, 23, 202-209.
- Berthomieu, C., y Hienerwadel, R. (2009). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Photosynthesis Research*, 101(2-3), 157-170.
- Burges, D. J. (1990). Practical analysis of complex coacervate systems. *Journal of Colloidal and Interface Science*, 14, 227-238.
- Colina, M., Ayala, A., Rincón, D., Molina, J., Medina, J., Yncierte, R., Vargas, J., Montilla, B. (2014). Evaluación de los procesos para la obtención química de quitina y quitosano a partir de desechos de cangrejos. Escala piloto e industrial. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 15, 21-43.
- Dahman, Y. (2017). Nanotechnology and Functional Materials for Engineers. Elsevier.
- De Kruif, CG., F., Weinbreck, y R. de Vries. (2004). Complex Coacervation of Proteins and Anionic Polysaccharides. *Current Opinion Colloid Interface Science*, 9, 340-9.
- Díaz-Ocampo, R. (2018). Reología aplicada a sistemas alimentarios, Editorial Grupo Compás. Guayaquil Ecuador, 102.

---

Dragan, E. S., y Dinu, M. V. (2019). Polysaccharides constructed hydrogels as vehicles for proteins and peptides. *A review. Carbohydrate Polymers*. 225, 115210.

de Vasconcelos, C. L., Bezerril, P.M., dos Santos, D. E. S., Dantas, T. N. C., Pereira, M. R. y Fonseca, J.L.C. (2006). Effect of Molecular Weight and Ionic Strength on the Formation of Polyelectrolyte Complexes Based on Poly (methacrylic acid) and Chitosan. *Biomacromolecules*. 7, 1245-1252.

Dong, Y., Xu, C., Wang, J., Wu, Y., Wang, M., y Ruan, Y. (2002). Influence of Degree of Deacetylation on Critical Concentration of Chitosan/Dichloroacetic Acid Liquid-Crystalline Solution. *Journal of Applied Polymer Science*, 83, 1204-1208.

Espinosa-Andrews, H., Báez-González, J. G., Cruz-Soza, F., y Vernon-Carter E. J. (2007). Gum Arabic-Chitosan Complex Coacervation. *Biomacromolecules*, 8,1313-1318.

Espinosa-Andrews, H., Enríquez-Ramírez, K. E., García-Márquez, E., Ramírez-Santiago, C., Lobato-Calleros, C., y Vernon-Carter, E. J., (2013). Interrelationship between the Zeta Potential and Viscoelastic Properties in Coacervates Complexes. *Carbohydrate Polymer*. 95, 161-166.

Espinosa-Andrews, H., Sandoval-Castilla, O., Vázquez-Torres, H., Vernon-Carter, E. J., y Lobato-Calleros, C. (2010). Determination of the Gum Arabic-Chitosan Interactions by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Characterization of the Microstructure and Rheological Features of Their Coacervates. *Carbohydrate Polymers*. 79, 541-546.

Estrada-Fernández, A.G., Román-Guerrero, A., Jiménez-Alvarado, R., Lobato-Calleros, C., Álvarez-Ramírez, y J., Vernon-Carter, E.J. (2018). Stabilization of oil-in-water-in-oil (O1/W/O2) Pickering double emulsions by soluble and insoluble whey protein concentrate-gum Arabic complexes used as inner and outer interfaces. *Journal of Food Engineering*, 221, 35-44.

García-Hernández, A., Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E.J., Sosa-Hernández, E. y Álvarez-Ramírez, J. (2016). Effects of clay concentration on the morphology

---

and rheological properties of xanthan gum based hydrogels reinforced with montmorillonite particles. *Journal of Applied Polymer Science*. 134(8), 1-10.

García-Márquez, E., Román-Guerrero, A., Cruz-Sosa, F., Lobato-Calleros, C., Álvarez-Ramírez, J., Vernon-Carter, E. J., y Espinosa-Andrews, H. (2015). Effect of layer (calcium phosphate-chitosan)-by-layer (mesquite gum) matrix on carotenoids-in-water-emulsion properties. *Food Hydrocolloids*. 43, 451-458.

Gonçalves, V. L., Laranjeira, M. C. M., Fávere, V. T. y Pedrosa, R. C. (2005). Effect of crosslinking agents on chitosan microspheres in controlled release of diclofenac sodium. *Polímeros*. 15(1), 6-12.

Hoagland, D. (2001). *Polyelectrolites*. En *Encyclopedia of polymer Science and Technology*, John Wiley & Sons. Inc., Hoboken. N.J., 7, 439-497.

Hong, Y.H. y McClements, D. J. (2007). Formation of hydrogel particles by Thermal Treatment of  $\beta$ -Lactoglobulin-Chitosan Complex. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5653-5660.

Hu, X., Wang, Y., Zhang, L. y Xu, M. (2020). Formation of self-assembled polyelectrolyte complex hydrogel derived from salectan and chitosan for sustained release of Vitamin C. *Carbohydrate Polymers*. 234, 115920.

Hu, X., Wang, Y., Zhang, L. y Xu, M. (2020). Construction of self-assembled polyelectrolyte complex hydrogel based on oppositely charged polysaccharides for sustained delivery of green tea polyphenols. *Food Chemistry*. 306, 125632.

Huang, G. -Q., Han, X. -N. y Xiao, J. -X. (2017). Glutaraldehyde-Crosslinked O-Carboxymethyl Chitosan-Gum Arabic Coacervates: Characteristics versus Complexation Acidity. *Journal Dispersion Science Technology*. 38,1607-1612.

IUPAC. (1997). Compendium of Chemical Terminology (A. D. M. a. A. Wilkinson Ed. 2nd ed. (the "Gold Book"). Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Izawa, K., Amino, Y., Kohmura, M., Ueda, Y., y Koruda, M. (2010). Human-Environment Interactions-Taste. *Elsevier*, 632-664.

---

Jelesarov, I., y Bosshard, HR. (1999). Isothermal titration calorimetry and differential scanning calorimetry as complementary tools to investigate the energetics of biomolecular recognition. *Journal Molecular Recognition*, 12, 3-18.

Kruif, C.G., y Tuinier R. (2001). Polysaccharide Protein Interactions. *Food Hydrocolloids*. 15, 555-563.

Laugel, N., Bestcha, C, Winterhalter, M., Voegel, JC., Schaaf, P., y Ball, V. (2006). Relationship between the growth regime of polyelectrolyte multilayers and the polyanion/polycation complexation enthalpy. *Journal of Physical Chemistry B*.110, 19443-9.

Lozano-Vázquez, G., Lobato-Calleros, C., Escalona-Buendía, H., Chávez, G., Álvarez-Ramírez, J., y Vernon-Carter, E.J. (2015). Effect of the weight ratio of alginate-modified tapioca starch on the physicochemical properties and release kinetics of chlorogenic acid containing beads. *Food Hydrocolloids*, 48, 301-311.

Lv, X., Zhang, W., Liu, Y., Zhao, Y., Zhang, J., y Hou, M. (2018). Hygroscopicity modulation of hydrogels based on carboxymethyl chitosan/alginate polyelectrolyte complexes and its application as pH-sensitive delivery system. *Carbohydrate Polymers*. 198. 86-93.

Madan, P., (1978). Microencapsulation I. Phase separation or coacervation. *Drug development and industrial pharmacy*. 4 (1). 95-116.

Malvern Panalytical (2020). Laser diffraction (LD). Particle size distributions from nanometers to millimeters.

<https://www.malvernpanalytical.com/en/products/technology/light-scattering/laser-diffraction> Accesado 21/10/2020.

Ong, K. W., Hsu, A., y Tan, B. K. (2013). Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochemical Pharmacology*. 85, (9), 1341-1351.

Ozin, G. A., Hou, K., Lotsch, B. V., Cademartiri, L., Puzzo D. P., Scotognella, F., Ghadimi, A., y Thomson, J. (2009). Nanofabrication by self-assembly. *Materials Today*, 12 (5), 12-23.

---

Pasika, W. M., (1977). Polysaccharide polyelectrolytes. In P. A. Sandford (Ed.), ACS Symposium Series. *Extracellular microbial polysaccharides*. 45,128-143

Pérez-Orozco, J. P. (2006). Estudio de la adsorción competitiva entre polielectrolitos y tensoactivos: Efecto en la microestructura, propiedades reológicas interfaciales y estabilidad de las emulsiones W1/O/W2. (Doctorado). Universidad Autónoma Metropolitana.

Pérez-Orozco, J. P., Barrios-Salgado, E., Román-Guerrero, A., y Pedroza-Islas, R. (2011). Interacción Goma de Mezquite-Quitosano en la Interfase y su Influencia en la estabilidad de Emulsiones Múltiples W1/O/W2. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 10, 487-499.

Pérez-Orozco, J. P., Beristain, C. I., Espinoza-Paredes, G., Lobato-Calleros, C., y Vernon-Carter, E. J. (2004) Interfacial shear rheology of interacting carbohydrate polyelectrolytes at the water-Oil interface using an adapted conventional rheometer. *Carbohydrate Polymer*. 57, 45-54.

Rodríguez-Rodríguez, R., Espinosa-Andrews, H., Morales-Hernández, N., Lobato-Calleros, C. y Vernon-Carter, E. J. (2018). Mesquite gum/Chitosan insoluble complexes: relationship between the water state and viscoelastic properties. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 1-8.

Roldan-Cruz, C. A. (2019). Monitoreo de la formación de complejos coacervados y emulsiones O/W con el uso de espectroscopía de impedancia eléctrica y voltametría cíclica. (Doctorado). Universidad Autónoma Metropolitana.

Román-Guerrero, A., Orozco-Villafuerte, J., Pérez-Orozco, J.P., Cruz-Sosa, F., Jiménez-Alvarado, R., y Vernon-Carter, E.J. (2009). Application and evaluation of mesquite gum and its fractions as interfacial film formers and emulsifiers of orange peel oil. *Food Hydrocolloids*, 23, 708-713.

Ruiz-Ramos, J. O., Pérez-Orozco, J. P., Báez-González, J. G., Bósquez-Molina, E., Pérez-Alonso, C., y Vernon-Carter, E. J. (2006) Interrelationship between the viscoelastic properties and effective moisture diffusivity of emulsions with the water



---

vapor permeability of edible films stabilized by mesquite gum-chitosan Complexes. *Carbohydrate Polymers*.64, 355-363.

Saha, D., Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *Journal of Food Science and Technology*. 47(6), 587-597.

Santos, B. M., da Costa, R. N. y García-Rojas, E. E. (2018). Interpolymeric complexes formed between whey proteins and biopolymers: Delivery systems of bioactive ingredients. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 17(3), 792-805.

Sandoval-Silva, E. A. (2010). Coacervación compleja con mezcla de tres polisacáridos (Goma Arábica-Goma de Mezquite-Quitosano). (Maestría). Universidad Autónoma Metropolitana.

Schmitt, J., y Flemming, H.-C. (1998). FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41(1), 1-11.

Schmitt, C., Sanchez, C., Desobry-Banon, S., y Hardy, J. (1998). Polyphenol interactions with whey protein isolated and whey protein isolate-pectin coacervates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 38 (8), 689-753.

Spruijt, E. (2012). Strength, structure and stability of polyelectrolyte complex coacervates. (Doctorado). Wageningen University

Timilsena, Y. P., Akanbi, T.O., Khalid, N., Adhikari, B. y Barrow, C. J. (2018). Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *Biological Macromolecules*. 121, 1276-1286.

Tolstoguzov, V. B. (2003). Some Thermodynamic considerations in Food Formulation. *Food hydrocolloids*. 1-23.

Turgeon, S. L., Schmitt, C., y Sanchez, C. (2007). Protein-Polysaccharide complexes and coacervates. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 12, 166-178.

---

Vallejo-Domínguez, D. (2019). Funcionalidad del quitosano en la conservación de carne vacuna. (Maestría). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Vuillemin, M. E., Michaux F., Muniglia, L., Linder, M. y Jasniewski, J. (2019). Gum Arabic and chitosan self-assembly: thermodynamic and mechanism aspects. *Food Hydrocolloids*. 96, 463-474.

Wang, X., Tang, R., Zhang, Y., Yu, Z., y Qi, Ch. (2016). Preparation of a novel chitosan based biopolymer dye and application in wood Dyeing. *Polymers*, 8, 2-13.

Wee, M., Nurhazwani, S., Tan, W. -J, G oh, K. -T, Sims I, -M, y Matia-Merino, L. (2014). Complex coacervation of an arabinogalactan-Protein extracted from the *Myrica sinclairii* tree (Puka Gum) and Whey Protein Isolate. *Food Hydrocolloids*. 42,130-138.

Weinbreck, F., de Vries, R., Schrooyen, P., y de Kruif, C. -G. (2003). Complex coacervation of whey proteins and gum arabic. *Biomacromolecules*, 4, 293-303.

Weinbreck, F., Nieuwenhuijse, H., Robijn, G. W., y de Kruif, C. G. (2004). Complexation of whey proteins with Carrageenan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 3550-3555.

You, G., Liu, X. L. y Zhao, M. M. (2017). Preparation and characterization of hsian-tsao gum and chitosan complex coacervates. *Food Hydrocolloids*. 1-46.



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
Unidad-Iztapalapa

**CBI.AP.54. 2022**

Ciudad de México a 20 de enero de 2022

**Dr. Eduardo Jaime Vernon Carter**  
Departamento de I.P.H.  
UAM - Iztapalapa

Presente

Estimado Dr. Vernon:

La Comisión de Posgrado en Ingeniería Química le agradece su participación como director, en la modalidad de coasesoría, de la tesis de Maestría **“Estructuración de hidrogeles autosoportables mediante la complejación de coaservados de goma de mezquite-QUITOSANO”**, que defendió el **Ing. Jonathan Solano Neri** (CVU # 1014165) en el examen de grado sustentado el día 20 de enero de 2022.

Sin otro particular y agradeciendo sus atenciones, quedo de usted.

**Atentamente**  
Casa abierta al tiempo

**Dr. Carlos Omar Castillo Araiza**  
Coordinador del Posgrado en Ingeniería Química

**División de Ciencias Básicas e Ingeniería**

Av. San Rafael Atlixco No. 186, Col. Vicentina, 09340 Ciudad de México  
Tel. 55 5804 4600 ext. 1250 E-mail: coca@xanum.uam.mx



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
Unidad Iztapalapa

Fecha : 17/01/2022  
Página : 1/1

**CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO**

La Universidad Autónoma Metropolitana extiende la presente CONSTANCIA DE PRESENTACION DE EXAMEN DE GRADO de MAESTRO EN CIENCIAS (INGENIERIA QUIMICA) del alumno JONATHAN SOLANO NERI, matrícula 2192802709, quien cumplió con los 141 créditos correspondientes a las unidades de enseñanza aprendizaje del plan de estudio. Con fecha veinte de enero del 2022 presentó la DEFENSA de su EXAMEN DE GRADO cuya denominación es:

Estructuración de hidrogeles autoportables mediante la complejación de coacervados de goma de mezquite-quitosano

Cabe mencionar que la aprobación tiene un valor de 60 créditos y el programa consta de 201 créditos.

El jurado del examen ha tenido a bien otorgarle la calificación de:

**APROBAR**

**JURADO**

**Presidente**

DR. JOSE DE JESUS ALVAREZ RAMIREZ

**Secretario**

DR. ROBERTO OLAYO GONZALEZ

**Vocal**

DR. CESAR PEREZ ALONSO



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00148

Matrícula: 2192802709

Estructuración de hidrogeles autosoportables mediante la complejación de coacervados goma de mezquite-quitosano

Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México, se presentaron a las 16:00 horas del día 20 del mes de enero del año 2022 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

DR. JOSE DE JESUS ALVAREZ RAMIREZ  
DR. CESAR PEREZ ALONSO  
DR. ROBERTO OLAYO GONZALEZ

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (INGENIERIA QUIMICA)

DE: JONATHAN SOLANO NERI

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

JONATHAN SOLANO NERI  
ALUMNO

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

DR. JESÚS ALBERTO OCHOA TAPIA

PRESIDENTE

DR. JOSE DE JESUS ALVAREZ RAMIREZ

VOCAL

DR. CESAR PEREZ ALONSO

SECRETARIO

DR. ROBERTO OLAYO GONZALEZ