



**CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

**“Estudio de las Propiedades Físicas y Texturales de
Geles de Pectinas de Alto y Bajo Metoxilo Obtenidas
de *Crataegus pubescens* (Tejocote)”**

Tesis que presenta:

M. en I. José Antonio Linares García

Para Obtener el Grado de

Doctor en Ciencias

En la Especialidad de

BIOTECNOLOGÍA

Director de tesis: **Dr. Juan Alfredo Salazar Montoya**



El presente trabajo de investigación fue desarrollado en el Laboratorio de Reología del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN) bajo la dirección del Dr. Juan Alfredo Salazar Montoya.



Agradezco el apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) mediante la Beca No. 190906 para la realización de mis estudios de Doctorado y el desarrollo de este proyecto de investigación.

Agradezco al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) el apoyo económico 12BTD0099 para la escritura de mi tesis.



Agradecimientos

Al Dr. Juan Alfredo Salazar Montoya por su inestimable ayuda y paciencia en la dirección de este trabajo.

A los miembros de mi comité tutorial

Dra. Emma Gloria Ramos Ramírez

Dra. Lorena Rodríguez Páez

Dr. Ricardo Aguilar López

Dr. Alfredo Cruz Orea

Por sus atinadas sugerencias y aportaciones para la realización y culminación de este proyecto.

A la Dra. Emma Gloria Ramos Ramírez por las facilidades que me dio durante mi estadía en su laboratorio.

A la bióloga María del Pilar Méndez por su apoyo técnico

Al Ing. Miguel Márquez por su apoyo técnico



Dedicatorias

A mis padres Rosa García Hernández y Pedro Linares López por su amor incondicional y apoyo en todo momento para sacar lo mejor de las cosas.

A mi hermana Griselda Linares García, ustedes, mi familia, han sido mi gran soporte.

A Arturo Rayas porque su presencia y apoyo han sido invaluableles.

A Juanito, Teodoro y José Luis por su amistad, las tardes de café y debate que tuvimos y espero sigamos teniendo.

A los compañeros del laboratorio Barby, Mona, Lucy, Walfred, Vicky, Susana, Anita, Marisol, Joana, Adriana y Abigail por su amistad y las críticas constructivas que recibí y me ayudaron a mejorar.



ÍNDICE GENERAL

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Hidrocoloides	2
1.2. La pectina: orígenes	3
1.3. Localización	4
1.4. Estructura química	6
1.5. Propiedades	8
1.5.1. Pectinas de alto metoxilo (PAM)	9
1.5.2. Pectinas de bajo metoxilo (PBM)	11
1.6. Usos	13
1.7. El tejocote	13
1.8. Tensores de esfuerzos y deformación	15
1.8.1. Comportamiento viscoelástico	19
1.8.2. Creep-relajación	22
1.9. Análisis de perfil de textura (TPA)	25
1.10. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	28
1.11. Difracción de rayos X	29
2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS	32
3. OBJETIVOS	34
4. MATERIALES Y MÉTODOS	36
4.1. Caracterización morfológica y química del fruto	37
4.2. Extracción de pectinas	37
4.3. Determinaciones químicas	38
4.3.1. Contenido de ácido galacturónico (AGA)	38
4.3.2. Grado de esterificación (GE)	39
4.3.3. Contenido de grupos acetilo (GA)	39



4.3.4. Determinación de viscosidad intrínseca y peso molecular promedio (PM _P)	39
4.4. Desmetoxilación química	40
4.4.1. Pectina de tejocote	40
4.4.2. Pectina cítrica.....	41
4.5. Preparación de geles	42
4.5.1. Alto metoxilo.....	42
4.5.2. Bajo metoxilo.....	42
4.6. Determinación del comportamiento viscoelástico	43
4.6.1. Determinación de la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL)	43
4.6.2. Creep-recuperación.....	44
4.7. Determinación de perfil de textura (TPA).....	44
4.8. Análisis de propiedades térmicas	45
4.9. Difracción de rayos X	46
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
5.1. Caracterización morfológica y química del fruto	49
5.2. Caracterización del extracto pectínico	52
5.2.1. Caracterización química	52
5.2.2. Determinación de viscosidad intrínseca y PM _p	53
5.3. Propiedades reológicas	54
5.3.1. Zona de viscoelasticidad lineal	54
5.3.2. Alto metoxilo.....	56
5.3.3. Bajo metoxilo.....	58
5.3.4. Creep-recuperación alto y bajo metoxilo	59
5.4. Perfil de textura	62
5.4.1. Alto metoxilo.....	62
5.4.2. Bajo metoxilo.....	64
5.5. Propiedades térmicas.....	69
5.6. Difracción de rayos X	75
6. CONCLUSIONES	77
7. RECOMENDACIONES	79



8. BIBLIOGRAFÍA	81
9. ANEXO	85
9.1 Uso de los viscosímetros capilares	86



ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1 Estructuras químicas de una pectina de alto metoxilo (a); Pectina de bajo metoxilo (b)	7
Figura 2 Estructuras propuestas de las interacciones que se forman en un gel de PAM.....	10
Figura 3 Estructuras propuestas de las interacciones que se forman en un gel de bajo metoxilo.....	11
Figura 4 Representación esquemática del modelo “caja de huevo” para la gelificación de pectina de bajo metoxilo.	12
Figura 5 Tensor de esfuerzo para una unidad de volumen en los ejes x, y y z.....	17
Figura 6 Deformación de un elemento unitario (OCDE) en una superficie plana x, y	18
Figura 7 Respuesta de un material en estudios dinámicos: a) experimento dinámico, b) material sólido elástico, c) material puramente viscoso, d) material viscoelástico.....	21
Figura 8 a) Modelos elástico (Hooke) y viscoso (Newton); b) componentes del modelo de Burgers.....	23
Figura 9 Curva de Creep para un material viscoelástico	24
Figura 10 Termograma de Calorimetría diferencial de barrido (T _g -temperatura de transición vítrea; T _c -temperatura de cristalización; T _m -temperatura de fusión)....	29
Figura 11 Fenómenos de la interacción de los rayos X con la materia.	30
Figura 12 Difracción de los rayos X causada por los planos de un cristal.	31
Figura 13 Perfil característico de una determinación de textura	45
Figura 14 Diagrama de operación por el método del polvo cristalino.	46
Figura 15 Variación de acidez y sólidos solubles en la maduración del fruto de tejocote (SS-sólidos solubles)	50
Figura 16 Variación de pH y °Bx/acidez en la maduración del fruto de tejocote ...	51
Figura 17 Variación de la viscosidad relativa frente a la concentración para PBMT, PBMC, PAMT y PAMC.....	53



Figura 18 Barrido de exploración de esfuerzos para dispersiones iguales de PBMC y PBMT	55
Figura 19 ZVL para dispersiones iguales de PBMC y PBMT	55
Figura 20 Módulos G' y G'' para geles de PAMC y PAMT	57
Figura 21 Módulos G' y G'' para geles de PBMC y PBMT	59
Figura 22 Curva de Creep (esfuerzo deformación) para geles de PAMT y PAMC	60
Figura 23 Curva de Creep (esfuerzo deformación) para geles de PBMT y PBMC	61
Figura 24 El perfil de textura (TPA) de geles de alto metoxilo.	62
Figura 25 Perfil de textura de geles de alto metoxilo cítrico y de <i>C. pubescens</i> elaborados sin calentamiento.....	64
Figura 26 TPA para geles de bajo metoxilo en presencia de Ca^{2+}	65
Figura 27 Perfil de textura para geles de origen cítrico	66
Figura 28 Perfil de textura para geles de <i>C. pubescens</i>	67
Figura 29 Gel PAM antes y después de las compresiones	68
Figura 30 Gel PBM antes y después de las compresiones	68
Figura 31 Termograma de PAMT	69
Figura 32 Termograma de PAMC	70
Figura 33 Termogramas por Calorimetría Diferencial de Barrido DSC (exo up) ...	70
Figura 34 Resultados de Termogravimetría	71
Figura 35 Termogravimetría y Termogravimetría Diferencial para la pectina cítrica	72
Figura 36 Termogravimetría y Termogravimetría Diferencial para la pectina de <i>C. pubescens</i>	73
Figura 37 Comparación de termogravimetría diferencial para pectina cítrica y de tejocote.	74
Figura 38 Difractograma de pectina de alto metoxilo cítrica	75
Figura 39 Difractograma de pectina de alto metoxilo de tejocote	76
Figura 40 Viscosímetro capilar de Ostwald.	86



ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Biopolímeros usados en alimentos y su clasificación en base a su origen	2
Tabla 2 Tipos de pectina de alto metoxilo y sus características	10
Tabla 3 Propiedades texturales primarias y secundarias.	26
Tabla 4 Caracterización física de los frutos de tejocote.....	49
Tabla 5 Caracterización fisicoquímica de los frutos de tejocote	50
Tabla 6 Características del extracto de pectina de <i>Crataegus pubescens</i>	52
Tabla 7 Pesos moleculares determinados mediante viscosimetría capilar.	54
Tabla 8 Propiedades reológicas de geles de pectina AM	57
Tabla 9 Dependencia de los módulos dinámicos (G' y G'') con la frecuencia	58
Tabla 10 Propiedades reológicas de geles de pectina BM	60
Tabla 11 Parámetros del modelo de Burgers para Alto y Bajo Metoxilo	62
Tabla 12 Parámetros de TPA para alto metoxilo	63
Tabla 13 Parámetros de TPA para geles de Bajo metoxilo	65
Tabla 14 Resumen de temperaturas para las transiciones térmicas en DSC	71
Tabla 15 Resumen de temperaturas para las transiciones térmicas en DTG	74



NOMENCLATURA

Abreviaturas

AGA	Contenido de ácido galacturónico
BH	Base húmeda
BS	Base seca
DSC	Calorimetría diferencial de barrido
DTG	Termogravimetría diferencial
GA	Grado de acetilación
GE	Grado de esterificación
PAM	Pectinas de alto metoxilo
PAMC	Pectina de alto metoxilo cítrica
PAMT	Pectina de alto metoxilo de tejocote
PBM	Pectina de bajo metoxilo
PBMC	Pectinas de bajo metoxilo cítrica
PBMT	Pectinas de bajo metoxilo de tejocote
PME	Pectinmetilesterasa
SIA	Sólidos insolubles al alcohol
SS	Sólidos solubles
T_c	Temperatura de cristalización
T_g	Temperatura de transición vítrea
T_m	Temperatura de fusión
TPA	Análisis de perfil de textura
ZVL	Zona de viscoelasticidad lineal

Parámetros

D_{e1}	Diámetro ecuatorial mayor	(m)
D_{e2}	Diámetro ecuatorial menor	(m)
d_{hkl}	Distancia entre 2 planos reticulados de un cristal	(nm)



D_m	Diámetro máximo	(m)
D_p	Diámetro polar	(m)
E	Módulo de elasticidad de Young	(Pa)
G	Módulo de cizalla o de rigidez	(Pa)
G^*	Módulo complejo	(Pa)
G'	Módulo de almacenamiento	(Pa)
G''	Módulo de pérdida	(Pa)
G_0	Módulo de corte instantáneo de la componente de Maxwell (rigidez instantánea)	(Pa)
G_1	Módulo de corte del modelo de Kelvin-voigt (rigidez retardada)	(Pa)
J	Compliancia	(Pa ⁻¹)
J_0	Compliancia instantánea	(Pa ⁻¹)
J_1	Compliancia retardada	(Pa ⁻¹)
K	Módulo de compresión	(Pa)
L	Longitud	(m)
PM_p	Peso molecular promedio	kDa
Q	Gasto volumétrico	(m ³)
R	Radio del tubo capilar	(m)
γ	Deformación de cizalla	(adimensional)
$\dot{\gamma}$	Velocidad de deformación de cizalla	(s ⁻¹)
γ_0	Amplitud de la deformación	(adimensional)
δ	Angulo de desfaseamiento	(°)
δL	Cambio en longitud	(m)
ε	Deformación	(adimensional)
ε_v	Deformación volumétrica	(adimensional)
η	Coefficiente de viscosidad	(Pa s)
η^*	Viscosidad compleja	(Pa s)
θ	Angulo de difracción	(°)
λ	Longitud de onda	(nm)
λ_{Ret}	Tiempo de retardo	(s)



ΔP	Caída de presión	(Pa)
μ	Viscosidad	(Pa s)
μ_1	Viscosidad residual del componente Maxwell	(Pa s)
σ	Esfuerzo normal	(Pa)
σ_i	Esfuerzo isotrópico	(Pa)
τ	Esfuerzo de cizalla	(Pa)
τ_o	Amplitud del esfuerzo cortante	(Pa)
ω	Frecuencia	(Hz)



RESUMEN

Las propiedades funcionales, de los carbohidratos en general y de las pectinas en particular, son y serán pieza fundamental dentro de la biotecnología y la ingeniería en alimentos. La extracción y caracterización de la funcionalidad de gelificación de pectinas de alto y bajo metoxilo ha sido el objetivo de este trabajo, el cual a su vez fue motivado por el deseo de aportar datos cuantitativos que permitan evidenciar el potencial del fruto de tejocote como fuente de pectinas comerciales y tener un punto de referencia para poder comparar estos datos con los obtenidos a partir de pectinas de origen cítrico que son las que dominan el mercado de este polímero.

Se obtuvieron extractos pectínicos del fruto maduro de tejocote mediante extracción ácida y posterior precipitación con etanol. Una parte de estos extractos fue desmetoxilada con hidróxido de sodio para obtener pectinas de bajo metoxilo, mismo procedimiento se realizó en la desmetoxilación de pectina cítrica comercial. Posteriormente se prepararon geles con las diferentes pectinas tomando en cuenta las necesidades particulares de sacarosa y calcio para cada tipo de pectina. Se realizó una caracterización desde el punto de vista reológico dentro de la zona de viscoelasticidad lineal para determinar los módulos de almacenamiento y pérdida de cada uno de los geles, se realizaron determinaciones de creep-relajación (también dentro de la zona de viscoelasticidad lineal) usando el modelo de Burges de 4 elementos para describir los resultados y poder tener los parámetros del modelo como medio de comparación de la funcionalidad de los 2 polímeros. La caracterización térmica permitió conocer las transiciones térmicas del polímero y el grado de cristalinidad. Finalmente la caracterización textural permitió hacer una comparación en función de la dureza, esponjosidad, coherencia, gomosidad, masticabilidad, elasticidad y adhesividad.



SUMMARY

The functional properties of carbohydrates in general and especially pectins, are and will be fundamental part of biotechnology and food engineering. The extraction and characterization of the functionality of pectin gelation high and low methoxyl has been the goal this work, which in turn was motivated by the desire to provide quantitative data to demonstrate the potential of the fruit of hawthorn as a source of commercial pectins and have a benchmark to compare these data with those obtained from citric origin which are dominating the market at the moment.

Pectinic extracts from mature fruits of hawthorn were obtained by acid extraction and subsequent ethanol precipitation, a portion of these extracts was demethoxylated with sodium hydroxide to obtain low methoxyl pectins, the same procedure was performed in the demethoxylation of citrus pectin commercial , subsequently gels were built with different pectins taking into account the particular needs of sucrose and calcium for each type of pectin. Characterization within the linear viscoelastic region was performed from the rheological point of view to determine the storage and loss moduli of each gel, creep-relaxation measurements (also within the linear viscoelastic region) were performed using Burges model of 4 elements to describe the results and use the parameters of the model as a way of comparison of the functionality of the two polymers. The thermal characterization permitted to know thermal transitions and the degree of crystallinity of the polymer. Finally the textural characterization allowed a comparison based on the Hardnes, Springiness, Cohesiveness, Gumminess , Chewiness , Elasticity and Adhesiveness.

1. INTRODUCCIÓN



1.1. Hidrocoloides

Los hidrocoloides, popularmente conocidos como gomas, se usan ampliamente en la industria de alimentos como agentes espesantes o gelificantes y para impartir sensaciones en la boca y otras características deseables. Generalmente se usan en bajas concentraciones y no contribuyen al sabor, aroma o valor nutritivo de los alimentos (Glicksman, 1986). Propiedades funcionales secundarias que resultan de la adición de las gomas incluyen la emulsificación, estabilización de suspensiones, habilidad para retener agua y formar complejos con proteínas y formar películas (Rao y Steffe, 1992; Badui, 2006). Las gomas alimenticias pueden clasificarse de acuerdo a criterios específicos por ejemplo, naturales o sintéticos, o iónicos y no iónicos. Otra clasificación en tres grupos depende del origen, que puede ser natural, semi-sintético o sintético como se muestra en la Tabla 1 (Rao y Steffe, 1992).

Tabla 1 Biopolímeros usados en alimentos y su clasificación en base a su origen

Natural	Semi-sintético	Sintético
Exudados de plantas	Derivados de celulosa	Polivinilpirrolidona (PVP)
G. arábica	Carboximetilcelulosa de sodio	
G. Tragacanto	Metilcelulosa	Polimeros de polióxido de etileno (Polyox)
G. Karaya	Hidroximetilcelulosa	
G. Gatti	Hidroxipropilmetilcelulosa	
Extractos de algas	Otros derivados	
Agar	Almidones modificados	
Alginatos	Pectinas de bajo metoxilo	
Carrageninas	Propilenglicoalginatos	
Furcellarana		
Provenientes de semillas		
Guar		
Algarrobo o Garrofin		
Mesquite		
Provenientes de cereales		
Almidones		
Extractos de plantas		
Pectinas		
Generadas en fermentación		
Xantana		
Dextrana		
De origen animal		
Gelatina		
Caseinatos		



La mayoría de las gomas alimenticias usadas en la industria de alimentos son polisacáridos y proteínas obtenidas de fuentes naturales y son comúnmente referenciadas como biopolímeros. Estos biopolímeros aportan un amplio espectro de características estructurales, forma molecular, tamaño y conformación en solución. Consecuentemente, sus soluciones tienen una amplia gama de propiedades reológicas. Se reconoce de forma general que las soluciones diluidas de biopolímeros muestran un comportamiento newtoniano y que las dispersiones concentradas muestran un comportamiento reo-fluidificante. Sin embargo, con muchos biopolímeros, tales como la goma xantana y el almidón, solo se pueden obtener dispersiones macromoleculares en lugar de dispersiones solubles verdaderas, las cuales exhiben estructura, rendimiento de esfuerzo y comportamiento dependiente del tiempo (Glicksman, 1986).

1.2. La pectina: orígenes

Con el nombre de pectinas se conoce a un grupo de polisacáridos que son componentes muy importantes de la pared celular de las plantas y son probablemente las moléculas más complejas de la naturaleza (Sengkhamparn, 2009). La pectina fue descubierta en 1790 por Vauquelin en los jugos de fruta. El científico francés Braconnot continuó el trabajo de Vauquelin y encontró que “una sustancia ampliamente disponible de plantas vivas y ya observada en el pasado, tenía propiedades gelificantes cuando se le añadía ácido a su solución”. La llamó “pectina ácida” del griego “pectos” que significa sólido, coagulado. La pectina fue definida por Kertesz, en 1951, como los ácidos pectínicos solubles en agua de grado de metilación variable que son capaces de formar geles con azúcar y ácido bajo condiciones determinadas. Esta definición abarca la gelificación con calcio de los ácidos pectínicos, definidos por Kertesz o como los ácidos poligalacturónicos coloidales aislados de plantas conteniendo una cierta proporción de grupos metiléster. De ahí que también el término pectina se usa colectivamente para incluir ácido péctico, la forma de pectina completamente desesterificada (Pagan, 1996). La pectina es un ingrediente funcional ampliamente valorado en la industria alimentaria



por sus propiedades gelificantes y estabilizantes (Willats *et al.*, 2006). El consumo anual mundial se calcula en 45 000 toneladas con un valor total en el mercado de al menos 400 millones de euros (Willats *et al.*, 2006).

1.3. Localización

Así como el almidón y la celulosa, la pectina es un carbohidrato estructural y es polidisperso, es decir, está constituido por una mezcla de cadenas de distintos pesos moleculares. Las sustancias pécticas se encuentran en la mayor parte de los tejidos vegetales y muy especialmente en los tejidos parenquimáticos y meristemáticos donde las zonas más ricas corresponden a la pared primaria y la lámina media, ahí se encuentra asociada con otros componentes de la pared celular como celulosa, hemicelulosa y lignina, estas zonas son particularmente ricas en pectina en donde tiene la función de cemento intercelular (D'Addosio *et al.*, 2005). Específicamente la lámina media forma una capa amorfa intercelular entre las paredes primarias de células adyacentes y se considera que la pectina es el primer material depositado por el citoplasma en esta zona. Es una zona libre de celulosa y está compuesta por polímeros pécticos, tanto en su forma libre como de sales cálcicas. La pared primaria es la estructura que se expande y acomoda durante el crecimiento de la célula. La localización de estas sustancias ha sido precisada por microscopía y micrografía electrónica. En estas zonas de la célula, la protopectina, término utilizado para designar a las sustancias pécticas recién sintetizadas e insolubles de los tejidos vegetales, se halla asociada a los otros constituyentes de la membrana (celulosa, hemicelulosa, lignina, etc.) mediante uniones físicas y/o químicas, aún mal conocidas, actuando como cementante intercelular y dando así rigidez a los tejidos, algunas de estas uniones son:

- 1.- Enlaces covalentes entre las moléculas pécticas y otros constituyentes celulares (especialmente hemicelulosas), y una asociación de otros polímeros celulares mediante enlaces secundarios.
- 2.- Puentes de hidrógeno entre poligalacturónidos y otros componentes.



3.- Uniones entre cationes divalentes especialmente Ca^{2+} y las funciones ácidas, produciendo la insolubilización de las sustancias pécticas poco esterificadas y una reducción en el aumento de las altamente esterificadas.

4º Un entramado físico-mecánico entre las macro moléculas pécticas, una con otra, o con otros polímeros de la célula.

La estructura y estado de la protopectina es aún bastante desconocida, a pesar de haber transcurrido más de un siglo desde su descubrimiento. La naturaleza de las sustancias pécticas que constituyen la protopectina evoluciona con la edad del tejido, y de una forma muy manifiesta cuando se trata de frutos. Hasta la maduración son insolubles, participando así en mantener la rigidez; pero alcanzada esta fase se va produciendo una degradación de la laminilla media (generalmente de tipo enzimático), con aparición de meatos intercelulares donde se acumulan los compuestos pécticos, que poco a poco absorben agua y se solubilizan parcialmente. Estas variaciones tienen gran importancia, sobre todo en el reblandecimiento de los frutos durante las últimas fases de su desarrollo y maduración (Pagan, 1996). El contenido en pectinas de los tejidos vegetales varía según el origen botánico y anatómico de la planta.

La función biológica que realiza la pectina en las plantas no está del todo clara, se sabe que estos biopolímeros fijan una gran proporción (alrededor del 30%) de los polisacáridos de muchas plantas. El ión calcio favorece el establecimiento de los enlaces entrecruzados requeridos en la adhesión celular y para darle textura al tejido y a la pared celular. A pesar del alto grado de metilación de las pectinas en las partes crecientes de la planta, deben existir regiones dentro de las pectinas capaces de inducir a formar enlaces entrecruzados con ión calcio (Jarvis, 2011).

Para fines industriales, la fuente de obtención se restringe principalmente a las cáscaras de frutos cítricos conteniendo cerca del 25% (en base seca) de sustancias pécticas y del bagazo de manzana rindiendo alrededor del 15 - 18% de pectina. Otras fuentes de pectina incluyen mango, residuos de girasol y guayaba, entre otros (Higareda *et al.*, 1995a; D'Addosio *et al.*, 2005).



1.4. Estructura química

Actualmente, la pectina se considera uno de los polisacáridos más complicados en relación con sus características estructurales, pues cuenta con bloques irregulares de cadenas de azúcares y contiene varios segmentos macromoleculares de regiones lineales y ramificadas (Ovodova *et al.*, 2005). Se han identificado más de 17 diferentes monosacáridos en la estructura de pectinas de diferentes plantas pero el mayor constituyente es el polímero homogalacturonano que es una cadena lineal de (1-4)- α -D-ácido galacturónico (Fishman *et al.*, 2007). Para que un polisacárido pueda ser considerado como pectina, su contenido de ácido galacturónico debe ser por lo menos del 65% (FAO, 2007).

Otras secuencias estructurales presentes en la pectina incluyen al xilogalacturonano en el cual algunos residuos galacturonatos en una secuencia homogalacturónica están ligados a monómeros de β -D-xilosa; al ramnogalacturonano I, el cual tiene una secuencia regular del disacárido formado por α -D-ácido galacturónico (1-2)- α -D-ramnosa; al arabinano el cual está formado completamente por residuos de α -L-arabinosa presentes tanto en una estructura lineal con enlaces (1-5) como forma ramificada de monómeros y oligómeros; al arabinogalactano I el cual tiene una estructura lineal de residuos de β -D-galactosa con enlaces (1-4) algunos de los cuales forman ramificaciones con monómeros de α -L-arabinosa y a los arabinogalactanos II en los cuales las cadenas laterales son cortas usualmente ramificadas y los oligómeros contienen residuos tanto de α -L-arabinosa como β -D-galactosa unidos con enlaces (1-3) a una cadena central de β -D-galactano. El arabinogalactano II tiene una asociación cercana con proteínas y aun no se establece si esta interacción proteína-arabinogalactano II forma parte de la molécula de pectina o está presente como un contaminante; el ramnogalacturonano II es el constituyente más complejo de la pectina, contiene ácido galacturónico, glucosa, galactosa, xilosa y ramnosa, así como otros azúcares que no son tan comunes en los polisacáridos (Willats *et al.*, 2006; Agoub *et al.*, 2009). Las pectinas son muy irregulares con respecto a su peso molecular y estructura química, comúnmente su peso molecular promedio (PM_P) oscila entre

20000 y 300000 Da, pero al igual que la composición y estructura depende de la fuente y las condiciones de extracción (Pagan, 1996; D'Addosio *et al.*, 2005; Vivar, 2005a).

El grado de esterificación (GE) es un factor importante que caracteriza a las cadenas de pectinas y es el porcentaje del número total de grupos carboxilo presentes en la molécula que se encuentran esterificados con metanol en relación al total de unidades de ácido galacturónico, siendo el máximo teórico 100%. Las pectinas pueden clasificarse comercialmente en pectinas de alto metoxilo (Figura 1a), con un GE de 50-90% y pectinas de bajo metoxilo (Figura 1b), con un GE 25 a 50% (Higareda *et al.*, 1995a; Vivar, 2005a).

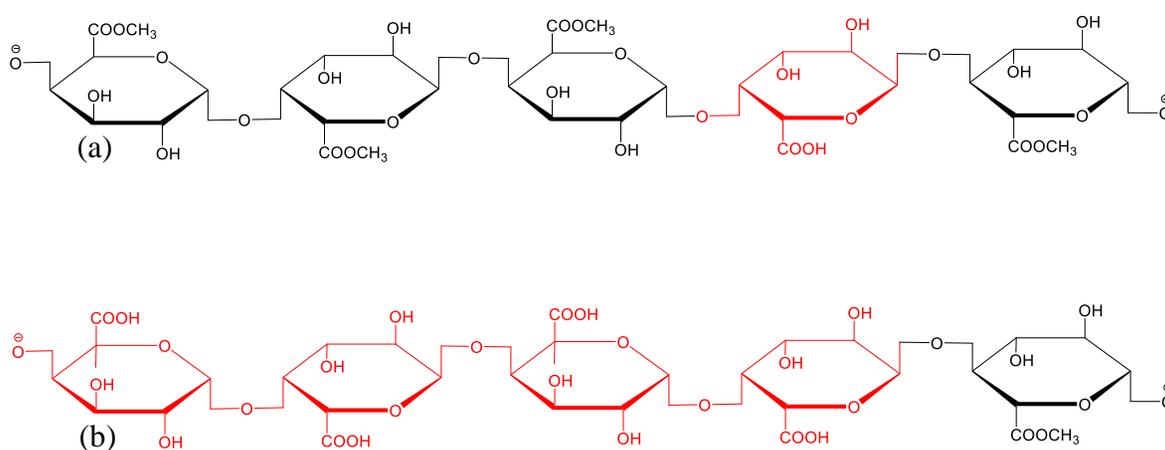


Figura 1 Estructuras químicas de una pectina de alto metoxilo (a); Pectina de bajo metoxilo (b)

De acuerdo al número de grupos carboxílicos esterificados en la cadena del polímero, Kertesz los clasificó dándole diferentes nombres (Pagan, 1996):

- Protopectinas: Si todos los carboxilos están esterificados.
- Ácidos pectínicos: Si solo una parte, pero mayoritaria de los carboxilos está esterificada. Las sales de estos ácidos se llaman pectinatos.
- Pectinas: Son los ácidos pectínicos, solubles en agua caliente, con un contenido medio de éster metílico. La principal característica es su capacidad de formar geles en presencia de suficientes sólidos solubles, ácidos o iones polivalentes.



- **Acidos pécticos:** Estos compuestos no poseen grupos carboxílicos esterificados. Las sales de éstos se denominan pectatos y reaccionan fácilmente con los iones calcio de las células para producir compuestos insolubles en los jugos de frutas, dando un precipitado visible comúnmente en la separación de fases en los néctares.

El grado de metilación tiene un papel importante en la firmeza y cohesión de los tejidos vegetales. La reducción del grado de metilación tiene como consecuencia un aumento de la cohesión, que es particularmente evidente en tejidos calentados.

El efecto de fortalecimiento de los tejidos implica dos fenómenos separados. En tejido fresco, la formación de carboxilos libres incrementa las posibilidades y la fortaleza de los enlaces calcio entre polímeros. En los tejidos calentados se da la combinación de un incremento de los enlaces de calcio y un decremento de la susceptibilidad de la pectina a despolimerizarse por β -eliminación (Pagan, 1996) Frecuentemente cadenas de arabinanos, galactanos y arabinogalactanos están unidas a la ramnosa dando lugar a la formación de zonas altamente ramificadas denominadas “regiones pesadas o pilosas”

1.5. Propiedades

Las pectinas son generalmente solubles en agua, los incrementos en el peso molecular y fuerza iónica así como la disminución en el grado de esterificación reducen su solubilidad. El ácido péctico y las sales divalentes de ácido péctico son esencialmente insolubles en agua. Sin embargo, se pueden convertir en sales monovalentes por ejemplo pectatos de sodio o potasio para devolverles su solubilidad. En estado sólido las pectinas existen en hélices dextrógiras estabilizadas por puentes de hidrógeno inter e intramoleculares. En solución las pectinas adoptan conformaciones helicoidales aleatorias con algún grado de rigidez. La longitud persistente de las cadenas de pectina, obtenidas experimentalmente o predichas de forma teórica está en el rango de 2 a 31 nm. El exponente de Mark-Houwink esta generalmente en el rango de 0.8 a 0.9 lo que corresponde a una



conformación semirrígida (Cui 2005). Entre las propiedades funcionales de las pectinas, la capacidad de formar geles, es la más importante y representativa ya que no todos los hidrocoloides la presentan. Forman geles en medio ácido en presencia de grandes cantidades de azúcar, situación que se produce en las mermeladas, una de sus aplicaciones fundamentales. Otras propiedades de las pectinas son la capacidad espesante, la capacidad estabilizante y la emulsificante, (Higareda *et al.*, 1995b; Vivar, 2005a;).

Se puede establecer que las propiedades funcionales (capacidad espesante, estabilizante, emulsificante y gelificante) y químicas (contenido de metoxilo, contenido de ácido galacturónico y grado de esterificación) en la molécula de pectina son función de la naturaleza de la planta, del estado de maduración y de la metodología de extracción, estableciéndose variaciones en cuanto al contenido y calidad de pectina (D'Addosio *et al.*, 2005). Los factores que determinan la capacidad de gelificación de las pectinas de alto metoxilo (PAM) y las características del gel (fuerza y temperatura de gelificación) son el pH, concentración de cosolutos, temperatura, concentración y tipo de pectina. Sin embargo, la forma en la cual estos factores influyen en la gelificación, depende del PM_P , GE, presencia de ésteres de acetato y heterogeneidad. Las PAM pueden ser clasificadas en rápida y lenta gelificación (Tabla 2) de acuerdo a la velocidad a la cual la estructura de gel se desarrolla, cerca de la temperatura de gelificación. La velocidad de gelificación disminuye conforme disminuye el GE (Vivar-Vera *et al.*, 2005b).

1.5.1. Pectinas de alto metoxilo (PAM)

Las pectinas de alto metoxilo, son capaces de formar geles en productos con más de 55% de azúcares, a pH entre 2.2 y 3.3 y con un contenido en pectina de 0.3 al 0.5% (Oakenfull y Scott, 1984).



Tabla 2 Tipos de pectina de alto metoxilo y sus características

Tipo de pectina	Grupos carboxílicos esterificados	Temperatura de gelificación	Tiempo de gelificación
Gelificación rápida	>68%	Relativamente alta	Corto
Gelificación media	>60% y <68%	Media	Medio
Gelificación lenta	>60%	Baja	Largo

Según Doesburg (1965), citado en (Pagan, 1996), durante el proceso de gelificación de las PAM inicialmente la pectina se encuentra totalmente hidratada y con pH ácido, la estabilidad de este sistema se rompe al adicionarle sacarosa, que disminuye la actividad de agua y permite la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas de poligalacturónidos, además de un entramado físico-mecánico entre las macromoléculas pécticas, una con otra que termina formando la red tridimensional en donde se quedan atrapadas las moléculas de agua, sacarosa y sales (Figura 2).

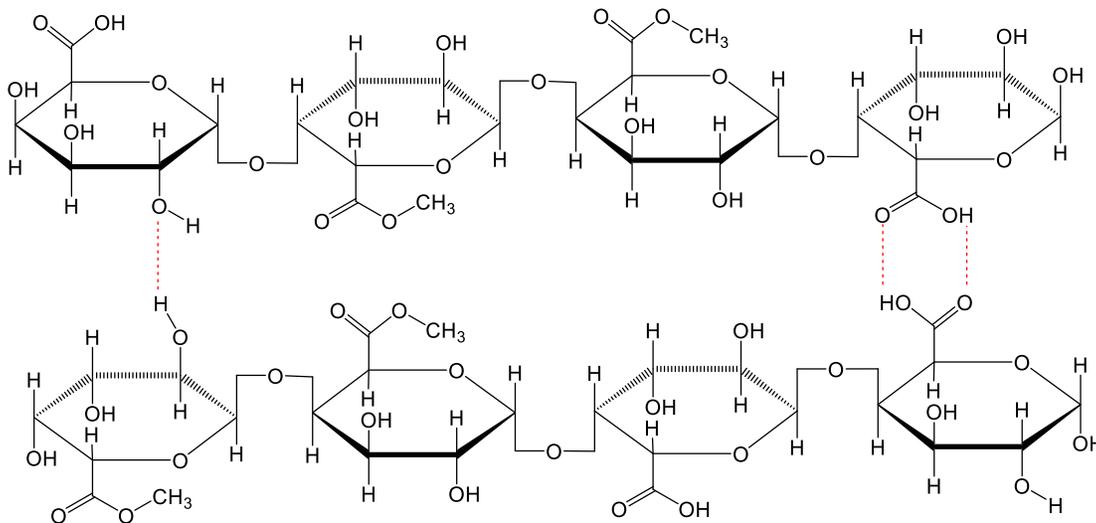


Figura 2 Estructuras propuestas de las interacciones que se forman en un gel de PAM

1.5.2. Pectinas de bajo metoxilo (PBM)

Las PBM forman geles en presencia del catión divalente del calcio (Figura 3). El mecanismo de gelificación de las PBM involucra la formación de zonas de unión entre dos cadenas diferentes de pectinas por medio de enlaces de coordinación entre los orbitales vacíos del ión calcio (Ca^{2+}) y los electrones libres de los átomos de oxígeno de los grupos carboxilo libres y de los grupos hidroxilo (Angyal, 1989). El ión calcio es particularmente efectivo formando complejos con carbohidratos, en gran parte debido a que su radio iónico de 0.1 nm es lo suficientemente largo como para coordinar con átomos de oxígeno que corresponden a muchos azúcares (Pagan, 1996).

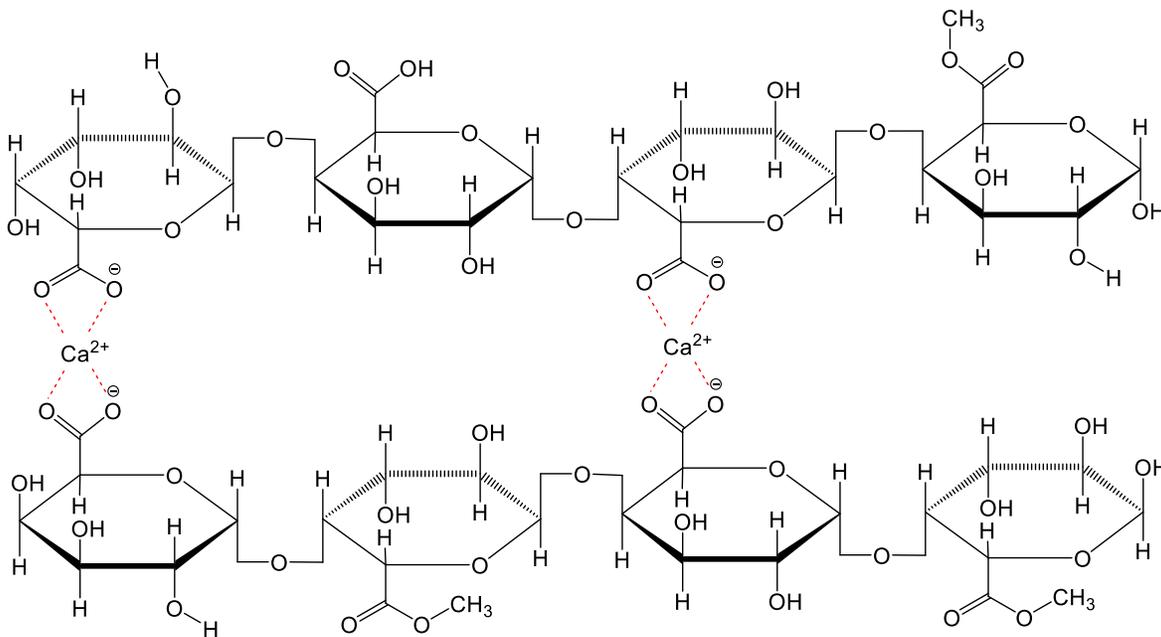


Figura 3 Estructuras propuestas de las interacciones que se forman en un gel de bajo metoxilo

Para la coagulación inducida por el calcio ha sido propuesta una llamada estructura de “caja de huevo” (Figura 4) por Rees *et al.* (1982) citado en Pagan (1996), en la que los iones calcio interactúan iónicamente y están coordinados con funciones oxigenadas de dos cadenas adyacentes, originando un cruzamiento de cadenas.

Los enlaces cruzados de calcio llegan a ser más estables por la presencia de enlaces cruzados vecinales cooperativos.

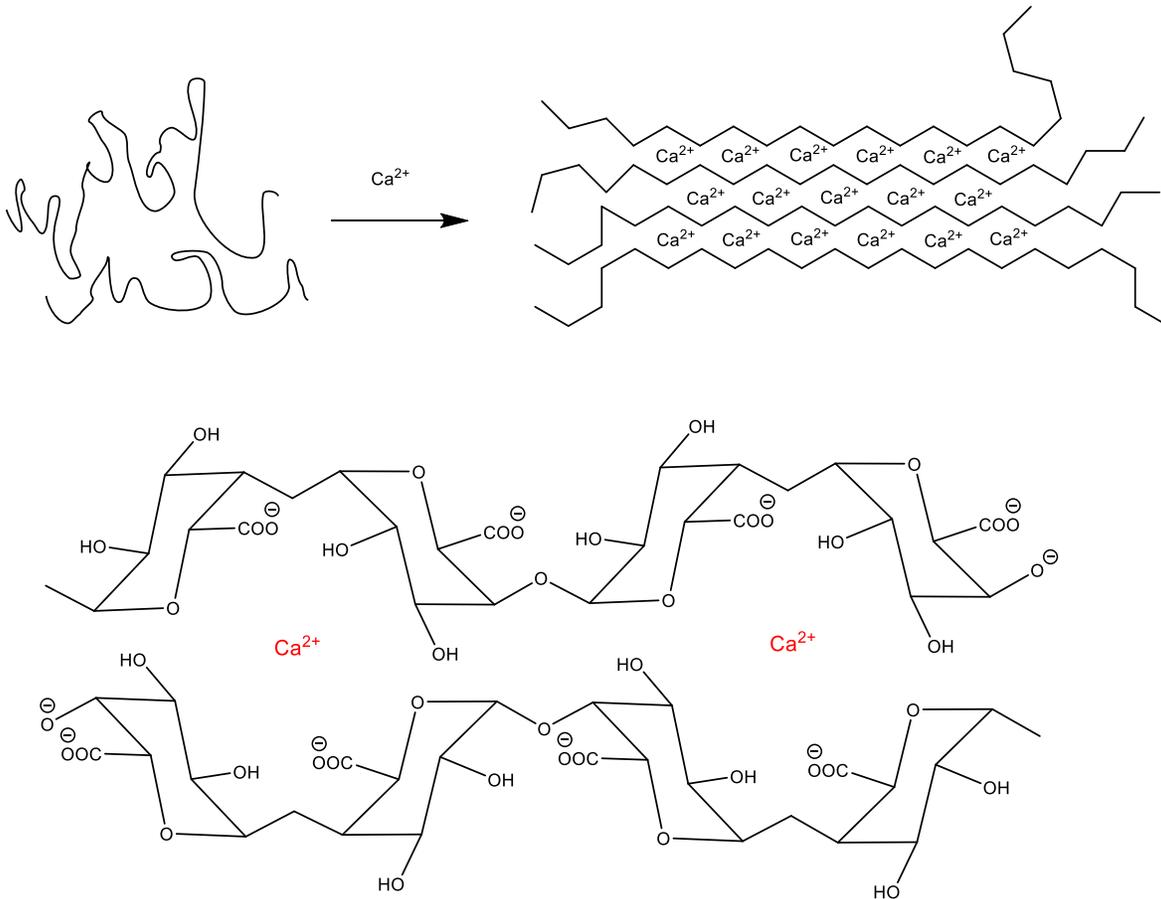


Figura 4 Representación esquemática del modelo “caja de huevo” para la gelificación de pectina de bajo metoxilo.

El PM_P , número de grupos carboxilo esterificados y de grupos acetilo, número de inserciones de ramnosa y de cadenas de otros azúcares en la cadena principal y distribución de los grupos carboxilo cargados negativamente en la pectina, determinan la fuerza o rigidez del gel de PBM. El proceso de gelificación está determinado por la concentración de pectina y calcio, pH, contenido de sólidos solubles y temperatura. Los geles formados con PBM obtenidas por métodos químicos y enzimático con Pectinmetilesterasa (PME) de *Aspergillus niger* y *japonicus* forman geles fuertes, mientras que las PBM obtenidas con PME de naranja y jitomate forman geles débiles, por lo que se generalizó el hecho de que



las PBM obtenidas por el método químico y con PME de *Aspergillus* formaban geles fuertes, y que las PMEs de origen vegetal forman geles débiles. Sin embargo estudios posteriores indican que PBM obtenidas con PMEs de higo y de cáscara de limón, forman geles más fuertes que las PBM obtenidas con PME de naranja y que las PBM obtenidas con NaOH. Debido a la capacidad de las PBM de formar geles termorreversibles son utilizadas en productos susceptibles de calentarse.

1.6. Usos

Los geles de pectina son la base para crear o modificar la textura de una variedad muy grande de alimentos (incluso algunos bajos en grasa). La pectina juega un papel fundamental en el procesamiento de los alimentos como aditivo y como fuente de fibra dietética. Es también utilizada como ingrediente en preparaciones farmacéuticas como antidiarreicos (Pagan, 1996) y desintoxicantes, entre otros. Además, reduce la intolerancia a la glucosa en diabéticos e incluso bajan el nivel del colesterol sanguíneo y de las lipoproteínas de baja densidad. El mecanismo exacto de este fenómeno no se conoce con precisión, pero parece estar ligado a que las pectinas promueven una mayor eliminación fecal de esteroides (D'Addosio *et al.*, 2005). En México existen diversos frutos que representan fuentes potenciales alternativas de PAM como las del fruto de tejocote.

1.7. El tejocote

El tejocote *Crataegus pubescens* (H.B. K.) Steud., también identificado como *Crataegus stipulosa* (Kunth) Steud., *Crataegus succulenta* y *Crataegus mexicana*, pertenece a la familia Rosaceae.

La especie *Crataegus pubescens* produce el fruto más grande de todo el género; en estado inmaduro son verdes y duros, maduros son de color amarillo-anaranjado,



con pulpa de color amarillo y de sabor agridulce con tendencia a ácido. Los principales macronutrientes son los carbohidratos, de los cuales las pectinas (90%) son los carbohidratos mayoritarios. La comercialización de los frutos maduros se destina al consumo en fresco y a la preparación de dulces, compotas, ates y mermeladas a nivel casero y artesanal. El uso que se le ha dado al tejocote es limitado y durante la temporada de cosecha, una parte de la producción se desperdicia, habiendo pérdidas de hasta 50% de la producción. Se han realizado diversos estudios para mejorar el uso y aprovechamiento del tejocote como son: conservación del tejocote, cultivo y procesamiento a nivel industrial, extracción de pectinas, diseño y factibilidad de plantas para su obtención; sin embargo, es importante fomentar el uso del tejocote y crear una expectativa de su potencialidad como recurso alimentario, incluyendo el estudio de propiedades funcionales (Franco-Mora *et al.*, 2010)

Una característica del tejocote es el contenido de sustancias pécticas, las cuales en el fruto actúan como “pegamento”, siendo responsables de la cohesión, firmeza y retención de sus tejidos y por lo tanto de los cambios de textura que se presentan durante las etapas de maduración. En estado inmaduro, los frutos contienen sustancias pécticas unidas a proteínas, celulosas y hemicelulosas formando protopectinas insolubles. La maduración de las frutas, incluye la hidrólisis enzimática y despolimerización de las protopectinas de la pared celular, dando lugar a la formación de pectinas solubles. Debido al carácter hidrocoloide de las pectinas tienen una amplia aplicación (Vivar, 2005a).

Las pectinas de alto metoxilo (PAM) están en plantas y frutos. El fruto en estado inmaduro contiene pectinas que están altamente esterificadas (protopectinas) y conforme madura son desesterificadas por hidrólisis enzimática de pectinmetilesterasas (Verlent *et al.*, 2003b). En la pared celular de un fruto intacto, el contenido de pectinas y su GE depende de la variedad, madurez, cosecha y tratamiento. Los cítricos y el bagazo de manzana son las fuentes de pectinas comerciales; debido a su alto contenido de pectinas (15-18% en cítricos y 20-30% en manzana). El tejocote puede ser utilizado como fuente de PAM por su contenido de pectinas (17-25%). La extracción de pectinas consiste en un pre-tratamiento para



eliminar partículas y compuestos de bajo PM, obtener pectina soluble en medio ácido, separar residuos, precipitar la pectina, neutralizarla, purificarla y secarla (Alonso *et al.*, 1997).

1.8. Tensores de esfuerzos y deformación

En la caracterización del comportamiento reológico de pectinas de alto metoxilo de origen cítrico se han usado principalmente métodos dinámicos y transientes. Los métodos transientes incluyen stress-relajación (aplicación de una deformación constante e instantánea y la medición de la caída en el esfuerzo con respecto al tiempo) y creep (aplicación de un esfuerzo constante e instantáneo y la medición del incremento en la deformación con respecto al tiempo). Las determinaciones dinámicas tienen lugar con la aplicación de una pequeña deformación (o esfuerzo) sinusoidal y la medición del esfuerzo (o deformación) resultante; es importante enfatizar que las deformaciones (y esfuerzos) usadas son muy pequeñas, a menudo en el orden del 1 a 5 % para asegurar que la respuesta del material este dentro de la zona lineal, rango en donde el esfuerzo es proporcional a la deformación aplicada (Gunasekaran y Mehmet, 2000). Con el actual control de esfuerzo en los reómetros se ha podido determinar el desempeño de los estudios dinámicos en deformaciones pequeñas, estos métodos no destructivos proporcionan un conocimiento mayor del comportamiento reológico de diferentes tipos de geles (Alonso-Mougán *et al.*, 2002). La fuerza es una cantidad física cuya acción puede alterar el estado de movimiento de un cuerpo o su forma o dimensiones. Para describir una fuerza necesitamos especificar la dirección en la cual actúa así como su magnitud lo cual deja en claro que es un vector. El efecto de la fuerza también depende de su línea de acción y punto de aplicación, entendiendo como línea de acción a una línea de longitud indefinida de la cual el vector fuerza es una parte. La fuerza esta descrita por la segunda ley de Newton del movimiento $F=ma$, donde F es la fuerza m es la masa y a es la aceleración. Cuando un cuerpo se mueve de un punto a otro, el vector dibujado del primer punto al segundo se llama desplazamiento, el desplazamiento



tiene unidades de longitud. La deformación es el cambio en el tamaño o forma de un cuerpo debido a la acción de fuerzas aplicadas y tiene unidades de longitud. Tanto el desplazamiento como la deformación son vectores. En un sistema de coordenadas cartesianas (de 3 dimensiones) el vector requiere al menos 3 números para estar completamente definido.

El esfuerzo (stress) se puede definir como la respuesta o reacción interna de un material a una fuerza aplicada. La intensidad de la reacción de esta fuerza depende del área en la que las fuerzas actúen y se expresa como fuerza por unidad de área cuando el área (A) se aproxima a cero 0. Se debe especificar también el plano en el cual se mide el esfuerzo y por lo tanto el esfuerzo es una entidad tensorial de la cual se requiere especificar 3 cosas (dirección de la fuerza, magnitud de la fuerza y plano de acción). Un tensor normalmente requiere 9 valores para estar completamente definido en un espacio de 3 dimensiones. De acuerdo a la forma en que actúa la fuerza con respecto a la superficie (perpendicular o paralela), el esfuerzo puede clasificarse como esfuerzo normal (σ) ó esfuerzo de cizalla (τ) y generalmente se puede expresar de la siguiente forma:

$$\sigma \text{ o } \tau = \lim_{\delta A \rightarrow 0} \left(\frac{F}{\delta A} \right) \quad (1)$$

En general el esfuerzo en un punto tiene 9 componentes y se especifica con una matriz de orden 3 (Figura 5). Donde σ_{xx} , σ_{yy} , σ_{zz} son los esfuerzos normales al elemento de volumen mostrado en la Figura 5, mientras que τ_{xy} , τ_{xz} , τ_{yz} , τ_{yx} , τ_{zx} y τ_{zy} son los esfuerzos de cizalla. Se puede mostrar que para un cuerpo isotrópico, homogéneo y continuo, las 6 componentes de esfuerzo de cizalla no son independientes ($\tau_{xy} = \tau_{yx}$, $\tau_{xz} = \tau_{zx}$ y $\tau_{yz} = \tau_{zy}$) y se requieren solo 3 de éstas para una completa definición.

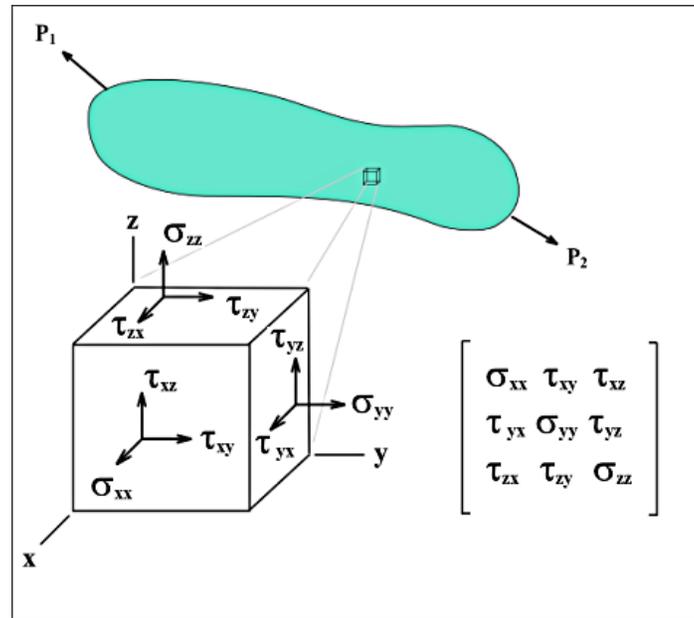


Figura 5 Tensor de esfuerzo para una unidad de volumen en los ejes x, y y z

La deformación (strain) es el cambio relativo en dimensión o forma de un cuerpo sujeto a un esfuerzo. La deformación es por tanto una reacción inducida por el esfuerzo y hay diferentes tipos de deformaciones que corresponden a diferentes tipos de esfuerzos. La deformación también es una entidad tensorial la cual se expresa como la relación entre el cambio en la dimensión y la dimensión original y por tanto es adimensional. La especificación de la deformación en un punto es análoga al esfuerzo y requiere 9 números (en un sistema de 3 dimensiones) para definirse. La componente normal de la deformación se define como la fracción de cambio en la longitud original de una línea y se designa por el símbolo ε con subíndices que indican la dirección del eje en el que se mide la deformación. De esta forma de la Figura 6, el valor de ε_{11} en el caso de una deformación (en un sistema bidimensional) en el punto O está dado por:

$$\varepsilon_{xx} = \lim_{OC \rightarrow 0} \left(\frac{O'C' - OC}{OC} \right) \quad (2)$$

De forma similar otra deformación normal está dada por

$$\varepsilon_{yy} = \lim_{OE \rightarrow 0} \left(\frac{O'E' - OE}{OE} \right) \quad (3)$$

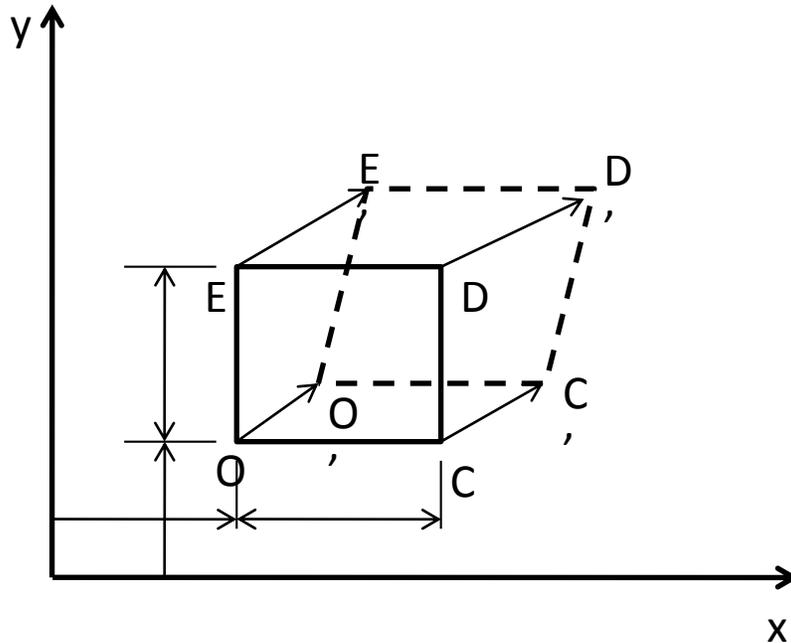


Figura 6 Deformación de un elemento unitario (OCDE) en una superficie plana x, y

De la definición anterior de los componentes de la deformación normal es evidente que la deformación normal es positiva cuando la línea se alarga y negativa cuando se contrae. La componente de cizalla de la deformación se especifica con respecto a 2 ejes los cuales son perpendiculares en el cuerpo sin deformar y se denotan con el símbolo γ_{ij} . Para deformaciones de cizalla pequeñas es correcto definir las en términos de cambio en el ángulo (θ , en radianes) o como la tangente de este cambio en el ángulo. Con esta definición y a partir de la Figura 6, el valor de la deformación de cizalla en el punto O sería:

$$\gamma_{xy} = \theta = \lim_{OC \rightarrow 0} (\angle COE - \angle C'O'E') \quad (4)$$

Desde un punto de vista reológico, la respuesta del material a una fuerza es dicotómica en dos formas extremas, la deformación puramente elástica de un sólido y la deformación puramente viscosa de un líquido.

El elemento elástico ideal llamado sólido de Hooke tiene una magnitud en la deformación proporcional a la magnitud en la fuerza aplicada. Este elemento es representado por un resorte y tiene una constante reológica llamada módulo elástico el cual se define como la relación del esfuerzo con la deformación. Dependiendo de



la metodología de aplicación de la fuerza se pueden obtener 3 tipos de módulos para un sólido Hookeano. El módulo de Young (E) se obtiene de la aplicación de la fuerza de forma perpendicular al área definida para el esfuerzo y se expresa como:

$$E = \left(\frac{\sigma}{\varepsilon} \right) \quad (5)$$

Donde σ es el esfuerzo y ε la deformación que se puede expresar como:

$$\varepsilon = \frac{\delta L}{L} \quad (6)$$

El módulo de cizalla o el módulo de rigidez (G) se obtiene de la aplicación de una fuerza en paralelo con el área definida para el esfuerzo o la fuerza de corte. El módulo de rigidez es una medida de la resistencia del material al cambio en la forma y se define como la relación del esfuerzo de cizalla con la deformación de cizalla y se puede expresar como:

$$G = \left(\frac{\tau}{\gamma} \right) \quad (7)$$

Si la fuerza es aplicada en todas direcciones (isotrópicamente) lo que se obtiene es un cambio en el volumen original del cuerpo y con ello se obtiene el módulo de compresión (K)

$$K = \left(\frac{\sigma_i}{\varepsilon_v} \right) \quad (8)$$

Donde σ_i es el esfuerzo isotrópico y ε_v es la deformación volumétrica (cambio de volumen/volumen original).

Ya que la deformación es proporcional a la fuerza aplicada y se consideran unidades de área y de longitud en su cálculo, los módulos elásticos son constantes fundamentales de la materia

1.8.1. Comportamiento viscoelástico

Los materiales viscoelásticos son aquellos que presentan conjuntamente propiedades de flujo viscoso y sólido elástico. En ambas, el esfuerzo cortante es función del flujo viscoso y de la deformación elástica, estos materiales se caracterizan por la presencia de una estructura tridimensional incompleta que se destruye por la aplicación de un esfuerzo y solo se recupera parcialmente cuando



el esfuerzo es removido. Mientras más completa y resistente a la ruptura es la estructura, mayor es su elasticidad, ya que toda la energía de la deformación se almacena y puede recuperarse completamente. Por otro lado, mientras más fácil se rompa su estructura, mayor es su comportamiento viscoso, ya que toda la energía requerida para producir la deformación se disipa en forma de calor (Vivar, 2005a).

El estudio y caracterización del comportamiento viscoelástico de un material se puede clasificar en dos categorías: métodos estáticos y métodos dinámicos. La caracterización dinámica constituye el método más común para el estudio del comportamiento viscoelástico de un número importante de alimentos, como en la evaluación de la fuerza de geles, debido a que se obtienen resultados rápidos con mínimos cambios físicos y químicos (Rao y Steffe, 1992).

En los estudios dinámicos, las muestras se someten a una deformación oscilatoria continua, la cual es sinusoidal, a una frecuencia ω (Hz) y a una amplitud de onda pequeña (para mantener el comportamiento viscoelástico lineal del material) en función del tiempo. La respuesta del material, dependerá de la variación de la deformación, midiéndose la magnitud y el desfase de la onda sinusoidal de esfuerzos resultante; el ángulo de desfase del esfuerzo con respecto a la deformación relativa es δ . Para una respuesta perfectamente elástica, la onda sinusoidal está en fase con la deformación aplicada, es decir $\delta = 0$; mientras que para un sistema puramente viscoso, el esfuerzo está 90° fuera de fase con la deformación, es decir, existe un desfase de 90° (Figura 7). En los materiales viscoelásticos, el ángulo de desfase está comprendido entre 0 y 90° (Vivar, 2005a). Con este tipo de estudios, se determinan varias propiedades viscoelásticas del material, el módulo de almacenamiento o componente elástica (G'), que es una medida de la energía almacenada y representa la parte elástica del material. El módulo de pérdida o componente viscosa (G''), es una medida de la energía disociada como calor y representa el carácter viscoso del material.

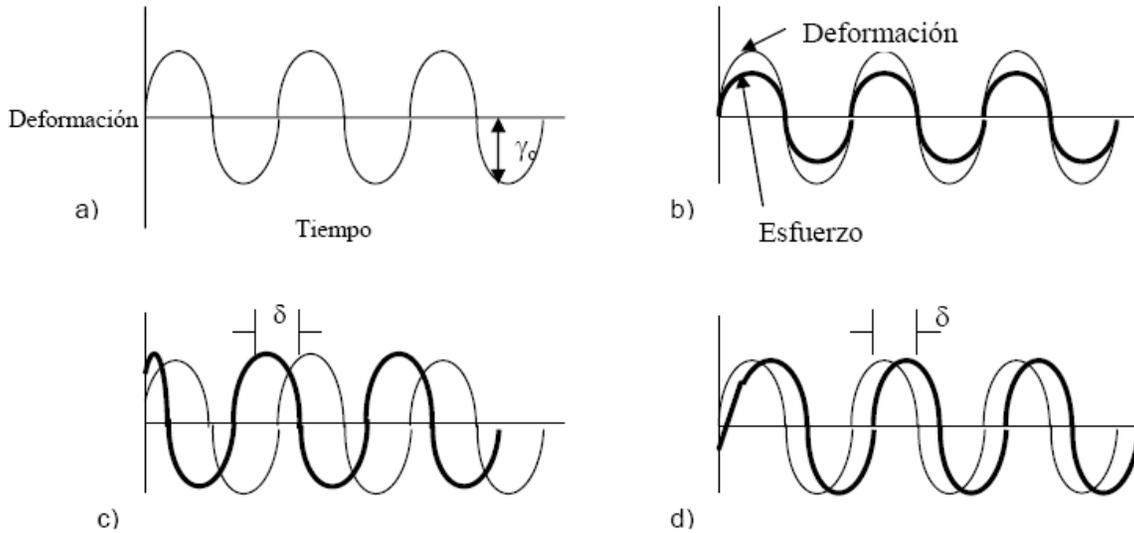


Figura 7 Respuesta de un material en estudios dinámicos: a) experimento dinámico, b) material sólido elástico, c) material puramente viscoso, d) material viscoelástico.

Ambos módulos son funciones de la frecuencia y se pueden expresar en términos de la relación de amplitudes (τ_0/γ_0) y el ángulo de desfaseamiento:

$$G' = \left(\frac{\tau_0}{\gamma_0}\right) \cos(\delta) \quad (9)$$

$$G'' = \left(\frac{\tau_0}{\gamma_0}\right) \sen(\delta) \quad (10)$$

Donde γ_0 es la amplitud de la deformación (Adimensional); τ_0 es la amplitud del esfuerzo cortante al deformar la muestra (Pa) y δ es el ángulo de desfaseamiento.

Otra función utilizada para describir el comportamiento viscoelástico de materiales es la tangente del ángulo de desfaseamiento, denominado tan delta o $\tan \delta$, que es también una función de la frecuencia.

$$\tan(\delta) = \frac{G''}{G'} \quad (11)$$

La $\tan \delta$, es un parámetro adimensional, es una medida de la relación entre la cantidad de energía disipada y la energía almacenada, es decir, la relación entre la porción viscosa y elástica de la muestra.



Para una comprensión adecuada de los parámetros anteriormente descritos, es importante tener en cuenta el comportamiento ideal de un material. En un material elástico ideal (sólido de Hooke), el esfuerzo y la deformación están en fase y por tanto $\delta=0$, por consecuencia $G''=0$, ya que no hay disipación viscosa de energía; G' es una constante e igual al módulo de rigidez G . En una sustancia viscosa ideal (fluido Newtoniano), el esfuerzo y la deformación estarán desfasados 90° y por consecuencia $G'=0$, ya que el material no almacena energía.

1.8.2. Creep-relajación

En reología usualmente hay dos determinaciones cuasiestáticas realizadas para explicar el comportamiento viscoelástico de los materiales alimenticios y por tanto hacer una determinación preliminar de su comportamiento mecánico, estas 2 pruebas son conocidas como “esfuerzo-relajación” y “creep”. Cabe hacer notar que hay otras determinaciones muy usadas por ejemplo velocidad constante de deformación y dinámica. Esfuerzo-relajación (la cual puede que no se use en todas las combinaciones de modelos) implica la aplicación de una deformación instantánea a un cuerpo manteniendo esta deformación constante a través de la prueba. La forma en que el esfuerzo resultante es relajado por el material es monitoreado como una función del tiempo.

$$\gamma = cte; \tau = f(t)$$

A la otra determinación básica se le conoce como creep y en esta la muestra es sujeta a una carga constante o esfuerzo y la deformación resultante de la muestra se monitorea como una función del tiempo (puede haber variaciones en ambas determinaciones sin embargo estos son los principios básicos).

$$\gamma = f(t); \tau = cte$$

En la conceptualización del comportamiento reológico se hace uso de modelos mecánicos carentes de masa en donde un resorte representa al elemento de sólido ideal que obedece la ley de Hooke y por tanto es la parte elástica; por otro lado un

amortiguador representa el elemento de fluido ideal que obedece la ley de Newton de la viscosidad y es la parte viscosa, Figura 8 a).

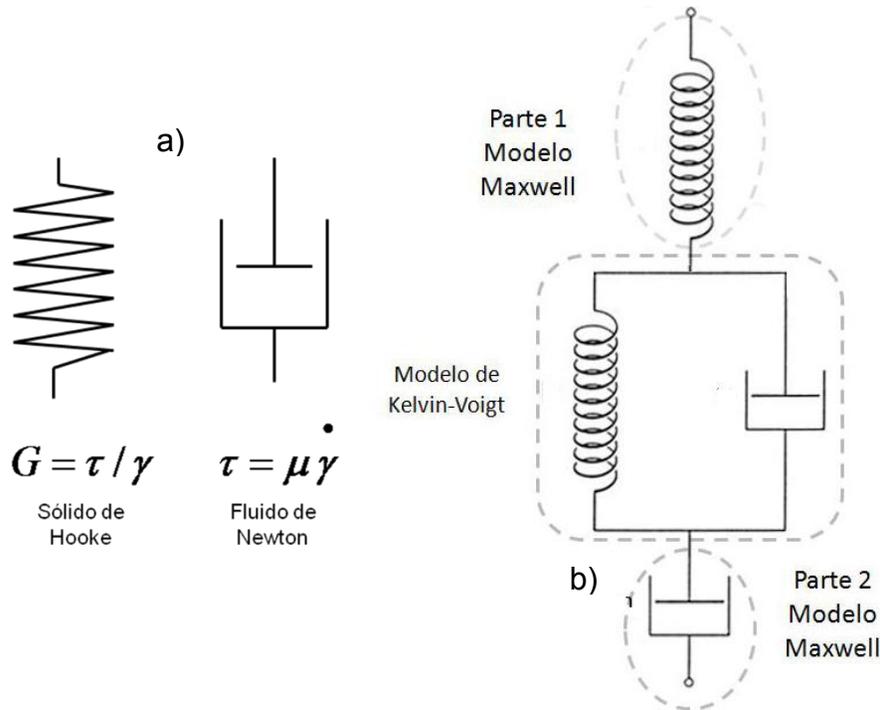


Figura 8 a) Modelos elástico (Hooke) y viscoso (Newton); b) componentes del modelo de Burgers.

Diferentes arreglos de estos elementos se usan para simular las relaciones matemáticas entre las propiedades elásticas y viscosas. Los modelos más comunes para describir el comportamiento viscoelástico son el modelo de Maxwell que usa un resorte y un amortiguador conectados en serie y el modelo de Kelvin que consiste de un resorte y un amortiguador conectado en paralelo. Para el caso de geles el uso del modelo de Burgers ha tenido un buen ajuste en la descripción reológica de este tipo de materiales. El modelo de Burgers es un arreglo que comprende al modelo de Maxwell y al modelo de Kelvin en serie. Dentro de la prueba de Creep la deformación del sistema se puede expresar como una función del tiempo:

$$\gamma = f(t) = \frac{\tau_0}{G_0} + \frac{\tau_0}{G_1} \left(1 - \exp \frac{-t}{\lambda_{ret}} \right) + \frac{\tau_0 t}{\mu_0} \quad (12)$$

Esta deformación por unidad de esfuerzo se expresa como:

$$\frac{\gamma}{\tau_0} = f(t) = \frac{1}{G_0} + \frac{1}{G_1} \left(1 - \exp \frac{-t}{\lambda_{ret}} \right) + \frac{t}{\mu_0} \quad (13)$$



En donde G_0 es el módulo de corte instantáneo de la componente de Maxwell (Rigidez instantánea), μ_0 representa la viscosidad residual de este mismo componente, G_1 el módulo de corte del modelo de Kelvin-Voigt y representa la contribución de la región de elasticidad retardada a la compliancia total (rigidez retardada), λ_{ret} (η_1/G_1) corresponde al tiempo de retardo y η_1 representa la viscosidad interna del modelo de Kelvin-Voigt, la magnitud de cada elemento está determinada por el número de enlaces que se rompen de forma instantánea e irreversible, los que se van rompiendo en función del tiempo y se reestablecen con grupos funcionales aledaños al punto de interacción roto y los que no se rompen y se comportan de forma elástica almacenando la energía aplicada al material. La ecuación 13 también se puede expresar en términos de compliancia (J), de la siguiente forma.

$$J = f(t) = J_0 + J_1 \left(1 - \exp \frac{-t}{\lambda_{ret}} \right) + \frac{t}{\mu_0} \quad (14)$$

Los elementos de este modelo se muestran en la curva de la función compliancia en la Figura 9.

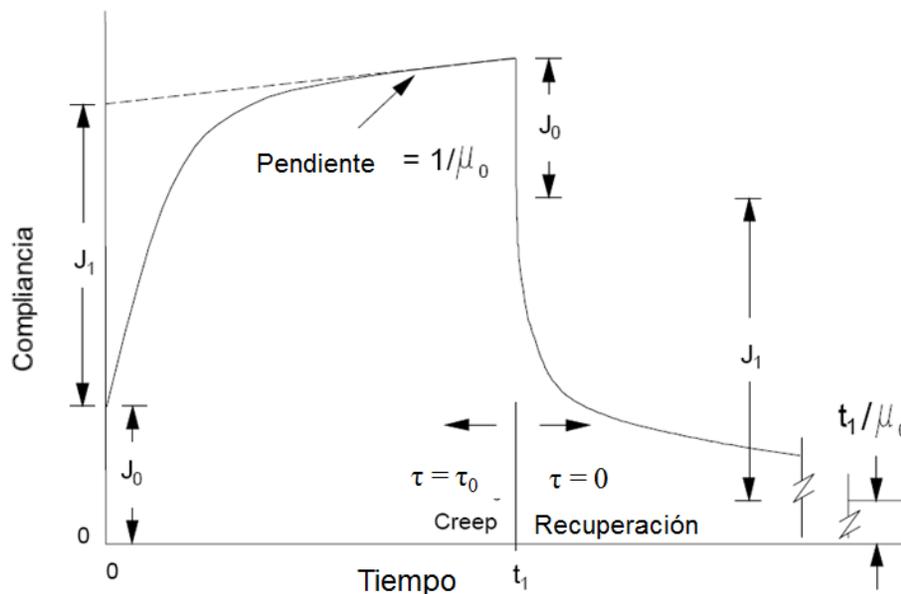


Figura 9 Curva de Creep para un material viscoelástico



1.9. Análisis de perfil de textura (TPA)

De acuerdo con Bourne, 2002; La textura de los alimentos es un atributo clave y ampliamente usado para determinar la calidad tanto de alimentos frescos como de procesados, el nivel de importancia que adquiere para diferentes tipos de alimentos los clasifica en tres grupos:

Textura crítica, es el caso de los alimentos donde su textura es una característica de calidad dominante, como el caso de carne, papas fritas, cereales, etc.

Textura importante, alimentos en los que la textura contribuye de manera importante pero no dominante en la calidad del producto, de manera que su implicación es equitativa al aspecto y al sabor, es el caso de la mayoría de frutas, verduras, quesos, pan, dulces, etc.

Textura secundaria, alimentos en los que la textura tiene una contribución insignificante en la calidad del producto, ejemplo de este grupo son las sopas, bebidas, etc.

La textura es esencialmente una experiencia humana que surge de la interacción con el alimento al momento de manipularlo o comer, se puede definir como “todos los atributos mecánicos, geométricos o superficiales de un producto, perceptibles por medio de receptores mecánicos, táctiles y, si es apropiado, visuales y auditivos” (ISO 5492). Szczesniak (2002) por su parte describe a la textura como un atributo multivariable o un grupo de propiedades que derivan de la estructura del alimento (molecular, microscópica y macroscópica) y se detecta a través de varios sentidos siendo el principal el tacto y debido a que se trata de varias características o propiedades sensoriales, es preferible hablar de “propiedades texturales” en vez de “textura” como parámetro individual. Una clasificación propuesta por este autor se muestra en la Tabla 3.



Tabla 3 Propiedades texturales primarias y secundarias.

Propiedades		
Primarias	Definición física	Definición sensorial
Dureza	Fuerza necesaria para alcanzar una deformación dada.	Fuerza requerida para comprimir una sustancia entre los molares (en caso de sólidos) o entre la lengua y el paladar (en el caso de semisólidos).
Cohesividad	Extensión a la que un material puede ser deformado antes de romperlo.	Grado en que una sustancia es comprimida entre los dientes antes de romperse.
Viscosidad	Velocidad de flujo por unidad de fuerza.	Fuerza requerida para llevar un líquido de la cuchara a la lengua.
Elasticidad	Velocidad a la que un material deformado vuelve a su condición inicial después de que la fuerza que causa la deformación es retirada.	Grado en que un producto vuelve a su forma original una vez ha sido comprimido entre los dientes.
Adhesividad	Trabajo necesario para superar las fuerzas atractivas entre la superficie del alimento y la superficie de otros materiales con los que el alimento entra en contacto.	Fuerza requerida para eliminar el material que se adhiere a la boca (generalmente al paladar) durante el proceso normal de comer.
Secundarias		
Fracturabilidad	Fuerza con la que un material fractura: un	Fuerza con la que una muestra se desmigaja, agrieta o se hace pedazos



	producto con una lata dureza y un bajo grado de cohesividad.	
Masticabilidad	Condición donde un producto cuenta con dureza, cohesividad y elasticidad	Periodo de tiempo requerido para masticar la muestra a una velocidad constante de fuerza aplicada, para reducirla una consistencia adecuada para tragar
Gomosidad	Energía requerida para desintegrar un semisólido a un estado listo para ser tragado: un producto con un bajo grado de dureza y alto grado de cohesividad.	Espesura que persiste durante la masticación;

Los atributos texturales de los alimentos pueden ser evaluados por análisis sensorial descriptivo o análisis instrumental. Los altos costos y tiempos necesarios para el análisis sensorial han motivado el desarrollo y el uso generalizado de ensayos mecánicos empíricos que se correlacionan con las percepciones sensoriales de textura de los alimentos (Costa *et al.*, 2011); Para la medición instrumental, se estima que la textura percibida del alimento por las condiciones de procesado en la boca, podría estar directamente relacionada con la deformación o cambio de las propiedades físicas del producto por efecto de la compresión mecánica o esfuerzo cortante (Wang *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2012). Con los años, una amplia gama de pruebas instrumentales se han utilizado en la investigación y la industria para evaluar la textura de los alimentos, y una gran cantidad de esfuerzo se ha invertido en la mejora de los instrumentos y técnicas de medición de estimación significativa de las propiedades de textura (Oraguzie *et al.*, 2009; Zdunek *et al.*, 2010).



En el análisis de perfil de textura (TPA) la muestra es sometida a dos compresiones sucesivas, en cada una de las cuales se determina la relación que guarda la fuerza en función del tiempo necesario para comprimir la estructura del gel. El tiempo y la fuerza dan origen a una serie de parámetros texturales (Szczesniak *et al.*, 1963; Bourne, 1982), de los cuales solo se ocuparon 7 para describir la textura de los geles y son: Dureza, Esponjosidad, Coherencia, Adhesividad, Gomosidad, Masticabilidad y Elasticidad.

1.10. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica empleada para estudiar los cambios que ocurren en un polímero como resultado de un flujo de calor. Se usa para analizar las *transiciones térmicas* de un polímero, estas son cambios que tienen lugar en un polímero cuando se calienta y como ejemplos se tiene la fusión de un polímero cristalino o la transición vítrea (Figura 10).

Durante una prueba de calorimetría diferencial de barrido se tienen dos platillos, en uno de ellos, se coloca la muestra polimérica. El otro es el platillo de referencia y queda vacío. Cada platillo se apoya sobre la parte superior de un calefactor. El equipo pone en funcionamiento los calefactores, de modo que calienten los platillos a una velocidad específica, generalmente a 10 °C por minuto. Es importante que la velocidad de calentamiento sea exactamente la misma a lo largo de todo el experimento. Puesto que el calefactor situado debajo del platillo de la muestra, debe trabajar más intensamente que el calefactor que está debajo del platillo de referencia, ya que requiere mayor cantidad de calor para calentar la muestra polimérica que contiene. El equipo medirá *cuánto* calor adicional debe

suministrarse, y es esta diferencia lo que permitirá conocer las transiciones térmicas del polímero.

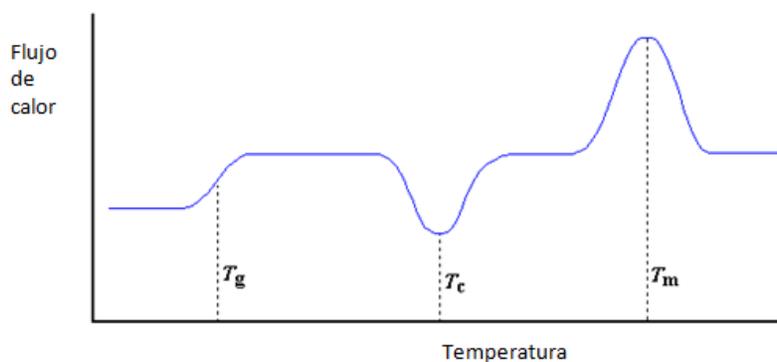


Figura 10 Termograma de Calorimetría diferencial de barrido (T_g -temperatura de transición vítrea; T_c -temperatura de cristalización; T_m -temperatura de fusión)

1.11. Difracción de rayos X

La forma cristalina de los polímeros se caracteriza por un orden tridimensional en donde al menos una parte de las cadenas moleculares, se alinean paralelamente unas con otras (Varela, 1997). Dado que para el caso de las pectinas existe cierta regularidad estructural, es posible que cristalicen bajo determinadas condiciones de temperatura, presión o por influencia del medio, adoptando conformaciones helicoidales conocidas (Varela, 1997; Willats *et al.*, 2006).

La interacción de los rayos X con un material puede producir diferentes fenómenos: absorción, fluorescencia, emisión de fotoelectrones y dispersión (Figura 11). En especial el fenómeno de dispersión, se lleva a cabo cuando el fotón incidente es desviado de su dirección original de propagación con igual energía (dispersión elástica) o menor energía (dispersión inelástica), por colisión con un electrón. En la dispersión elástica se basa el fenómeno de la difracción de rayos X por los cristales. Los fenómenos de difracción se producen cada vez que la luz pasa a través de una estructura periódica que posee características que se repiten regularmente o cuando la luz es reflejada por una estructura de esta clase. Para que la difracción

sea observable, la distancia que se repite en la estructura periódica debe ser aproximadamente igual a la longitud de onda de la luz utilizada (Albella *et al.*, 1993).

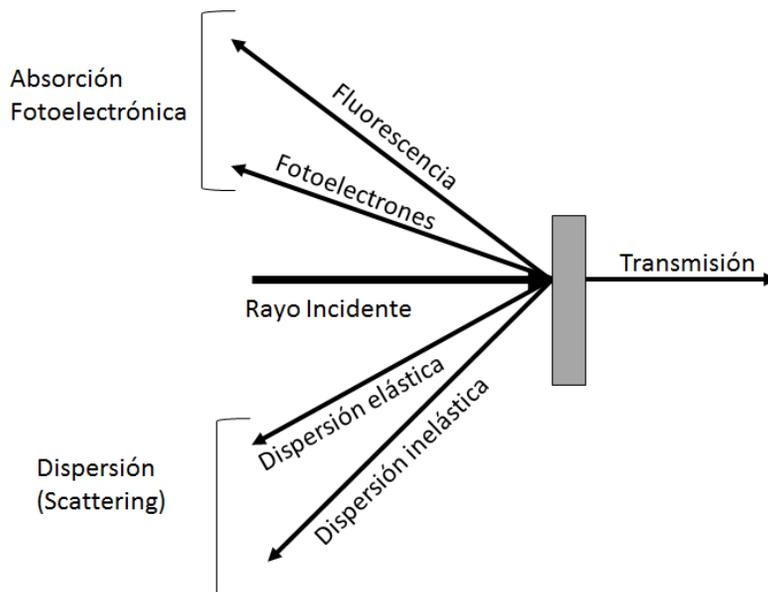


Figura 11 Fenómenos de la interacción de los rayos X con la materia.

Cuando los rayos X de longitud de onda λ inciden sobre dos planos de átomos paralelos, (Figura 12), y son difractados en un ángulo θ . Las ondas difractadas producirán intensidad máxima en un detector si ambos llegan en fase al detector (con una cresta o con un valle), es decir si la diferencia entre las trayectorias de los rayos es un número entero de veces la longitud de onda de los rayos X empleados, $n\lambda$, donde n es un número entero. En la Figura 12 se observa que la diferencia del recorrido de las dos ondas es $2 \cdot d_{hkl} \cdot \sin \theta$, donde d_{hkl} es la distancia entre los dos planos reticulares del cristal. Así tenemos:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (15)$$

La ecuación 15 expresa la condición necesaria para obtener un máximo de intensidad difractada y se la llama ecuación de Bragg o ley de Bragg. Al representar la intensidad de radiación que llega al detector contra el ángulo θ , aparecerá un pico cuando se cumpla la ecuación de Bragg, se obtiene entonces el diagrama de difracción o difractograma.

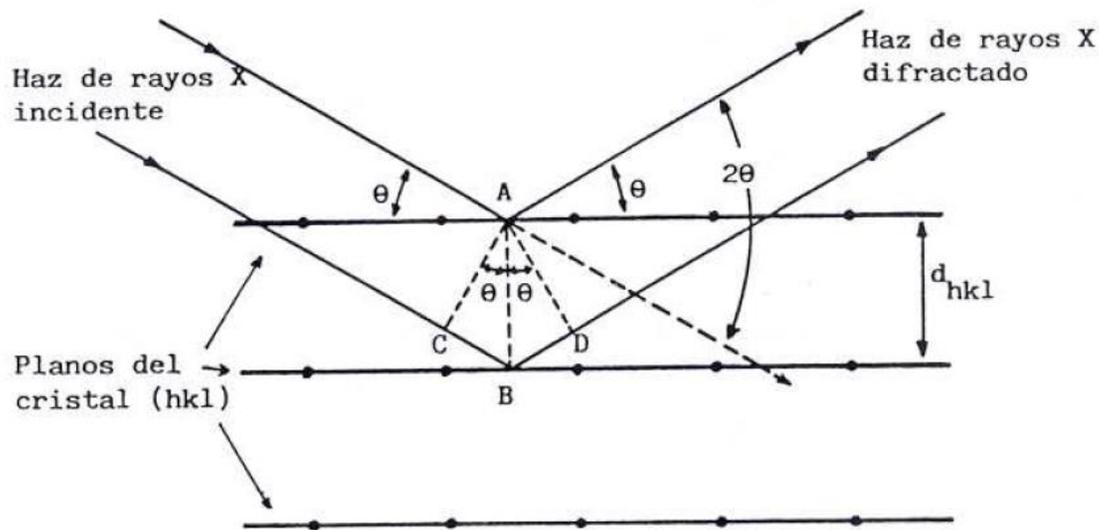


Figura 12 Difracción de los rayos X causada por los planos de un cristal.

La dirección en la que sale el haz difractado forma también un ángulo θ con la superficie de la familia de planos que difractan, es decir, un ángulo 2θ con la dirección de incidencia del haz de rayos X. Además, la dirección del haz incidente y la dirección del haz difractado están contenidas en un plano que es perpendicular a la familia de planos que difractan. Como en un cristal hay distintas familias de planos, con distintos espaciados, existirán también distintas direcciones de difracción. Al ser el conjunto de espaciados de un cristal característico para cada especie cristalina se puede decir que no existen dos sustancias cristalinas que tengan un diagrama de difracción idéntico. Por tanto se dice que el diagrama de difracción es como una huella dactilar de las sustancias cristalinas (Rabek, 1980).



2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS



JUSTIFICACIÓN

En investigaciones previas se ha demostrado que el fruto de *Crataegus pubescens* es una fuente potencial para la obtención de pectinas de alto metoxilo, por sus propiedades funcionales, el tipo de estructura que posee y su pureza (Vivar 2005a). Se propone la utilización de pectinas del tejocote (*Crataegus pubescens*) como fuente no convencional de PAM y para la obtención de PBM, con el objeto de proporcionar un mejor aprovechamiento a este fruto que actualmente se encuentra subutilizado. Las PBM son capaces de formar geles en ausencia de azúcares lo cual es una característica de estas pectinas, por lo cual pueden tener una aplicación aún mayor en la industria alimentaria. Su aplicación dependerá de las propiedades físicas y funcionales del polímero desmetoxilado, ya que la formación de geles en presencia de calcio modifican sus propiedades físicas, reológicas y térmicas, en comparación con los geles formados con PAM (Vivar, 2005a).

El biopolímero de *Crataegus pubescens* de bajo metoxilo puede usarse como un aditivo importante en el desarrollo de alimentos hipocalóricos y para su aplicación en la industria farmacéutica, como soporte para usos múltiples. Sin embargo aún se desconocen todas sus propiedades como agente gelificante

HIPOTESIS

La capacidad y las propiedades de gelificación de la pectina de *Crataegus pubescens* nativa podrían ser superiores a las que presenta la pectina cítrica comercial.



3. OBJETIVOS



OBJETIVO GENERAL

Estudiar las propiedades físicas y texturales de geles de pectinas nativas (PAM) y desmetoxiladas (PBM) de *Crataegus pubescens*.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Extraer y caracterizar la pectina nativa de *Crataegus pubescens*
- Caracterizar física y texturalmente geles de PAM
- Caracterizar física y texturalmente geles de PBM desmetoxiladas por métodos químicos



4. MATERIALES Y MÉTODOS



4.1. Caracterización morfológica y química del fruto

Se recolectaron frutos de *Crataegus pubescens*, en 4 diferentes estados de maduración a mediados del mes de noviembre, en el Estado de México, México, designándose al estado 1 como el más inmaduro y el 4 como el más maduro. Fueron lavados con agua destilada y sumergidos durante 20 min en una solución de hipoclorito de sodio al 2%, posteriormente las muestras 4 se congelaron a -20°C y se almacenaron a esta temperatura hasta el momento de extraer su pectina. Los materiales y métodos se describen a continuación.

A una muestra de 15 frutos de tejocote de los estados 1 y 4 se les determinó peso, tamaño (16) y esfericidad (17).

$$\sqrt[3]{D_{e1} * D_{e2} * D_p} \quad (16)$$

$$\frac{3 * D_m}{D_{e1} * D_{e2} * D_p} \quad (17)$$

Para cada estado de maduración se realizó una molienda del fruto excluyendo semillas usando 100 g de pulpa, 600 mL de agua destilada y 200 de solución de tiosulfato de sodio. A las muestras así tratadas; se les determinó acidez mediante titulación usando una solución de NaOH 0.1N; pH, mediante un potenciómetro y sólidos solubles totales (° Brix) con un refractómetro Abbé.

El contenido de pulpa se determinó mediante la separación manual de pulpa, semilla y cáscara y posterior pesado de las fracciones

4.2. Extracción de pectinas

La extracción de las pectinas del fruto de tejocote, se realizó de acuerdo al método de Lodge (1987) el cual fue modificado y adaptado en el laboratorio para obtener pectinas de alto metoxilo. Se mezcló la pulpa de tejocote con agua en una



proporción 1:2 (peso/peso). Después de homogeneizar dicha mezcla, se adicionó etanol 86° en proporción 1:2, se agitó y se filtró en tela para obtener los sólidos insolubles en alcohol (SIA). Las pectinas se extrajeron a partir de los SIA con agua caliente (30 min, 80°C) y agitación continua. El pH para a extracción se ubicó en 3.0, valor que se alcanza debido a la naturaleza ácida de los frutos. Al término de la extracción, la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y se centrifugó a 10000g, obteniéndose en el sobrenadante (libre de partículas sólidas) las pectinas solubles en agua. A este sobrenadante se le adicionó etanol absoluto en una relación 1:1 (v/v) para precipitar las pectinas, las cuales se dejaron secar a temperatura ambiente bajo corriente de aire. Las pectinas secas se molieron en un molino (Analytical Mill) y luego se tamizaron a un tamaño de partícula de <125 micras con un tamiz de acero inoxidable Nework.

4.3. Determinaciones químicas

4.3.1. Contenido de ácido galacturónico (AGA)

Se siguió un método espectrofotométrico de determinación cuantitativa de ácidos urónicos, que se basa en la hidrólisis del ácido galacturónico con ácido sulfúrico caliente y posterior reacción cromogénica con m-hidroxidifenil para dar un compuesto colorado que tiene un máximo de absorbancia a la longitud de onda de 520 nm (Blumenkrantz y Asboe-Hansen, 1973). El uso del m-hidroxidifenil como reactivo cromóforo tiene las ventajas de sensibilidad y especificidad respecto de los ácidos urónicos en relación con los azúcares solubles, y de estabilidad del color formado en el tiempo. Juntamente con las muestras deben prepararse disoluciones con concentraciones conocidas de ácido galacturónico con el fin de construir la curva de calibración.



4.3.2. Grado de esterificación (GE)

El grado de esterificación se determinó usando el método de valoración de (Schultz, 1965), cuyo protocolo es el siguiente:

Se valoraron 10 mL de disolución de pectina al 1 % con NaOH 0,1 N, usando fenolftaleína como indicador (valoración A) Se añadieron 20 mL de NaOH 0,5 N y se esperó un tiempo de 30 min con el fin de desesterificar la pectina. A continuación se añadieron 20 mL de HCl 0,5 N para neutralizar el NaOH. Finalmente la disolución se valoró con NaOH 0,1 N (valoración B). El grado de esterificación se calculó con la siguiente ecuación:

$$GE = \frac{B}{A + B} 100 \quad (18)$$

4.3.3. Contenido de grupos acetilo (GA)

Se usó un método colorimétrico el cual se basa en la reacción entre la hidroxilamina y los grupos acetilo de las pectinas para producir ácido acetohidroxinámico que reacciona con el fierro formando un complejo soluble rojo que se lee a 430 nm (McComb y McCready, 1957).

4.3.4. Determinación de viscosidad intrínseca y peso molecular promedio (PM_p)

Para determinar la viscosidad intrínseca de las soluciones de polímeros se utilizó un viscosímetro capilar de vidrio tipo Ostwald (Anexo I), que se mantuvo a temperatura constante de 20°C ± 1°C usando un baño maría. Se prepararon soluciones a diferentes concentraciones (0.2, 0.1, 0.05 y 0.025 %).

Debido a que la pectina es un polielectrolito, las dispersiones se prepararon usando un buffer de fosfato de sodio 0.1 M (pH=7.0) en lugar de agua, las dispersiones se mezclaron a temperatura ambiente por 12 h y para la determinación se agregaron



15 mL de cada una de las soluciones al viscosímetro. La densidad de las dispersiones se determinó usando un picnómetro a 25 °C. La viscosidad reducida (μ_{sp}/C) idealmente debería ser independiente de la concentración y así ocurre en el límite de concentración cero, la viscosidad intrínseca, por otra parte, se define como el límite de la viscosidad reducida cuando la concentración tiende a cero. El método más común para determinar la magnitud de la viscosidad intrínseca es extrapolar la viscosidad reducida para conocer su valor a concentración cero.

$$\mu_i = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\mu_{sp}}{C} \quad (19)$$

Donde C es la concentración de la solución de pectina (kg/m^3) y la viscosidad intrínseca (μ_i) está evaluada en m^3/kg .

La viscosidad intrínseca es una medida del volumen hidrodinámico ocupado por una molécula. El peso molecular se determinó haciendo uso de la ecuación reportada por (Kar, 1999) para pectinas cítricas usando las mismas condiciones de solución buffer.

$$\mu_i = 2.34 \times 10^{-5} P M_P^{0.8224} \quad (20)$$

4.4. Desmetoxilación química

El proceso de desmetoxilación química está basado en el método usado por Vivar, (2005a) y se llevó a cabo con algunas modificaciones que se describen a continuación.

4.4.1. Pectina de tejocote

Se prepararon 400 mL de una solución de pectina de alto metoxilo de tejocote (PAMT) al 1.25% usando agua destilada a temperatura ambiente. La desesterificación se realizó a $2 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ a pH 11.5 con agitación constante y



manteniendo el pH por adición continua de NaOH 0.25 N, la reacción se mantuvo en esas condiciones por 1.9 h para obtener un valor aproximado de 30% de metoxilación. Al término del tiempo se adicionaron 100 mL de agua destilada y se bajó el pH usando una solución de HCl 4M hasta 3.5. En esta parte se debe agregar la solución lentamente para evitar la formación de grumos de pectina por efecto de la neutralización, posteriormente se adicionó etanol absoluto, en una relación 1:1.5 (v/v) para precipitar las pectinas de bajo metoxilo, una vez precipitada se lavó dos veces con etanol absoluto y posteriormente se secó bajo corriente de aire a temperatura ambiente, luego se molió y se tamizó hasta un tamaño de partícula menor a 125 μ , y se almacenó en un frasco tapado evitando su contacto con la luz.

4.4.2. Pectina cítrica

Se prepararon 200 mL de una solución de pectina de alto metoxilo de origen cítrico (PAMC) al 2.5% usando agua destilada a temperatura ambiente. La desesterificación se realizó a $2\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pH 11.5 con agitación constante y manteniendo el pH por adición continua de NaOH 0.25 N, la reacción se mantuvo en esas condiciones por 2.48 h para obtener un valor aproximado de 30% de metoxilación. Al término del tiempo se adicionaron 200 mL de agua destilada y se bajó el pH usando una solución de HCl 4M hasta 3.5, En esta parte de debe agregar la solución lentamente para evitar la formación de grumos de pectina por efecto de la neutralización, posteriormente se adicionó etanol absoluto, en una relación 1:1.5 (v/v) para precipitar las pectinas de bajo metoxilo, una vez precipitada se lavó dos veces con etanol absoluto y posteriormente se secó bajo corriente de aire a temperatura ambiente, luego se molió y se tamizó hasta un tamaño de partícula menor a 125 μ , y se almacenó en frasco tapado evitando su contacto con la luz.



4.5. Preparación de geles

4.5.1. Alto metoxilo

Para la preparación de los geles, 1.0 g de pectina se dispersó en 39.0 g de solución de citratos (pH 3), la mezcla se calentó a ebullición y se adicionaron, 60.0 g de sacarosa, el mezclado y la temperatura de ebullición se mantuvieron hasta la total solubilización de la sacarosa (~10 min). Enseguida se transfirió la mezcla caliente a una serie de anillos de acero inoxidable de 2 cm de diámetro por 2 mm de altura (para el caso de las muestras usadas en el perfil reológico) y de 2 cm de diámetro por 2 cm de altura (para el caso de las muestras usadas en el perfil de textura) y se dejó enfriar a temperatura ambiente, tapando el anillo para evitar la evaporación, los geles se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 24 h antes de realizar el análisis correspondiente (Vivar, 2005a).

4.5.2. Bajo metoxilo

Se prepararon geles con las diferentes PBM con la siguiente composición en peso: PBMT 1.3%, agua 98.5% y 25 mg Ca^{2+} /g de pectina, pH 3.5. Se dispersó la pectina en agua destilada y posteriormente con agitación continua se adicionó lentamente la sacarosa hasta dispersarla completamente. Se ajustó el pH con solución de ácido cítrico 1% y se calentó a 90°C con agitación constante, una vez caliente se restituyó el agua perdida y se adicionó una cantidad de solución de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ para dar la concentración final deseada. El sistema se mantuvo durante 10 s en agitación y la solución de gel caliente se vació en anillos de acero inoxidable de 20 mm de diámetro interno con 2 mm de espesor (para la determinación del comportamiento viscoelástico) y 20 mm de espesor (para la determinación del perfil de textura). Los geles de PBM en los anillos se dejaron reposar 24 h a temperatura ambiente para posteriormente ser usados en las determinaciones. Debido a que las pectinas de origen cítrico no se estructuraron como un gel, de acuerdo con la clasificación de



Clark y Ross-Murphy, (1987), se probaron diferentes formulaciones con esta pectina y se llegó a la siguiente formulación que arrojó un comportamiento de gel comparable con los geles de PBMT. PBMC 2.2%, sacarosa 22 %, agua 75.5% y 40 mg Ca^{2+} /g de pectina.

4.6. Determinación del comportamiento viscoelástico

La determinación del comportamiento viscoelástico se llevó a cabo mediante un estudio dinámico a 25°C utilizando un reómetro de bajo esfuerzo marca Paar Physica modelo LS100 con baño de recirculación acoplado. El sistema de medición del reómetro incluyó una geometría de placa-placa (PP20, diámetro 20 mm) con una apertura entre placas de 2000 micras (para PBMT) y de 1500 micras (para PBMC).

4.6.1. Determinación de la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL)

Para determinar la zona de viscoelasticidad lineal (ZVL), inicialmente se realizó un barrido de exploración que consistió en realizar un barrido de esfuerzos oscilatorios de 0.001 – 10 mNm a una frecuencia constante de 1 Hz. Con este barrido se obtuvo el intervalo aproximado de la ZVL. Posteriormente, la ZVL real se determinó realizando un barrido de amplitud en el intervalo encontrado, a una frecuencia de 1Hz. Se usó entonces el promedio del esfuerzo donde se ubicó la ZVL para conocer la influencia de la frecuencia (ω) en el comportamiento del módulo de almacenamiento (G'), módulo de pérdida (G'') y la tangente del ángulo de desfase (δ), esto se hizo con un barrido de frecuencia de 0.01-0.5 Hz.

Este análisis permitió determinar los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') definidos por las ecuaciones 9 y 10.



4.6.2. Creep-recuperación

Una vez conocida la ZVL se realizó la aplicación de diferentes esfuerzos constantes a las muestras de gel (todos ellos dentro de la ZVL) y se midió el cambio en la deformación con respecto al tiempo, los datos obtenidos se adecuaron al modelo de Burgers para obtener la magnitud de cada parámetro del modelo y su coeficiente de ajuste.

4.7. Determinación de perfil de textura (TPA)

Se usó un texturómetro TA-XT2 (Stable Micro System, USA) en donde la muestra fue sometida a dos compresiones sucesivas, en cada una de las cuales se determinó la relación que guarda la fuerza en función del tiempo necesario para comprimir la estructura del gel al 50% de su tamaño original para lo cual se usó un émbolo cilíndrico de acrílico de 20 mm de diámetro a una velocidad de 1 mm/s con recorrido de 10 mm; el tiempo y la fuerza dan origen a una serie de parámetros texturales (Szczesniak *et al.*, 1963; Bourne, 1982), descritos de la siguiente forma:

Dureza: Se define como la fuerza máxima durante la primera compresión.

Esponjosidad: Es la relación de tiempos que se necesita para alcanzar la máxima fuerza aplicada en cada compresión

Coherencia: Se define como la relación que tiene el área de la fuerza positiva de la segunda compresión con respecto a la primera compresión.

Adhesividad: Se define como el área de fuerza negativa de la primera compresión, y representa el trabajo necesario para retirar el embolo de la matriz del gel.

Gomosidad: Se define como el producto de la coherencia por la dureza

Masticabilidad: Relaciona los tiempos de destrucción de la estructura con la fuerza requerida para hacerlo.

Elasticidad: Es una relación de áreas que describe la resistencia de la estructura una vez que se ha producido la primera ruptura. En la Figura13 se describe de manera gráfica las relaciones usadas en cada uno de los parámetros.

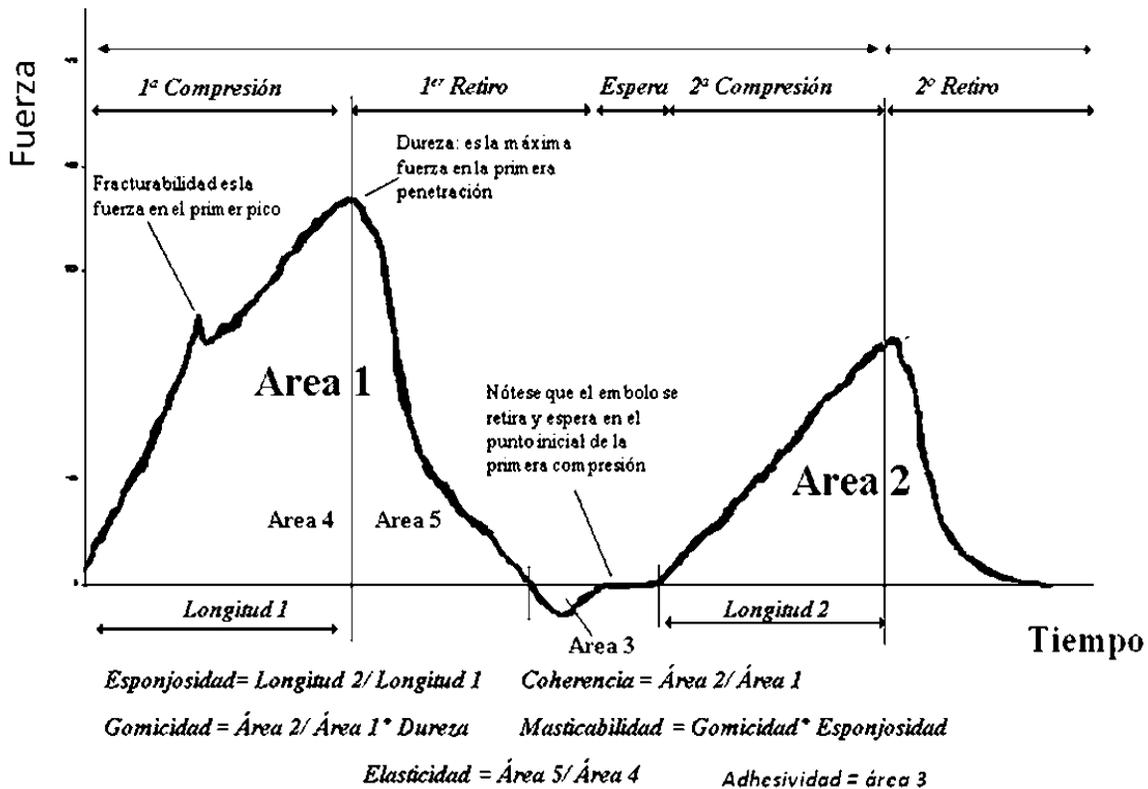


Figura 13 Perfil característico de una determinación de textura

4.8. Análisis de propiedades térmicas

Para determinar las propiedades térmicas de las pectinas usadas, se usó calorimetría diferencial de barrido, termogravimetría y termogravimetría diferencial (DSC, TGA y DTGA respectivamente por sus siglas en inglés). Los polímeros de pectina se encuentran estabilizados por fuerzas de atracción inter e intramoleculares y estas fuerzas cambian en función de procesos, métodos y condiciones a las que se ven sometidos, características propias de un polímero, como el punto de degradación térmica, pueden variar debido a estos procesos, por ello se realizó un análisis termogravimétrico (desde 40 y hasta 400 °C, en atmósfera inerte de nitrógeno con rampa en intervalos de temperatura de 3°C por min), para conocer la temperatura de degradación térmica y los cambios en peso de la muestra durante la prueba, posteriormente se construyeron perfiles calorimétricos usando la

técnica DSC usando rampas de 3 °C hasta 300 °C, para conocer las principales transiciones térmicas, en este análisis se usó un calorímetro diferencial de barrido DSC 2010 (TA Instruments, USA).

4.9. Difracción de rayos X

El grado de cristalinidad de las pectinas se determinó mediante método del polvo policristalino, para lo cual se usaron muestras de pectina seca y homogénea obtenidas de la extracción. Las muestras se situaron sobre una plataforma giratoria dentro del equipo (Figura 14) de modo que a medida que giraba, algunos grupos de planos eventualmente estuvieron alineados a un ángulo θ para satisfacer la ecuación de Bragg y apareció la señal fuerte en el detector que luego se graficó. El equipo usado fue un Difractómetro Siemens D5000 y los resultados se analizaron con el software Diffract Plus Basic.

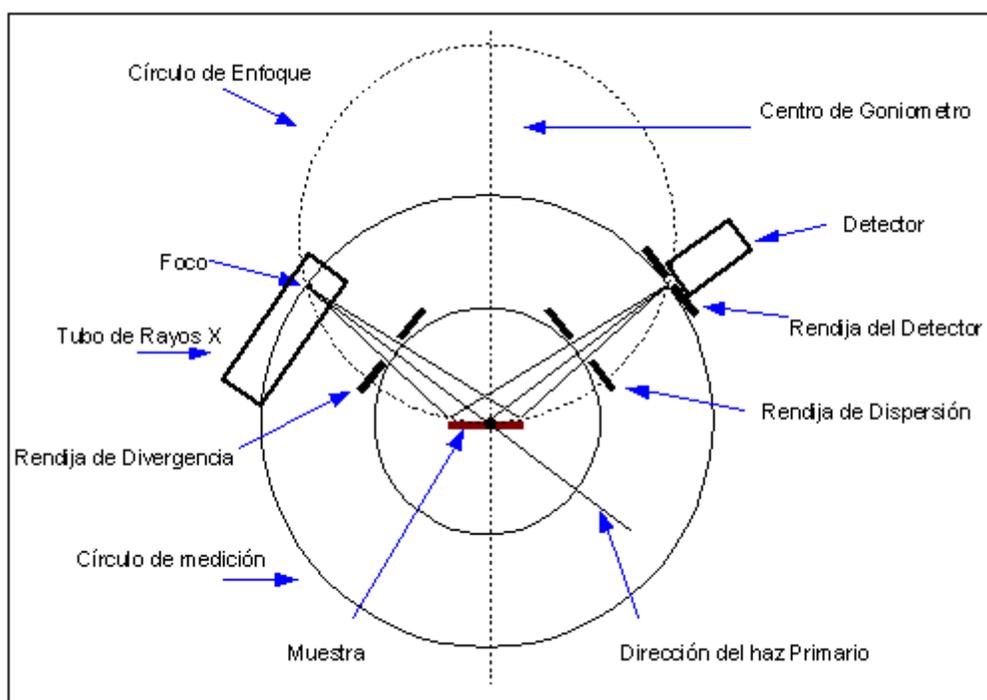


Figura 14 Diagrama de operación por el método del polvo cristalino.



En las zonas cristalinas las intensidades de los átomos se suman y se tiene con ello una interferencia constructiva, dando lugar a un pico que satisface la condición de Bragg. En las zonas amorfas, la dispersión tiene lugar en todas direcciones, obteniéndose interferencias constructivas muy débiles y dando lugar a un pico muy difuso. El grado de cristalinidad (X_c) se relacionó con estas dos zonas del diagrama de difracción y se calculó con la ecuación:

$$X_c = \frac{\int_0^\infty s^2 I_c(s) ds}{\int_0^\infty s^2 I(s) ds} \quad (21)$$

Donde

$s = (2\sin\theta/\lambda)$,

$I(s)$ es la intensidad total dispersada,

$I_c(s)$ es la intensidad correspondiente a las zonas cristalinas



5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



5.1. Caracterización morfológica y química del fruto

Los 4 estados de maduración fueron clasificados en base al color de la siguiente forma:

- 1.- Verde
- 2.- Verde-Amarillo
- 3.- Amarillo
- 4.- Amarillo intenso

En la Tabla 4 se presentan los resultados de peso, tamaño, esfericidad y fracciones del fruto.

Tabla 4 Caracterización física de los frutos de tejocote

Parámetro	Estadio	
	1	4
Peso (g)	12.46 ± 2.63	24.31 ± 3.5
Tamaño (cm)	2.94 ± 0.19	3.75 ± 0.19
Esfericidad (adim)	0.96 ± 0.015	0.96 ± 0.016
Cáscara (% BH)	0.67 ± 0.01	0.51 ± 0.01
Semilla (% BH)	4.61 ± 0.11	4.67 ± 0.12
Pulpa (% BH)	94.72 ± 2.3	94.82 ± 3.1

Se puede observar que el peso y tamaño de cada fruto cambia significativamente con la maduración, lo cual no ocurre con la esfericidad, y los porcentajes de las diferentes fracciones que componen al fruto, a este nivel de desarrollo ya se encuentran definidas y su cambio es mínimo. Los datos de pH, grados Brix y acidez se presentan en la Tabla 5, así como la relación de °Bx/acidez conocida como índice de maduración y que fue importante para definir los frutos más maduros (estado 4) que se usaron en el presente trabajo.



Tabla 5 Caracterización fisicoquímica de los frutos de tejocote

Estadio	Acidez mL/gr*	pH	Sólidos Solubles °Bx	°Bx/Ac
1	7.26 ± 0.06	3 ± 0.005	3.7 ± 0.1	1.27
2	7.16 ± 0.08	3.04 ± 0.01	3.8 ± 0.05	1.32
3	7 ± 0.04	3.07 ± 0.01	4.3 ± 0.05	1.53
4	6.9 ± 0.04	3.12 ± 0.02	4.7 ± 0.05	1.7

*mL NaOH 0.1N/ gr de pulpa de tejocote

La madurez de los frutos evidenciada en el color y la textura, se cuantificó con las pruebas realizadas y es posible establecer que la concentración de sólidos solubles aumenta consecutivamente en los diferentes estados de maduración (Figura 15), asimismo se puede observar la disminución de la acidez titulable del fruto, cabe destacar que ninguno lo hace de forma significativa.

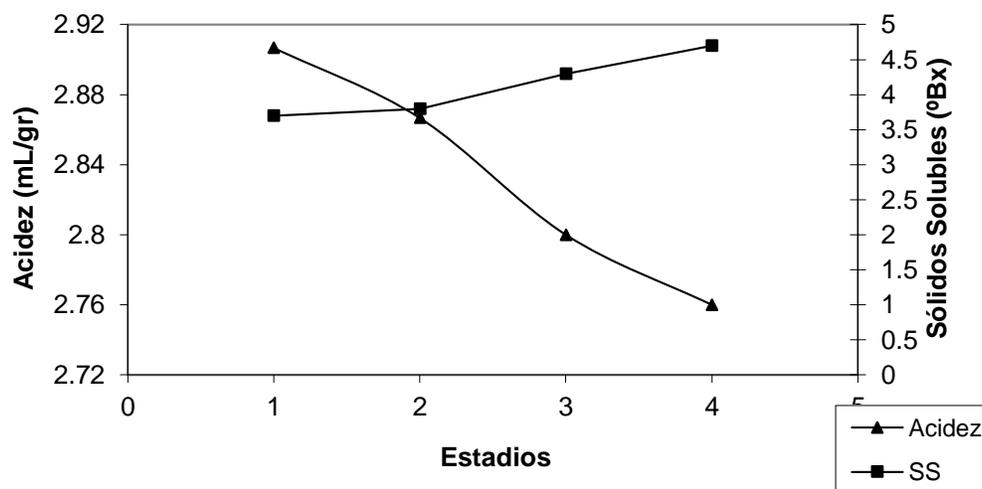


Figura 15 Variación de acidez y sólidos solubles en la maduración del fruto de tejocote (SS-sólidos solubles)



Con respecto al pH, se observa que el fruto de tejocote es muy ácido y esta condición no cambia demasiado con la maduración del fruto. En comparación con otras fuentes de pectina, la pulpa de tejocote no requiere la adición extra de ácido para poder realizar la extracción, solo la molienda y el calentamiento permiten tener un buen rendimiento (Figura 16).

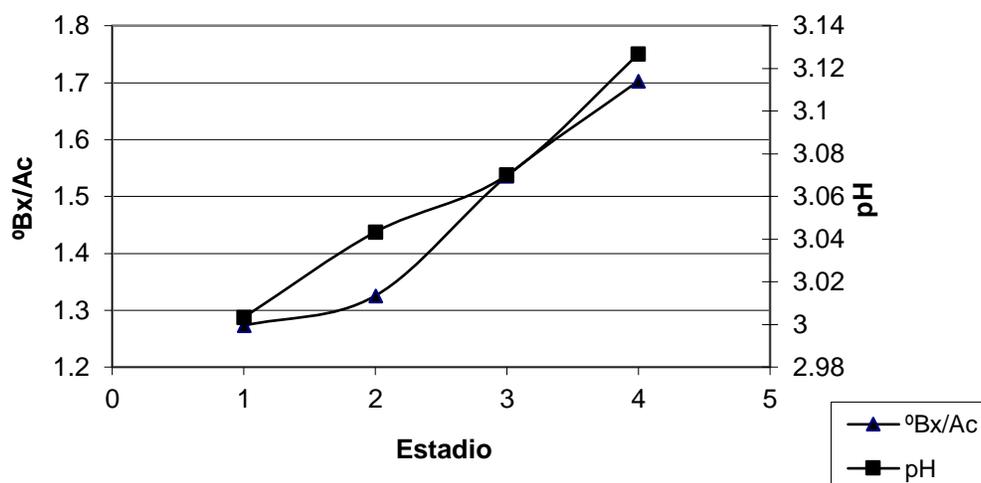


Figura 16 Variación de pH y °Bx/acidez en la maduración del fruto de tejocote

Al observar los resultados de la relación °Bx/Acidez se concluye que no hay diferencia significativa entre estadios 1 y 2 pero si entre 3 y 4, por lo que tenemos solo tres estadios de maduración y es con el estadio 4 con el que se desarrolló el presente trabajo.

En promedio el fruto tiene un peso de 24.3 g, un tamaño de 3.75 cm y una esfericidad de 0.96. Está constituido por 3 estructuras principales cuya importancia en peso es la siguiente, el epicarpio (cáscara) 0.7 %, mesocarpio (pulpa) 94.7 % y endocarpio (semillas) 4.6 %, la mayor parte de pectina proviene del mesocarpio.



5.2. Caracterización del extracto pectínico

5.2.1. Caracterización química

Se determinó que el contenido de pectina en el pericarpio fresco es de 5 % BH (23.4 % BS), el extracto obtenido del fruto se considera como pectina, pues tiene un contenido de ácido galacturónico promedio de 67.1 % (Tabla 6). Se clasificó como pectina de alto metoxilo de tejocote (PAMT), porque su GE es en promedio de 89.1 % con un GA promedio de 2.3.

Tabla 6 Características del extracto de pectina de *Crataegus pubescens*

Parámetro	PAMT	PAMC
PM _P (kDa)	502.3	95.1
Humedad (%)	11.39 ± 0.9	10.3 ± 0.5
Ácido galacturónico (%)	67.1 ± 2.1	74.0*
GE (%)	89.1 ± 0.2	70.3 ± 0.5
GA (%)	2.3 ± 0.06	1.9 ± 0.08

*Especificado en el producto

En lo que respecta a PAMC tiene un contenido de ácido galacturónico de 89 % y también es una pectina de alto metoxilo con un GE de 70.3 % y un GA de 1.93 %, se determinó un PM_P de 95 kDa, que se ubica dentro de los tamaños de pectinas reportadas de fuentes cítricas de 84.5 a 102.8 kDa (Kar y Arslan, 1999). Kim *et al.* (2008) usaron un análisis de regresión parcial de mínimos cuadrados y determinaron que en pectinas cítricas de bajo metoxilo el peso molecular estaba fuertemente correlacionado con las variables texturales dureza, gomosidad, masticabilidad y resiliencia, indicando que este factor tenía una influencia crucial en esas propiedades texturales por encima del grado de metoxilación. En comparación PAMT tiene valores superiores a PAMC en GE de 26 % y en PM_P de 428 %, y ello ayuda a explicar las diferencias encontradas en el comportamiento de los geles que forman. En el proceso de gelificación, además del grado de metoxilación (que representa puntos de interacción intermolecular para establecer la red



tridimensional del gel) también es importante el peso molecular y con ello la longitud de cadena en donde se encontraran esos puntos de interacción.

5.2.2. Determinación de viscosidad intrínseca y PM_p

Una de las características más evidentes en el comportamiento de las soluciones de pectinas de *C. pubescens* frente a las de origen cítrico es la viscosidad que las caracteriza, como se puede ver en la Figura 17, la capacidad de las primeras para modificar la resistencia al flujo es superior a la que presentan las pectinas cítricas a la misma concentración.

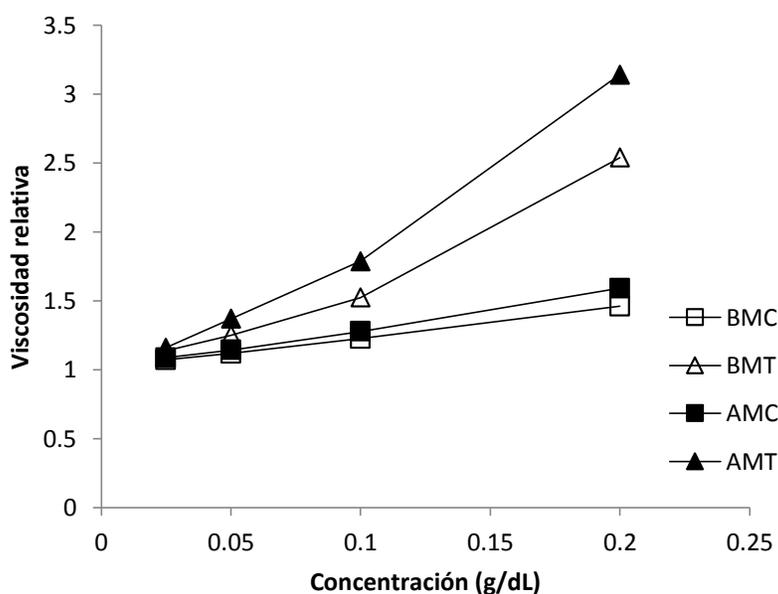


Figura 17 Variación de la viscosidad relativa frente a la concentración para PBMT, PBMC, PAMT y PAMC

Los resultados del cálculo del peso molecular de los cuatro polímeros se muestran en la Tabla 7 donde se puede ver que para el caso de las pectinas de alto metoxilo, *C. pubescens* tiene un peso molecular 5 veces mayor al que presentan la de origen cítrico y aun después de las desmetoxilación de ambas pectinas, se conserva una



proporción parecida (4.8 veces mayor). Estos resultados ayudan a explicar las grandes diferencias que se tienen en el comportamiento reológico y textural que se ha encontrado en ambos polímeros, ya que en el proceso de gelificación, además del grado de metoxilación (que representa puntos de interacción intermolecular para establecer la red tridimensional del gel) también es importante el peso molecular y con ello la longitud de cadena en donde se encontraran los puntos de interacción.

Tabla 7 Pesos moleculares determinados mediante viscosimetría capilar.

Pectina		Viscosidad intrínseca (m ³ /kg)	Peso molecular kDa
Alto metoxilo	<i>C. pubescens</i>	1.142	502.26
	Cítrico	0.2906	95.12
Bajo Metoxilo	<i>C. pubescens</i>	0.8157	333.62
	Cítrico	0.2235	69.14

Cabe destacar que ambos tipos de pectinas provienen del mesocarpio de las frutas y la literatura reporta que para la extracción de pectinas de fuentes cítricas es necesario usar soluciones ácidas, lo cual facilita la extracción de la pectina pero puede también hidrolizar a la pectina y disminuir su peso molecular. Para el caso del tejocote, la pulpa naturalmente tiene un pH lo suficientemente ácido para que no sea necesaria la acidificación artificial y esto trae dos consecuencias importantes 1) se reducen las cantidades de residuos del proceso con lo que el tejocote se puede considerar una fuente amigable al ambiente y 2) se mantiene integro al máximo el peso molecular del polímero y con ello también se mantienen sus propiedades funcionales (Mesbahi *et al.*, 2005; Min *et al.*, 2011; Zhang y Mu, 2011).

5.3. Propiedades reológicas

5.3.1. Zona de viscoelasticidad lineal

Se determinó la ZVL, es decir la región donde los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') son independientes del esfuerzo oscilatorio aplicado. Para determinarla, se realizó un barrido de exploración de amplitud a frecuencia



constante (1Hz). Este barrido de exploración consistió en someter al gel a un espectro amplio de esfuerzos de deformación con valores de torque de 0.001-10 mNm y observar el comportamiento de G' y G'' .

En la Figura 18 se muestra la gráfica resultante y las zonas donde se localizó la ZVL para ambas pectinas. Hecho esto, se realizó un barrido de amplitud para delimitar con mayor precisión la ZVL, como se muestra en la Figura 19.

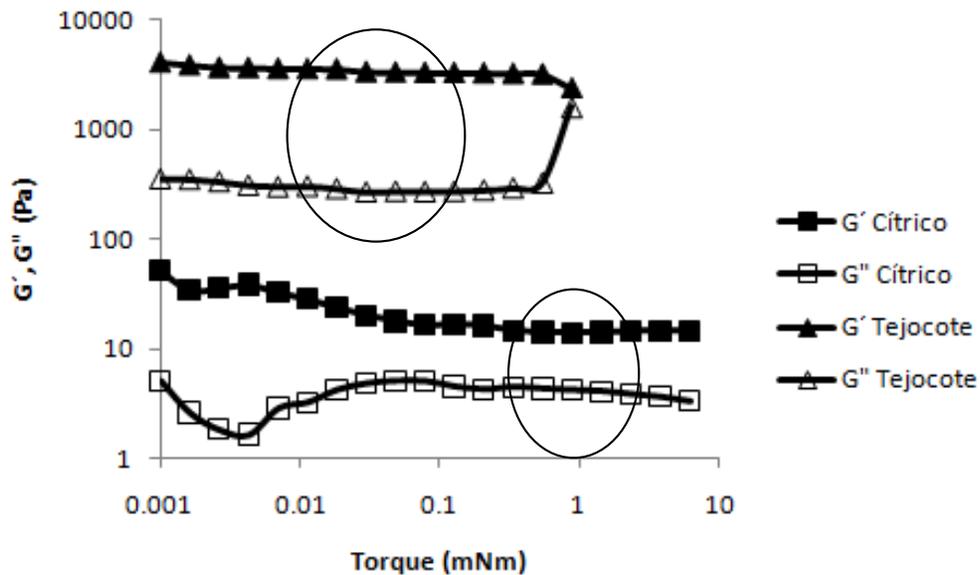


Figura 18 Barrido de exploración de esfuerzos para dispersiones iguales de PBMC y PBMT

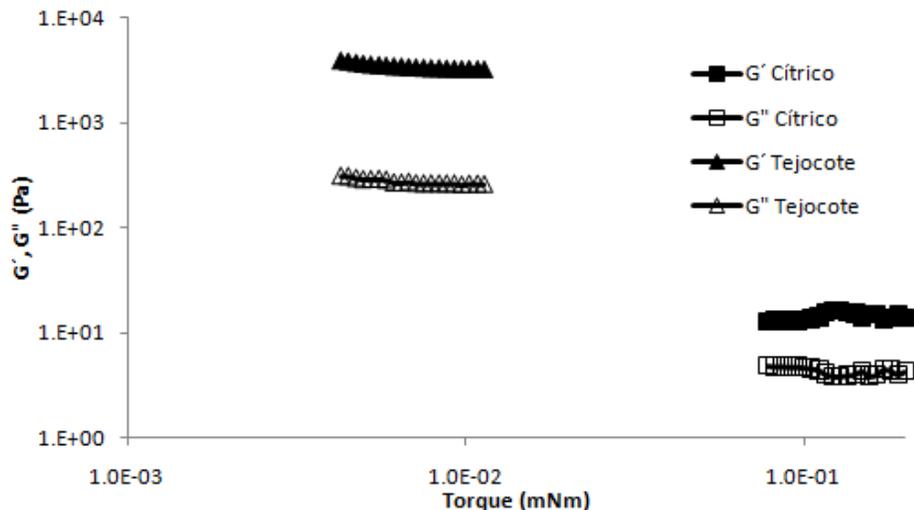


Figura 19 ZVL para dispersiones iguales de PBMC y PBMT



Posteriormente, se procedió a realizar un barrido de frecuencia a un valor de esfuerzo fijo (obtenido del promedio de los valores de esfuerzos que determinan la ZVL), para determinar el comportamiento de G' y G'' en función de la frecuencia y caracterizar el comportamiento viscoelástico de los geles.

5.3.2. Alto metoxilo

Los resultados del comportamiento reológico de los geles se encuentran resumidos en la Figura 20, estos datos fueron obtenidos dentro de la zona de viscoelasticidad lineal y por ello la relación entre la deformación y el esfuerzo aplicado es lineal. En la Figura 20 se puede observar que el logaritmo de los módulos G' y G'' tiende a la independencia del logaritmo de la frecuencia del esfuerzo con el que se realiza la determinación, también se aprecia que hay una preponderancia del valor de G' sobre G'' es decir la componente elástica es de una magnitud superior a la componente viscosa tanto para PAMC como para PAMT, con lo cual podemos clasificar las estructuras como geles fuertes de acuerdo con la clasificación propuesta por Ross-Murphy, (1988), el análisis del comportamiento de G' de PAMT en comparación con el de PAMC (Tabla 8), demuestra que la componente elástica de PAMT es 2 veces mayor que PAMC es decir que la energía retenida por los geles de PAMT es mayor que la que pueden retener los geles de PAMC.

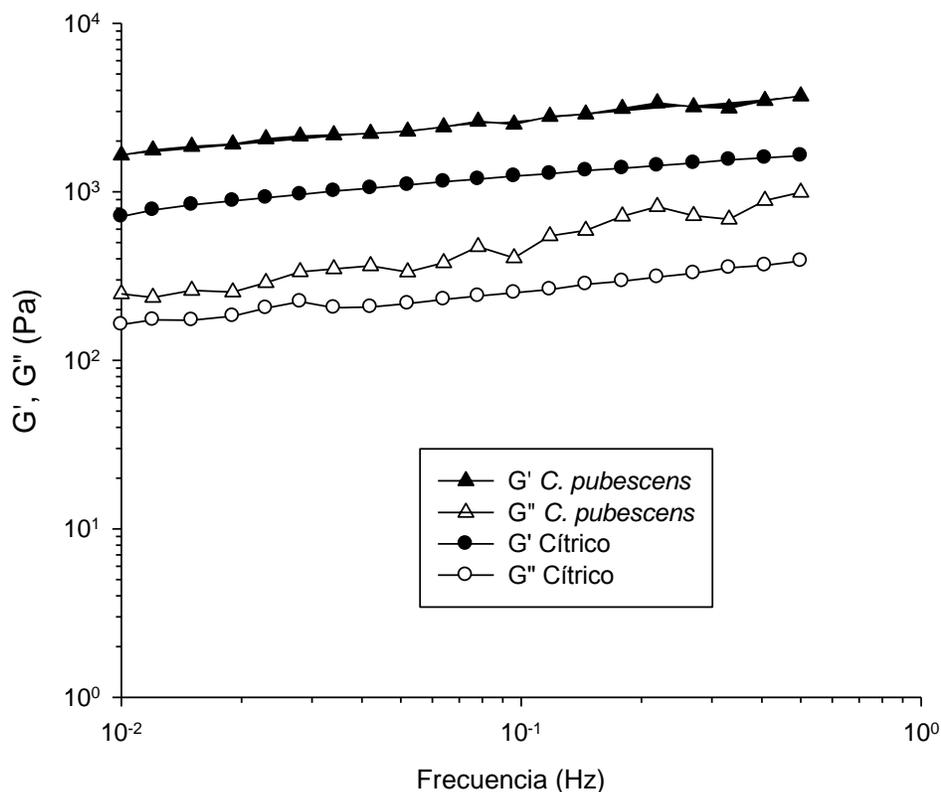


Figura 20 Módulos G' y G'' para geles de PAMC y PAMT

El ángulo de desfase reportado en la Tabla 8 se usó para describir los efectos relativos de los componentes viscosos y elásticos el valor del ángulo de fase para PAMT y PAMC fue de 0.192 y 0.215, respectivamente. De acuerdo con Steffe (1996), un valor del ángulo de desfase menor a 1 indica un comportamiento de gel y los valores obtenidos indican que ambas muestras están estructuradas como geles

Tabla 8 Propiedades reológicas de geles de pectina AM

Material	G'	G''	Ángulo de desfase
PAMT	2567.5	494.4	0.192
PAMC	1176.5	253.1	0.21



En lo que se refiere a la dependencia de G' y G'' con la frecuencia, en la Tabla 9 se observa que el menor de los valores de la dependencia del módulo de almacenamiento lo presenta el gel de *Crataegus p.* lo cual significa que este gel posee un sistema más estructurado, es decir, una red tridimensional con una menor posibilidad de ruptura.

Tabla 9 Dependencia de los módulos dinámicos (G' y G'') con la frecuencia

	Módulos dinámicos	
	G'	G''
PAMC	$1347.41\omega^{0.201}$	$291.27\omega^{0.214}$
PAMT	$2928.87\omega^{0.195}$	$478.74\omega^{0.371}$

5.3.3. Bajo metoxilo

La espectrometría mecánica de los geles PBMT y PBMC se muestran en la Figura 21 donde se puede ver que ambos comportamientos tienen independencia de la frecuencia (como corresponde a un gel fuerte) y se puede distinguir que ambos valores de G' predominan sobre el valor de G'' . A pesar de que ambas estructuras se autosostentan como geles, la formada por PBMT presenta un módulo de almacenamiento 10 veces mayor que el de PBMC y por ello su resistencia es mayor. Vivar, (2005a) estudió la reología de pectinas de tejocote de bajo metoxilo y no encontró un gel estructurado sino una dispersión del biopolímero, lo anterior puede deberse a la metodología de obtención del extracto de pectina de tejocote que en el trabajo previo se realizó mediante el filtrado en tela mientras que en el presente trabajo se realizó por centrifugación para eliminar la mayor cantidad de pulpa del fruto (celulosa hemicelulosa y lignina) que no participan en el proceso de gelificación.

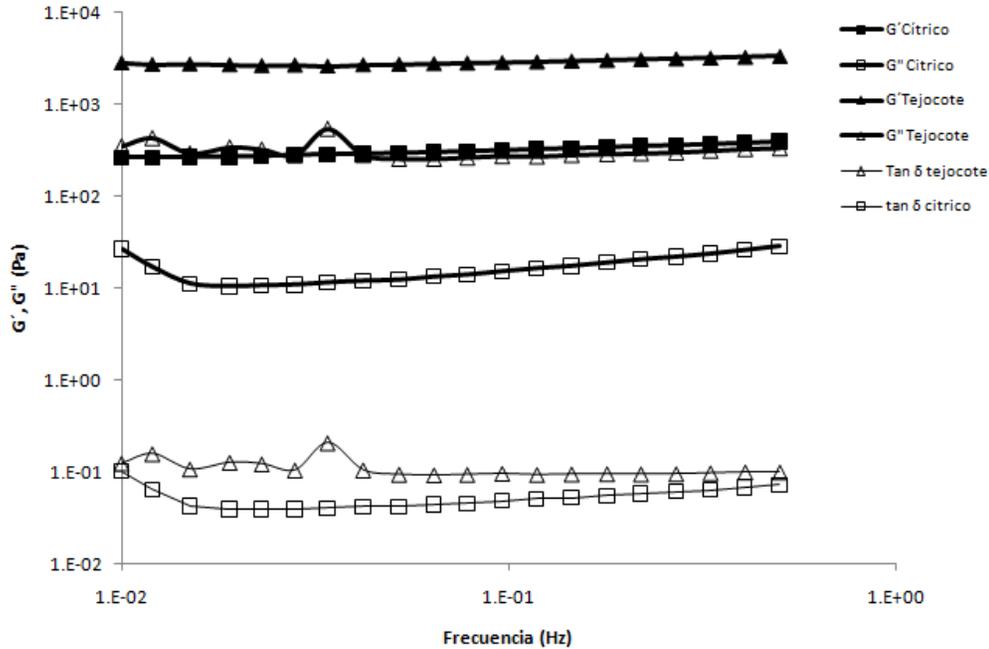


Figura 21 Módulos G' y G'' para geles de PBMC y PBMT

En lo que respecta al comportamiento de los geles de PBMC, el comportamiento es comparable entre ambos estudios sin dejar de mencionar que aunque la concentración de Ca^{2+} es la misma, la de sacarosa y pectina difieren, Vivar, (2005a) usó 1% de PBMC y 10 % de sacarosa mientras que en este estudio las concentraciones fueron de 22% de sacarosa y 2.2 % de PBM.

5.3.4. Creep-recuperación alto y bajo metoxilo

Las determinaciones creep se llevaron a cabo dentro de la zona de viscoelasticidad lineal de forma equidistante y por tanto los esfuerzos usados en cada muestra son diferentes entre sí pero corresponden al valor mínimo dentro de la ZVL de cada muestra y por ello los podemos comparar. En la Figura 22 se puede observar la comparación entre PAMT y PAMC en donde se aprecia una mayor deformación de la muestra cítrica en comparación con la de tejocote, visto esto de forma numérica y en términos de rigidez PAMT tiene una rigidez instantánea 5 veces mayor que la

de PAMC y una rigidez retardada y viscosidad 10 veces mayor (Tabla 10). Lo que deja ver una estructura mejor definida en PAMT.

Tabla 10 Propiedades reológicas de geles de pectina BM

Material	G'	G''	Ángulo de desfase
PBMT	2898	316.15	0.11
PBMC	313.7	16.6	0.05

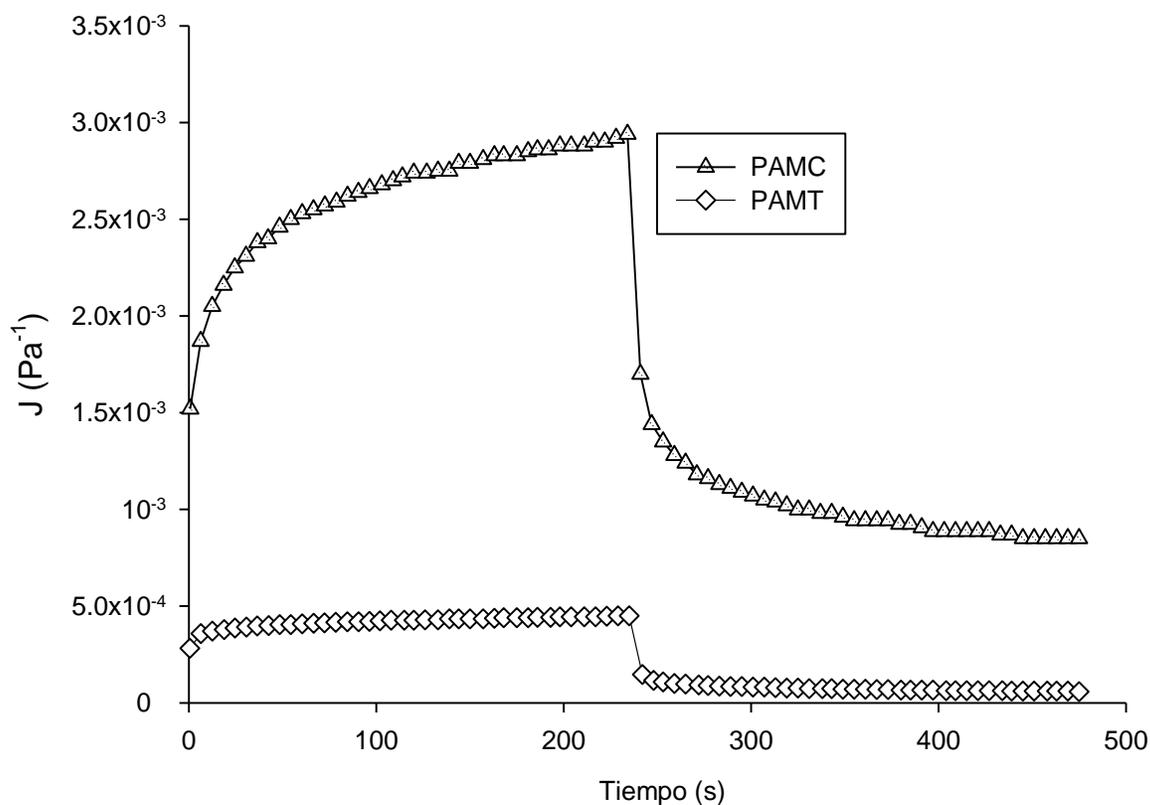


Figura 22 Curva de Creep (esfuerzo deformación) para geles de PAMT y PAMC

Al comparar los geles de bajo metoxilo de origen cítrico con los tejocote de se observa que tienen comportamientos muy diferentes (Figura 23), en estas muestras



se comparan valores similares de esfuerzos (el mínimo de PBMC con el máximo de PBMT) y lo que se observa es que el módulo de rigidez instantánea es solo 30% más grande para PBMT con lo que la respuesta instantánea de ambos geles es muy parecida, lo que no ocurre con la rigidez retardada en donde PAMT es más de 5 veces mayor que PBMC y da forma característica a la curva generando una deformación muy grande, en el caso del tiempo de retardo la proporción es de casi 3 veces y para la viscosidad también tienen valores parecidos, PAMT solo es 25% mayor a PAMC (Tabla 11).

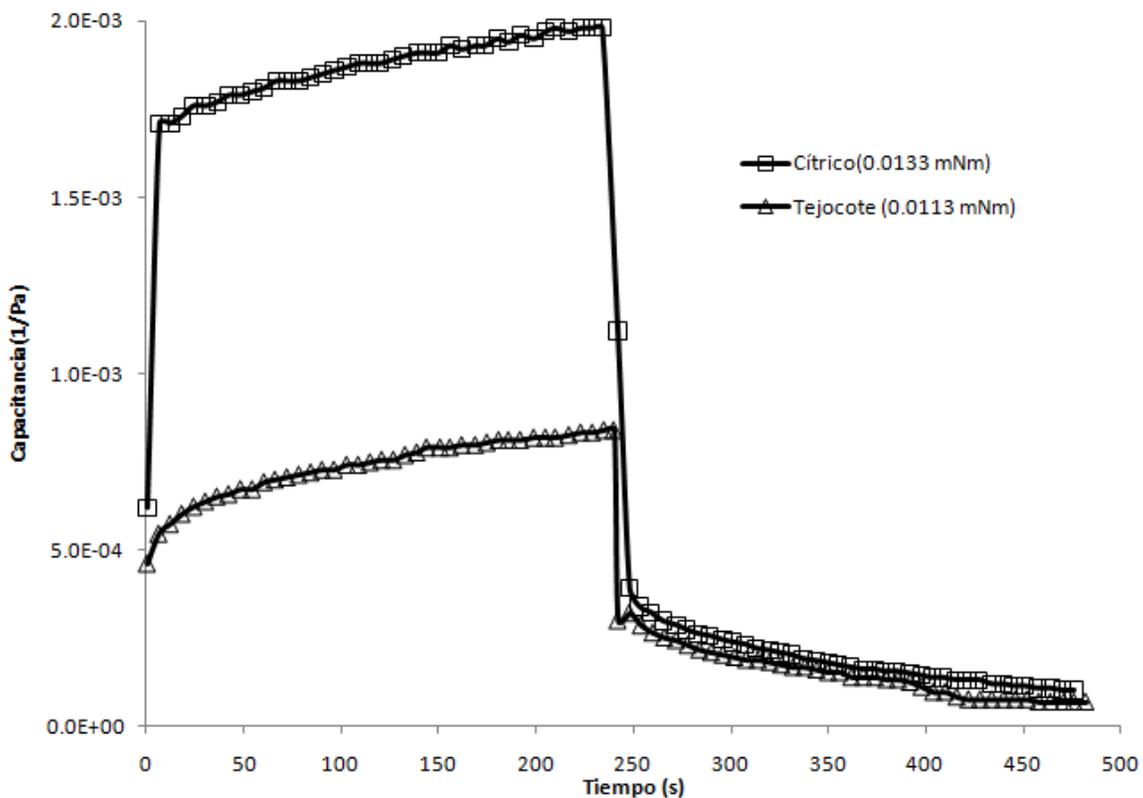


Figura 23 Curva de Creep (esfuerzo deformación) para geles de PBMT y PBMC

Al comparar los valores del modelo de Burgers entre pectinas del mismo origen y distinto grado de metoxilación se tiene que para el caso de pectinas cítricas hay una mayor rigidez instantánea y mayor viscosidad en BM que en AM pero mayor rigidez retardada y mayor tiempo de retardo en AM que en BM. Para las pectinas de tejocote la rigidez instantánea, retardada y la viscosidad de AM son superiores a las de BM, mientras que el tiempo de retardo es mayor en BM que en AM.



Tabla 11 Parámetros del modelo de Burgers para Alto y Bajo Metoxilo

	Torque (μNm)	G_0 (Pa)	G_1 (Pa)	η_0 (Pa s)	λ_{Ret} (s)
PAMC	4.3	658	1000	564971	19.92
PBMC	13.3	1620	909	1000000	5.55
PAMT	30	3550	10000	5000000	5.38
PBMT	11.3	2170	5000	1250000	14.85

5.4. Perfil de textura

5.4.1. Alto metoxilo

Los gráficos de TPA para PAMC y PAMT se muestran en la Figura 24. El comportamiento de los geles muestra que la estructura formada por los geles de pectina de *C. pubescens* se encuentra mejor estructurada que la de los geles de pectina cítrica lo cual les permite soportar esfuerzos mayores.

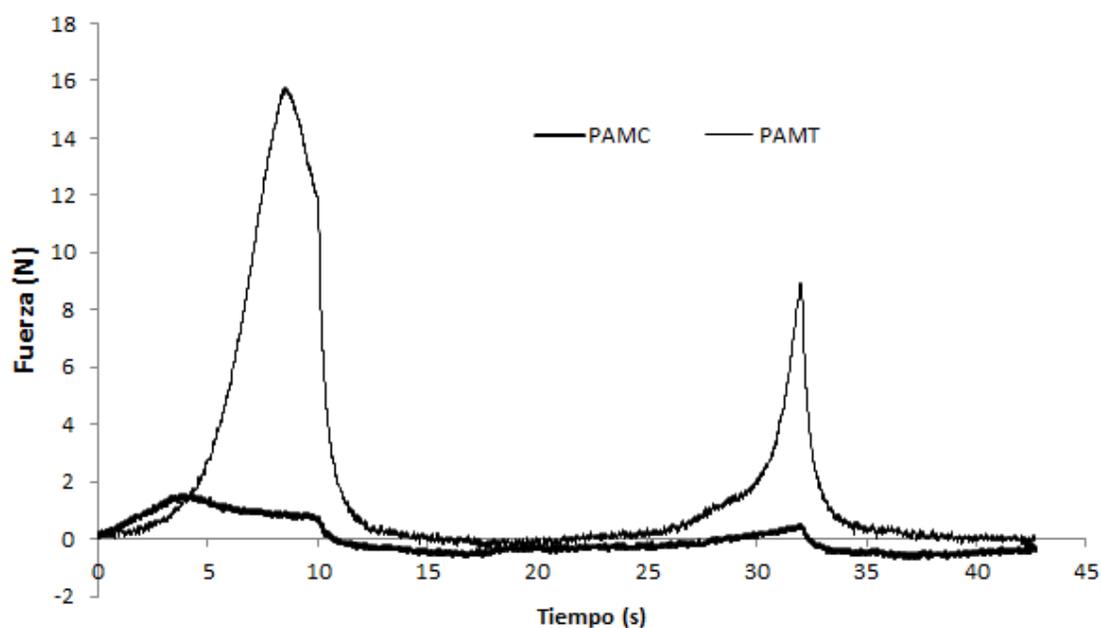


Figura 24 El perfil de textura (TPA) de geles de alto metoxilo.



La Tabla 12 registra los parámetros del TPA para AM, en donde se ve que la adhesividad es el único de los parámetros donde los geles cítricos resultaron con valores superiores a los de tejocote, y aparentemente 2 factores tienen que ver en estos resultados: 1.- la primera compresión destruyó la estructura de los geles cítricos a tal grado que algunos fragmentos quedaron libres y 2.- Estos fragmentos pudieron adherirse fácilmente al émbolo del equipo debido a la pérdida de líquido que presentaban y que facilitaba su interacción con esa superficie.

Tabla 12 Parámetros de TPA para alto metoxilo

PARAMETRO	<i>C. pubescens</i>	Cítrico
DUREZA (N)	15.76 ± 0.40	1.66 ± 0.01
ESPONJOSIDAD (--)	0.99 ± 0.17	0.71 ± 0.01
COHERENCIA (--)	0.30 ± 0.05	0.09 ± 0.01
GOMOSIDAD (N)	4.68 ± 0.67	0.15 ± 0.02
MASTICABILIDAD	4.61 ± 0.80	0.10 ± 0.01
ELASTICIDAD (--)	0.67 ± 0.10	1.98 ± 0.42
ADHESIVIDAD (mJ)	-0.57 ± 0.30	-5.33 ± 2.90

De acuerdo con Kastern *et al.* (2014) la estructura que forman las pectinas está fuertemente influenciada por la velocidad de enfriamiento de los geles y esto genera zonas muy amplias de interacción entre polímeros, cuando el enfriamiento es lento, y zonas pequeñas para la interacción pero muy numerosas cuando el enfriamiento es rápido. Este mecanismo puede compararse con el proceso de cristalización sugerido por la teoría de nucleación según la cual en la cristalización rápida hay una gran cantidad de clusters que crecen para formar los cristales.

La mayoría de las metodologías usadas para gelificar pectinas emplean calor en las hidratación de los elementos, lo cual además le confiere al gel un tratamiento térmico que lo ayuda a protegerse de la degradación por microorganismos, sin

embargo, es posible obtener geles sin calentar la mezcla (Figura 25) y dar con ello el tiempo necesario para que la deshidratación de las cadenas pectínicas puedan estructurar el gel.

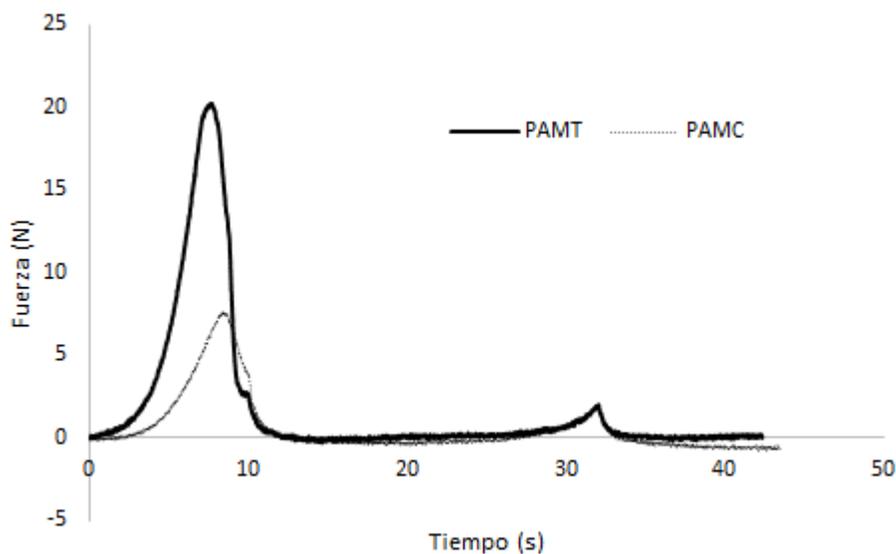


Figura 25 Perfil de textura de geles de alto metoxilo cítrico y de *C. pubescens* elaborados sin calentamiento

5.4.2. Bajo metoxilo

Los parámetros texturales muestran comportamientos muy distintos para los geles de PBMC y PBMT y el TPA se aprecia en Figura 26, esto se pueden atribuir a la cantidad de agua que contiene estos geles, que es del orden de 90% mientras que para los geles de AM es del orden de 40%.

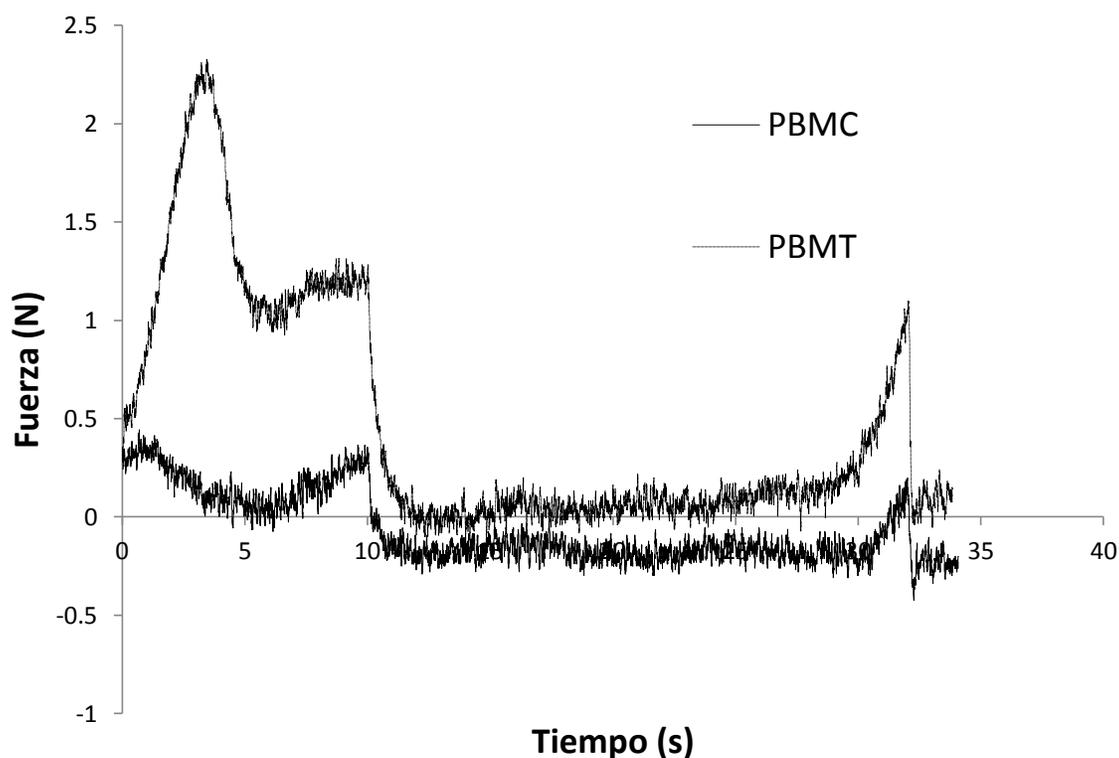


Figura 26 TPA para geles de bajo metoxilo en presencia de Ca^{2+}

En Tabla 13 se resumen los valores numéricos de cada uno de los parámetros y la diferencia en sus magnitudes. La dureza de PBMT es 5 veces mayor que para PBMC, la esponjosidad y adherencia de ambos tipos prácticamente no cambia.

Tabla 13 Parámetros de TPA para geles de Bajo metoxilo

PARAMETRO	<i>C. pubescens</i>	Cítrico
DUREZA (N)	2.260 ± 0.25	0.42 ± 0.026
ESPONJOSIDAD (--)	0.680 ± 0.53	0.849 ± 0.326
COHERENCIA (--)	0.065 ± 0.05	0.036 ± 0.013
GOMOSIDAD (N)	0.151 ± 0.12	0.015 ± 0.004
MASTICABILIDAD	0.147 ± 0.20	0.011 ± 0.001
ELASTICIDAD (--)	1.905 ± 0.09	5.528 ± 2.150
ADHESIVIDAD (mJ)	3.856 ± 3.40	3.583 ± 0.055

La gomosidad y masticabilidad de PAMT son 10 y 12 veces respectivamente mayores que para PBMC, la coherencia es casi dos veces mayor que para PBMT y solo la elasticidad es el único parámetro donde PAMC es 3 veces mayor que PBMT.

Una comparación entre los perfiles de textura encontrados en pectinas de alto y bajo metoxilo permite ver notables diferencias entre ambas pectinas y quizás la más notable es la dureza. En la Figura 27 se pueden ver los comportamientos de la pectina estándar de cítricos de alto y bajo metoxilo, y la diferencia en dureza de ambos, PAMC 4 veces mayor que PBMC (Figura 27), aunado al perfil completo evidencia que son dos estructuras totalmente diferentes en donde la estructura de los geles de PBMT es prácticamente destruida en su totalidad con un mínimo esfuerzo y posterior a ello hay una recuperación mínima.

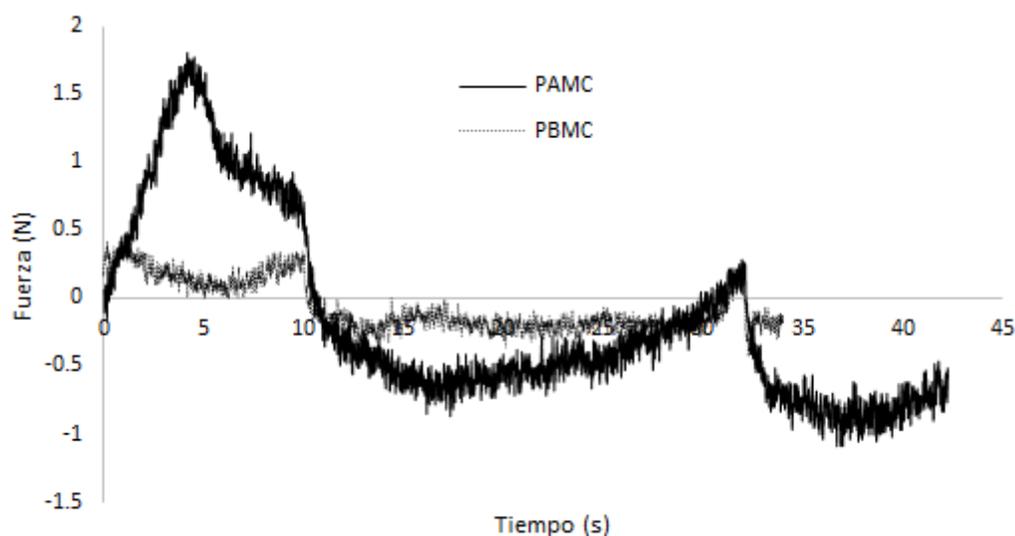


Figura 27 Perfil de textura para geles de origen cítrico

El TPA revela que tanto en alto como en bajo metoxilo, las pectinas de *Crataegus pubescens* forman geles con una mayor dureza que sus contrapartes cítricas y que ambos tiene un grado de recuperación después de la primera compresión (figura 28). Con estos resultados podemos elucidar que las moléculas de pectinas de

Crataegus pubescens tienen la capacidad de formar una mayor cantidad de zonas de interacción entre ellas que las de origen cítrico y quizás, además de esto, las zonas de interacción tengan más fuerza.

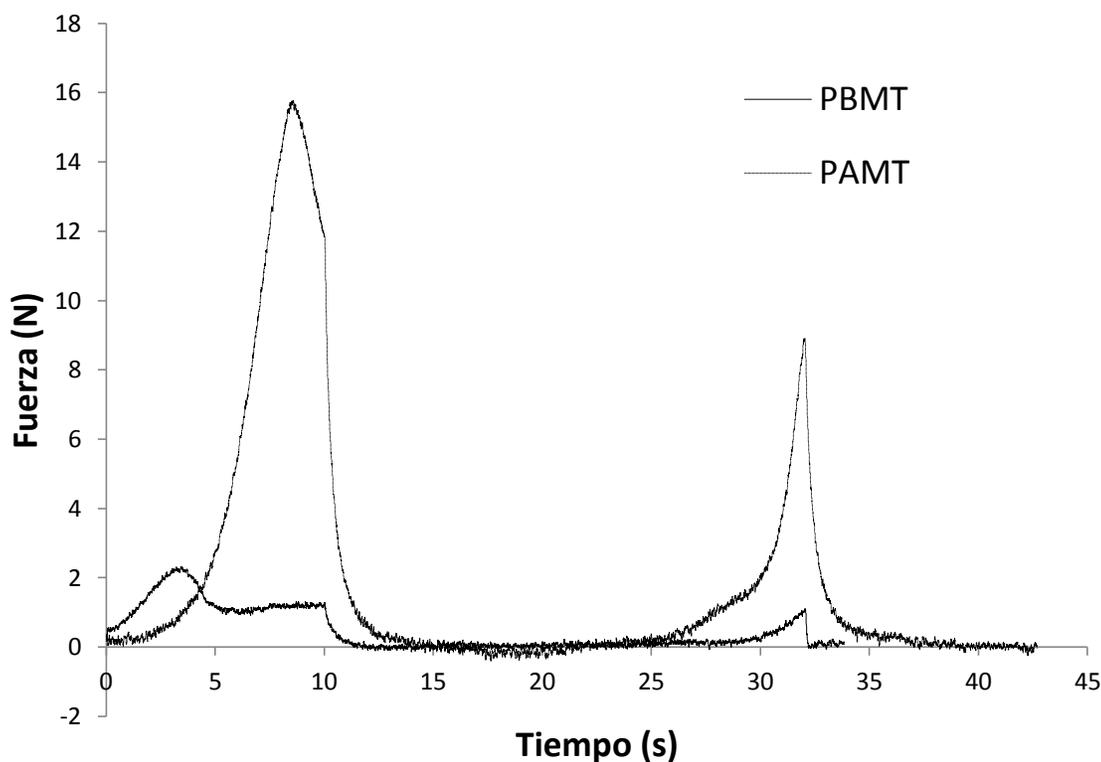


Figura 28 Perfil de textura para gels de *C. pubescens*

Puesto que ambos polímeros tienen GE semejantes, no es entonces el GE la causa de esta diferencia que les permite a los gels de *Crataegus pubescens* soportar esfuerzos mayores antes de romper su estructura.

Al comparar las estructuras antes y después de la determinación, también se puede observar que las de bajo metoxilo prácticamente son destruidas en su totalidad (Figuras 29 y 30), los gels de alto metoxilo están constituidos por poco menos del 40% de agua mientras que en los gels de BM el contenido de agua es cercano al 90%. La explicación que este fenómeno puede ser, debida a que en los gels de alto metoxilo las interacciones polímero-polímero tienen una frecuencia mayor que en el caso de bajo metoxilo en donde es más frecuente la interacción agua-polímero.

Siendo las interacciones polímero-polímero las que le dan el carácter elástico al sistema es por ello que los geles de alto metoxilo tienen mayor capacidad para recuperarse después de la deformación.

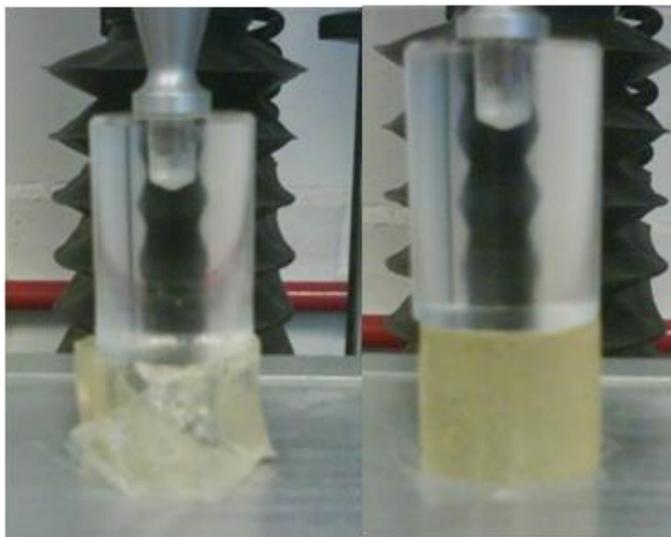


Figura 29 Gel PAM antes y después de las compresiones

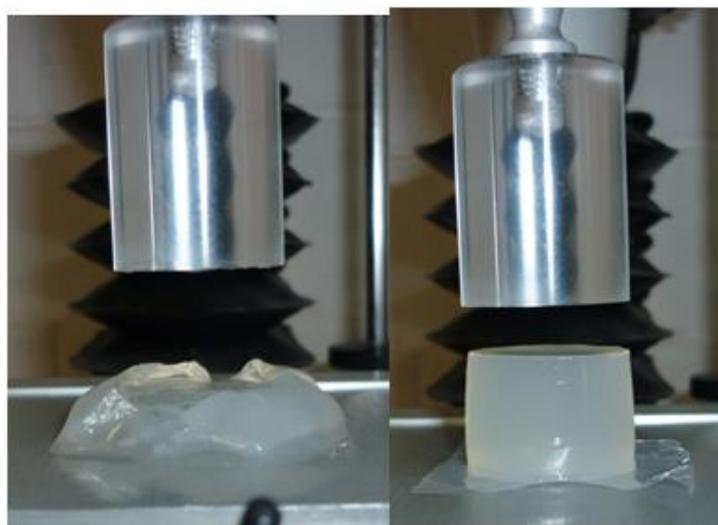


Figura 30 Gel PBM antes y después de las compresiones



5.5. Propiedades térmicas

Por DSC se pudo determinar que, para ambas pectinas, existen 2 transiciones térmicas importantes. En la pectina cítrica la primera presenta un pico alrededor de los 91°C y la segunda en los 231°C, la principal pérdida de peso se presenta a los 231°C, es la degradación térmica de la pectina y luego de este punto se registra una pérdida de aproximadamente el 65 % de la muestra, mientras que en la primera transición se registra la pérdida de aproximadamente el 10% de la muestra.

En la pectina de tejocote, este pico se presenta a los 226°C e implica un pico exotérmico ligeramente mayor lo cual muestra las diferencias en las fuerzas que mantienen unidos a estos polímeros, también hay una pérdida del 65% del peso total de la muestra, durante la primera transición térmica (99°C) se perdió el 8 % del peso de la muestra (Figuras 31, 32 y 33). Para ambas pectinas se concluye que la primera transición térmica cercana a 100°C es debida a la evaporación del agua, retenida en el polímero.

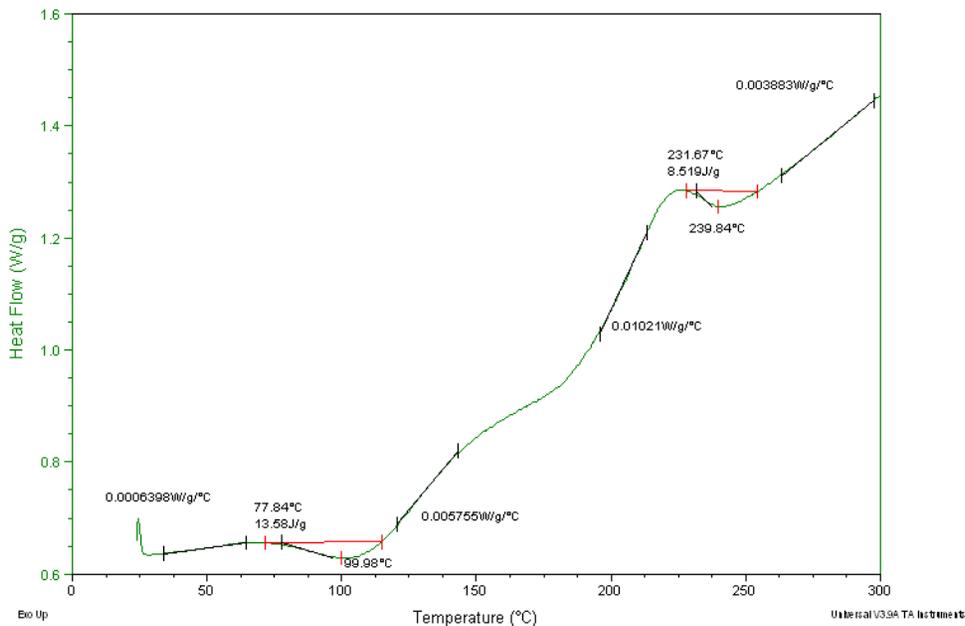


Figura 31 Termograma de PAMT

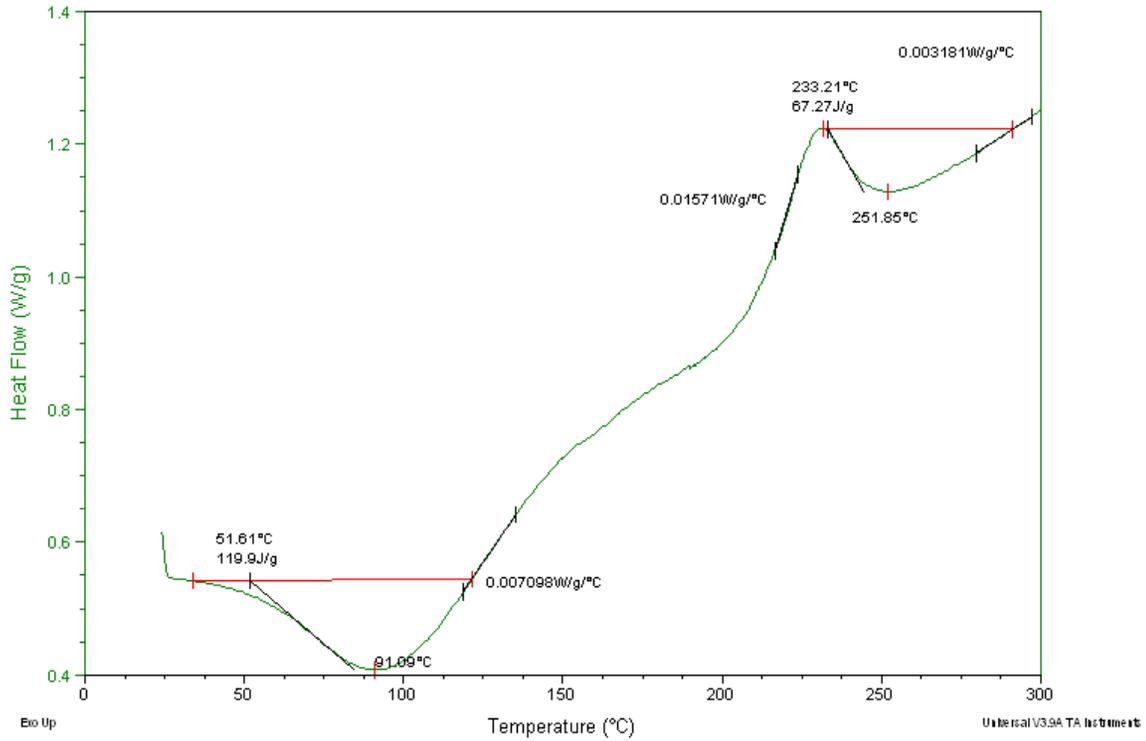


Figura 32 Termograma de PAMC

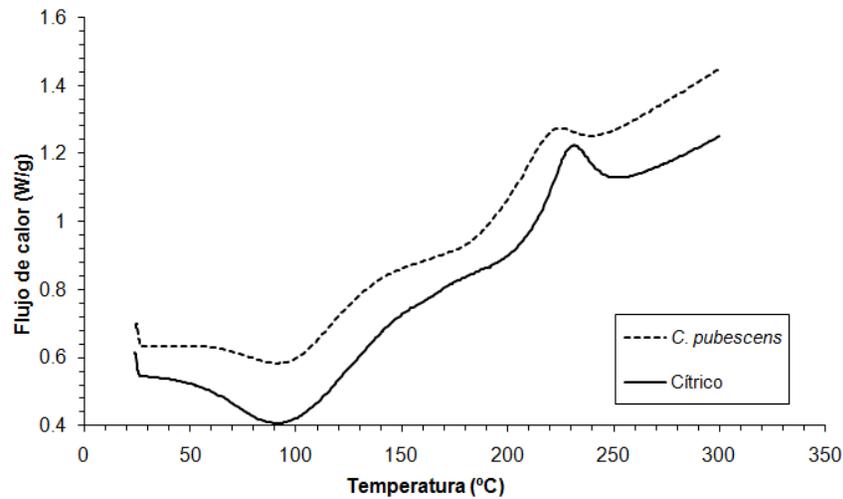


Figura 33 Termogramas por Calorimetría Diferencial de Barrido DSC (exo up)

La Tabla 14 muestra los intervalos y máximos de estos termogramas en donde podemos ver que el intervalo de temperaturas en donde tiene lugar la respuesta



exotérmica es 20% mayor para la pectina de *C. pubescens* que para la de origen cítrico lo cual puede deberse a una mayor homogeneidad en la composición polimérica de esta última.

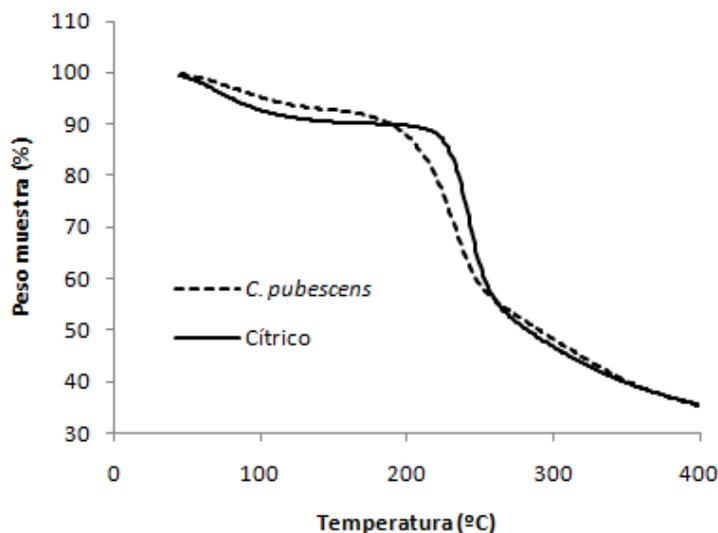


Figura 34 Resultados de Termogravimetría

Estos cambios también son visibles en las gráficas de TG (Figura 34) con cuyos datos además es posible conocer los cambios en peso que sufre la muestra después de cada una de las transiciones y mediante la primera derivada de los datos, se pueden conocer las temperaturas en donde se tiene la mayor velocidad de transferencia de masa, lo que se conoce como termogravimetría diferencial (DTG), Figuras 35 a 37.

Tabla 14 Resumen de temperaturas para las transiciones térmicas en DSC

Origen	Respuesta Endotérmica		Respuesta exotérmica (°C)			
	Pico	inicio	Pico	Inicio	Fin	Intervalo
Cítrico	91.09	60.82	231.41	214.09	240.47	26.38
<i>C. pubescens</i>	91.1	65.76	225.3	201.4	233.61	32.21



De esta forma se observa que para el caso de la pectina cítrica que contiene 10.31% de humedad se calcula un máximo en la velocidad de evaporación (expresado en % de pérdida de peso por grado Celsius) a 68°C mientras que para la pectina de *C. pubescens* no hay un máximo único sino un intervalo de velocidad máxima localizado en el intervalo de 79 a 93 °C. Al comparar los termogramas DTG de cada pectina se pudo notar que la velocidad máxima de evaporación de agua en la pectina cítrica es 60% mayor que para la de *C. pubescens* (-0.16 y -0.1 %/°C respectivamente).

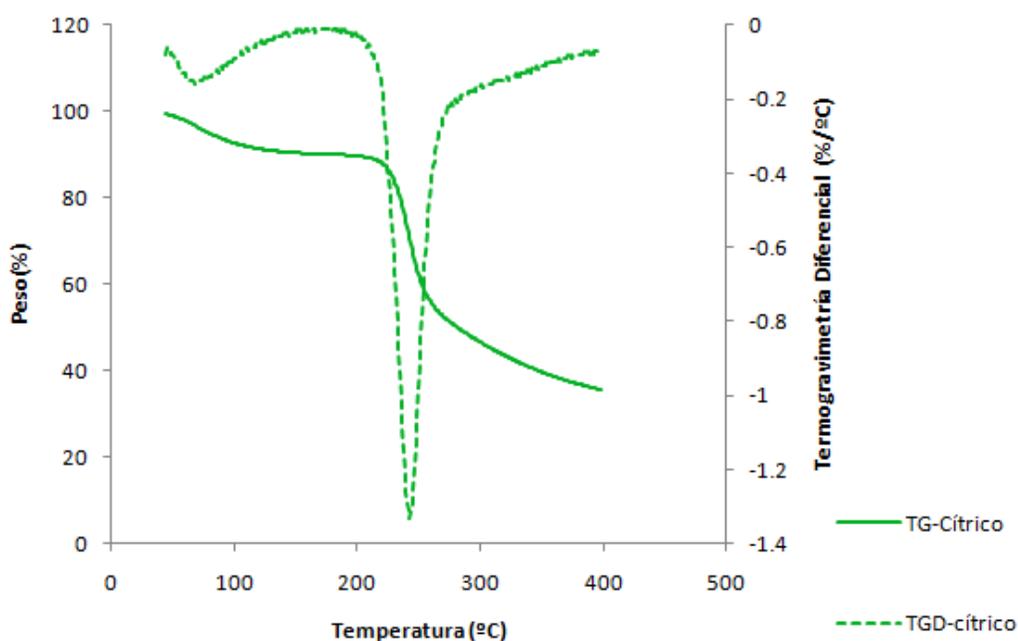


Figura 35 Termogravimetría y Termogravimetría Diferencial para la pectina cítrica

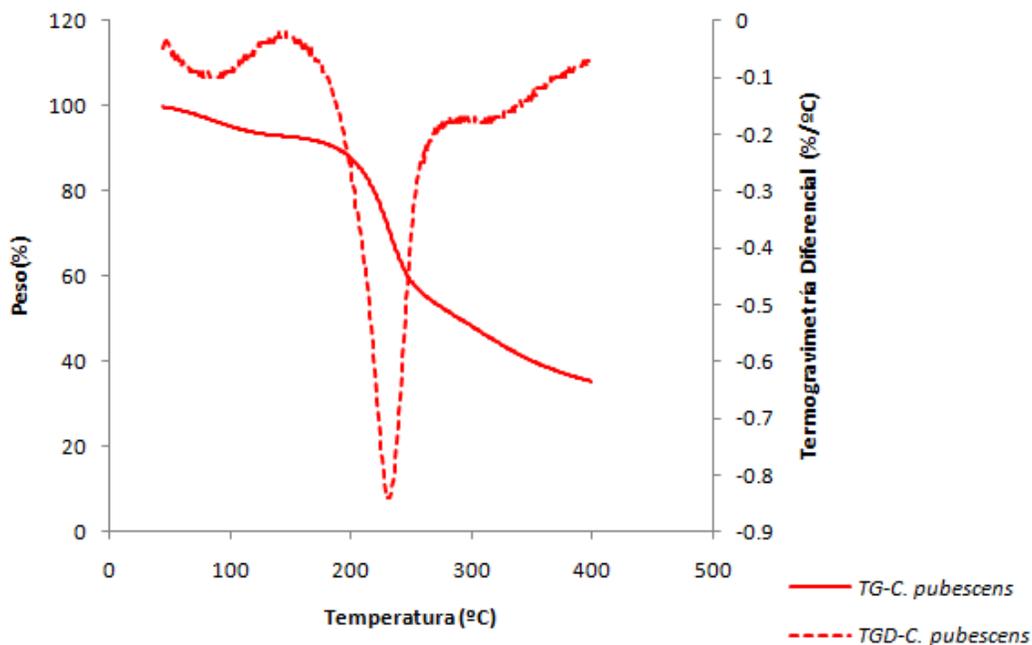


Figura 36 Termogravimetría y Termogravimetría Diferencial para la pectina de *C. pubescens*

Luego de alcanzar el máximo en evaporación la velocidad disminuye de manera constante hasta 138°C donde ambas pectinas tienen la misma velocidad de evaporación. En este punto la pectina cítrica ha perdido el 90% de la humedad que tenía al inicio mientras que la pectina de *C. pubescens* sólo ha perdido el 59%, todo lo anterior no lleva a afirmar que la humedad es atrapada con mayor fuerza por los polímeros de *C. pubescens* que por los polímeros cítricos.

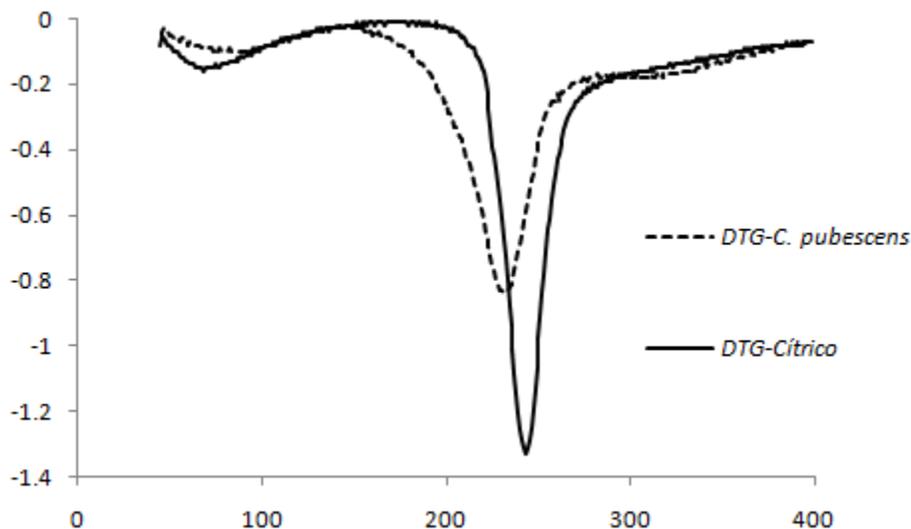


Figura 37 Comparación de termogravimetría diferencial para pectina cítrica y de tejocote.

La respuesta exotérmica de las pectinas vista mediante DTG marca un intervalo 22% más extenso en la pectina de *C. pubescens* que en la pectina cítrica (Tabla 15), por el contrario la rapidez de esta degradación es 58% más alta en la pectina cítrica que en la de *C. pubescens*.

Tabla 15 Resumen de temperaturas para las transiciones térmicas en DTG

	Inicio	Pico	Fin	Intervalo	Vmax
	°C	°C	°C	°C	%/°C
Cítrico	197	243	266	69	-1.33
<i>C. pubescens</i>	171	232	260	89	-0.84

La degradación térmica de *C. pubescens* inicia casi 26 °C antes que la cítrica lo cual puede indicar que tiene una menor termoestabilidad, sin embargo considerando la amplitud de su pico de degradación, se puede sospechar que la muestra no es homogénea y que se tienen una mezcla de polímeros con diferente grado de estabilidad térmica, en contraparte la pectina cítrica es una muestra más homogénea.



5.6. Difracción de rayos X

Al determinar el grado de cristalinidad por difracción de rayos X de ambas pectinas, se encontró en la pectina cítrica tiene 12.87% de cristalinidad (Figura 38) y 5.88 % en la de *C. pubescens* (Figura 39). Panchev et al. (2010) determinaron un porcentaje de cristalinidad en pectina de origen cítrico de 22 %, también por difracción de rayos X. Los porcentajes de cristalinidad de ambos polímeros permiten clasificarlos como polímeros predominantemente amorfos y ello concuerda con los resultados obtenidos por calorimetría en donde no fue posible encontrar un punto de fusión como correspondería a un polímero que cristaliza.

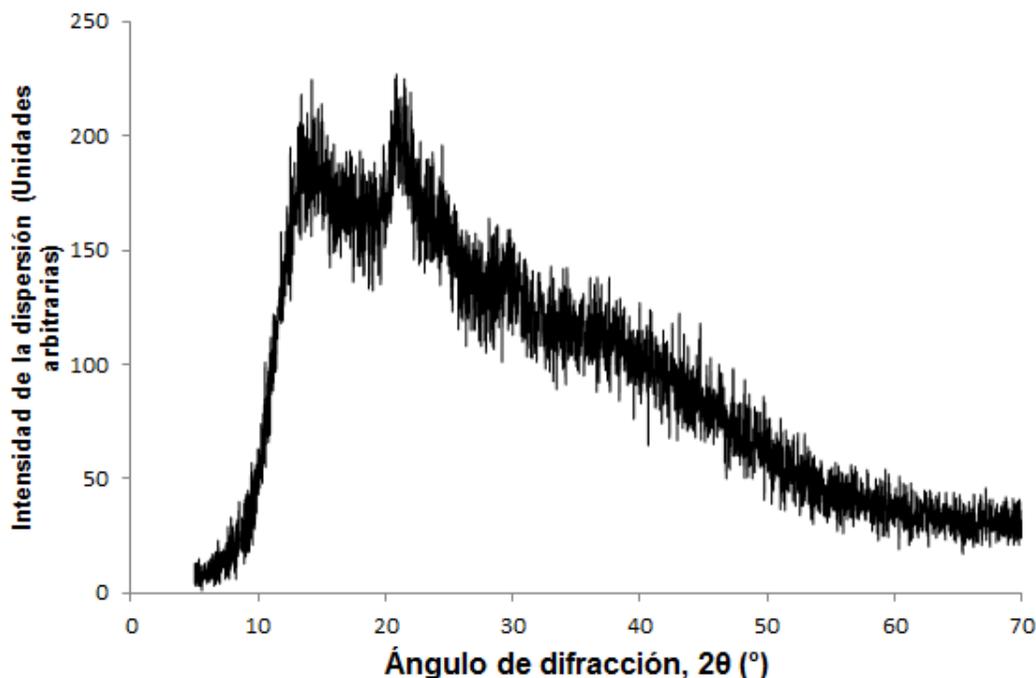


Figura 38 Difractograma de pectina de alto metoxilo cítrica

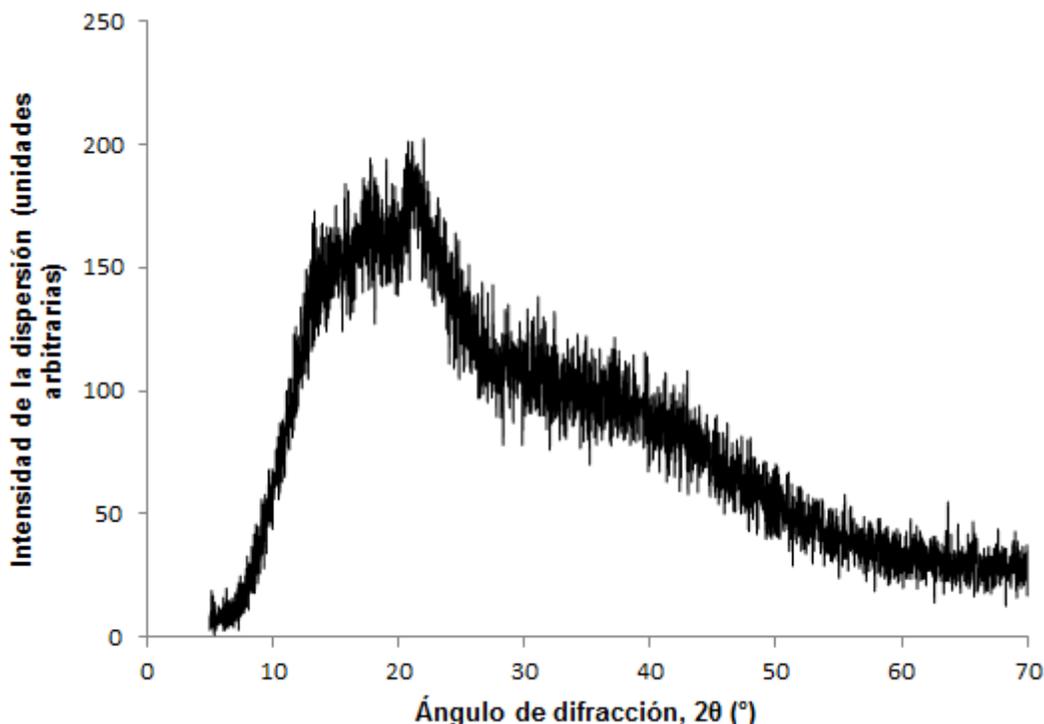


Figura 39 Difractograma de pectina de alto metoxilo de tejocote

Se sabe que la hidratación de biopolímeros se limita a la región amorfa mientras que la estructura cristalina no cambia. Panchev et al. (2010) concluyeron en su trabajo que la hidratación de las pectinas es multifactorial y además de la estructura cristalina o amorfa depende de la composición físico-química, tamaño de las macromoléculas, temperatura, etc. Lo anterior puede relacionarse a los resultados de DSC y concluir que en la pectina de *C. pubescens* hay más polímeros amorfos capaces de retener la humedad y por ello la velocidad de evaporación es menor que en la cítrica donde no hay tantos polímeros atrapándola y la pierden con mayor rapidez.



6. CONCLUSIONES



Se pudo extraer pectina de alto metoxilo del fruto maduro de tejocote (*Crataegus pubescens*). El proceso de extracción ácida en caliente a pH 3.0 prescindió de la adición extra de ácido cítrico, pues la pulpa del fruto naturalmente alcanza este pH y solo fue necesario adicionar calor. Lo cual convierte al tejocote en una fuente de pectina más amigable con el medio ambiente.

El extracto pectínico fue caracterizado fisicoquímicamente y clasificado como pectina de alto metoxilo y alto peso molecular.

La caracterización física de los geles de PAMT, PBMT, PAMC y PBMC los clasificó como materiales viscoelásticos donde existe preponderancia del módulo de almacenamiento sobre el módulo de pérdida. Para ambos grados de metoxilación los geles de tejocote tuvieron módulos elásticos mayores

Las determinaciones Creep mostraron mayores módulos de rigidez en las muestras de tejocote que en las cítricas. Lo que es indicativo de una mayor resistencia a la deformación y que ha sido atribuida al alto peso molecular de PAMT y PBMT.

La caracterización textural de los geles de PAMT, PBMT, PAMC y PBMC revela una mayor dureza para las muestras de tejocote en comparación con las cítricas, esto implica que los enlaces intermoleculares predominantemente se desplazan a grupos funcionales contiguos antes que romperse de forma irreversible.

El análisis térmico de los polímeros mostró que el extracto de tejocote es más heterogéneo que el cítrico y su degradación térmica tiene su máximo 6°C antes.

Las pectinas son polímeros predominantemente amorfos y por lo tanto no presentan punto de fusión.



7. RECOMENDACIONES



Las recomendaciones que se dan para continuar investigando sobre este tema son:

- 1.- Determinar el efecto del tiempo-concentración de HCl en la etapa de neutralización del proceso de desmetoxilación de pectinas para poder controlar el proceso de forma industrial.
- 2.- Determinar los cambios en las propiedades reológicas de la mezcla reactiva durante el proceso de desmetoxilación para aumentar el nivel de control del proceso.
- 3.- Determinar el peso molecular de pectinas por cromatografía de exclusión molecular.



8. BIBLIOGRAFÍA



Agoub A. A., Giannouli P., Morris E. R. (2009) **Gelation of high methoxy pectin by acidification with D-glucono- δ -lactone (GDL) at room temperature.** Carbohydrate Polymers, 75, 269-281.

Albella J.M., Cintas A.M., Miranda T. y Serratosa J.M. (1993) **Introducción a la ciencia de materiales.** Ed. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid, España, p 530-547.

Alonso J., Howell N. y Canet W. (1997). **Purification and characterisation of two pectinmethylesterase from persimmon (*Diospyros kaki*)** Journal of the Science of Food and Agriculture, 75, 352-358.

Alonso-Mougan M., Meijide F., Jover A., Rodriguez-Nuñez E. y Vazquez-Tato J. (2002). **Rheological behaviour of an amide pectin.** Journal of Food Engineering, 55, 123–129.

Angyal S. J. (1989). **Complexes of metal cations with carbohydrates in solution.** Advances in Carbohydrate chemistry and biochemistry, 47, 1-43

Blumenkrantz N. y Asboe-Hansen G. (1973). **New method for quantitative determination of uronic acids.** Analytical Biochemistry. 54, 484-489

Boatella R. J., Codony S. R. y López, A. P. (2004) **Química y bioquímica de los alimentos.** Universitat Barcelona. España. pp. 109.

D'Addosio R., Páez G., Marín M., Mármol Z. y Ferrer J. (2005). **Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa Degener*),** Revista de la Facultad de Agronomía-LUZ , 22(3), 240-249.

FAO/WHO (2007). **Expert committee on food additives, FAO JECFA. monograph 4. compendium of food 407 additives specifications.** Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, pp 34

Franco-Mora O., Aguirre-Ortega S., Morales-Rosales E. J., González-Huerta A. y Gutiérrez-Rodríguez F. (2010). **Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México.** Ciencia Ergo Sum, 17, 61-66.

Fishman M. L., Cooke P. H., Chau H. K., Coffin D. R. and Hotchkiss A. T. Jr. (2007). **Global Structures of high methoxyl pectin from solution and in gels.** Biomacromolecules, 8, 573-578.

Gunasekaran S. y Mehmet A. K. (2000) **Dynamic oscillatory shear testing of foods selected applications,** Trends in Food Science & Technology, 11, 115-127.

Higareda R. A., Salazar M. J. A. y Ramos, R. E. G. (1995a). **Caracterización de la pectina del tejocote.** Revista Chapingo, Horticultura. 4, 47-52.



Higareda R. A., Prado E. A. O., Salazar M. J. A., Ramos R. E. G. y Rosales D. M. (1995b). **El concentrado comercial de pectina de la pulpa de tejocote**. Revista Chapingo, Horticultura. 4, 155-157.

Kar F. y Arslan N. (1999) **Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity–molecular weight relationship**. Carbohydrate Polymers, 40, 277-284.

Kertesz, Z.I. (1951), **The pectic substances**. Interscience. New York

McComb, E. A. y McCready, M. M. (1957). **Determination of acetyl in pectin and in acetylated carbohydrate polymers**. Analytical Chemistry, 29, 75-79.

Mesbahi G., Jamaliana J. y Farahnaky A. (2005). **A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems**. Food Hydrocolloids, 19, 731–738.

Min B., Lim J., Ko S., Lee K.-G., Lee S.H. y Lee, S. (2011). **Environmentally friendly preparation of pectins from agricultural byproducts and their structural/rheological characterization**. Bioresource Technology, 102, 3855–3860.

Nollet L. M. L. (1996), **Handbook of Food Analysis**. Vol 1. Ed. Marcel Dekker, New York. pp. 324-327.

Oakenfull D. y Scott A. (1984) **Hydrophobic interactions in the gelation of high methoxyl pectins**. Journal of food Science, 49, 1093-1098.

Ovodova R. G., Bushneva O. A., Shashkov A. S., Chizhov A. O. y Ovodov, Y. S. (2005). **Structural studies on pectin from marsh cinquefoil *Comarum palustre* L.** Biochemistry (Moscow), 8, 867-877.

Pagan G. J. (1996). **Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón**, tesis doctoral, Universidad de Lleida, España. pp. 5-23.

Panchev I.N., Slavov A., Nikolova Kr. y Kovacheva D. (2010). **On the water-sorption properties of pectin**, Food Hydrocolloids, 24, 763-769.

Rabek J. F. (1980) **Experimental Methods in Polymer Chemistry Physical Principles and Applications**, John Wiley y sons, New York, USA, p 505-509.

Rao D. G. (1993). **Studies on viscosity–molecular weight relationship of chitosan solutions**. Journal of Food Science and Technology, 30, 66–67.

Rao M. A. y Steffe J. F. (1992), **Viscoelastic Properties of Foods**, Elsevier Science Publisher LTD, Great Britain, pp 285-290.



Schultz T. H. (1965). **Determination of the degree of esterification of pectin, determination of the ester methoxyl content of pectin by saponification and titration.** En "Methods in carbohydrate Chemistry" Vol. 5. Academic Press, New York, pp 189.

Sengkhampan N., (2009). **Chemical, physical and biological features of okra pectin,** tesis doctoral, Wageningen University, Tailandia pp. 13-22.

Steffe J. F. (1996), **Rheological methods in food process engineering,** Freeman press, 2nd, 294-349.

Varela L. A. (1997) **Elementos estructurales con materiales polímeros,** ed. Universidade da Coruña, España, p. 49-63.

Verlent I., Hendrickx M. E., Verbeyst L., Van L. A. (2003b). **Effect of temperature and pressure on the combined action of purified tomato pectinmethylesterase and polygalacturonase in presence of pectin,** Enzyme and Microbial Technology. 40, 1141-1146.

Vivar V. M. A. (2005a). **Obtención de pectinas de tejocote (*Crataegus pubescens*) de bajo metoxilo por via enzimatica y su caracterización,** Tesis doctoral, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Zacatenco, México. pp. 36-38.

Vivar-Vera M. A., Salazar-Montoya J. A., Calva-Calva G. y Ramos-Ramírez E. G. (2005b) **Extraction, thermal stability and kinetic behavior of pectinmethylesterase from hawthorn (*Crataegus pubescens*) fruit,** Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 40, 278-284.

Whistler R. L. y Bemiller J. N. (1993) **Industrial Gums Polysaccharides and their derivatives,** Academic Press, USA, pp 257-288.

Willats W. G. T., Knox J. P. y Mikkelsen J. D. (2006) **Pectin: New Insights into an Old Polymer are Starting to Gel,** Trends in Food Science & Technology 17, 97-104.

Zhang C. y Mu, T. (2011). **Optimisation of pectin extraction from sweet potato (*Ipomoea batatas*, Convolvulaceae) residues with disodium phosphate solution by response surface method.** International Journal of Food Science and Technology, 46, 2274-2280.

Zsivanovits G., MacDougall A. J., Smith A. C. y Ring S. G. (2004). **Material properties of concentrated pectin networks.** Carbohydrate Research, 339, 1317-1322.



9. ANEXO

9.1 Uso de los viscosímetros capilares

Los viscosímetros capilares de vidrio (Figura 40) se han diseñado para ser operados por gravedad y su uso generalmente está limitado a los fluidos newtonianos con viscosidades en el rango de 0.4 a 20,000 mPa s (Steffe, 1996 y Rao, 1993),

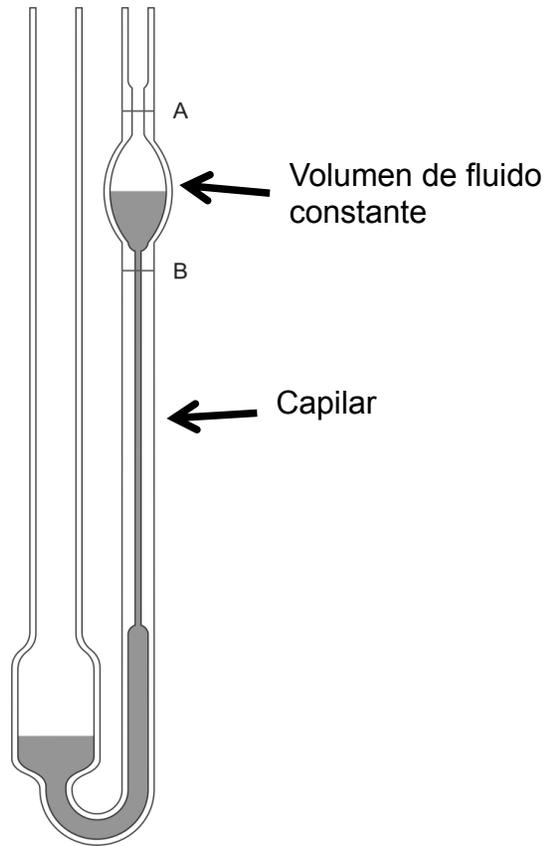


Figura 40 Viscosímetro capilar de Ostwald.

Para la determinación de viscosidad en dispersiones de polímeros se deben usar concentraciones muy bajas, estas dispersiones tienen un comportamiento newtoniano. El punto de partida del análisis es la ecuación de Hagen-Poiseuille para el flujo de fluidos en tuberías.

$$Q = \frac{\pi \Delta P R^4}{8 \mu L} \quad (22)$$

Donde Q es el gasto volumétrico
 ΔP es la caída de presión a lo largo del tubo capilar
 R es el radio del tubo capilar



μ es la viscosidad del fluido

L es la longitud del tubo capilar

De donde se puede deducir que la velocidad promedio es:

$$\bar{V} = \frac{Q}{\pi R^2} = \frac{\Delta P R^2}{8 L \mu} \quad (23)$$

La caída de presión a lo largo del capilar se genera por la altura del líquido, es decir que:

$$\Delta P = \rho g h \quad (24)$$

Donde ρ es la densidad del fluido

g es la aceleración local de la gravedad

h es la altura de la columna del fluido

Por lo tanto la velocidad promedio se puede reescribir como

$$\bar{V} = \frac{\rho g h R^2}{8 L \mu} \quad (25)$$

Y reacomodar los términos

$$\frac{\mu}{\rho} = \frac{g h R}{8 L \bar{V}} \quad (26)$$

Teniendo un volumen definido (V) se puede definir un tiempo de descarga

$$t = \frac{V}{\pi R^2 \bar{V}} \quad (27)$$

Y la velocidad promedio se puede expresar en función de este tiempo de descarga

$$\bar{V} = \frac{V}{\pi R^2 t} \quad (28)$$

Sustituyendo en (5) se tiene

$$\frac{\mu}{\rho} = \frac{g h R^4 t \pi}{8 L V} \quad (29)$$

Se ordena la ecuación para tener del lado izquierdo las variables propias del fluido y del lado derecho las características del sistema que se mantienen constantes.

$$\frac{\mu}{\rho t} = \frac{g h R^4 \pi}{8 L V} \quad (30)$$

Al usar como referencia la solución buffer de fosfatos se pueden relacionar los datos del fluido referencia con los de la solución problema.



$$\frac{\mu_1}{\rho_1 t_1} = \frac{\mu_2}{\rho_2 t_2} \quad (31)$$

Y obtener la viscosidad relativa (μ_r)

$$\frac{\mu_1}{\mu_2} = \frac{\rho_1 t_1}{\rho_2 t_2} = \mu_r \quad (32)$$

A partir de la viscosidad relativa se puede obtener la viscosidad específica (μ_{sp})

$$\mu_{sp} = \mu_r - 1 \quad (33)$$



EL JURADO DESIGNADO POR EL DEPARTAMENTO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL, APRUEBA LA TESIS QUE PRESENTA PARA SU EXAMEN FINAL DE DOCTORADO EN CIENCIAS EN LA ESPECIALIDAD DE BIOTECNOLOGÍA, EL C. JOSÉ ANTONIO LINARES GARCÍA EL DÍA 24 DE ABRIL DEL AÑO DOS MIL QUINCE.

Dr. Juan Alfredo Salazar Montoya

Dra. Emma Gloria Ramos Ramírez

Dr. Ricardo Aguilar López

Dr. Alfredo Cruz Orea

Dra. Lorena I. Rodríguez Páez