

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**Medición de la Viscosidad Intrínseca del Biopolímero de Mucílago de
Chía (*Salvia hispánica L.*) en presencia de iones Na^+**

POR:

PLÁCIDO DOMINGO MEDINA TENANGO

TESIS

Requisito para Obtener Título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila México. Agosto 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Medición de la Viscosidad Intrínseca del Biopolímero de Mucílago de
Chía (*Salvia hispanica*, L.) en presencia de iones Na⁺**

Por:

PLÁCIDO DOMÍNGO MEDINA TENANGO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Aprobado por el comité de Asesoría:

Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez

Director Interno

Dr. Emmanuel Flores Huicochea

Director Externo

Buenavista, Saltillo, Coahuila México.

Agosto 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**Medición de la Viscosidad Intrínseca del Biopolímero de Mucílago de
Chía (*Salvia Hispánica.L*) en presencia de iones Na^+**

Por:

PLÁCIDO DOMINGO MEDINA TENANGO

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado examinador como requisito
para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Aprobado por:

Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez
Presidente

Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez
Vocal

Dr. Armando Robledo Olivo
Vocal

M.C. Sarahí del Carmen Rangel Ortega
Vocal Suplente

Dr. José Dueñez Alanís
Coordinador de la
División de Ciencia Animal

COORDINACIÓN DE CIENCIA
ANIMAL

Buenavista, Saltillo, Coahuila México.

Agosto 2019

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a **DIOS** y a la **VIDA** por colocar cada uno de los obstáculos y bellos momentos que desde pequeño me dieron conciencia y tenacidad para superar y entender que la única forma de salir adelante es persistir en nuestros sueños que, aunque se ven inalcanzables, son la razón por la cual vive el ser humano.

A mi **ALMA TERRA MATER** por acogerme como un polluelo más de su nido, proporcionándome resguardo, comida, y la oportunidad de ser un profesional, te llevare por siempre en mi corazón de buitre por darme lo que yo solo no pudiera haber logrado en las condiciones que me encontraba.

Agradezco al Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (**CEPROBI**) del Instituto Politécnico Nacional por permitir el uso de sus instalaciones y equipos, además de su colaboración en este trabajo en especial al **Dr. Emmanuel Flores Huicochea** por su paciencia y tiempo de dedicación para compartir su valioso conocimiento.

Agradezco a la familia **TENANGO** por los consejos y palabras de aliento en esta trayectoria, a mis primos y tíos que en algún momento me tendieron la mano.

A mis **PROFESORES** por trasmitirme los conocimientos necesarios en mi formación académica y sus consejos colocando así su granito de arena para ver finalizado este triunfo en especial la **Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez, M.C. Sergio Sánchez Martínez**, por su apoyó. "GRACIAS"

M.C. Haydee Yajaira López de la Peña Dra. María Hernández González

M.C. Mildred Marcela Flores Verástegui Dra. Xochitl Ruelas Chacón

M.C. Sarahí del Carmen Rangel Ortega Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez

M.P. Francisco Hernández Centeno Dr. Armando Robledo Olivo

M.C. María Elena Castelo Mejía Dr. Mario Alberto Cruz Hernández

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

A ustedes que me dieron el regalo de la vida, a mi papá donde quiera que este **ANGEL MEDINA ALDANA**, a mi mamá **INES TENANGO ZITLALAPA**, que por más adversidades en las cuales se encontraron jamás dejaron de entregarme su cariño, que hoy con gusto y satisfacción se sientan orgullosos de ver a su hijo como profesionalista.

A MI ESPOSA E HIJOS

Quiero dedicar este meta a mi esposa **MARIA DOLORES PLIEGO GUTIERREZ** por darme Confianza, Fortaleza, Amor, y Comprensión, por ser mi apoyó y darme a mis dos hermosos hijos **QUETZALLI ANAYATZIN MEDINA PLIEGO, ANGEL GAEL MEDINA PLIEGO**, ustedes son mi motivo de vivir y el motor que medio fuerza para concluir esta trayectoria, que al escuchar cada una de sus pequeñas e inocentes palabras me dan el aliento para continuar, quiero que sepan que este logro también es suyo y pedirle a su mamá y a ustedes me perdonen por no estar con ustedes durante este tiempo de su niñez el cual también yo me perdí, y les pertenecía, los **AMARE SIEMPRE** a los tres.

A MI HERMANA Y HERMANOS

Ustedes que desde pequeño han estado conmigo en cada momento en buenas y malas por su amistad, cariño y consejos, a mi hermana **FABIOLA MEDINA TENANGO** que me protegió y cuidó como si fuese mi madre a mi hermano donde quiera que se encuentre **JOSÉ MEDINA TENANGO** por tu interminable amor y amistad de igual forma a mi hermano compañero de travesuras, metas y sueños **ABAD NOÉ MEDINA TENANGO** que hombro a hombro luchamos por conseguir este éxito.

Nuestras virtudes y nuestros defectos son inseparables, como la fuerza y la materia. Cuando se separan, el hombre no existe. Nikola Tesla (1856-1943)

1 Índice

1	Índice	1
1.1	Índice de figuras.....	3
1.2	Índice de tablas.....	4
2	Resumen.....	5
3	Introducción	6
4	Antecedentes	7
4.1	Biopolímeros	7
4.1.1	Chía.....	8
4.1.2	Métodos de medición de viscosidad intrínseca	10
5	Materiales y Métodos.....	14
5.1	Material	14
5.2	Obtención del biopolímero	14
5.2.1	Tamizado	14
5.3	Preparación de disolución chía.....	16
5.4	Carbohidratos totales	16
5.4.1	Curva estándar	17
5.4.2	Medición	17
5.5	Medición de densidad.....	18
5.6	Estudios de microscopia.....	19
5.6.1	Preparación de disoluciones	19
5.6.2	Microscopia confocal láser de barrido (CLSM)	19
5.6.3	Microscopia de electrónica de barrido	19
5.7	Viscosidad intrínseca.....	20
5.7.1	Limpieza	21
5.7.2	Calibración	21
5.7.3	Medición	23
5.7.4	Secuencia de cálculo.....	24
6	Resultados.....	24
6.1	Selección y calibración viscosímetro.....	24

6.2	Disoluciones de chía	27
6.2.1	Densidad.....	27
6.2.2	Estudios de microscopia.....	29
6.3	Viscosidad intrínseca biopolímero chía	31
6.3.1	Efecto de temperatura	31
6.3.2	Efecto de iones de cloruro de sodio	32
7	Conclusiones	35
8	Referencias.....	35
9	Anexos.....	39
9.1	Anexo A: Base de datos	39
9.1.1	Serie de experimentos de medición de tiempo de flujo de biopolímero de chía solubilizado en agua destilada sin presencia de iones de sodio.....	39
9.1.2	Serie de experimentos de medición de tiempo de flujo de biopolímero de chía solubilizado en agua destilada en presencia de iones de sodio.....	43
9.1.3	Tablas de resumen.....	53
9.2	Anexo B. Regresión no lineal. Viscosidad cinemática vs temperatura	54
9.3	Anexo C. Tabla de resultados de prueba y cálculos de viscosidad relativa para valoración de intervalo (1.1-3.0).....	55
9.4	Anexo D. No filtrado dimensión mínima.....	56

1.1 Índice de figuras

Figura 1. Clasificación de biopolímeros en base a su fuente de obtención (Valero, Ortegon and Uscategui, 2013)	8
Figura 2. Variedades de chía (Salvia hispánica L.) comunes en la república mexicana	8
Figura 3. Planta con inflorescencia de frutos de chía negra (Salvia hispánica L)	9
Figura 4. Dependencia de la viscosidad intrínseca debido a la adición de sal, cloruro de sodio, para un polielectrolito (goma xantana), (Brunchi, Morariu and Bercea, 2014).....	12
Figura 5. Semilla de chía negra (Salvia hispánica L) empleada en este trabajo	14
Figura 6. Sistema de tamizado empleado para separar el biopolímero de las semillas de chía liofilizadas	15
Figura 7. Semillas de chía libre de biopolímero, después del proceso de tamizado	16
Figura 8. Picnómetro empleado para realizar las determinaciones de densidad	19
Figura 9. Viscosímetro de dilución (Cannon-Ubbelohde Dilution, Cannon-Feske, USA).....	20
Figura 10. Comportamiento de la viscosidad cinemática agua (Poling et al., 2007)	22
Figura 11. Efecto de la concentración en la densidad de una disolución de chía o cloruro de sodio	28
Figura 12. Análisis de Microscopia Electrónica de Barrido SEM. Imagen biopolímero solubilizado no filtrado de concentración (1 mg mL ⁻¹).....	29
Figura 13. Análisis de Microscopia Electrónica de Barrido SEM. Imagen biopolímero solubilizado filtrado de concentración (1 mg mL ⁻¹).....	30
Figura 14. Histograma de distribución de la longitud mínima de las partículas insolubles encontradas en la disolución de chía filtrado obtenido del software (imagen J).....	31
Figura 15. Histograma de distribución de la longitud mínima de las partículas insolubles encontradas en la disolución de chía sin filtrar obtenido del software (imagen J).....	31
Figura 16. Grafica de dispersión de viscosidad intrínseca de biopolímero de mucilago de chía filtrada frente a la fracción mM de cloruro de sodio obtenido del software estadístico (R studio).....	33
Figura 17. Grafica de dispersión de K _H del biopolímero de mucilago de chía filtrado frente a la fracción mili molar de cloruro de sodio (mM) obtenido del software estadístico (R studio).....	34

1.2 Índice de tablas

Tabla 1. Apertura de malla de malla de los tamices empleados para separar el biopolímero de chía	15
Tabla 2. Concentraciones de dextrosa empleadas para la curva estándar	17
Tabla 4. Datos de tiempo de flujo para el viscosímetro No. 25	25
Tabla 5. Resultados del análisis de estadístico t-student, para tiempos de flujo del viscosímetro No. 25, usando el programa R	25
Tabla 6. Tiempos de flujo para el viscosímetro capilar (No.50), usando agua destilada	26
Tabla 7. Datos de tiempo de flujo para el viscosímetro No. 50	26
Tabla 8. Resultado del análisis estadístico para tiempos de flujo del viscosímetro No. 50	26
Tabla 9. Viscosidad intrínseca de biopolímero de mucilago de chía filtrado y constantes de Huggins y Kraemer frente a diferentes concentraciones de fracción mili molar (mM) de cloruro de sodio	32
Tabla 10. Resultado del análisis de varianza con un alfa de 0.05 de la Figura 16 de viscosidad intrínseca ($[\eta]$ g/dL) frente a concentración (mM) obtenido del software Minitab	33

2 Resumen

La investigación de características y cualidades de algunas frutas, plantas, semillas han permitido el desarrollo de nuevos productos además de la reducción de costos y procesado de estos, gracias a la ayuda de distintos métodos de medición como carbohidratos, densidad, temperatura, viscosidad, etc. La viscosidad es de interés para la presente investigación donde a partir de métodos de Viscosimetría con ayuda de un viscosímetro capilar además de un baño termo controlado y aplicando los principios de Huggis y Kraemer es posible la determinación de la viscosidad intrínseca del biopolímero de semilla de chía (*Salvia hispánica L.*) en presencia de iones de Na⁺. Se llevó a cabo un análisis de microscopía del mucílago obtenido de las capas sub-epidérmicas de la semilla hidratada, con la finalidad de determinar la influencia de su estructura en el tiempo de flujo, suponemos que la presencia de material insoluble perteneciente a las capas de la semilla pudieran influir en la medición., Se obtuvieron los valores de viscosidad intrínseca entre 40 dL/g a 34 dL/g sin presencia de iones de sodio mientras que al agregar fracciones mili molar de cloruro de sodio en un intervalo (0 a 50) mM, el biopolímero compacta su volumen hidrodinámico conforme se incrementa la concentración de los iones Na⁺ alcanzando valores de viscosidad intrínseca de 5 dL/g a 4.79 dL/g lo que corresponde a un 98% de su tamaño molecular.

Palabras clave: chía, viscosidad intrínseca, microscopía.

3 Introducción

La chía es una semilla pequeña cultivada de plantas de *Salvia hispánica L.*, que se encuentra en regiones del centro y sur de México además del norte de Guatemala. Actualmente, esta semilla ha despertado interés como fuente de aceites omega 3. La semilla también posee otros componentes como proteínas, carbohidratos y polisacáridos; estos últimos se localizan en la parte exterior de la semilla y tienen la función principal de retener agua para su germinación. El biopolímero de chía se ha reportado en aplicaciones como modificador de viscosidad, estabilizante de emulsiones entre otros.

Los biopolímeros se pueden caracterizar a través de mediciones de reología, capacidad de retención de agua o aceite. La caracterización a nivel molecular se realiza midiendo peso molecular, longitud de persistencia o volumen molecular, estas mediciones se pueden realizar usando cromatografía líquida (HPLC) usando una columna de permeación de gel acoplado con un espectro de masas o un detector de dispersión de luz láser. Sin embargo, también es posible hacer mediciones de volumen molecular al medir la viscosidad intrínseca de un polímero o biopolímero, usando equipo relativamente sencillo como es un viscosímetro capilar. Este trabajo se enfoca en medir la viscosidad intrínseca del biopolímero de chía a 25 °C en presencia de iones sodio.

4 Antecedentes

4.1 Biopolímeros

Biopolímero proviene del griego (*bio*) que significa vida, (*poli*) que significa muchos y (*meros*) que se significa segmentos, son compuestos orgánicos que presentan enlaces de Van der Waals, hidrógeno, e iónicos. La formación de los biopolímeros es el resultado de la unión de macromoléculas de origen natural presentes en infinidad de plantas, insectos, frutas y animales. Por el proceso de polimerización de pequeñas moléculas orgánicas individuales denominadas monómeros se da lugar a macromoléculas del mismo hasta llegar a un biopolímero (Elida Hermina *et al.*, 2011). Muchas de sus características son hasta la fecha desconocidas por el hombre, hasta el momento existen investigaciones para la determinación del comportamiento de estos biopolímeros en presencia de algunos factores alterantes existentes en las condiciones de procesado de las industrias como la temperaturas, altas presiones y pH, que de alguna manera estos se ven afectados (de forma cualitativa y cuantitativa) en presencia de alguna de estas condiciones (Mehrdad, Samadiani and Poormoosa, 2013).

En los biopolímeros existen dos grupos, los obtenidos de recursos renovables y los no renovables, dentro de los renovables están los biopolímeros más importantes para la industria divididos en tres grupos como se muestra en la Figura 1, los biopolímeros basados en biomasa (almidones y celulosa), una de las funciones de estos es el reforzar las matrices de algunos otros polímeros para mejora sus características de procesado y biodegradabilidad, el almidón es comúnmente utilizado para la fabricación de envases y embalajes así como la celulosa que se utiliza para la fabricación de membranas y filtros de separación de compuestos (Valero, Ortegon and Uscategui, 2013).

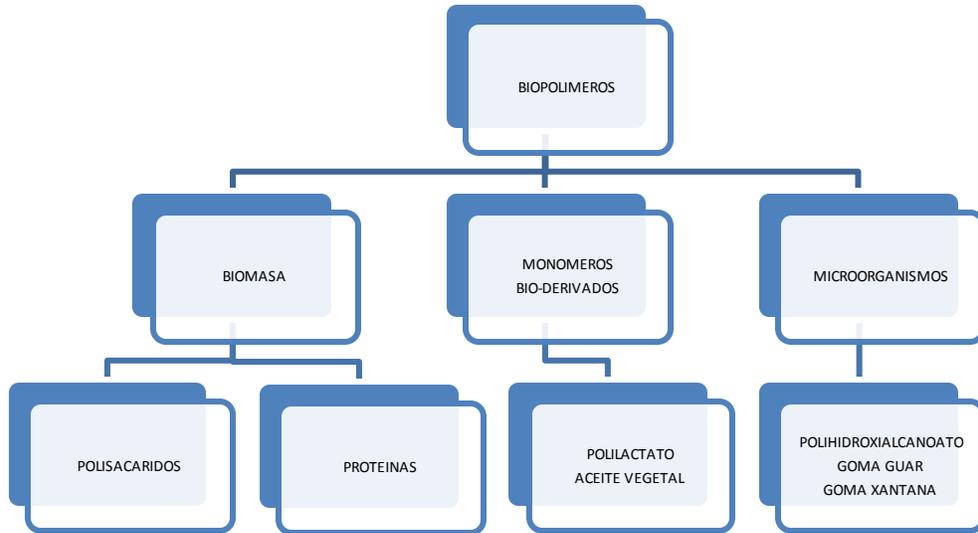


Figura 1. Clasificación de biopolímeros en base a su fuente de obtención (Valero, Ortegon and Uscategui, 2013).

4.1.1 Chía

La semilla de chía (*Salvia hispánica L.*) forma parte de la familia de las *Lamiáceas* es encontrada en regiones del centro y sur de México además del norte de Guatemala en gran cantidad de variedades como por ejemplo la chía blanca, chía negra, y chía marrón, Ver Figura 2, de gran consumo en la dieta mesoamericana desde tiempos prehispánicos además del maíz y frijol que los aztecas ofrecían en las ceremonias religiosas (Cahill, 2003; de Falco, Amato and Lanzotti, 2017).



Figura 2. Variedades de chía (*Salvia hispánica L.*) comunes en la república mexicana.

La planta de chía, Figura 3, es una herbácea, de producción anual que alcanza una altura aproximada de 1 a 1.5 m de altura (Hernández, 2016), tallo de diámetro promedio de 1-4 cm, ramoso y ramificados de secciones cuadrangulares con vellosidades cortas y con hojas simples de 8 - 12 cm de largo y 4 - 7 cm de ancho y peciolo corto (tallo de hoja) 1.3 cm en la parte superior de la planta y de 5 -7 cm en las ramificaciones inferiores, las flores son hermafroditas de coloraciones blancas y purpuras que alcanzan su madurez, cada flor denominada carcérulo que contiene mericarpos donde se encuentran las semillas denominados nuculas o clusas en cantidades de 1-4 según lo descrito por (Di Sapio *et al.*, 2012).



Figura 3. Planta con inflorescencia de frutos de chía negra (*Salvia hispanica* L.).

La semilla de chía tiene una forma elíptica ovoide de aproximadamente una longitud de (1.8 a 2.5 mm) y un ancho de (1.5 a 2.0 mm), que presenta un área alrededor de (1.89 ± 0.23 mm²) esta semilla tiene tres principales capas donde se aloja el mucílago, la epidermis, sub-epidermis y el endospermo central o también conocido por otros investigadores como testa que es principalmente la capa donde se encuentra el mucílago de chía que al tener contacto con agua estas tres capas se fracturan para permitir expulsar el polímero que se adhiere fuertemente a la superficie de la semilla (Di Sapio *et al.*, 2012; Salgado-Cruz *et al.*, 2013).

La semilla chía es una oleaginosa, se ha reportado que posee fibra dietética (18-30%), aceite (30-33%), proteína (15-25%) y carbohidratos (26-41%). La semilla de chía contiene antioxidantes que se encuentran relacionados con presencia de polifenoles, tocoferoles, presentes en los aceites de la semilla (Capitani *et al.*, 2012).

El mucílago de chía se presenta como un halo incoloro transparente que rodea la semilla (Capitani *et al.*, 2015) es un polisacárido está constituido como un tetrasacárido de unidades presentes en su cadena principal como (1-4)- β -D-xilopiranosil, (1-4)- α -D-glucopiranosil, (1-4)- β -D-xilopiranosilo con ramificaciones del ácido 4-O-metil- α -D-glucopiranosil en la posición O-2 del β -D-xilopiranosil, la relación se presenta de β -D-xilosa a monosacáridos de α -D-glucosa o ácido 4-O-metil- α -D-glucurónico es de 2:1:1 (Lin *et al.*, 1994), (Capitani *et al.*, 2015). El Mucílago de chía contiene un porcentaje de humedad de 9.32 % a 8.95 % pero inferiores a los de biopolímero de goma guar 10.36 % y goma xantana 11.08 % reportado por otros autores, ya que estas gomas son comúnmente utilizados en la elaboración de alimentos (Segura-Campos *et al.*, 2014),

4.1.2 Métodos de medición de viscosidad intrínseca

La viscosidad intrínseca es una forma de estimar el volumen hidrodinámico e inferir el peso molecular de polímeros y biopolímeros (Brunchi, Morariu and Bercea, 2014; Bak and Yoo, 2018). La medición de viscosidad intrínseca es conocida en el análisis y caracterización de macromoléculas, la medición del volumen molecular se realiza usando un solvente para el polímero o biopolímero, usualmente se utilizan concentraciones de biopolímeros muy bajas con la intención de tener en forma ideal moléculas en el solvente sin interacción entre ellas (Lapasin and Prichl, 1995). Las aplicaciones de la medición de la viscosidad intrínseca son tanto de carácter práctico y como de caracterización de las macromoléculas, por ejemplo, para predecir la solubilidad de una macromolécula en un determinado solvente (Han *et al.*, 2013), para estimar el volumen molecular del ácido poliámico, el cuál es usado como precursor de poli-imidas, que se emplean para elaborar membranas que sirven como tamiz molecular de moléculas de carbono (Qin *et al.*, 2017), también se ha utilizado la viscosidad intrínseca como una forma de medir el efecto de iones sodio y pH en el volumen molecular y la interacción molecular de mezclas de gomas xantana y guar (Bak and Yoo, 2018).

A partir de las investigaciones desarrolladas por Huggins (Huggins, 1937; Huggins Maurice L, 1942), se propuso un modelo, El límite de este modelo cuando la concentración tiende a cero es la viscosidad intrínseca, esto sugiere que para aplicar el modelo de Huggins y obtener valores de la viscosidad intrínseca se requieren disoluciones diluidas de los polímeros o biopolímeros.

$$\frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2 C \quad \text{Modelo de Huggins}$$

$$\lim_{c=0} \frac{\eta_{sp}}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2 C = [\eta]$$

Ecuación 1

Donde:

η_{sp}	viscosidad específica	[--]
C	concentración	[g dL ⁻¹]
$[\eta]$	viscosidad intrínseca	[dL g ⁻¹]
k'	constante de Huggins	[--]

$$\frac{\text{Ln}(\eta_{rel})}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2 C \quad \text{Modelo de Kraemer}$$

$$\lim_{c=0} \frac{\text{Ln}(\eta_{rel})}{C} = [\eta] + k'[\eta]^2 C = [\eta]$$

Ecuación 2

Donde:

$\text{Ln}(\eta_{rel})$	viscosidad inherente	[--]
C	concentración	[g dL ⁻¹]
$[\eta]$	viscosidad intrínseca	[dL g ⁻¹]
k'	constante de Kraemer	[--]

Los modelos desarrollados por Huggins para la viscosidad intrínseca, fueron desarrollados inicialmente para polímeros o biopolímeros neutros, es decir, polímeros sin carga. Sin embargo, existen reportes en la literatura del empleo del modelo de Huggins para determinar la viscosidad intrínseca en polímeros o biopolímeros con carga, es decir polielectrolitos; como por ejemplo en carboximetilcelulosa y gelana (da Silva *et al.*, 2018), alginato de sodio y quitosano (Marcia Parente Melo da Costa *et al.*, 2017), para biopolímeros de plantas (Behrouzian, Razavi and Karazhiyan, 2014), biopolímeros de origen microbiano como la xantana (Brunchi, Morariu and Bercea, 2014). Los polielectrolitos ven afectado su volumen molecular por la presencia de sales, como por ejemplo sodio, potasio, calcio y magnesio. La Figura 4, muestra el comportamiento de la viscosidad intrínseca para la goma xantana, que es un polielectrolito, en presencia de iones sodio (Brunchi, Morariu and Bercea, 2014), este comportamiento es característico de los polielectrólitos. El máximo volumen molecular de los polielectrolitos se presenta en ausencia de sales añadidas, el incremento en la concentración de sales causa una rápida disminución en la viscosidad intrínseca, concentraciones altas de sal, aproximadamente 100 mM, causa que la molécula tienda a tomar una forma esférica, ver Figura 4.

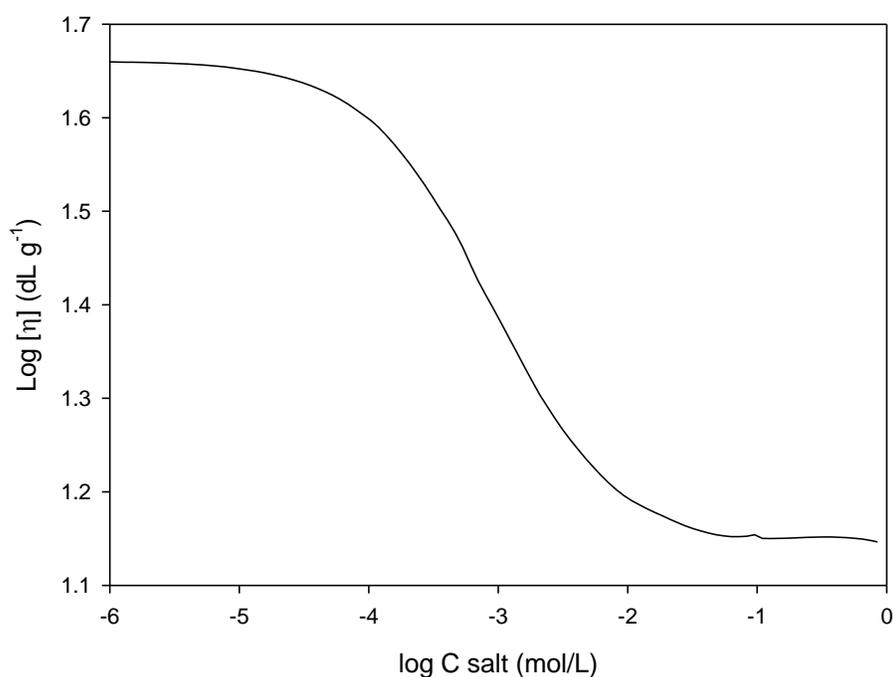


Figura 4. Dependencia de la viscosidad intrínseca debido a la adición de sal, cloruro de sodio, para un polielectrolito (goma xantana), (Brunchi, Morariu and Bercea, 2014).

Existen otros reportes en la literatura científica del empleo de la viscosidad intrínseca de biopolímeros de plantas, usando viscosímetros capilares de dilución, por ejemplo, se estudió el efecto de sales y azúcares del biopolímero de las semillas de berro (*Lepidium sativum*) el comportamiento de la viscosidad intrínseca con la adición de sales fue el característico de un polielectrolito, obteniendo viscosidades intrínsecas en el intervalo de 3.9 dL/g sin iones adicionados, la adición de iones como Na⁺ o Ca⁺⁺, disminuye la viscosidad intrínseca hasta valores de 2 dL/g, en este caso se utilizó un viscosímetro capilar de dilución del número 75, la temperatura de medición a 25 °C (Behrouzian, Razavi and Karazhiyan, 2014).

Por otro lado Timilsena *et al.*, (2015) en su investigación propiedades reológicas y micro estructurales del polisacárido de semilla de chía, donde se utiliza un viscosímetro capilar Cannon-Ubbelohde N° 75 en un intervalo de temperatura de 20 °C ± 0.1 °C en un baño de agua, reporta que las mediciones realizadas en un rango de viscosidad relativa 1.11 a 2.14 para mantener su linealidad con una R² (0.950) usando las ecuaciones de Huggins y Kraemer arrojaron viscosidades intrínsecas de polisacárido de semilla de chía son muy similares entre si $[\eta]_H = 16.63 \text{ dL g}^{-1}$ y $[\eta]_K = 16.34 \text{ dL g}^{-1}$.

Para analizar el comportamiento del biopolímero de semilla de chía en diferentes condiciones que perturban su conformación natural como son la temperatura, presión, pH, la concentración, fuerza iónica estas condiciones son ampliamente utilizada para el análisis de macromoléculas poliméricas para conocer sus comportamientos cuando se ve afectada su estructura fisicoquímica (Brunchi, Morariu and Bercea, 2014), pudiendo así examinar en los procesos industriales, por lo cual, estos análisis permiten la aplicación de materiales poliméricos y sus combinaciones mejorando la calidad de los productos, además del máximo aprovechamiento de la materia prima que se ve reflejada en la reducción de costos, las industrias que más utilizan este tipo de materiales de origen biológico, microbiano y derivados del petróleo son las industrias textil, farmacéutica, y alimenticia.

5 Materiales y Métodos

5.1 Material

La semilla de chía negra, Figura 5, se obtuvo en la central de abastos de la ciudad de Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México. La semilla se guardó en bolsas de polietileno y se almacenaron a 4°C hasta su uso posterior.



Figura 5. Semilla de chía negra (*Salvia hispanica* L) empleada en este trabajo.

5.2 Obtención del biopolímero

Se siguió el procedimiento reportado previamente por Rodríguez-Cruz (2014), en forma resumida, las semillas de chía se hidrataron usando una relación de chía: agua de 1:3 durante un periodo de 1 hora mínimo, las semillas hidratadas se coloraron en tres charolas con una capacidad de 2 kg, posteriormente se liofilizó usando un equipo semipiloto (Consol 25SL, Virtis, New York, USA). El proceso de liofilización siguió el siguiente perfil de temperaturas, de temperatura ambiente hasta -50 °C, posteriormente cuando llega a esta temperatura se inició el vacío hasta una presión de 100 mPas, finalmente se inició el proceso de calentamiento desde -50 a 30 °C, manteniendo el vacío en 100 mPas.

5.2.1 Tamizado

La muestra liofilizada, se tamizó usando un equipo fabricado en las instalaciones del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, ver Figura 6. Se utilizaron tamices circulares de 20 cm de diámetro de los siguientes tamaños de malla: 12, 40, 60, 80, 100 y 110, la Tabla 1, muestra el número de malla de tamiz empleado y la apertura de la malla en micrómetros. Los tamices se apilaron poniendo en la base el que posee el número de malla más grande y quedando en la parte superior el número de malla más pequeño.



Figura 6. Sistema de tamizado empleado para separar el biopolímero de las semillas de chíá liofilizadas

Tabla 1. Apertura de malla de los tamices empleados para separar el biopolímero de chíá.

Número malla	Apertura malla (μm)
12	1680
40	420
60	250
80	177
100	149
120	125
200	74

Fuente: <https://www.sigmaaldrich.com/chemistry/stockroom-reagents/learning-center/technical-library/particle-size-conversion.html>.

El material liofilizado se colocó en el tamiz de malla 12, teniendo cuidado de disgregar el material liofilizado, usualmente se coloca un peso de 400 gramos por lote, después de cargar el material, se puso la tapa del tamiz, para evitar durante el proceso de tamizado la pérdida de material. El equipo cuenta con una velocidad de agitación constante, la única condición que se pudo modificar es el tiempo de tamizado, en este caso se fijó en 40 minutos. El movimiento oscilatorio del equipo

permitió que las semillas con el biopolímero se friccionaran y se desprendieran de la semilla, esto ocurre en la malla 12, las mallas subsecuentes, permiten obtener el biopolímero libre de material que se ha desprendido de la semilla por fricción. Al término el tiempo de tamizado, se revisa el tamiz número 12, si las semillas se observan libres de biopolímero, ver Figura 7, se finaliza el proceso de separación, en caso contrario tamizar nuevamente por un periodo de 20 minutos más.



Figura 7. Semillas de chía libre de biopolímero, después del proceso de tamizado.

5.3 Preparación de disolución chía

Se pesaron 0.1 g de biopolímero de chía y se dispersaron en 100 mL de agua destilada, usando agitación (Magnetic Stirrer, model:SH-2, Power 180 Watts) por un periodo de 8 a 10 horas, posteriormente la disolución se filtró usando un sistema de filtración al vacío (Modelo FS250, CIVEQ, México), el filtro usado tenía un tamaño de poro entre 40 a 60 μm . A la disolución filtrada se le midió el contenido de carbohidratos totales, esta disolución fue empleada para realizar las mediciones de la viscosidad intrínseca.

5.4 Carbohidratos totales

Para la cuantificación de carbohidratos totales se empleó el método de Fenol – ácido sulfúrico descrito por DuBois *et al.*, (1956). El método tiene su fundamento en la disolución de carbohidratos (azúcares simples y complejos) que contienen grupos reductores libres o potencialmente libres, en condiciones ácidas, se genera la liberación de compuestos de color amarillo o naranja, que son fácilmente cuantificables espectrofotométricamente, 480nm a 490nm DuBois *et al.*, (1956).

5.4.1 Curva estándar

Se preparó una disolución de dextrosa de 1 mg/mL. Se utilizó la tabla 2 para la realización de las diluciones y tener concentraciones en el intervalo de 0 a 100 µg/mL y posteriormente se trató con los mismos reactivos aplicados a las muestras de polímero. Se siguió el procedimiento descrito en la sección anterior.

Tabla 2. Concentraciones de dextrosa empleadas para la curva estándar.

Tubo	Disolución dextrosa (µL)	Agua (µL)	Concentración (µg/mL)
1	0	1000	0
2	20	980	20
3	40	960	40
4	60	940	60
5	80	920	80
6	100	900	100

5.4.2 Medición

Se pesó 0.025 mg de la muestra a analizar, se solubilizó en 100 mL de agua destilada y se mantuvo en homogenización durante 15 minutos aplicando calentamiento moderado para facilitar la dispersión del material. En tubos de ensayo (18x150 mm) e identificados, se realizaron diluciones dentro del intervalo de 1:10 a 1:200 de forma que la concentración de la solución se encontrará dentro del intervalo de 20 a 100 µg/mL, se procedió de la siguiente forma.

En tubos de ensayo antes mencionados se adiciono 1 mL de la solución a determinar, 0.5 mL de fenol al 5% y 2.5 mL de ácido sulfúrico al 97.1 % (H₂SO₄). El ácido fue adicionado de manera directa a la solución evitando el contacto con las paredes de los tubos de ensayo y se dejó reposar por 20 minutos. Al concluir el tiempo de reposo se lee la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro UV de (480 nm a 490 nm), usando un blanco de agua destilada aplicando las mismas condiciones que las muestra de polímero.

5.5 Medición de densidad

1. Lavar el picnómetro, Figura 8, y posteriormente enjuagar con agua destilada, secar estufa por un periodo de 5 horas.
2. Retirar el picnómetro de la estufa y colocar en un desecador, usando pinzas, y esperar de 15 a 30 minutos, hasta que se equilibre con la temperatura ambiente.
3. Pesar el picnómetro vacío en una balanza analítica, teniendo el cuidado de que esté totalmente seco y limpio.
4. Retirar de la balanza, llenar lo completamente de líquido utilizando una jeringa o pipeta y enseguida colocar su tapón. Al colocarlo parte del líquido se derramará y por lo tanto deberá secar perfectamente el recipiente y el tapón por fuera.
5. Medir la masa del picnómetro lleno de líquido
6. Quitar el tapón del picnómetro y sin vaciar volver a llenar, colocar el tapón, secarlo bien por fuera y volver a medir su masa.
7. Repetir nuevamente el paso anterior para tener tres mediciones que permitan obtener tres valores de densidad del líquido
8. Medir la temperatura del líquido
9. Calcular los datos usando esta expresión:

$$\rho = \frac{m(p + d) - m_p}{V}$$

Ecuación 3

- m_p : peso de picnómetro vacío
- $m_{(p+s)}$: peso de picnómetro más disolución
- V : Volumen del picnómetro



Figura 8. Picnómetro empleado para realizar las determinaciones de densidad.

5.6 Estudios de microscopia

5.6.1 Preparación de disoluciones

Para la preparación de la muestra, se preparó una disolución de biopolímero de chíá con una concentración de 1 mg/ml, se preparó un volumen de 50 mL de agua destilada previamente filtrada, la solución fue filtrada a través de un vidrio poroso para reducir el tamaño de partícula insolubles. Algunas disoluciones, se marcaron usando furoceína, para ser analizadas por microscopia confocal láser, se agregaron 2 mg del colorante y se agitó durante 30 minutos.

5.6.2 Microscopia confocal láser de barrido (CLSM)

Se utilizó un microscopio confocal de barrido láser (Carl Zeiss, Modelo LSM 800), para la adquisición y análisis de las imágenes se usó el programa ZEN 2.3 Blue edition. Fabricado en Alemania.

5.6.3 Microscopia de electrónica de barrido

Se utilizó un microscopio electrónico de barrido ambiental marca Carl Zeiss, Modelo EVO LS10, fabricado en Alemania.

5.7 Viscosidad intrínseca

Para las mediciones de viscosidad intrínseca se utilizó un viscosímetro de dilución (Cannon-Ubbelohde Dilution, Cannon-Feske, USA) número 50, fabricado en material de vidrio, ver Figura 9. El sistema de control de temperatura, para las mediciones de viscosidad intrínseca consta de un tanque de acrílico, con sistema de recirculación a través de una bomba, con una capacidad de 50 L, el control de temperatura de 15 a 25 °C se realizó con un sistema de refrigeración portátil (compresor-evaporador) controlado por un termostato, para las temperaturas de 25 a 30°C se utilizó una resistencia de 400 Watts controlado a través de un microprocesador W1209, China. El tanque de agua posee una tapa para disminuir la pérdida de calor y servir de soporte para el viscosímetro en forma vertical.

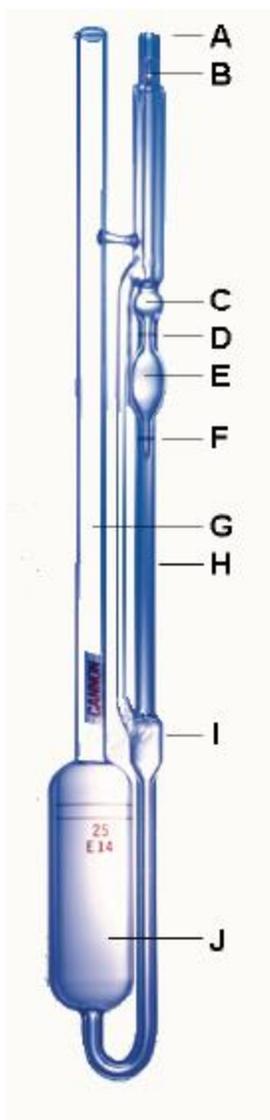


Figura 9. Viscosímetro de dilución (Cannon-Ubbelohde Dilution, Cannon-Feske, USA).

5.7.1 Limpieza

La limpieza del viscosímetro se realizó siguiendo el siguiente procedimiento. Se utilizó agua destilada o bidestilada para el lavado (Velaquin, Puebla, México), previamente filtrada. El agua filtrada se guardó en recipientes de vidrio, lavados previamente con agua filtrada.

Se colocan 25 mL de agua destilada filtrada en el viscosímetro de dilución a través del tubo G, ver Figura 9, posteriormente con la ayuda de una propipeta, que se coloca en el tubo A, se hace succión al mismo tiempo que se tapa el orificio B, permitiendo que el nivel del líquido llegue hasta esfera de vidrio C, quitar la succión del tubo A y destapar el orificio B, el proceso de lavado termina cuando el nivel del líquido es igual al que tiene el agua en el depósito J. Desechar el agua, cargar agua limpia y repetir el proceso de lavado al menos tres veces.

Usando agua destilada y filtrada, se ponen 20 mL de agua en el depósito J, se coloca el viscosímetro en el baño de temperatura controlada a 25 °C y se determina la viscosidad cinemática del agua como se describe a continuación. Colocar la propipeta en el tubo A y al mismo tiempo que se tapa el orificio hacer succión con la propipeta, cuando el nivel del líquido alcance el depósito C, destapar el orificio B y quitar la propipeta del tubo A. Cuando el nivel del líquido llegue a la marca D, iniciar el conteo del tiempo con un cronómetro y detener el cronómetro cuando el nivel del líquido llegue a la marca F.

Si el proceso de limpieza con agua no fuera suficiente se puede realizar el proceso de limpieza usando una disolución de ácido sulfúrico al 30%, siguiendo el proceso descrito previamente.

5.7.2 Calibración

Después del proceso de limpieza del viscosímetro, el siguiente paso es verificar el proceso de limpieza. Usando el siguiente procedimiento:

1. Ajustar la temperatura de control del baño de agua a 25 °C. Colocar el viscosímetro dentro del baño a temperatura constante, nivelar el viscosímetro en forma vertical y horizontalmente en el baño, con la ayuda de un nivel.
2. Tomar de 10 mL de agua destilada, previamente filtrada, y colocarla directamente con la ayuda de una pipeta en el tubo G en el reservorio del viscosímetro, ver Figura 9.
3. Dejar reposar 15 minutos, para lograr el equilibrio térmico del sistema.

4. Tapara con un dedo la parte superior del tubo B y aplicar succión en el tubo A hasta que el líquido alcance el centro del bulbo C, posteriormente retirar la succión del tubo A y quitar el dedo del tubo B, después de haber retirado el dedo, esperar que el nivel del líquido alcance la marca D y enseguida iniciar el conteo del tiempo.
5. Tomar el tiempo que tarda el agua en fluir, pasando por el menisco de la marca D, hasta le menisco de la marca F, ver Figura 9.
6. Repetir los pasos 4 y 5 al menos tres veces. Anotar los tiempos que se obtienen.

Con el promedio de los tiempos de flujo se puede estimar el valor de la viscosidad cinemática del agua, debido a que se utilizó un viscosímetro calibrado, y se compara con la viscosidad cinemática del agua que se obtuvo de la literatura. La ecuación 4, permite calcular la viscosidad cinemática usando los tiempos de flujo del agua. La constante para el viscosímetro No. 25 y 50 son $K = 0.2019 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}^2$, $K = 0.4407 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}^2$. La Figura 10, muestra el comportamiento de la viscosidad cinemática obtenida de la literatura (Poling *et al.*, 2007), la línea continua representa la regresión no lineal de los datos reportados en la literatura, la ecuación 5 representa a la línea continua en la Figura 10.

$$\nu = kt \quad \text{Ecuación 4}$$

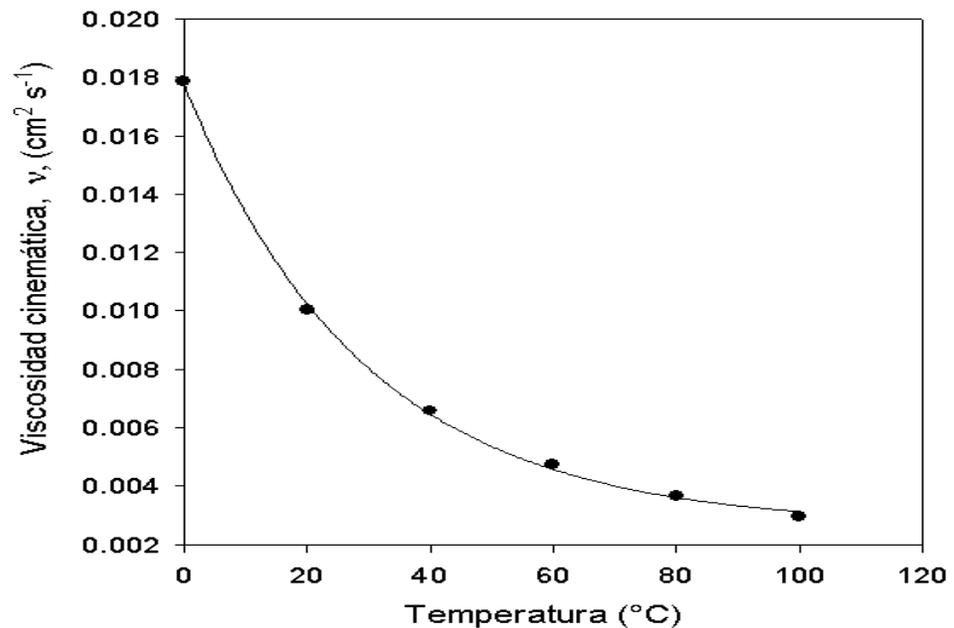


Figura 10. Comportamiento de la viscosidad cinemática agua (Poling *et al.*, 2007).

$$\nu = 0.003 \left(\frac{cm^2}{s} \right) + 0.015 \left(\frac{cm^2}{^\circ C s} \right) [e^{(-0.034(T^\circ C))}] \quad \text{Ecuación 5}$$

Si la diferencia entre la viscosidad cinemática obtenida experimentalmente y las reportadas en la literatura, es menor al 5%, se considera que el viscosímetro está limpio y listo para realizar mediciones. En caso contrario, se procede a realizar una limpieza usando una disolución de ácido sulfúrico al 30%, procediendo en forma similar a cuando se realizaron los lavados con agua destilada. Al terminar el proceso de limpieza, se realiza nuevamente las mediciones del flujo usando agua y se verifica que el error de la medición sea menor al 5%.

5.7.3 Medición

El proceso de medición se llevó a cabo siguiendo los pasos especificados en el manual de uso del equipo que se muestra a continuación:

1. Ajustar la temperatura de control del baño de agua a 25 °C. Colocar el viscosímetro dentro del baño a temperatura constante, nivelar el viscosímetro en forma vertical y horizontalmente en el baño, con la ayuda de un nivel.
2. Tomar de 8 mL de la solución madre, previamente preparada, y colocarla directamente con la ayuda de una pipeta en el tubo G en el reservorio del viscosímetro, ver Figura 9.
3. Dejar reposar 15 minutos, para lograr el equilibrio térmico del sistema.
4. Tapar con un dedo la párate superior del tubo B y aplicar succión en el tubo A hasta que el líquido alcance el centro del bulbo C, posteriormente retirar la succión del tubo A y quitar el dedo del tubo B, después de haber retirado el dedo, esperar que el nivel del líquido alcance la marca D, e iniciar el conteo del tiempo.
5. Tomar el tiempo que tarda la solución en fluir, pasando por el menisco de la marca D, hasta le menisco de la marca F, ver Figura 9
6. Repetir los pasos 4 y 5 al menos tres veces. Anotar los tiempos que se obtienen.
7. Para diluir la muestra añadir una cantidad de solvente conocida, usualmente agua, usando una pipeta, colocar el solvente dentro del reservorio inferior J por el tubo capilar G del viscosímetro, ver Figura 9.

5.7.4 Secuencia de cálculo

Con el tiempo de flujo obtenido en el viscosímetro se estima la viscosidad relativa y se ajusta a los modelos de Huggins y Kraemer. Siguiendo el siguiente procedimiento

- a) Calcular viscosidad relativa y posteriormente viscosidad específica.
- b) Estimar la viscosidad reducida y la viscosidad inherente.
- c) Ajustar viscosidad reducida versus concentración a la ecuación de Huggins.
- d) Ajustar viscosidad inherente versus concentración a la ecuación de Kraemer.
- e) Obtener la viscosidad intrínseca a partir de la ecuación de Huggins y Kraemer, obtener la constante de Kraemer.

6 Resultados

6.1 Selección y calibración viscosímetro

Después de la limpieza del viscosímetro, se realizó la calibración usando agua destilada para los viscosímetros (The Cannon-Ubbelohde Dilution Viscometer, USA) No.25 y 50, calibrados de fábrica, los constantes de calibración se encuentran en la sección de metodología. En la Tabla 3, se muestra los tiempos de flujo para el viscosímetro.

Tabla 3. Tiempos de flujo para el viscosímetro capilar (No.25), usando agua destilada.

Repetición	Tiempo (s)	Temperatura (°C)
1	438.08	27.8
2	430.60	27.8
3	430.16	27.8
4	430.89	27.7
5	429.70	27.8
PROMEDIO	431.88 ± 3.49	27.79 ± 0.04

Para el análisis estadístico de los datos de la Tabla 3, se utilizaron los siguientes datos de la Tabla 4, el tiempo de flujo de referencia se obtuvo usando la ecuación 4 y 5.

Tabla 4. Datos de tiempo de flujo para el viscosímetro No. 25

Muestra	Tiempo promedio (segundos)	Temperatura	Grados libertad
Tiempo de flujo agua	431.88 ± 3.49	27.78 ± 0.044	5-1=4
Tiempo de flujo usando Ec.4 y 5	437.34	27.78 ± 0.044	-----

La Tabla 5 muestra los resultados del análisis estadístico, se concluye que el tiempo de flujo obtenido para el agua con el viscosímetro No. 25 estadísticamente es diferente al valor obtenido por las ecuaciones 4 y 5.

Tabla 5. Resultados del análisis de estadístico t-student, para tiempos de flujo del viscosímetro No. 25, usando el programa R.

```
t.test(x = b, mu = 437.34, conf.level = 0.05)

One Sample t-test, data: a
Tcal = -3.4927, df = 4, p-value = 0.02506
criterio decisión -2.1318 < t(tablas) < 2.13 Intervalo de Ho
alternative hypothesis: true mean is not equal to 437.34
5 percent confidence interval: 431.7818 a 431.9902
sample estimates: mean of x 431.886
```

* Software estadístico (R)

En la Tabla 6, se muestra los tiempos de flujo cuando se empleó un viscosímetro capilar (No. 50), usando agua destilada, se tuvo un promedio de 190.02 segundos con una desviación estándar de 0.2703 segundos. La Tabla 7, indica los datos para realizar el análisis estadístico para comparar tiempos de flujo del viscosímetro con los reportados de tablas. La Tabla 8, indica que los datos de flujo obtenidos por el viscosímetro son estadísticamente menores a los tiempos que se deberían obtener por tablas.

Tabla 6. Tiempos de flujo para el viscosímetro capilar (No.50), usando agua destilada.

Repetición	Tiempo (s)	Temperatura (°C)
1	190.05	27.7
2	189.88	27.8
3	189.86	27.8
4	190.49	27.8
5	189.86	27.6
Promedio	190.02 ±0.2703	27.7

Tabla 7. Datos de tiempo de flujo para el viscosímetro No. 50

Muestra	Tiempo promedio (segundos)	Temperatura	Grados libertad
Tiempo de flujo agua	190.02 ± 0.2703	27.7 ± 0.044	5-1=4
Tiempo de flujo usando Ec.4 y 5	200.43	27.78 ± 0.044	-----

Tabla 8. Resultado del análisis estadístico para tiempos de flujo del viscosímetro No. 50.

```
t.test(x = b,mu = 200.43,conf.level = 0.05)
One Sample t-test
data: b
tcal = -86.046, df = 4, p-value = 1.094e-07
criterio decisión -2.1318 < t(tablas) < 2.13 Intervalo de Ho
alternative hypothesis: true mean is not equal to 200.43
5 percent confidence interval: 190.0199 190.0361
sample estimates: mean of x 190.028
```

* Software estadístico (R)

La explicación para que en ambos casos se obtuvieran tiempos de flujo menores a los que se deberían obtener por tablas, se debe tal vez al control de temperatura, la disminución de 1 °C en la temperatura del agua repercute en la disminución drástica de la viscosidad cinemática y por consiguiente en los tiempos de flujo estimados al usar las ecuaciones 4 y 5., Ver Anexo B.

6.2 Disoluciones de chía

6.2.1 Densidad

Para los cálculos de viscosidades, relativa, específica, intrínseca, es necesario obtener la viscosidad cinética que se calcula con las siguientes ecuaciones:

$$\nu = \frac{\eta}{\varphi} \quad \text{Ecuación 6}$$

$$\nu = kt \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde la ν es la viscosidad cinética de una solución o solvente es expresada en stokes, mientras que la η es la viscosidad dinámica equilibrada en unidades de (centipoise) y por último φ es la densidad expresada en (g/cm³), dado que el viscosímetro capilar Cannon-Ubbelohde Dilution, Cannon-Feske, solo nos permite calcular la viscosidad cinética despejaremos la viscosidad dinámica, ya que la viscosidad relativa es en función de esta, con esto podemos definir que para la obtención de la viscosidad relativa puede expresarse de la siguiente manera:

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} = \frac{\nu * \varphi}{\nu_0 * \varphi_0} = \frac{kt * \varphi}{kt_0 * \varphi_0} = \frac{\cancel{kt} * \varphi}{\cancel{kt_0} * \varphi_0} = \frac{t}{t_0} \quad \text{Ecuación 7}$$

Que al simplificar esta proporción y tomando en cuenta dos puntos de gran importancia dado que el valor de la constante **K** es el mismo para la solución y el solvente, se puede no tomar en cuenta, mientras que para la densidad φ en la literatura algunos autores mencionan que en soluciones diluidas o muy pequeñas la densidad es despreciable o muy cercanas a los valores del solvente, en nuestro caso agua por lo que la función queda de esta forma:

$$\frac{t}{t_0} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde solamente en la expresión quedan los valores de los tiempos de flujo de la solución t sobre el tiempo de flujo del solvente puro t_0

La Figura 11, muestra el comportamiento de disoluciones de chíá y cloruro de sodio con respecto a la densidad, en ambos casos se observa que al disminuir la concentración la densidad tiende a valores de 1 g/mL, es decir, tiende a valores de la densidad del agua, esta información permite reducir el cálculo de la viscosidad relativa al cociente de tiempos.

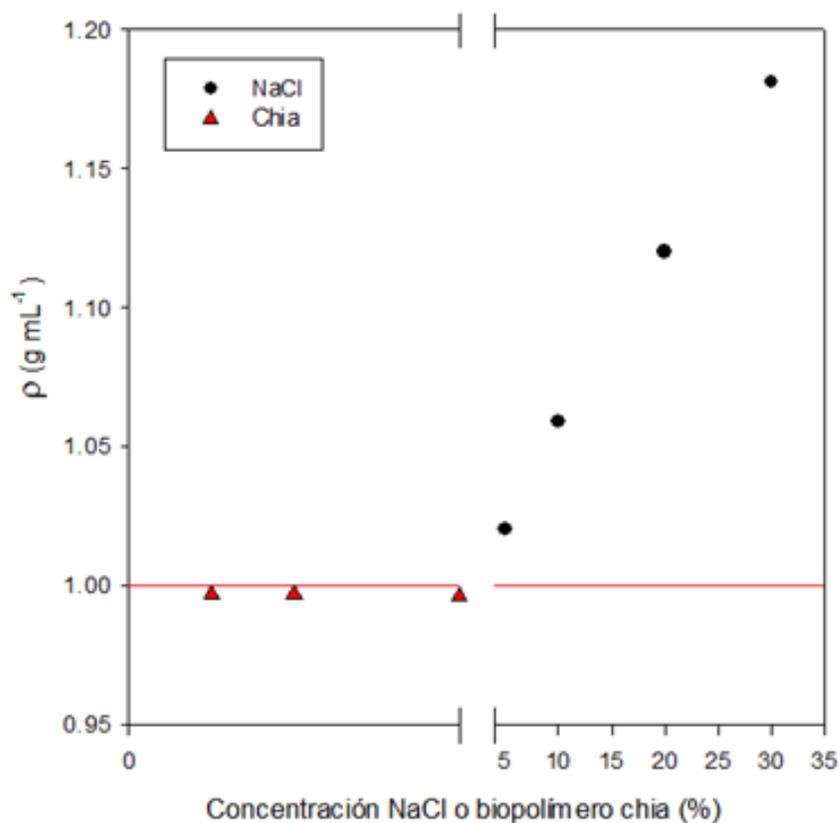


Figura 11. Efecto de la concentración en la densidad de una disolución de chíá o cloruro de sodio.

6.2.2 Estudios de microscopia

6.2.2.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Se analizó la muestra de biopolímero por microscopia electrónica de barrido, puesto que en el proceso de filtración se presentaron dificultades debido a una obstrucción con gran rapidez de los filtros utilizados en este proceso, por lo que se infiere de la existencia de material insoluble que impide la filtración. El estudio se llevó a tres diferentes magnitudes de enfoque de 100 X, 500 X y 1000 X, donde se tomaron cinco diferentes campos de la muestra para determinar la homogeneidad y presencia de material insolubles.

Se obtuvieron imágenes de dos muestras de disoluciones de biopolímero (no filtrado y filtrado). Las disoluciones sin filtrar presentó pequeños fragmentos de las capas sub-epidérmica con células de forma hexagonal, estas se presentan en la estructura de la tercera capa que recubren a la semilla de chíca que se encuentra ligado a la secreción del mucílago, como lo reportado por (Salgado-Cruz *et al.*, 2013). También se pudo observar material insoluble, además de la existencia de conglomerados del polímero de tamaño significativo con diferente formas y dimensiones las cuales se determinaron con ayuda del software del equipo (SEM), se midieron las longitudes (16.18 μm a 55.01 μm) y diámetros (9.002 μm a 28.75 μm) en la muestra analizada, ver Anexo D y Figura 12.



Figura 12. Análisis de Microscopia Electrónica de Barrido SEM. Imagen biopolímero solubilizado no filtrado de concentración (1 mg mL⁻¹).

Por otro lado, en la muestra filtrada presentó una disminución en la presencia de material insoluble y conglomerados, manteniendo pequeños fragmentos de las capas sub-epidérmica con células de forma hexagonal de menor dimensión al igual que los conglomerados, las longitudes y diámetros encontrados en esta muestra fueron de (39.75 μm a 69.87 μm) y (9.241 μm a 14.10 μm) respectivamente.

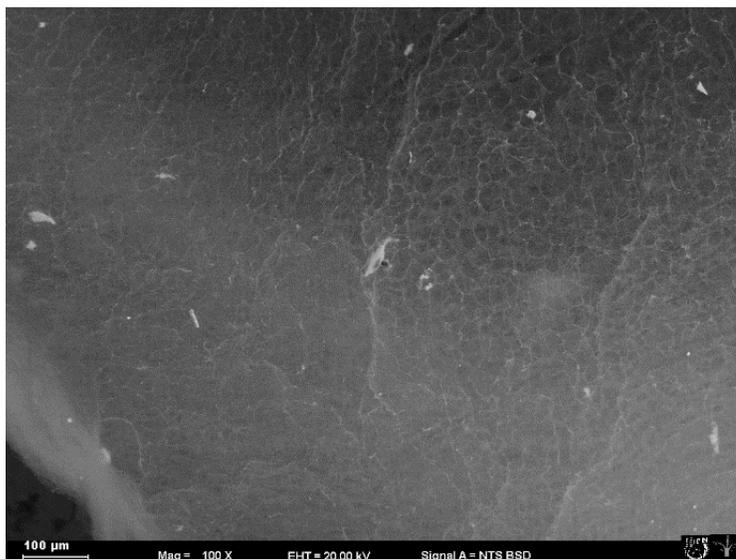


Figura 13. Análisis de Microscopia Electrónica de Barrido SEM. Imagen biopolímero solubilizado filtrado de concentración (1 mg mL⁻¹).

De igual manera se determinaron las longitudes de partículas utilizando el software (imagen J), de acceso libre para el análisis de partículas en las disoluciones de chíá no filtrado y filtrado tomando como referencia la escala proporcionada por el equipo (SEM). Se obtuvo un promedio de longitud de 30.24 μm , con una desviación estándar de 17.44 para disolución no filtrada y de 22.36 μm con una desviación estándar de 15.90 para la filtrada, ver Figura 14 y 15.

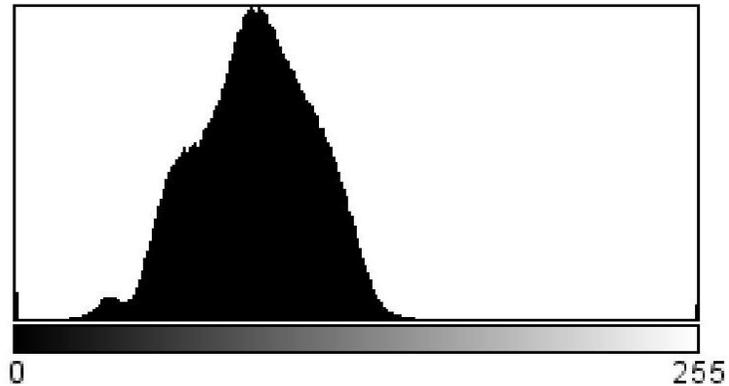


Figura 14. Histograma de distribución de la longitud mínima de las partículas insolubles encontradas en la disolución de chía filtrado obtenido del software (imagen J).

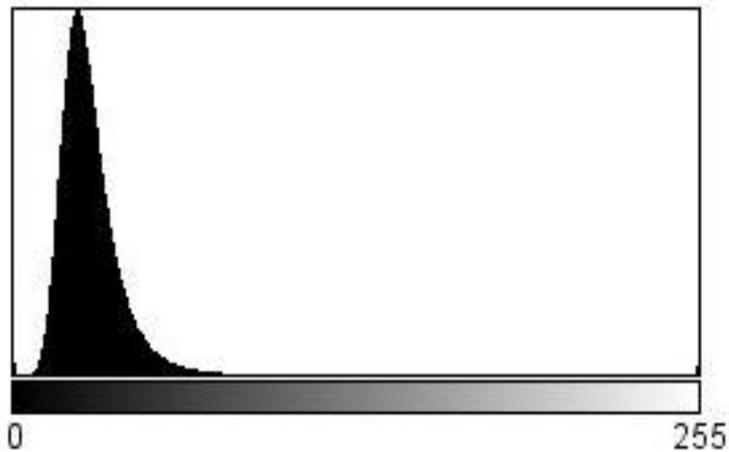


Figura 15. Histograma de distribución de la longitud mínima de las partículas insolubles encontradas en la disolución de chía sin filtrar obtenido del software (imagen J).

6.3 Viscosidad intrínseca biopolímero chía

6.3.1 Efecto de temperatura

Se manejó una temperatura controlada de 25 ± 0.1 °C, y analizando los tiempos de flujo y valores de viscosidad relativa ver Anexo C. Se puede observar que una pequeña variación de temperatura de 0.2 °C puede influir en el tiempo de flujo del biopolímero ocasionando un incremento o disminución del tiempo de desplazamiento a través del capilar de viscosímetro (Chen and Tsaih, 1998), un error experimental que se trasfiere a los resultados finales de viscosidad intrínseca reflejándose en la dispersión que presentan los puntos en la regresión lineal (Pamies *et al.*, 2008).

6.3.2 Efecto de iones de cloruro de sodio

En la Tabla 9, muestra las fracciones mM y el efecto del incremento de los iones de cloruro de sodio en las soluciones a diferentes concentraciones, donde refleja que en ausencia de iones la solución reporta valores de viscosidad intrínseca entre 38.53 dL/g a 34.37 dL/g, mientras que al incrementar la fracción mM de iones esta tiende a disminuir de manera gradual, a lo cual puedo comentar que el biopolímero tiene un comportamiento común de un poli electrolito en presencia de iones (Brunchi, Morariu and Bercea, 2014), Así mismo se infiere que la disminución de la viscosidad intrínseca se manifiesta por el plegado de la molécula al interactuar con las cargas de iones, puesto que a medida que incrementa la fracción mM esta compacta su volumen hidrodinámico hasta alcanzar valores de viscosidad intrínseca de 4.81 dL/g lo que se puede deducir como un 98% de su tamaño. La serie de experimentos se observa en el Anexo A.

Tabla 9. Viscosidad intrínseca de biopolímero de mucílago de chía filtrado y constantes de K_H y K_K frente a diferentes concentraciones de fracción mili molar (mM) de cloruro de sodio.

Efecto de iones de sodio

T (°C)	C mg/ml inicial	C µg/ml final	η_{rel}	mM Na ⁺	$[\eta]$ dL/g	SC $[\eta]$ dL/g	K_H	K_K
25 ± 0.1	0.4	296.75	2.177	0	38.53	35.46	0.022	-0.268
25 ± 0.1	0.4	275.85	2.133	0	34.37	33.17	0.203	-0.196
25 ± 0.1	0.8	344.05	1.562	1	12.86	14.52	1.461	0.445
25 ± 0.1	0.8	505.96	1.41	1	10.50	8.39	-0.466	-0.673
25 ± 0.1	0.8	396.66	1.182	5	9.52	12.30	2.511	0.883
25 ± 0.1	1.2	957.13	1.764	50	4.81	5.61	1.495	0.348

Viscosidad Intrínseca vs mMNa

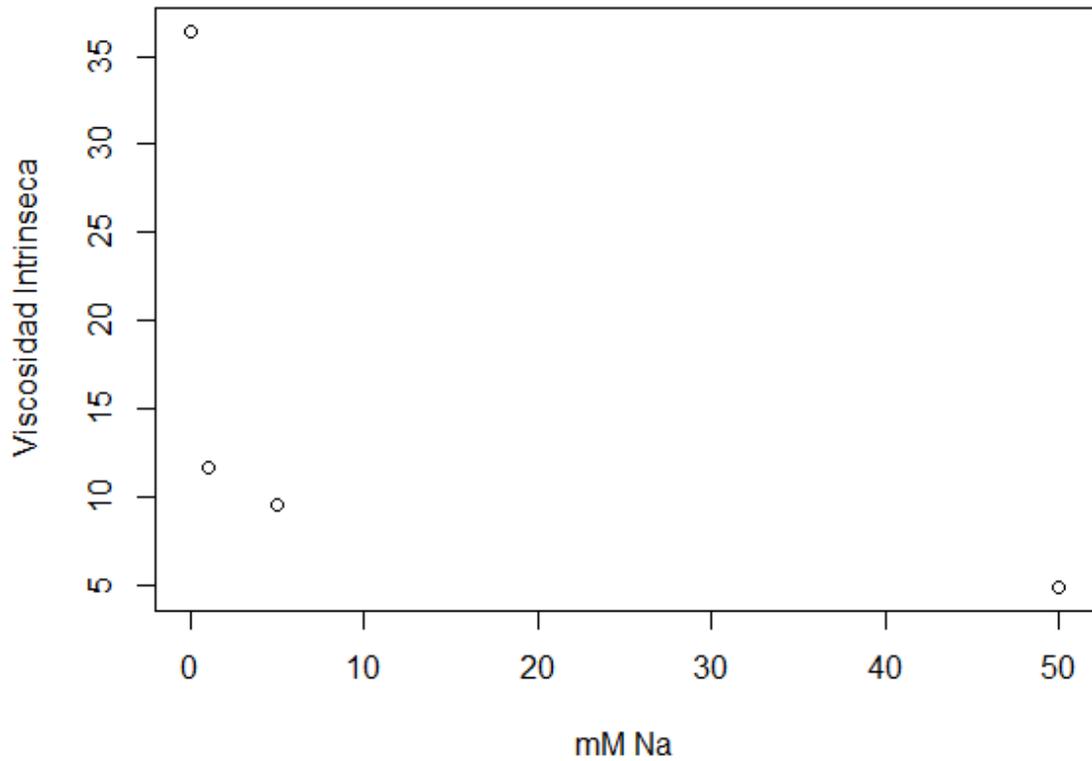


Figura 16. Gráfica de dispersión de viscosidad intrínseca de biopolímero de mucilago de chíá filtrada frente a la fracción mM de cloruro de sodio obtenido del software estadístico (R studio).

ANÁLISIS DE VARIANZA					
Factor	Niveles	Valores			
mM	4	0, 1, 5, 50			
Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
mM	3	1011.28	337.094	62.28	0.016
Error	2	10.82	5.412		
Total	5	1022.11			

Tabla 10. Resultado del análisis de varianza con un alfa de 0.05 de la Figura 16 de viscosidad intrínseca ($[\eta]$ dL/g) frente a concentración (mM) obtenido del software Minitab.

Los valores de la constante nos sirven para determinar si el solvente es capaz de solubilizar el polímero un valor de 0.3 nos indican una buena solvatación, mientras que los valores cercanos a 0.5 nos ofrecen que la fuerza del solvente y el polímero son iguales. Por otro lado, En el presente estudio donde la constante de Huggins adoptan valores 0.2 a 0.5 indica que la interacción (polímero – solvente) es factible existiendo solvatación en el medio acuoso, el incremento hasta 2.5 nos indican que el solvente no es capaz de solubilizar y tienden a formarse conglomerados del polímero comportamiento que se ve reflejado al adicionar Na^+ , mientras la constante de Kraemer refleja valores que incrementan de -0.1 a 0.8 cumpliendo con el comportamiento requerido para ser tomados en cuenta en esta investigación (Pamies *et al.*, 2008).

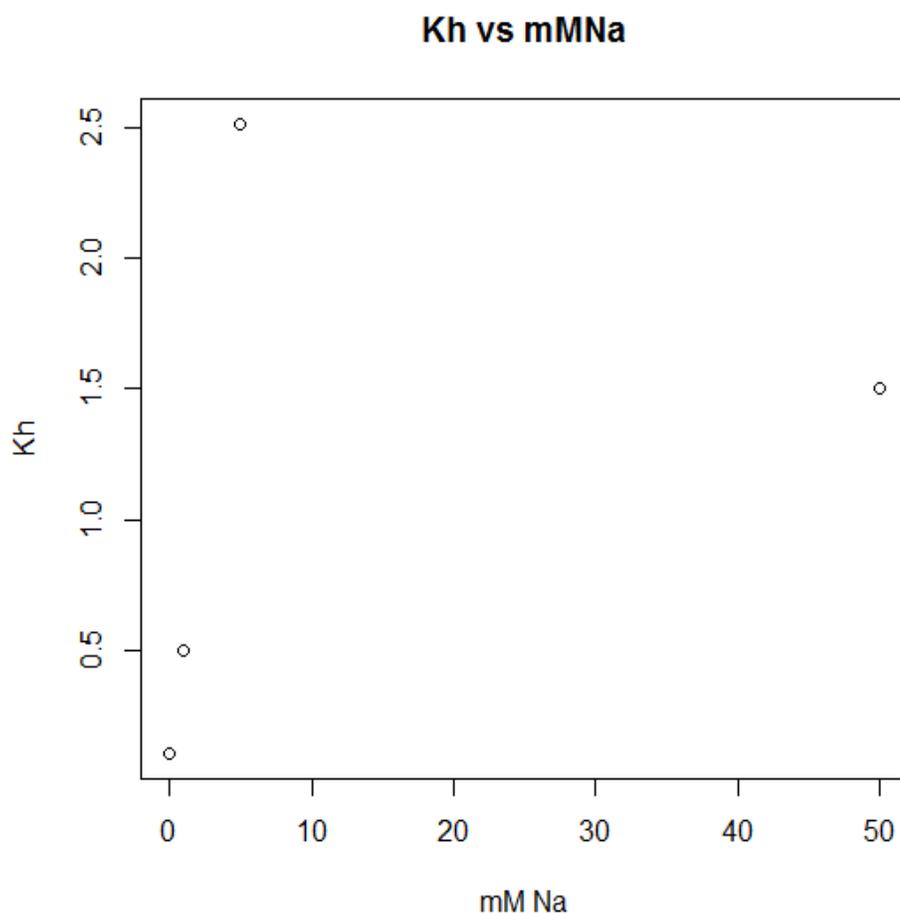


Figura 17. Grafica de dispersión de K_H del biopolímero de mucílago de chíá filtrado frente a la fracción mili molar de cloruro de sodio (mM) obtenido del software estadístico (R studio).

7 Conclusiones

Se realizó la medición de la viscosidad intrínseca del biopolímero de la semilla de chía a 25 °C en el intervalo de concentraciones de 0 a 50 mM Na⁺. El biopolímero tiene un comportamiento característico de los polielectrolitos al incrementar la concentración de Na⁺, la adicción de iones permitió determinar el comportamiento del biopolímero cuando sus moléculas se pliegan reduciendo su volumen hidrodinámico hasta un 98%, la viscosidad intrínseca disminuye de valores de 38.53 hasta 5 dL/g. A valores mayores del 1 mM la constante de Huggins tiene valores mayores de 0.5, las implicaciones prácticas son que el solvente agua con 1 mM Na⁺ no posee la capacidad de disolver al biopolímero de chía.

El análisis de microscopia permitió visualizar fragmentos insolubles que pueden influir en los resultados de viscosidad intrínseca al elevar el tiempo de flujo a través del capilar del viscosímetro, se propone agregar esta variable en el análisis de viscosidad intrínseca de biopolímero de mucílago de chía que puede ser de interés sin dejar de lado las ya conocidas para este estudio (temperatura, concentración, etc).

8 Referencias

Bak, J. H. and Yoo, B. (2018) 'Intrinsic viscosity of binary gum mixtures with xanthan gum and guar gum: Effect of NaCl, sucrose, and pH', *International Journal of Biological Macromolecules*, 111, pp. 77–81. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.144.

Behrouzian, F., Razavi, S. M. A. and Karazhiyan, H. (2014) 'Intrinsic viscosity of cress (*Lepidium sativum*) seed gum: Effect of salts and sugars', *Food Hydrocolloids*, 35, pp. 100–105. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.04.019.

Brunchi, C. E., Morariu, S. and Bercea, M. (2014) 'Intrinsic viscosity and conformational parameters of xanthan in aqueous solutions: Salt addition effect', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 122, pp. 512–519. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.07.023.

Cahill, J. (2003) 'Ethnobotany of chia, *Salvia Hispanica* L. (Lamiaceae)', *Economic Botany*, 57(4), pp. 604–618.

Capitani, M. I. *et al.* (2012) 'Physicochemical and functional characterization of by-products from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds of Argentina', *LWT - Food Science and Technology*, 45, pp. 94–

102. doi: 10.1016/j.lwt.2011.07.012.

Capitani, M. I. *et al.* (2015) 'Rheological properties of aqueous dispersions of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage', *Journal of Food Engineering*, 149, pp. 70–77. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2014.09.043.

Chen, R. H. and Tsaih, M. L. (1998) 'Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of chitosans in dilute HCl solution', *International Journal of Biological Macromolecules*, 23, pp. 135–141. doi: 10.1016/S0141-8130(98)00036-1.

DuBois, M. *et al.* (1956) 'Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances', *Analytical Chemistry*. American Chemical Society, 28(3), pp. 350–356. doi: 10.1021/ac60111a017.

Elida Hermina *et al.* (2011) 'GUÍA DIDÁCTICA - POLÍMEROS - CAPITULO 9', in *Colección Materiales y materias primas*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, pp. 1–70. Available at: http://www.inet.edu.ar/wp-content/uploads/2012/11/09_Polimeros.pdf (Accessed: 28 June 2018).

de Falco, B., Amato, M. and Lanzotti, V. (2017) 'Chia seeds products: an overview', *Phytochemistry Reviews*. doi: 10.1007/s11101-017-9511-7.

Han, K. H. *et al.* (2013) 'Prediction of solubility parameter from intrinsic viscosity', *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. doi: 10.1016/j.jiec.2012.12.009.

Hernández, H. A. (2016) *Evaluación de Diferentes Temperaturas en el Procesado de Sanitización con ETO (Óxido de Etileno) en semilla de chia (Salvia hispánica) para consumo*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Available at: http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7927/T20736_HERNANDEZ_AVILA%2C%20HUMBERTO_63871.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Accessed: 2 July 2018).

Huggins, M. L. (1937) 'THE VISCOSITY OF DILUTE SOLUTIONS OF LONG-CHAIN MOLECULES. I,2', *The Journal of Physical Chemistry*, 42(7), pp. 911–920.

Huggins Maurice L (1942) 'The viscosity of dilute solutions of long-chain molecules. IV. dependence concentration', *American Chemical Society*, 64(Nº.871 KODAK RESEARCH LABORATOR), pp. 2716–2720. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja01263a056> (Accessed: 20 March 2018).

Lapasin, R. and Prici, S. (1995) *Rheology and industrial polysaccharides : theory and applications*. London [etc.]: Blackie.

Marcia Parente Melo da Costa *et al.* (2017) 'Evaluation of single-point equations to determine intrinsic viscosity of sodium alginate and chitosan with high deacetylation degree', *Polymer Testing*, 63, pp. 427–433. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2017.09.003>.

Mehrdad, A., Samadiani, N. and Poormoosa, L. (2013) 'Effect of temperature and hydrochloric acid on the intrinsic viscosity of poly(acrylic acid) in aqueous solutions', *Journal of Molecular Liquids*. doi: 10.1016/j.molliq.2013.06.018.

Pamies, R. *et al.* (2008) 'Determination of intrinsic viscosities of macromolecules and nanoparticles. Comparison of single-point and dilution procedures', *Colloid and Polymer Science*. doi: 10.1007/s00396-008-1902-2.

Poling, B. E. *et al.* (2007) *Perry's Chemical Engineers' Handbook, Perry's Chemical Engineers' Handbook*. doi: 10.1036/0071511253.

Qin, G. *et al.* (2017) 'Fine ultra-micropore control using the intrinsic viscosity of precursors for high performance carbon molecular sieve membranes', *Separation and Purification Technology*. Elsevier, 177, pp. 129–134. doi: 10.1016/J.SEPPUR.2016.12.047.

Rodríguez Cruz, E. (2014) *Efecto de contraiones sodio en la viscosidad intrínseca del biopolímero de la chia (Salvia hispanica L.)*. Universidad Interserrana del Estado de Puebla, Ahucatlán.

Salgado-Cruz, M. de la P. *et al.* (2013) 'Chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage release characterisation. A microstructural and image analysis study', *Industrial Crops and Products*. Elsevier, 51, pp. 453–462. doi: 10.1016/J.INDCROP.2013.09.036.

Di Sapio, O. *et al.* (2012) 'Caracterización Morfoanatómica de Hoja, Tallo, Fruto y Semilla de *Salvia hispanica* (Lamiaceae)', 11(3), pp. 249–268. Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85622739007.pdf> (Accessed: 2 July 2018).

Segura-Campos, M. R. *et al.* (2014) 'Chemical and functional properties of chia seed (*Salvia hispanica* L.) gum', *International Journal of Food Science*, 2014, p. 5 pages. doi: 10.1155/2014/241053.

da Silva, G. M. *et al.* (2018) 'Evaluation of viscometric properties of carboxymethylcellulose and gellan', *Journal of Molecular Liquids*. Elsevier, 268, pp. 201–205. doi:

10.1016/J.MOLLIQ.2018.07.062.

Timilsena, Y. P. *et al.* (2015) 'Rheological and microstructural properties of the chia seed polysaccharide', *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier, 81, pp. 991–999. doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2015.09.040.

Valero, M., Ortegon, Y. and Uscategui, Y. (2013) 'Dyna. BIOPOLYMERS: PROGRESS AND PROSPECTS', *DYNA*, 80(181), pp. 171–180. Available at: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/20642> (Accessed: 28 June 2018).

9 Anexos

9.1 Anexo A: Base de datos

9.1.1 Serie de experimentos de medición de tiempo de flujo de biopolímero de chíá solubilizado en agua destilada sin presencia de iones de sodio

PRIMER EXPERIMENTO

DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD INTRINSECA			DETERMINACIÓN SIN PRESENCIA DE IONES DE SODIO			
PESO DE POLIMERO			20 mg			
VOLUMEN DE AGUA DES.			50 ml			
CONCENTRACIÓN INICIAL			0.4 mg/ml			
ABSORBANCIA			0.781			
CONCENTRACIÓN FINAL FILTRADO			296.75 µg/ml			
REPETICIÓN	t (min)	t(s)	T (C°)	η_{rel}	[] µg/ml	Agua (ml)
Agua	3'20''21'''	200.21''	25	*	*	10
Agua	3'21''38'''	201.38''	25	*	*	*
	Promedio	200.79				
1	7'17''16'''	437.16	25	2.177	296.7	0
2	7'18''29'''	438.29	25	2.183	*	*
1	6'24''70'''	384.7	25	1.916	228.2	3
2	6'27''57'''	387.57	25	1.930	*	*
1	5'52''12'''	352.12	25	1.754	185.4	6
2	5'51''58'''	351.58	25	1.751	*	*
1	5'29''94'''	329.94	25	1.643	156.1	9
2	5'30''99'''	330.99	25	1.648	*	*
1	5'12''40'''	312.4	25	1.556	134.8	12
2	5'13''16'''	313.16	25.1	1.560	*	*
1	4'59''10'''	299.1	25	1.490	118.6	15
2	5'00''95'''	300.95	25	1.499	*	*
1	4'45''00'''	285	25	1.419	105.9	18
2	4'45''76'''	285.76	25	1.423	*	*
1	4'38''01'''	278.01	25	1.385	95.7	21
2	4'33''49'''	273.49	25	1.362	*	*
1	4'29''91'''	269.91	25	1.344	87.2	24
2	4'29''82'''	269.82	25	1.344	*	*

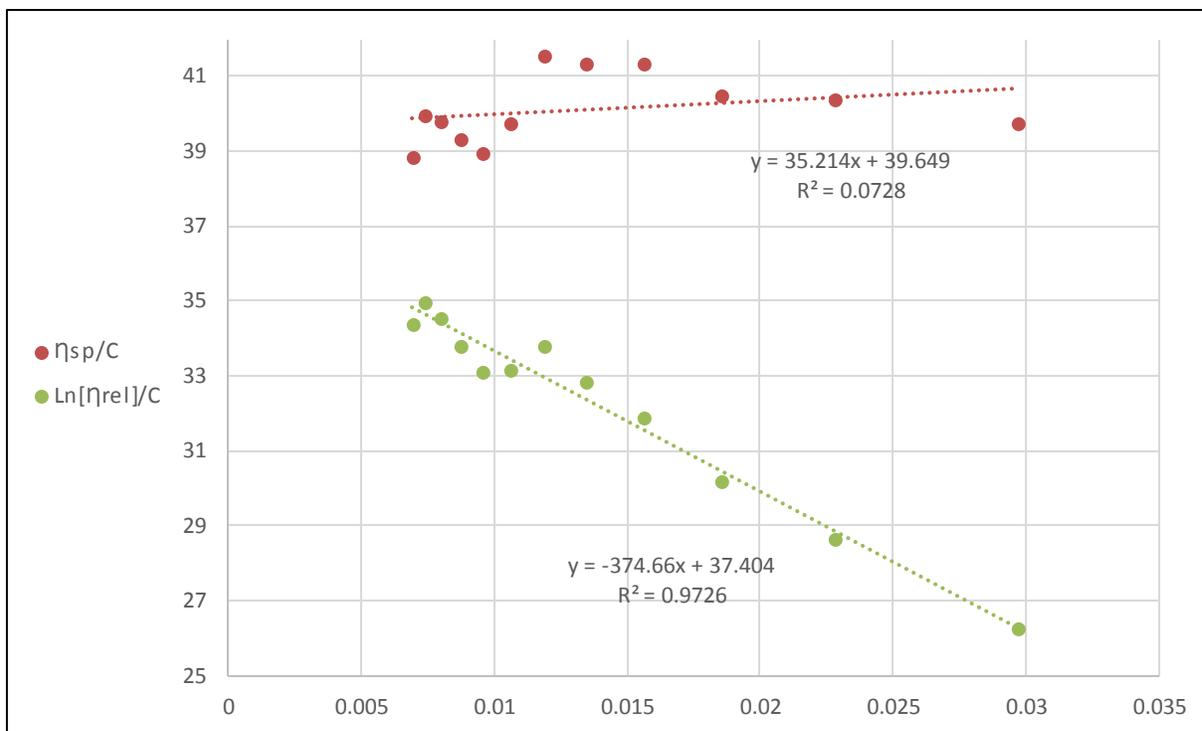
1	4'25''51'''	265.51	25	1.322	80.1	27
2	4'24''49'''	264.49	25	1.317	*	*
1	4'22''87'''	262.87	25	1.309	74.1	30
2	4'17''81'''	257.81	25	1.284	*	*
1	4'15''50'''	255.5	25	1.272	69	33
2	4'13''88'''	253.88	25	1.264	*	*

CALCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD INTRINSECA

	η_{rel}	η_{sp}	$\ln[\eta_{rel}]$	C[g/dl]	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$
1	2.179	1.179	0.779	0.02967	39.74	26.25
2	1.922	0.922	0.653	0.02282	40.40	28.63
3	1.751	0.751	0.560	0.01854	40.51	30.22
4	1.645	0.645	0.498	0.01561	41.32	31.89
5	1.557	0.557	0.443	0.01348	41.32	32.85
6	1.493	0.493	0.401	0.01186	41.57	33.79
7	1.421	0.421	0.351	0.01059	39.75	33.18
8	1.373	0.373	0.317	0.00957	38.98	33.12
9	1.343	0.343	0.295	0.00872	39.33	33.82
10	1.319	0.319	0.277	0.00801	39.83	34.57
11	1.296	0.296	0.259	0.00741	39.95	34.99
12	1.268	0.268	0.237	0.0069	38.84	34.41

VALORES GRÁFICOS (0mM)

	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$	$[\eta]$
b=	39.65	37.4	38.525
R_2	0.072	0.97	
m=	35.21	-374.66	
K=	0.022	-0.268	



TRECER EXPERIMENTO

DETERMINACION DE LA VISCOSIDAD INTRINSECA			DETERMINACIÓN SIN PRESENCIA DE IONES DE SODIO			
PESO DE POLIMERO			20 mg			
VOLUMEN DE AGUA DES.			50 ml			
CONCENTRACIÓN INICIAL			0.4 mg/ml			
ABSORBANCIA			0.727			
CONCENTRACIÓN FINAL FILTRADO			275.85 $\mu\text{g/ml}$			
REPETICIÓN	t (min)	t(s)	T (C°)	η_{rel}	[] $\mu\text{g/ml}$	Agua (ml)
Agua	3'21''75'''	201.75''	25	*	*	10
Agua	3'21''38'''	201.38''	25.06	*	*	*
	Promedio	201.58				
1	7'09''88'''	429.88	25	2.133	275.85	0
2	7'05''06'''	425.06	25.12	2.109	*	*
1	6'14''69'''	374.69	25	1.859	212.19	3
2	6'15''54'''	375.54	25	1.863	*	*
1	5'40''44'''	340.44	25	1.689	172.4	6
2	5'39''92'''	339.92	25.06	1.686	*	*
1	5'15''52'''	315.52	25	1.565	145.18	9

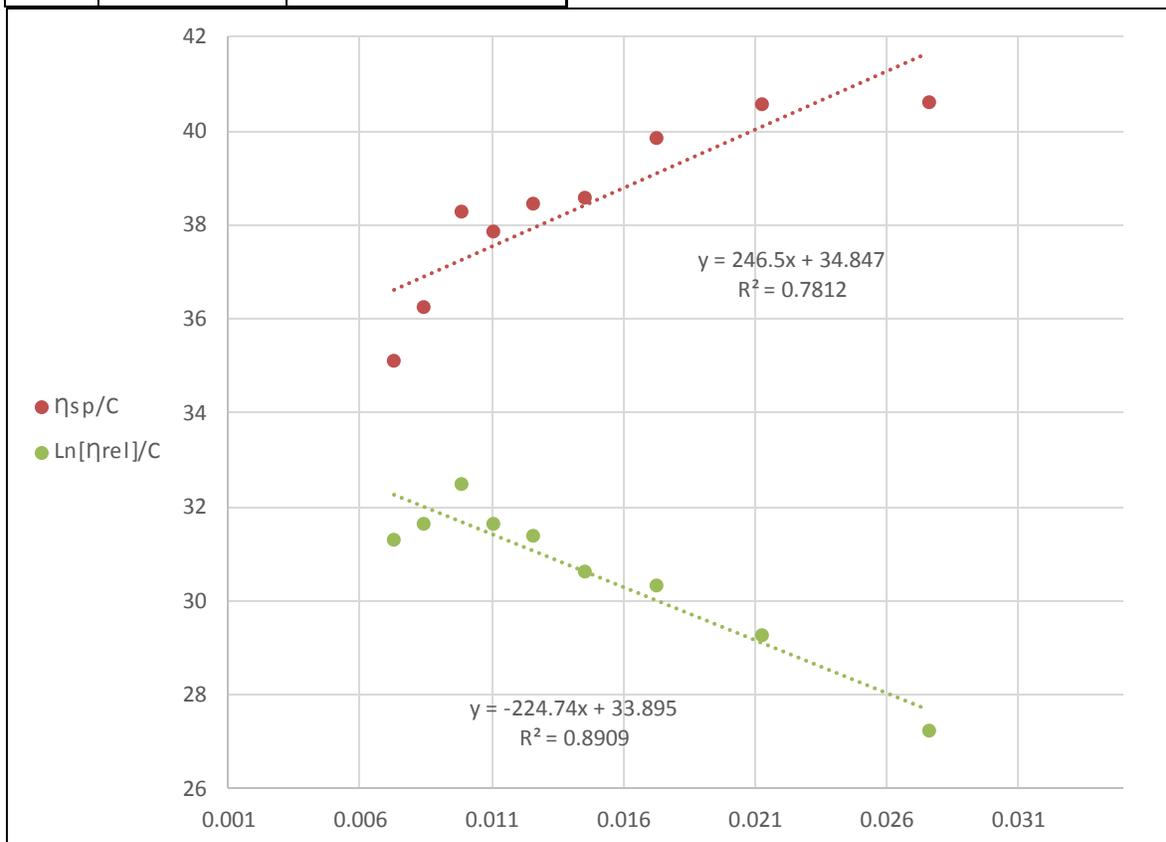
2	5'14''36'''	314.36	25	1.559	*	*
1	4'59''71'''	299.71	24.94	1.487	125.38	12
2	4'57''74'''	297.74	25	1.477	*	*
1	4'46''38'''	286.38	25.06	1.421	110.34	15
2	4'45''26'''	285.26	25	1.415	*	*
1	4'36''88'''	276.88	25	1.374	98.51	18
2	4'38''48'''	278.48	25.06	1.381	*	*
1	4'23''14'''	263.14	24.94	1.305	83.59	23
2	4'22''17'''	262.17	25	1.301	*	*
1	4'13''92'''	253.92	24.94	1.260	72.59	28
2	4'12''12'''	252.12	25	1.251	*	*
1	4'03''41'''	243.41	25.06	1.208	64.15	33
2	4'03''59'''	243.59	25.12	1.208	*	*
1	3'59''39'''	239.39	25	1.188	57.46	38
2	3'59''15'''	239.15	25.06	1.186	*	*
1	3'55''27'''	235.27	24.94	1.167	52.04	43
2	3'54''59'''	234.59	25	1.164	*	*

CALCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD INTRINSECA

	η_{rel}	η_{sp}	$\ln[\eta_{rel}]$	$C[g/dl]$	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$
1	2.12	1.12	0.751	0.027585	40.60	27.24
2	1.861	0.861	0.621	0.021219	40.58	29.27
3	1.687	0.687	0.523	0.01724	39.85	30.33
4	1.56	0.56	0.445	0.014518	38.57	30.63
5	1.482	0.482	0.393	0.012538	38.44	31.38
6	1.418	0.418	0.349	0.011034	37.88	31.65
7	1.377	0.377	0.320	0.009851	38.27	32.47
8	1.303	0.303	0.265	0.008359	36.25	31.66
9	1.255	0.255	0.227	0.007259	35.13	31.29
10	1.207	0.207	0.188	0.006415	32.27	29.33
11	1.186	0.186	0.171	0.005746	32.37	29.69
12	1.165	0.165	0.153	0.005204	31.71	29.35

NOTA: LOS VALORES DE VISCOSIDAD RELATIVA DE 1.2 U MENORES NO SON LINEALES POR LO CUAL NO SE TOMARON EN CUENTA EN EL GRÁFICO

VALORES GRÁFICOS (0mM)			
	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$	$[\eta]$
b=	34.84	33.89	34.365
R_2	0.78	0.89	
m=	246.50	-224.74	
K=	0.203	-0.196	



9.1.2 Serie de experimentos de medición de tiempo de flujo de biopolímero de chíá solubilizado en agua destilada en presencia de iones de sodio.

CUARTO EXPERIMENTO

DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD INTRINSECA	DETERMINACIÓN EN PRESENCIA DE IONES DE SODIO
PESO DE POLIMERO	20 mg
VOLUMEN DE AGUA DES.	50 ml
CONCENTRACIÓN INICIAL	0.4 mg/ml
CONCENTRACIÓN Mm DE SODIO	1 mM
ABSORBANCIA	0.638
CONCENTRACIÓN FINAL FILTRADO	241.35 μ g/ml

REPETICIÓN	t (min)	t(s)	T (C°)	η_{rel}	[] $\mu\text{g/ml}$	Agua (ml)
Agua	3'22''33'''	202.33''	24.81	*	*	10
Agua	3'21''22'''	201.22''	25.06	*	*	*
	Promedio	201.7				
1	4'50''75'''	290.75	25.12	1.441	241.35	0
2	4'53''47'''	293.45	25	1.455	*	*
1	4'22''24'''	262.24	25	1.300	185.65	3
2	4'23''03'''	263.03	25.06	1.304	*	*
1	4'09''64'''	249.64	24.94	1.238	150.84	6
2	4'08''97'''	248.97	25	1.234	*	*
1	4'02''46'''	242.46	25	1.202	127.02	9
2	4'02''31'''	242.31	24.94	1.201	*	*
1	3'55''69'''	235.69	25.06	1.169	109.7	12
2	3'55''89'''	235.89	25.06	1.170	*	*

ANALIZAR BIEN ESTE EXPERIMENTO ANTES DE TOMAR EN CUENTA

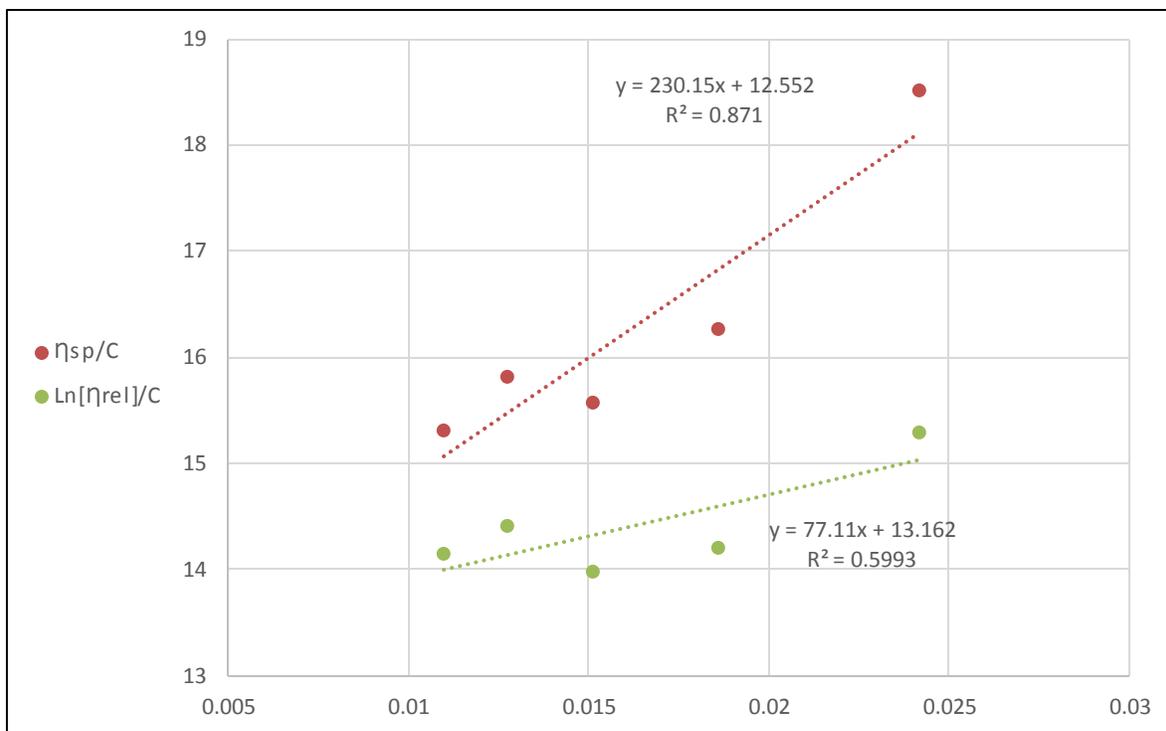
CALCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD INTRINSECA

	η_{rel}	η_{sp}	$\ln[\eta_{rel}]$	C[g/dl]	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$
1	1.447	0.447	0.369	0.024135	18.52	15.31
2	1.302	0.302	0.264	0.018565	16.27	14.22
3	1.235	0.235	0.211	0.015084	15.58	13.99
4	1.201	0.201	0.183	0.012702	15.82	14.42
5	1.168	0.168	0.155	0.01097	15.31	14.16

NOTA: LOS VALORES DE VISCOSIDAD RELATIVA DE 1.2 U MENORES NO SON LIENEALES POR LO CUAL NO DEBEN TOMARSE EN CUENTA EN EL GRÁFICO

VALORES GRÁFICOS (1mM)

	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$	$[\eta]$
b=	12.55	13.16	12.855
R ₂	0.87	0.59	
m=	230.15	77.11	
K=	1.461	0.445	



QUINTO EXPERIMENTO

DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD INTRINSECA			DETERMINACIÓN EN PRESENCIA DE IONES DE SODIO			
PESO DE POLIMERO			40 mg			
VOLUMEN DE AGUA DES.			50 ml			
CONCENTRACIÓN INICIAL			0.8 mg/ml			
CONCENTRACIÓN Mm DE SODIO			5 mM			
ABSORBANCIA			0.903			
CONCENTRACIÓN FINAL FILTRADO			344.05 µg/ml			
REPETICIÓN	t (min)	t(s)	T (C°)	η_{rel}	[] µg/ml	Agua (ml)
Agua	3'26''93'''	206.93''	25.2	*	*	10
Agua	3'25''52'''	205.52''	25	*	*	*
	Promedio	206.22				
1	5'22''14'''	322.14	25.03	1.562	344.05	0
2	5'24''30'''	323.5	25	1.569	*	*
1	4'45''04'''	285.04	25.2	1.382	264.65	3
2	4'49''01'''	289.01	25	1.401	*	*
1	4'25''36'''	265.36	25.1	1.287	215.03	6
2	4'25''97'''	265.97	25	1.290	*	*

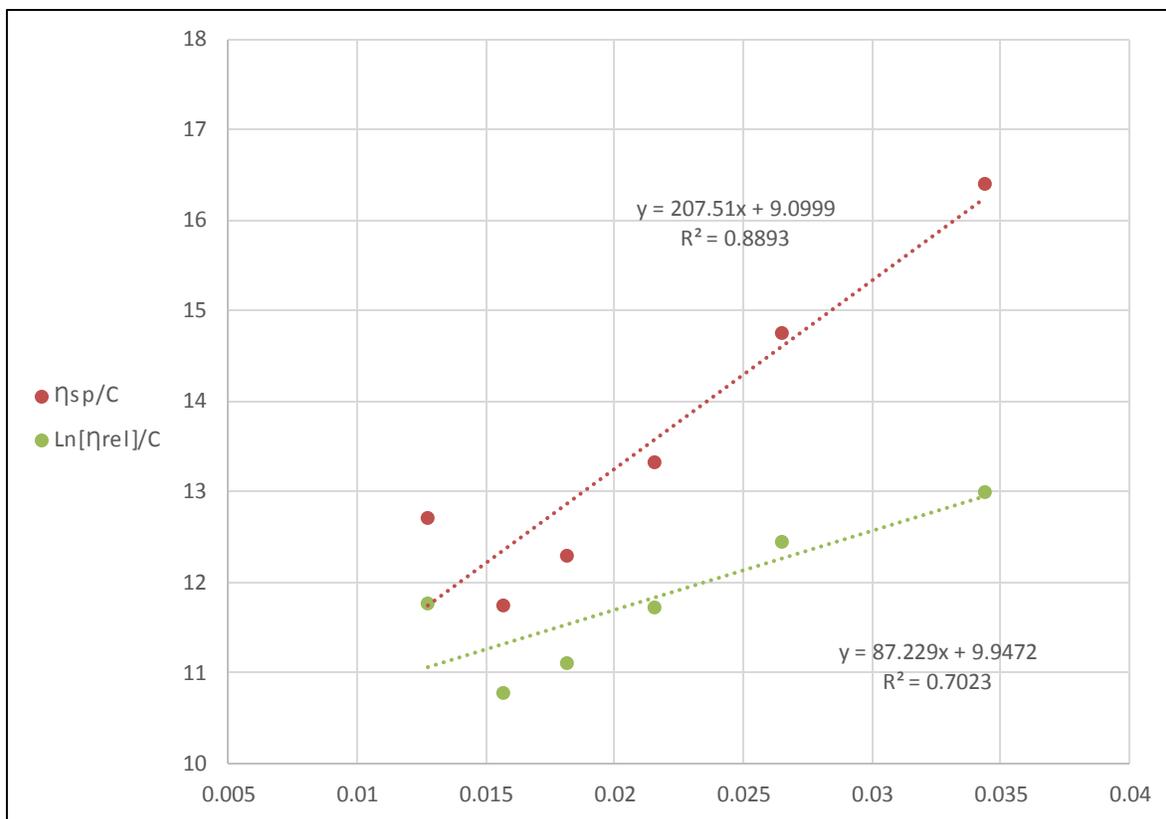
1	4'13''15'''	253.15	25.2	1.228	181.07	9
2	4'11''62'''	251.62	25	1.220	*	*
1	4'04''21'''	244.21	25.1	1.184	156.38	12
2	4'04''57'''	244.57	25	1.186	*	*
1	3'59''53'''	239.53	25	1.162	127.42	15
2	3'59''98'''	239.98	25	1.164	*	*

CALCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD INTRINSECA

	η_{rel}	η_{sp}	$\ln[\eta_{rel}]$	C[g/dl]	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$
1	1.565	0.565	0.448	0.034405	16.42	13.02
2	1.391	0.391	0.330	0.026465	14.77	12.47
3	1.287	0.287	0.252	0.021503	13.35	11.73
4	1.223	0.223	0.201	0.018107	12.32	11.12
5	1.184	0.184	0.169	0.015638	11.77	10.80
6	1.162	0.162	0.150	0.012742	12.71	11.78

VALORES GRÁFICOS (5mM)

	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$	$[\eta]$
b=	9.09	9.94	9.515
R_2	0.88	0.7	
m=	207.51	87.22	
K=	2.511	0.883	



SEXTO EXPERIMENTO

DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD INTRINSECA			DETERMINACIÓN EN PRESENCIA DE IONES DE SODIO			
PESO DE POLIMERO			40 mg			
VOLUMEN DE AGUA DES.			50 ml			
CONCENTRACIÓN INICIAL			0.8 mg/ml			
CONCENTRACIÓN Mm DE SODIO			1 mM			
ABSORBANCIA			0.668			
CONCENTRACIÓN FINAL FILTRADO			505.96 µg/ml			
REPETICIÓN	t (min)	t(s)	T (C°)	ηrel	[] µg/ml	Agua (ml)
Agua	3'21''13'''	201.13''	25	*	*	10
Agua	3'21''10'''	201.10''	25.1	*	*	*
	Promedio	201.11				
1	4'43''52'''	283.52	25.1	1.410	505.96	0
2	4'44''23'''	284.23	25.1	1.413	*	*
1	4'29''66'''	269.66	25	1.341	389.2	3
2	4'28''94'''	268.94	25.2	1.337	*	*

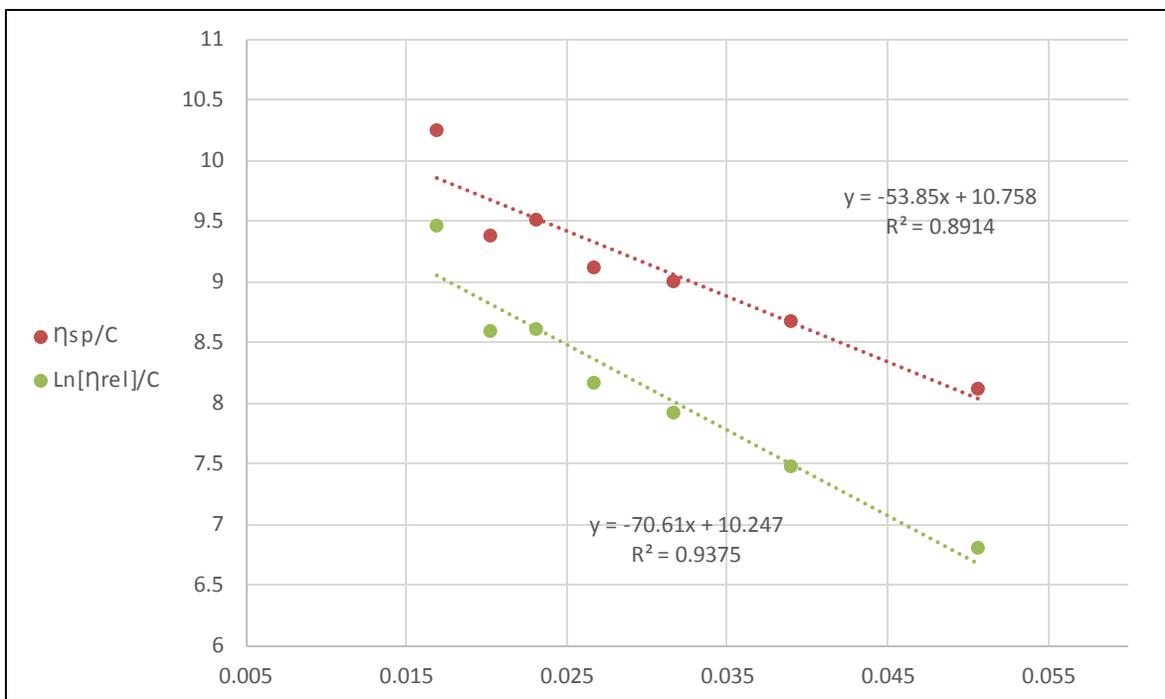
1	4'19''01'''	259.01	25.2	1.288	316.22	6
2	4'18''21'''	258.21	25.1	1.284	*	*
1	4'10''02'''	250.02	25.1	1.243	266.29	9
2	4'10''28'''	250.28	25.1	1.244	*	*
1	4'04''90'''	244.9	25.2	1.218	229.98	12
2	4'05''59'''	245.59	25.1	1.221	*	*
1	3'59''85'''	239.85	25.1	1.193	202.38	15
2	3'59''09'''	239.09	25.1	1.189	*	*
1	3'55''44'''	235.44	25.1	1.171	168.65	20
2	3'56''59'''	236.59	25	1.176	*	*

CALCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD INTRINSECA

	η_{rel}	η_{sp}	$\ln[\eta_{rel}]$	$C[g/dl]$	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$
1	1.411	0.411	0.344	0.050596	8.12	6.80
2	1.338	0.338	0.291	0.03892	8.68	7.48
3	1.285	0.285	0.251	0.031622	9.01	7.93
4	1.243	0.243	0.218	0.026629	9.13	8.17
5	1.219	0.219	0.198	0.022998	9.52	8.61
6	1.19	0.19	0.174	0.020238	9.39	8.60
7	1.173	0.173	0.160	0.016865	10.26	9.46

VALORES GRÁFICOS (1mM)

	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$	$[\eta]$
b=	10.75	10.24	10.495
R_2	0.89	0.93	
m=	-53.85	-70.61	
K=	-0.466	-0.673	



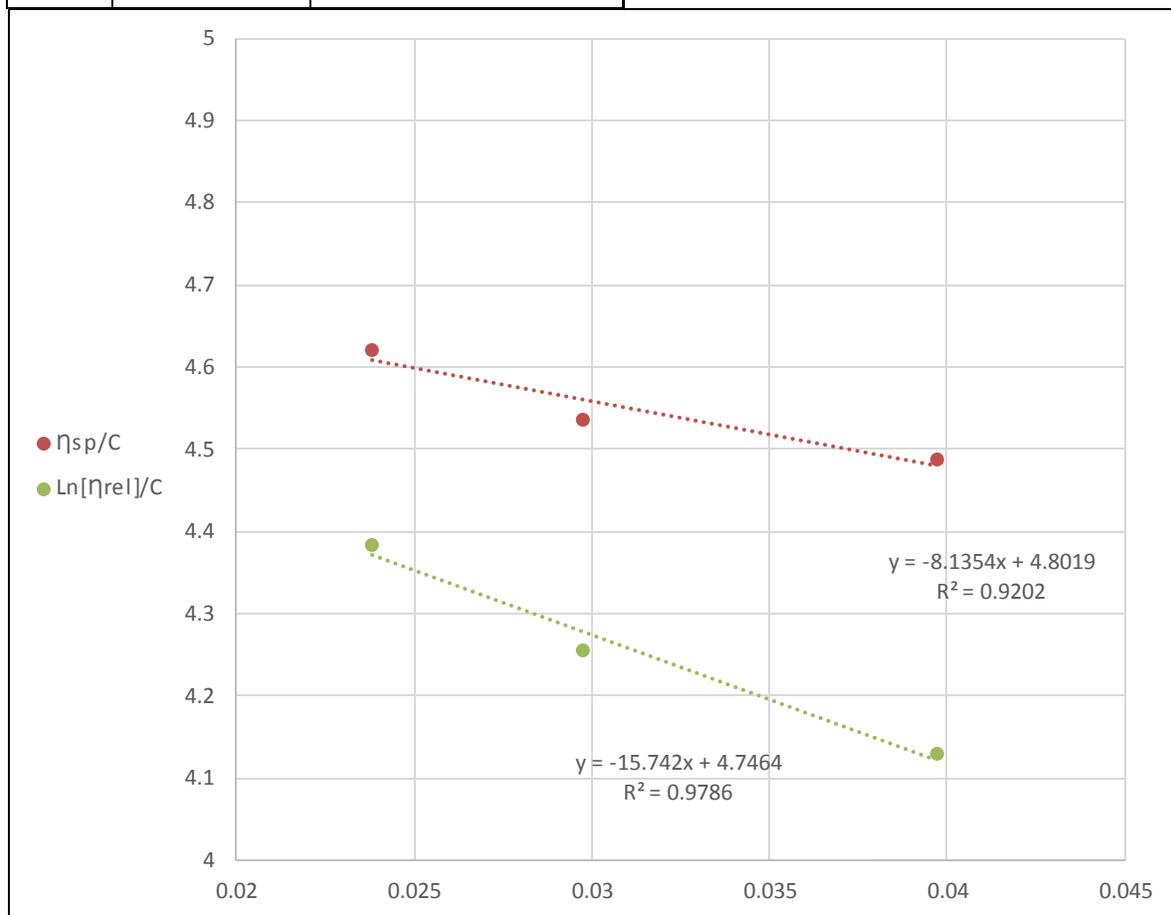
SEPTIMO EXPERIMENTO

DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD INTRINSECA			DETERMINACIÓN EN PRESENCIA DE IONES DE SODIO			
PESO DE POLIMERO			40 mg			
VOLUMEN DE AGUA DES.			50 ml			
CONCENTRACIÓN INICIAL			0.8 mg/ml			
CONCENTRACIÓN Mm DE SODIO			0.5 mM			
ABSORBANCIA			0.527			
CONCENTRACIÓN FINAL FILTRADO			396.66 $\mu\text{g/ml}$			
REPETICIÓN	t (min)	t(s)	T (C°)	η_{rel}	[] $\mu\text{g/ml}$	Agua (ml)
Agua	3'22''37'''	202.37''	25.1	*	*	10
Agua	3'21''76'''	201.76''	25	*	*	*
	Promedio	202.06				
1	3'58''78'''	238.78	25.2	1.182	396.66	0
2	3'57''63'''	237.63	25.1	1.176	*	*
1	3'49''23'''	229.23	25.1	1.134	297.49	3
2	3'49''82'''	229.82	25	1.137	*	*
1	3'44''49'''	224.49	25	1.111	237.99	6
2	3'42''59'''	224.59	25	1.112	*	*

CALCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD INTRINSECA

	η_{rel}	η_{sp}	$\ln[\eta_{rel}]$	$C[g/dl]$	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$
1	1.178	0.178	0.164	0.039666	4.49	4.13
2	1.135	0.135	0.127	0.029749	4.54	4.26
3	1.11	0.11	0.104	0.023799	4.62	4.39

VALORES GRÁFICOS (0.5mM)			
	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$	$[\eta]$
b=	4.8	4.74	4.77
R_2	0.92	0.97	
m=	-8.13	-15.74	
K=	-0.353	-0.701	



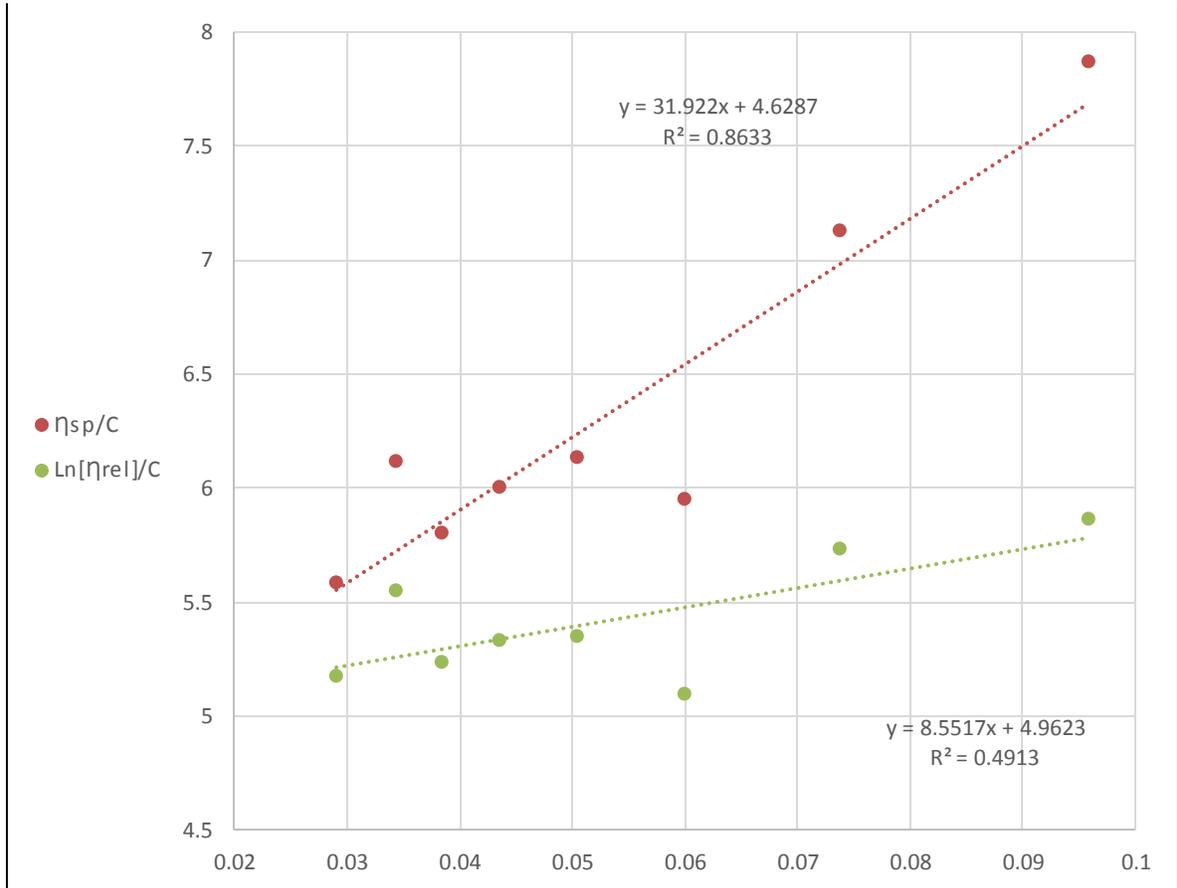
OCTAVO EXPERIMENTO

DETERMINACIÓN DE LA VISCOSIDAD INTRINSECA			DETERMINACIÓN EN PRESENCIA DE IONES DE SODIO			
PESO DE POLIMERO			0.036 g			
VOLUMEN DE AGUA DES.			30 ml			
VOLUMEN CONCENTRADO FINAL			20 ml			
CONCENTRACIÓN INICIAL			1.2 mg/ml			
CONCENTRACIÓN Mm DE SODIO			50 mM			
ABSORBANCIA			1.25			
CONCENTRACIÓN FINAL FILTRADO			957.13µg/ml			
REPETICIÓN	t (min)	t(s)	T (C°)	η_{rel}	[] µg/ml	Agua (ml)
Agua	3'21''37'''	201.37	25.1	*	*	10
Agua	3'21''31'''	201.31	25.1	*	*	*
	Promedio	201.34				
1	5'55''18'''	355.18	25.2	1.764	957.13	0
2	5'51''06'''	351.06	25.1	1.744	*	*
1	5'09''03'''	309.03	25.1	1.535	736.25	3
2	5'05''61'''	305.61	25.2	1.518	*	*
1	4'43''02'''	283.02	25	1.406	598.2	6
2	4'41''30'''	281.3	25	1.397	*	*
1	4'23''30'''	263.3	25	1.308	503.75	9
2	4'24''00'''	264	25	1.311	*	*
1	4'14''88'''	254.88	24.9	1.266	435.11	12
2	4'13''26'''	253.26	25.1	1.258	*	*
1	4'05''98'''	245.98	25.1	1.222	382.82	15
2	4'06''29'''	246.29	25.1	1.223	*	*
1	4'04''18'''	244.18	25	1.213	341.83	18
2	4'02''82'''	242.82	25	1.206	*	*
1	3'54''51'''	234.51	25.1	1.165	290.03	21
2	3'53''68'''	233.68	25.1	1.161	*	*

CALCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD INTRINSECA

	η_{rel}	η_{sp}	$\ln[\eta_{rel}]$	$C[g/dl]$	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$
1	1.753	0.753	0.561	0.095713	7.87	5.86
2	1.525	0.525	0.422	0.073625	7.13	5.73
3	1.356	0.356	0.305	0.05982	5.95	5.09
4	1.309	0.309	0.269	0.050375	6.13	5.35
5	1.261	0.261	0.232	0.043511	6.00	5.33
6	1.222	0.222	0.200	0.038282	5.80	5.24
7	1.209	0.209	0.190	0.034183	6.11	5.55
8	1.162	0.162	0.150	0.029003	5.59	5.18

VALORES GRÁFICOS (50mM)			
	η_{sp}/C	$\ln[\eta_{rel}]/C$	$[\eta]$
b=	4.62	4.96	4.79
R_2	0.86	0.49	
m=	31.92	8.55	
K=	1.495	0.348	



9.1.3 Tablas de resumen

TABLA DE RESULTADOS DERIVADOS DE VALORES GRAFICOS Y CALCULADOS									
# Exp.	T (°C)	C mg/ml inicial	C µg/ml final	ηrel	mM	[η] g/dL	SC [η]g/dL	Kh	Kk
1°-	25 ± 0.1	0.4	296.75	2.177	0	38.525	35.46	0.022	-0.268
3°-	25 ± 0.1	0.4	275.85	2.133	0	34.365	33.17	0.203	-0.196
4°-	25 ± 0.1	0.4	241.35	1.441	1	12.855	14.52	1.461	0.445
5°-	25 ± 0.1	0.8	344.05	1.562	5	9.515	12.3	2.511	0.883
6°-	25 ± 0.1	0.8	505.96	1.41	1	10.495	8.39	-0.466	-0.673
7°-	25 ± 0.1	0.8	396.66	1.182	0.5	4.77	4.25	-0.353	-0.701
8°-	25 ± 0.1	1.2	957.13	1.764	50	4.79	5.61	1.495	0.348

mM ASCENDENTE

TABLA DE RESULTADOS DERIVADOS DE VALORES GRAFICOS Y CALCULADOS									
# Exp.	T (°C)	C mg/ml inicial	C µg/ml final	ηrel	mM	[η] g/dL	SC [η]g/dL	Kh	Kk
1°-	25 ± 0.1	0.4	296.75	2.177	0	38.525	35.46	0.022	-0.268
3°-	25 ± 0.1	0.4	275.85	2.133	0	34.365	33.17	0.203	-0.196
7°-	25 ± 0.1	0.4	241.35	1.441	0.5	4.77	4.25	-0.353	-0.701
4°-	25 ± 0.1	0.8	344.05	1.562	1	12.855	14.52	1.461	0.445
6°-	25 ± 0.1	0.8	505.96	1.41	1	10.495	8.39	-0.466	-0.673
5°-	25 ± 0.1	0.8	396.66	1.182	5	9.515	12.3	2.511	0.883
8°-	25 ± 0.1	1.2	957.13	1.764	50	4.79	5.61	1.495	0.348

9.2 Anexo B. Regresión no lineal. Viscosidad cinemática vs temperatura

Analysis of Variance:					
Analysis of Variance:					
DF	SS	MS			
Regression	3	5.078E-004	1.693E-004		
Residual	3	1.339E-007	4.463E-008		
Total	6	5.079E-004	8.465E-005		
Corrected for the mean of the observations:					
DF	SS	MS	F	P	
Regression	2	1.577E-004	7.887E-005	1767.150	<0.0001
Residual	3	1.339E-007	4.463E-008		
Total	5	1.579E-004	3.157E-005		

*Software SigmaPlot for Windows Version 11.0 build 11.0.0.77, Copyright© 2008.

Nonlinear Regression		martes, febrero 27, 2018, 04:26:11 p. m.			
Data Source: Visc cinema agua in Densidad y visco cinema.JNB Equation:					
Exponential Decay, Single, 3 Parameter					
$v = y_0 + a * e(-b*t)$					
R	Rsqr	Adj Rsqr	Standard Error of Estimate		
1.0	0.999	0.999	2.113E-004		
	Coefficient	Std. Error	t	P	
	y ₀ 0.003	2.239E-004	11.819	0.0013	
	a 0.015	2.768E-004	54.785	<0.0001	
	b 0.034	0.002	20.420	0.0003	

*Software SigmaPlot for Windows Version 11.0 build 11.0.0.77, Copyright© 2008.

Statistical Tests:**Normality Test (Shapiro-Wilk)** Passed (P = 0.2707)

W Statistic= 0.8804 Significance Level= 0.0500

Constant Variance Test Passed (P = 0.0600)**Fit Equation Description:**

[Variables] x = col (2) y = col (3)

reciprocal_y=1/abs(y) reciprocal_ysquare=1/y^2

'Automatic Initial Parameter Estimates

yhat(q)=q[size(q)] [Parameters] y0 = yhat(y) "Auto

{ {previous: 0.00264583} } a = max(y)-yhat(y) "Auto

{ {previous: 0.0151639} }

b = if(x50(x,y-yhat(y))=0, 1, -ln(.5)/x50(x,y-yhat(y))) "Auto { {previous: 0.0344768} }

[Equation] f=y0+a*exp(-b*x)

fit f to y

"fit f to y with weight reciprocal_y

"fit f to y with weight reciprocal_ysquare

[Constraints]

b>0 [Options]

tolerance=1e-10

stepsize=1

iterations=200

Number of Iterations Performed = 9

*Software SigmaPlot for Windows Version 11.0 build 11.0.0.77, Copyright© 2008.

9.3 Anexo C. Tabla de resultados de prueba y cálculos de viscosidad relativa para valoración de intervalo (1.1-3.0).

Biopolímero de concentración 1 mg/mL solubilizado en 50 mL de agua Destilada filtrada, se obtuvieron 20 mL de biopolímero filtrado para realizar diluciones y medir el tiempo de flujo utilizando el viscosímetro capilar N°25 de $K= 0.2019 \cdot 10^{-4} \text{cm}^2/\text{s}^2$.

Repetición 0	tiempo	temperatura
1	1080.47 s	24.5 °C
2	1065.61 s	24.5 °C
3	1058.09 s	24.5 °C
4	1060.86 s	24.5 °C
5	1072.21 s	24.5 °C

Promedio	1067.44 s	24.5 °C
-----------------	-----------	---------

Repetición+4ml	tiempo	temperatura
1	979.94s	25.0°C
2	988.88s	24.9 °C
3	981.30s	24.9 °C
Promedio	983.37s	24.9 °C

Repetición+3ml	tiempo	temperatura
1	927.33 s	24.5°C
2	914.00 s	24.5°C
Promedio	920.66s	24.5 °C

9.4 Anexo D. No filtrado dimensión mínima

Descriptive Statistics:		lunes, abril 09, 2018, 10:10:45 a. m.				
Data source: Data 1 in Notebook1						
Column	Size	Missing	Mean	Std Dev	Std. Error	C.I. of Mean
Min	22	0	45.906	21.731	4.633	9.635
Max	22	0	156.189	32.832	7.000	14.557
Column	Range	Max	Min	Median	25%	75%
Min	99.000	116.000	17.000	43.500	31.220	52.000
Max	140.025	236.000	95.975	155.108	132.199	180.050
Column	Skewness	Kurtosis	K-S Dist.	K-S Prob.	SWilk W	SWilk Prob
Min	1.939	4.810	0.218	0.008	0.813	<0.001
Max	0.284	0.288	0.0928	0.793	0.981	0.929

*Software SigmaPlot for Windows Version 11.0 build 11.0.0.77, Copyright© 2008.