

Título de la Tesis: "Extracción y caracterización fisicoquímica de alginatos, pectinas y sus mezclas"

Doctorado en Ingeniería Química

Autor: Pérez Lambretch, María Alejandra

Directores: Dr. Jorge Enrique Lozano – Dr. Marcelo A. Villar

Resumen

Los polímeros naturales e hidrocoloides, tales como almidón, gelatina, alginatos, carragenatos, agar y pectinas, se utilizan tanto en la industria de alimentos como en la industria farmacéutica, en biomedicina y en cosmética, principalmente como agentes gelificantes o espesantes. Tienen importantes aplicaciones como aditivos, vehículos de otros materiales, inmovilización de células vivas, relleno biocompatible, entre otras. El estudio de las propiedades viscoelásticas de estos polímeros, tanto en solución como gelificados, presentan un área de particular interés.

En el presente trabajo se realizaron principalmente ensayos de caracterización reológica de geles y soluciones para lo cual se utilizaron alginato de sodio, NaAlg (compuesto por comonomeros de ácido manurónico-M y gulurónico-G) y pectina de bajo contenido de metoxilo, LMP (compuesto por ácido galacturónico) disponibles a nivel comercial. Se extrajo NaAlg de la especie patagónica *Macrocystis pyrifera* a escala laboratorio. Además, se prepararon y estudiaron muestras de películas. Se analizaron mezclas de ambos biopolímeros con el objeto de profundizar el conocimiento de los efectos sinérgicos, tanto en solución, como en geles y películas.

Se caracterizaron los biopolímeros química y molecularmente mediante resonancia magnética nuclear (NMR) y cromatografía por exclusión de tamaños (SEC) acoplado con un equipo de dispersión de luz multiángulo (MALLS) y viscosimetría capilar. Se estudiaron los efectos de parámetros intrínsecos, concentración y temperatura de soluciones y/o geles en ensayos de relajación de tensiones y de corte oscilatorio, y en estado estacionario utilizando un reómetro rotacional y uno de esfuerzos.

Para la obtención de alginato de sodio se estudiaron tres vías de extracción, mediante precipitado con etanol, sal de calcio o ácido, y resultó que el proceso es altamente dependiente de las condiciones de extracción y la metodología utilizada. La extracción de alginatos alcanzó valores entre el 25 y el 36 % del contenido inicial de alga. La mejor condición de purificación correspondió a la precipitación directa con etanol, dando productos con pesos moleculares más altos.

Se estableció una conformación alargada, semi-rígida, tipo varilla, para el alginato de sodio. Se observó que la viscosidad intrínseca presenta mayor dependencia con el peso molecular que con los parámetros estructurales.

Se determinó que el alginato de sodio es termorreológicamente simple y su energía de activación al flujo se encuentra dentro de valores típicos de polímeros li-

Título de la Tesis: “Extracción y caracterización fisicoquímica de alginatos, pectinas y sus mezclas”

Doctorado en Ingeniería Química

Autor: Pérez Lambretch, María Alejandra

Directores: Dr. Jorge Enrique Lozano – Dr. Marcelo A. Villar

neales no ramificados. Se observó la presencia de pequeñas ramificaciones de residuos de azúcares en la muestra de pectina de bajo contenido de metoxilo, mientras que su mezcla con alginato de sodio, para una concentración 2 % en peso en solución 0,1 M de NaCl, sigue la regla de mezclado logarítmico.

Se obtuvieron geles mediante dos métodos: (1) *diálisis/difusión*, en el cual el catión gelificante difunde desde un reservorio a través de una membrana hacia una solución de polímero y (2) *gelificación interna*, en el que una sal de calcio con solubilidad limitada (como CaCO_3) se dispersa en la solución de polímero y el catión es liberado lentamente mediante el agregado de una lactona que libera por hidrólisis un ácido lentamente (glucono delta lactona – GDL).

Se observó que los geles obtenidos por difusión son heterogéneos en sentido radial. Esta no-homogeneidad aumentó con el contenido de calcio. Por otra parte, los geles obtenidos *in-situ* son geles homogéneos en sentido radial, aunque resultaron no-homogéneos en sentido axial debido a que la sal de calcio sedimenta. De igual modo, fue importante agregar fresca la solución hidrolizante de GDL.

Se obtuvieron puntos de gel en el tiempo, para las muestras obtenidas *in-situ*, y se verificó que la velocidad de formación del gel aumenta con un aumento en la concentración de sodio o de calcio.

Se observó que las cadenas elásticamente activas dependen tanto del contenido de calcio como del de sodio en sus soluciones de origen, llegando a un punto de saturación de entrecruzamientos. Las propiedades reológicas del gel mejoraron con el peso molecular, así como también con el contenido de guluronato (G), sin embargo, disminuyeron cuando la fracción de bloques de guluronato (GG) fue más alta.

Para geles de mezclas NaAlg-LMP se verificó que la capacidad de formación de LMP fue mucho mayor que la del alginato. Las conclusiones respecto de los parámetros resultaron similares a las de geles de alginato, no observándose una mayor incidencia por la presencia de pectina, excepto porque podrían competir la formación de geles ácido vs. calcio.

Se obtuvieron películas de alginato, pectina y su mezcla 1:1 y se observó que la última provoca un efecto sinérgico favorable en cuanto a su disminución en el valor de permeabilidad al vapor de agua.

Título de la Tesis: “Extracción y caracterización fisicoquímica de alginatos, pectinas y sus mezclas”

Doctorado en Ingeniería Química

Autor: Pérez Lambretch, María Alejandra

Directores: Dr. Jorge Enrique Lozano – Dr. Marcelo A. Villar

Abstract

Natural polymers and hydrocolloids, such as starch, gelatin, alginate, carragenate, agar and pectin are used principally as gelling and thickening agents in the food and pharmaceutical industry, biomedicine, and cosmetics. They have several applications such as additives, carriers, support of life cells, and biocompatible fillers, among others. In processing operations it is of particular interest to study the viscoelastic properties of these biopolymers, in solution state as well as in gel state.

In this thesis we do, principally, a rheological characterization of gels and solutions of commercial sodium alginate, NaAlg (constituted by comonomers of manuronic (M) and guluronic (G) acid) and low methoxyl pectins, LMP (constituted by galacturonic acid). On the other hand, we extracted, at laboratory level, NaAlg from the patagonian specie *Macrocystis pyrifera*. We also prepared and studied films in order to understand the influence of synergic effects in solution, gels and solid films.

Commercial and extracted alginates as well as commercial pectin were characterized by Nuclear Magnetic Resonance (NMR), Size Exclusion Chromatography (SEC) with a triple detection: multi-angle laser light scattering (MALLS), refraction index, and viscometry. Intrinsic parameters, such as the concentration and temperature of gels and solutions were studied using stress relaxation and shear static and oscillatory dynamic measurements in a stress and a strain rheometer, respectively.

Sodium alginate was obtained by three extraction-purification routes: direct ethanol precipitation, via alginic acid and via the calcium salt. The molecular weight of the sodium alginate extracted has a strong dependence on the conditions and the route of extraction-purification. The yield of extraction was between 25 and 36 wt% relative to the initial mass of algae used. The best extraction-purification route was the direct ethanol precipitation with the highest molecular weight.

The intrinsic viscosity in water solution showed a higher dependence on the molecular weight than on other parameters such as guluronic/manuronic acid (M/G) or relative concentration of guluronic blocks (GG). A semi-rigid rod conformation was established for sodium alginate in solution.

Rheological measurements indicated that sodium alginate solutions behave as a thermorheological simple fluid with flow activation energies typical of linear polymers. On the other hand, solutions of sodium alginate and low methoxyl pectin, 2 wt% in 0.1 M NaCl, followed a logarithmic rule of mixture.

Título de la Tesis: “Extracción y caracterización fisicoquímica de alginatos, pectinas y sus mezclas”

Doctorado en Ingeniería Química

Autor: Pérez Lambretch, María Alejandra

Directores: Dr. Jorge Enrique Lozano – Dr. Marcelo A. Villar

Gel prepared by two different methods were studied: (1) dialysis/diffusion, where the gelling cation (Ca^{+2}) diffuses through a membrane from a reservoir to the sodium alginate solution, and (2) *in-situ*, where a calcium salt of limited solubility (such as CaCO_3) is dispersed in the solution and the cation is slowly released by the presence of an hydrolyzed acid (glucono delta-lactone, GDL).

Gels obtained by diffusion were heterogeneous in the radial direction. The in-homogeneity increased with the increase in the calcium content in the solution. On the other hand, gels obtained by *in-situ* gellification are homogeneous in the radial direction but are in-homogeneous in the axial direction due to sedimentation of the calcium salt. Also the solution of glucono delta-lactone, GDL must be fresh prepared.

The point when the solution begins to gel -gel point- was obtained in the *in-situ* prepared gels as a function of time. The rate of gel formation rises with the increase in either the concentration of sodium alginate or the calcium salt in the solution. The density of elastic-active-chains is also a function of the concentration of sodium alginate or the calcium salt in the initial solution; however, saturation in the density of the cross-linking point was observed. Viscoelastic properties of the gel improved with an increase in the molecular weight of the sodium alginate as well as with the content of guluronic acid (G) in the molecule and decreased with an increase in the content of guluronic blocks (GG).

Low methoxil pectin increases the capacity of gel formation in sodium alginate (NaAlg) - low methoxil pectin (LMP) blends. Trends of gel point and viscoelastic properties of NaAlg-LMP blend gels were similar to the sodium alginate gels, which indicates a low influence of pectin on gel formation and properties.

Films of sodium alginate, low methoxyl pectin, and a 1:1 blend were obtained. In the solid state, a positive synergic effect was found since water vapor permeability was lower in the 1:1 blend compared to the pure biopolymers.