

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingenierías

Título de trabajo de integración curricular

Elaboración de hidrogeles de pectina oxidada con gelatina: Efecto de la fuente de la pectina

Luis Alejandro Valencia Villacís

Ingeniería Química

Trabajo de integración curricular presentado como requisito
para la obtención del título de
Ingeniero Químico

Quito, 12 de diciembre de 2019

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS E INGENIERÍA

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

Elaboración de hidrogeles de pectina oxidada con gelatina: Efecto de la fuente de la pectina

Luis Alejandro Valencia Villacís

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico: José Álvarez, PhD.

Firma del profesor:

Quito, 12 de diciembre de 2019

Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Luis Alejandro Valencia Villacís

Código: 00128543

Cédula de identidad: 1721830527

Lugar y fecha: Quito, 12 de diciembre de 2019

RESUMEN

La presente investigación trata sobre la elaboración de hidrogeles de pectinas oxidadas de tres frutas diferentes y gelatina con el objetivo de evaluar el efecto de la pectina. Primero se caracterizaron las pectinas de cada fuente, luego se utilizó peróxido de hidrógeno al 30% v/v en diferentes proporciones para producir pectinas oxidadas de distintos grados de oxidación y se elaboraron los hidrogeles. La formulación de los hidrogeles fue escogida a partir de un estudio previo. Se realizaron pruebas de hinchamiento y FTIR en los hidrogeles, y luego se estudió la estabilidad dependiendo de sus grados de hinchamiento. Los hidrogeles con pectina de granadilla nativa y en sus variantes oxidadas mostraron ser más estables en las pruebas de estabilidad. En general, las pectinas oxidadas mejoraron las propiedades de los hidrogeles, así como los grados de hinchamiento.

Palabras clave: pectina, gelatina, hidrogel, oxidación, hinchamiento.

ABSTRACT

The present research project is about the elaboration of hydrogels made of oxidized pectin from three different fruits and gelatin with the aim of evaluate the pectin effects. First, the pectin from each source were characterized, then 30% v/v hydrogen peroxide was used in different proportions to produce oxidized pectin of different degrees of oxidation and the hydrogels were made. The formulation of the hydrogels was chosen from a previous study. Swelling and FTIR tests were performed on the hydrogels, and then stability was studied depending on their swelling properties. Hydrogels with native granadilla pectin and its oxidized variants proved to be more stable in the stability tests. In general, oxidized pectin improved the properties of hydrogels, as well as the swelling ratios.

Key words: Pectin, gelatin, hydrogel, oxidation, swelling.

Tabla de contenidos

RESUMEN	4
1. Introducción	8
1.1. Objetivo Principal	11
1.2. Objetivos Específicos.....	11
2. Metodología	12
2.1. Extracción de las pectinas	12
2.2. Grado de esterificación	13
2.3. Oxidación de las pectinas.....	13
2.4. Elaboración de hidrogeles.....	14
2.5. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)	15
2.6. Hinchamiento	15
2.7. Análisis estadístico.....	16
3. Resultados y Discusión	16
3.1. Extracción de pectina y rendimiento.....	16
3.2. Grado de esterificación.	17
3.3. Fotografías de los hidrogeles.	19
3.4. Espectros FTIR de los hidrogeles.	19
3.5. Grado de Hinchamiento (%).	22
Conclusiones	24
Referencias.....	26
Anexo A: Rendimiento de Extracción	29
Anexo B: Grado de Esterificación	29
Anexo C: Grado de Hinchamiento.....	29

Índice de Tablas

Tabla 1: Nomenclatura para cada pectina	13
Tabla 2: Formulaciones de hidrogeles con sus diferentes variaciones.	14
Tabla 3: Rendimiento en base seca de la extracción de pectina.	16
Tabla 4: Grados de esterificación de las pectinas extraídas.....	18

Tabla 6: Datos para el cálculo del % rendimiento de extracción.....	29
Tabla 7: Áreas para el cálculo de %GE.	29
Tabla 8: Porcentajes de la pérdida de peso para las gráficas de hinchamiento.....	29

Índice de Figuras

Figura 1: Hidrogeles: A)H.GNAT, B)H.NNAT, C)H.MNAT.	19
Figura 2: Espectros FTIR para los hidrogeles con pectinas de naranja y gelatina.	20
Figura 3: Espectros FTIR para los hidrogeles con pectinas de granadilla y gelatina.	21
Figura 4: Espectros FTIR para los hidrogeles con pectinas de maracuyá y gelatina.....	21
Figura 5: Curvas de hinchamiento para los hidrogeles con pectina de granadilla, el porcentaje de hinchamiento muestra el porcentaje de peso aumentado con respecto a su peso inicial durante la incubación en PBS.	22
Figura 6: Curvas de hinchamiento para los hidrogeles con pectina de naranja.	23
Figura 7: Curvas de hinchamiento para los hidrogeles con pectina de maracuyá.	24

1. Introducción

En este proyecto se plantea la fabricación de hidrogeles a partir de pectinas extraídas de cáscaras de frutas disponibles a nivel nacional y luego oxidarlas, además de combinarlas con gelatina con el fin de tener un producto utilizable en aplicaciones biomédicas, además de darle un valor agregado a las cáscaras que se tratan como desecho. La pectina es un conjunto de polisacáridos que están en las paredes celulares de las plantas, particularmente en sus frutos, entre sus funciones más importantes están dar estructura, encargarse de la diferenciación y crecimiento celular, además de regular el transporte de iones a la pared celular (Voragen, Coenen, Verhoef, & Schols, 2009). La pectina está formada de ácido galacturónico y se encuentra en mayores concentraciones en cítricos y manzanas. Comercialmente está clasificada según su grado de esterificación, es decir, la relación entre los grupos carbonilos libres y esterificados en su estructura, y su uso va desde la industria alimenticia hasta las aplicaciones biomédicas. Este biopolímero se obtiene por extracción ácida, siendo el ácido cítrico uno de los reactivos más comunes y utilizados según la literatura (Canteri-Schemin, Fertoni, Waszczynskyj, & Wosiacki, 2005).

La gelatina es un coloide que se forma por la hidrólisis del colágeno, y su interés en la industria farmacéutica radica en su capacidad de formar geles con cierto grado de transparencia bajo condiciones específicas (Djagny, Wang, & Xu, 2001). El extensivo uso de la gelatina en la liberación controlada de fármacos se debe a que no es tóxica, es biodegradable, barata, además de que se conocen sus capacidades de entrecruzamiento con otros polímeros (Kumari, Yadav, & Yadav, 2010). El encapsulamiento de fármacos con biopolímeros se ha convertido en un campo de investigación amplio porque se ha comprobado que el encapsulamiento reduce los efectos tóxicos en los fármacos, se aumenta la eficacia del tratamiento, se pueden usar medicamentos más

específicos, se bajan los costos en excipientes y se incrementa la tolerabilidad a drogas específicas (Kumari et al., 2010). El campo de investigación aun es amplio, ya que es posible obtener nuevos sistemas con distintas propiedades variando las proporciones de los biopolímeros precursores, esto es más estratégico que invertir en sintetizar materiales nuevos porque los costos en caracterizaciones e investigación en sí suelen ser altos (Carbinatto, de Castro, Evangelista, & Cury, 2014). Entre los polímeros y polisacáridos más utilizados en el entrecruzamiento están la pectina, quitosano, alginato, gelatina, derivados de celulosa y ácido hialurónico. (Alvarez-Lorenzo, Blanco-Fernandez, Puga, & Concheiro, 2013).

Adicionalmente, la pectina se ha utilizado combinada con otros biopolímeros en la fabricación de apósitos ya que es compatible para entrecruzarse por su estructura. Permite crear hidrogeles con características favorables para la proliferación de células y así tratar heridas (Martins et al., 2018). Las variaciones de hidrogeles de pectina son amplias. Hay estudios que indican que el entrecruzamiento con biopolímeros produce matrices que pueden encapsular medicamentos para tratar heridas, como la cefazolina para tratar infecciones bacterianas (Shahzad et al., 2019). Los hidrogeles producidos con pectina y gelatina se han reportado como matrices con buenas propiedades absorbentes, esto con relación al agua que pueden contener, por eso existen varios productos comerciales con ambos biopolímeros como precursores. La porosidad del hidrogel también es importante para determinar cuánto del principio activo se puede encapsular y posteriormente liberar (Boateng, Matthews, Stevens, & Eccleston, 2008).

El tipo de entrecruzamiento depende del grado de esterificación de la pectina, las pectinas con grado de esterificación superior a 50% pueden formar hidrogeles en medios con pH ácido mientras que las pectinas con bajo grado de esterificación, es decir, menor a 50% se entrecruzan en presencia de iones de calcio (Hoffman, 2012). Se realizó un estudio previo en pectina comercial

por parte de (C. A. Garrido, Vargas, & Alvarez-Barreto, 2019), el cambio propuesto es utilizar otras fuentes de pectina, es decir, extraerla en lugar de usar la pectina comercial y determinar su efecto en las propiedades de los hidrogeles.

La pectina a utilizarse en este proyecto tiene como fuentes principales a la naranja, maracuyá y granadilla. Estas son frutas que se producen todo el año en Ecuador y en parte con este proyecto se busca utilizar las cáscaras de estas frutas para obtener la pectina y posteriormente los hidrogeles. Según datos a nivel nacional, las cáscaras de naranja son un residuo que representa un 50% de la fruta en sí y por lo tanto se generan grandes cantidades de desechos de las plantas que procesan naranjas para obtener el zumo, además de los desechos producidos por los vendedores en las ciudades del país (Almeida, 2017). El caso del maracuyá también es notable ya que la cáscara representa hasta un 60% del peso de la fruta y debido a que en el país esta fruta se produce en grandes cantidades representa una fuente importante de la cual se puede obtener pectina. Las industrias que producen concentrado de esta fruta producen también más de 25 mil toneladas de cáscaras anuales por lo que en el país se han hecho estudios para aprovechar estas cáscaras (Cuesta & Muñoz, 2012). El caso de la granadilla es un tanto diferente, debido a que no se producen zumos o concentrados en cantidades tan grandes como las otras dos, no se han hecho estudios formales a nivel nacional sobre cómo aprovechar su cáscara en este sentido, por ejemplo, para producir pectina.

El grado de esterificación de cada pectina va a hacer que los hidrogeles tengan características diferentes además de que el entrecruzamiento se da de maneras diferentes, por ejemplo, las pectinas con grados de esterificación bajos tienen la característica de formar geles en presencia de iones de calcio mientras que aquellas con grados de esterificación altos, es decir, mayor a 50 forman geles a valores ácidos de pH en presencia de otros polisacáridos. En usos

farmacéuticos, una pectina con bajo grado de esterificación es adecuada para tratamientos con algún principio activo ya que se han demostrado en estudios que el proceso de absorción en el organismo es más lento y permite una mejor evaluación en casos de tratamientos por vía oral, mientras que las pectinas con alto grado de esterificación permiten una absorción más rápida de algún medicamento (Alvarez-Lorenzo et al., 2013). Evaluar estos parámetros para el sistema de liberación de un fármaco modelo es el objetivo de este trabajo.

Los hidrogeles que se han utilizado en aplicaciones biomédicas comprenden un campo de estudio que ya lleva cierto tiempo en investigación y en los cuales se utilizan fármacos modelo muy utilizados a diario en la medicina como el ácido acetilsalicílico y el acetaminofén también conocido como paracetamol, que son de uso común como analgésicos y pueden ser encapsulados en hidrogeles por su naturaleza de hincharse en presencia de líquidos, y debido a que los hidrogeles básicamente son redes poliméricas se pueden encapsular los medicamentos entre las mismas; adicionalmente se utilizan los geles como una matriz por el cual el fármaco se distribuya en una dirección definida sobre la superficie que actúa (Singhal & Gupta, 2010). Aunque se han reportado investigaciones sobre hidrogeles a base de pectina, no se conoce aún el efecto que tendrán las pectinas oxidadas de las fuentes planteadas en los hidrogeles.

1.1.Objetivo Principal

Determinar el efecto de la fuente de la pectina en hidrogeles de pectina oxidada y gelatina en la elaboración de hidrogeles.

1.2.Objetivos Específicos

- a) Caracterizar pectinas de residuos de diferentes frutas.
- b) Oxidar pectinas de distintos grados de esterificación.
- c) Generar hidrogeles de las diferentes pectinas oxidadas con gelatina.

d) Evaluar el efecto de la fuente de la pectina.

2. Metodología

2.1.Extracción de las pectinas

Primero se empezó con el secado de las cáscaras de las frutas escogidas: naranja (*Citrus aurantium*), maracuyá (*Passiflora edulis*) y granadilla (*Passiflora ligularis*). Las frutas no estaban muy maduras puesto que en un estado de madurez más avanzado hay menos pectina. Se colocaron las muestras a secar en un horno a 60°C, esto debe hacerse hasta que el peso se mantenga constante lo cual toma aproximadamente 24 horas. Una vez se obtuvieron las cáscaras secas, se molieron y tamizaron para obtener la harina. La extracción se llevó a cabo de acuerdo al método propuesto por (Raji, Khodaiyan, Rezaei, Kiani, & Hosseini, 2017).

Se preparó de una solución de ácido cítrico a una concentración 1M. Después, se hizo una suspensión de harina y ácido cítrico con una proporción 1g por cada 30 mL. Se agitó la mezcla por 75 minutos a 55°C moderadamente, luego se filtró para retirar los sólidos y se añadió un volumen igual de etanol 96% v/v para precipitar la pectina durante 24h. Seguidamente, se filtró el precipitado y se hicieron lavados con etanol para purificar la pectina, se realizan dos lavados por 1h cada uno y se filtra al finalizar. Después de completar el ciclo de lavados se secó la pectina en un horno a 40°C, hasta un peso constante.

Finalmente se calculó el rendimiento de la extracción utilizando la ecuación 1, los resultados se muestran posteriormente en la tabla 3 en la sección de resultados y la tabla 6 en los anexos:

$$\%rendimiento = \frac{m_{pectina}}{m_{harina}} \times 100\% \quad (1)$$

Tabla 1: Nomenclatura para cada pectina.

Grado de oxidación	Nomenclatura
Nativa	Naranja – NNAT Granadilla – GNAT Maracuyá – MNAT
Bajo	Naranja – NLOX Granadilla – GLOX Maracuyá – MLOX
Alto	Naranja – NHOX Granadilla – GHOX Maracuyá – MHOX

2.2. Grado de esterificación

El análisis de grado de esterificación tiene como objetivo caracterizar el número de carbonilos esterificados de la pectina. Para esta caracterización, se utilizó el método descrito por (de Fátima Sato et al., 2011), que se basa en espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR). Una vez obtenido el espectro característico de cada pectina se corrigió la línea base del espectro utilizando el software OriginPro, para luego obtener las áreas de los picos a 1639.4 cm^{-1} y 1747 cm^{-1} que muestran la presencia de los grupos funcionales carbonilo libres y carbonilo esterificados. El grado de esterificación (DE) se calculó con la siguiente ecuación 2.

$$\%GE = \frac{A_{1747}}{A_{1747} + A_{1639}} \times 100\% \quad (2)$$

Donde A_{1747} es el área del pico a 1747 cm^{-1} y A_{1639} es el área del pico a 1639.4 cm^{-1} .

2.3. Oxidación de las pectinas

El proceso de oxidación de las pectinas se llevó a cabo con peróxido de hidrógeno (H_2O_2), de acuerdo al método propuesto por (C. A. Garrido et al., 2019), inicialmente se preparó una solución acuosa de pectina al 10% m/v. La concentración peróxido de hidrógeno depende del grado

de oxidación requerid. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y protegida de la luz. Una vez terminada la reacción, se duplicó el volumen con etanol 96% v/v para precipitar la pectina oxidada por 24h y finalmente secarla en el horno a 40°C. Se prepararon dos tipos de pectina oxidada, de alto y bajo grado de oxidación, el proceso detallado a continuación aplica para una preparación de 100 mL:

- Pectina de alto grado de oxidación: Se empezó con 50 mL de la solución de pectina 10% m/v. Se añadieron 50 mL de solución de H₂O₂ 30% v/v. Se ajustó el pH a 1. La reacción estuvo por 30 minutos en agitación moderada a temperatura ambiente.
- Pectina de bajo grado de oxidación: Se empezó con 71.7 mL de la solución de pectina 10% m/v. Se añadieron 28.3 mL de solución de H₂O₂ 30% v/v. Se ajustó el pH a 2. La reacción estuvo por 165 minutos en agitación moderada a temperatura ambiente.

2.4.Elaboración de hidrogeles

Para este caso se utilizó la pectina oxidada que gracias al proceso de oxidación fue modificada para que pueda entrecruzarse con la gelatina sin necesidad de usar aditivos entrecruzantes potencialmente tóxicos. Las formulaciones de hidrogeles se muestran en la tabla 2 y fueron escogidas tras la investigación previa de (C. A. Garrido et al., 2019) al demostrar propiedades superiores entre distintas proporciones de pectina y gelatina.

Tabla 2: Formulaciones de hidrogeles con sus diferentes variaciones.

% de Pectina	% de Gelatina	Grado de oxidación	Nomenclatura
6%	20%	Nativa	Naranja – H.NNAT Granadilla – H.GNAT Maracuyá – H.MNAT
6%	20%	Bajo	Naranja – H.NLOX Granadilla – H.GLOX Maracuyá – H.MLOX

6%	20%	Alto	Naranja – H.NHOX Granadilla – H.GHOX Maracuyá – H.MHOX
----	-----	------	--

El proceso de elaboración de los hidrogeles empezó con una solución de la formulación en agua destilada. La mezcla se mantuvo a 60°C en agitación por 20 minutos, una vez cumplido el tiempo se colocó la mezcla de pectina-gelatina en placas de microplatos de 1 cm de diámetro. Los moldes se esterilizaron previamente con etanol 70% para evitar contaminación, posteriormente se dejó reposar por 24 horas a temperatura ambiente.

2.5. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Se obtuvieron los espectros IR de todos los hidrogeles, utilizando el equipo Cary 630 FTIR Spectrometer de Agilent Technologies entre 500-4000 cm⁻¹.

2.6. Hinchamiento

La caracterización del hinchamiento es importante para la liberación controlada de fármacos ya que da una idea de la capacidad que tendrán los geles para aumentar su tamaño en presencia de una solución, manteniendo estabilidad (Begam, Nagpal, & Singhal, 2003). El ensayo duró 48 horas, primero se pesaron los hidrogeles, luego fueron introducidos en búfer fosfato salino (PBS) a pH 7.4. Se mantuvieron los hidrogeles con PBS en una incubadora a 30.5°C durante todo el tiempo, esta es la temperatura a la cual se hacen los ensayos con parches para tratar heridas. Los hidrogeles se pesaron periódicamente. Para poder determinar el grado de hinchamiento se utilizó la ecuación 6 que relaciona el tiempo y el peso registrado:

$$\%Hinchamiento = \frac{M_t - M_o}{M_o} \times 100\% \quad (6)$$

Donde M_t es la masa del hidrogel en el tiempo t dentro del intervalo de tiempo y M_o es la masa inicial.

2.7. Análisis estadístico

Los resultados incluyen el promedio y su desviación estándar correspondiente, para todos los experimentos se realizaron ensayos con cuatro repeticiones ($n=4$). Se realizó un análisis de varianza ANOVA de dos vías y comparación de pares múltiples usando el método Turkey-HSD con un 95% de confianza ($p \leq 0.5$).

3. Resultados y Discusión

3.1. Extracción de pectina y rendimiento.

La extracción de las pectinas se realizó siguiendo el apartado 2.1 y se obtuvieron los resultados para el porcentaje de rendimiento (%R) y su desviación estándar presentados en la tabla 3.

Tabla 3: Rendimiento en base seca de la extracción de pectina.

Muestra	% R obtenido	Desv. Est. (%)	% R reportado
Naranja	14.74	± 2.05	11.46*
Maracuyá	32.88	± 2.32	14.60**
Granadilla	6.93	± 1.19	11.75***

*(Güzel & Akpınar, 2019) ** (Shan Qin, Chin, & Yusof, 2014) *** (Medina, 2006)

El mayor porcentaje de rendimiento fue de maracuyá, esta fruta reporta altos contenidos de pectina en relación con otras de uso común en la industria como la naranja cuyo rendimiento es medio, la granadilla tuvo un rendimiento menor, esto puede explicarse desde el punto de vista

morfológico de la fruta ya que se sabe que la pectina es un polímero estructural en la cáscara y la granadilla tenía la cáscara más delgada entre las tres frutas. El rendimiento de la pectina de maracuyá fue considerablemente distinto al reportado en la literatura, pese a que las condiciones experimentales son similares, con la diferencia en la concentración de ácido cítrico (0.1N), lo que puede ser la principal causa de la marcada diferencia. La especie utilizada es propia del Ecuador, esto también puede ser un factor importante en cuanto al contenido de pectina, pues el reportado en la literatura es de origen asiático, y las condiciones de cultivo y geográficas (Shan Qin et al., 2014).

La pectina de granadilla en la literatura fue extraída de muestras con diferente grado de maduración mientras que la pectina en este proyecto se extrajo con frutas de un mismo lote. El contenido de pectina también difiere probablemente por las condiciones de extracción y por el reactivo ácido que no se mencionan explícitamente en ninguna parte de esta otra investigación (Medina, 2006). El rendimiento en el caso de la naranja es más cercano al dato reportado en la literatura en comparación a las demás frutas. Las condiciones de extracción fueron bastante cercanas, la diferencia más notoria fue que el ácido cítrico se utilizó en una concentración un poco mayor, pese a que no se especifica este dato, se propone la extracción a pH 1 lo que se traduce a una mayor concentración de ácido cítrico en comparación con la extracción realizada en la presente investigación (Güzel & Akpınar, 2019).

3.2. Grado de esterificación.

Los grados de esterificación de cada pectina fueron determinados después de un proceso de purificación para evitar interferencias ya que se siguió un método instrumental.

Tabla 4: Grados de esterificación de las pectinas extraídas.

Muestra	%GE obtenido	%GE reportado
Naranja	76.54	69.67*
Maracuyá	53.75	54.78**
Granadilla	60.04	68.27***

*(Güzel & Akpınar, 2019) **(Shan Qin et al., 2014) *** (Medina, 2006)

La pectina de maracuyá tiene un grado de esterificación de 53.75% y es la más parecida entre las tres en comparación con la literatura, la variación es relativamente pequeña, esto puede deberse a errores indeterminados al realizar las distintas corridas pese a que la muestra que provenía de diferentes extracciones se molió y mezcló para tener más uniformidad. Las interferencias dadas en este método pueden relacionarse directamente con el equipo así como la manipulación de la muestra (Shan Qin et al., 2014).

La pectina de granadilla es la que más varía con respecto a la literatura, se comparó con una investigación previa realiza en Ecuador, aun así el grado de esterificación de esta fruta coincide con ser de alto grado ya que es mayor al 50%, la variación puede deberse al grado de maduración de las muestras además de la geografía ya que se menciona que fueron traídas de Colombia mientras que en este proyecto se utilizaron granadillas de producción local (Medina, 2006). Finalmente, la pectina de naranja muestra un grado de esterificación más alto que las demás frutas, esto concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación además de que el valor es cercano al obtenido por el método instrumental, el grado de esterificación en estos cítricos está entre 63% y 75% por lo que el valor obtenido va acorde a previos estudios (Güzel & Akpınar, 2019).

3.3. Fotografías de los hidrogeles.

Los hidrogeles fueron fabricados en moldes de 1 cm de diámetro, la figura 8 muestra fotografías de los hidrogeles hechos con las pectinas nativas. Los hidrogeles producidos con las pectinas oxidadas y los que contienen el fármaco tienen la misma forma ya que se colocó siempre el mismo volumen para todas las mezclas de hidrogel en los pocillos. Los hidrogeles con pectina oxidada y los que contienen el fármaco tienen colores diferentes, puesto que el peróxido de hidrógeno es utilizado también como decolorante o blanqueador este efecto también se da sobre las pectinas, inclusive el acetaminofén es totalmente blanco y al mezclarse con la pectina y la gelatina hace que los hidrogeles difieran en el color.



Figura 1: Hidrogeles: A)H.GNAT, B)H.NNAT, C)H.MNAT.

3.4. Espectros FTIR de los hidrogeles.

Los espectros de los hidrogeles se presentan de la misma forma que los espectros de las pectinas, agrupándolos, dependiendo de la pectina de cada fruta; se colocaron los espectros del hidrogel con la pectina nativa y sus variaciones oxidadas, además de su entrecruzamiento con gelatina en todos los casos. Entre las figuras 5 y 7 se encuentran los espectros de los hidrogeles generados con las formulaciones detalladas en la sección 2.5. El enlace doble C=N tiene una banda característica con una absorción bastante fuerte alrededor de 1597 y 1630 cm^{-1} , este enlace corresponde a la imina (base de Schiff) formada y se puede apreciar el pico característico señalado

en la figura 5; estas bandas aparecen con distintas intensidades en las demás figuras para los demás hidrogeles lo que evidencia la presencia de este grupo funcional. La estructura de la gelatina contiene aminos cuya banda de absorción está entre 3100 y 3300 cm^{-1} , por lo que la banda que aparece corresponde al enlace del entrecruzamiento (Jenisha, David, & Priyadharsini, 2015).

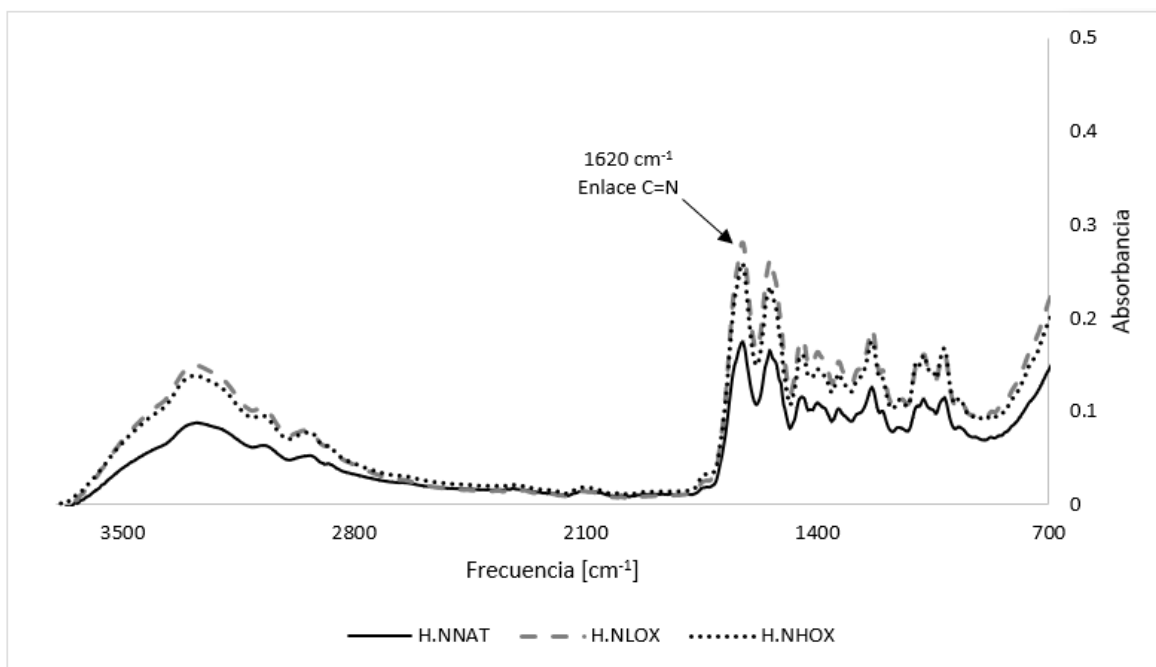


Figura 2: Espectros FTIR para los hidrogeles con pectinas de naranja y gelatina.

La similitud de la forma de los espectros también se debe a que las formulaciones tienen mayor proporción de gelatina que de pectina, también porque la gelatina tiene en su estructura enlaces dobles C=N, además los picos de los grupos carbonilo que eran muy pronunciados en los espectros de las pectinas pierden presencia en estos espectros por su interacción con los grupos amino (C. A. Garrido et al., 2019). Los picos para el enlace C=N aumentan en los hidrogeles con pectinas oxidadas en todos los casos, a pesar de que ya existe el enlace C=N en la gelatina, estos

aumentan debido al entrecruzamiento lo que se traduce a picos con mayor intensidad; es decir, esto funciona como un indicativo de entrecruzamiento.

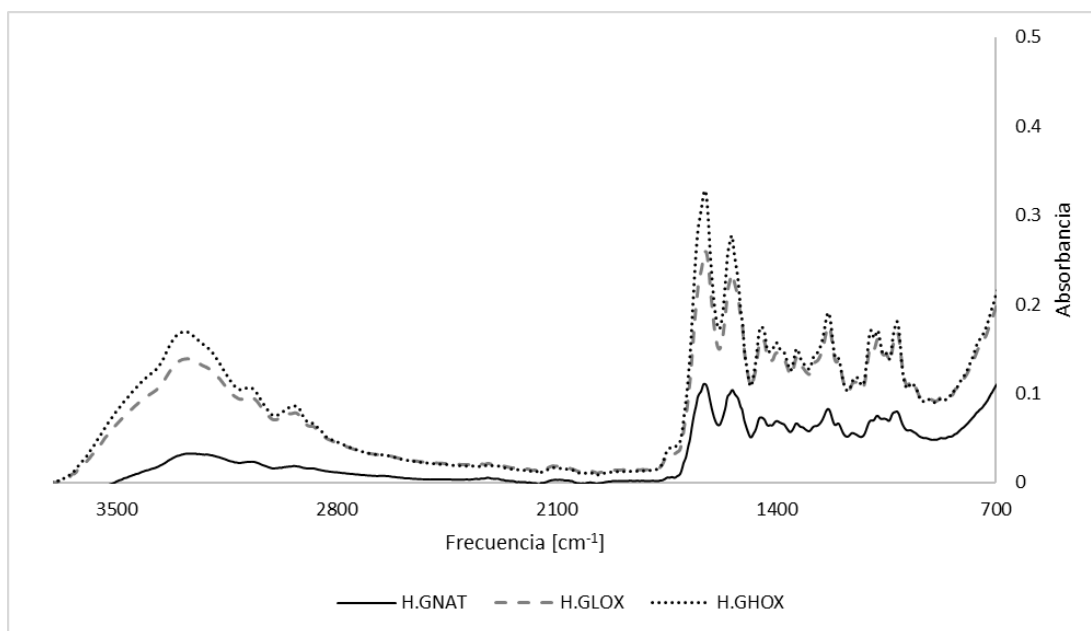


Figura 3: Espectros FTIR para los hidrogel con pectinas de granadilla y gelatina.

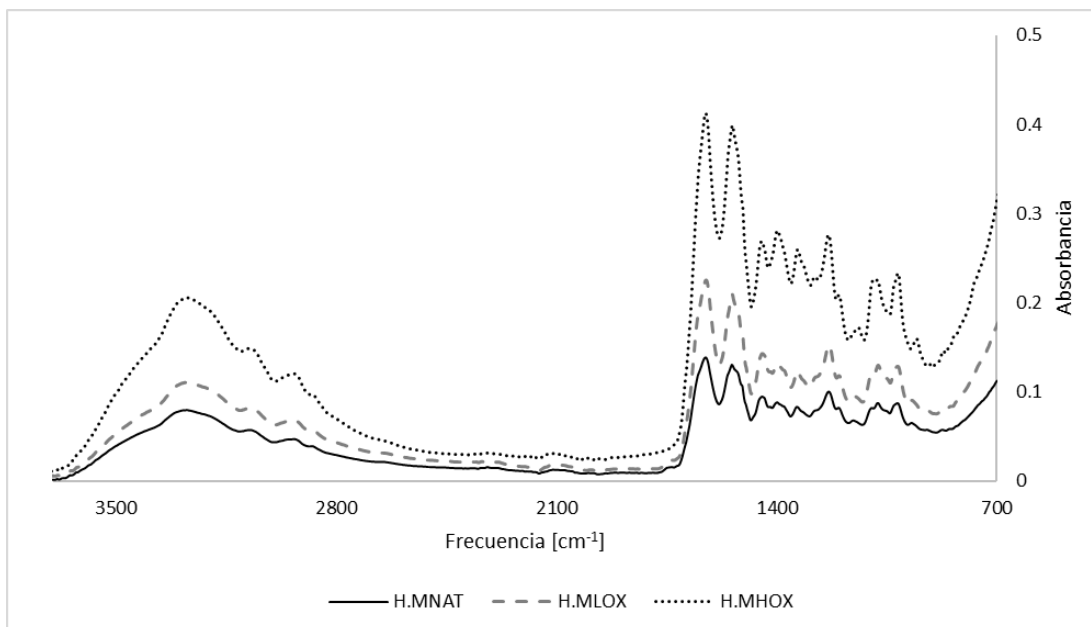


Figura 4: Espectros FTIR para los hidrogel con pectinas de maracuyá y gelatina.

3.5. Grado de Hinchamiento (%).

El grado de hinchamiento se obtiene para mostrar cuánto puede un hidrogel aumentar su tamaño en presencia de un líquido, se compararon las curvas de hinchamiento para las pectinas nativas y oxidadas de cada fruta en figuras separadas para entender de mejor manera cuáles son las diferencias entre cada una. El ensayo se realizó a 30.5 °C y 37 °C, los resultados presentados corresponden a la primera temperatura puesto que es la temperatura de ensayo de parches para heridas, además, los hidrogeles no fueron estables a temperatura corporal, hecho que concuerda con los mostrado en un estudio previo (C. Garrido, 2017).

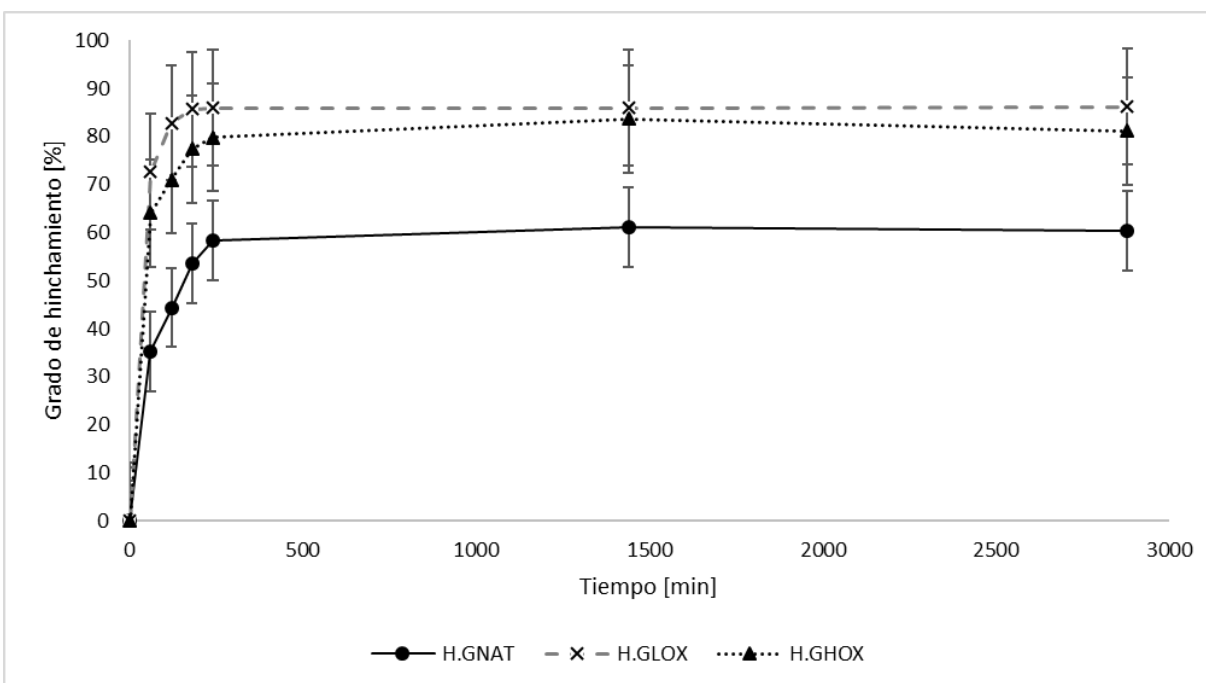


Figura 5: Curvas de hinchamiento para los hidrogeles con pectina de granadilla, el porcentaje de hinchamiento muestra el porcentaje de peso aumentado con respecto a su peso inicial durante la incubación en PBS.

Los hidrogeles de granadilla mostraron mayor estabilidad que los demás hidrogeles en sus distintas variaciones, y la pectina oxidada mejora significativamente las propiedades de los hidrogeles en este caso en particular. El hidrogel H.GNAT mostró un porcentaje máximo de hinchamiento de 61% mientras que los hidrogeles H.GHOX y H.GLOX tienen porcentajes máximos de 83% y 86%.

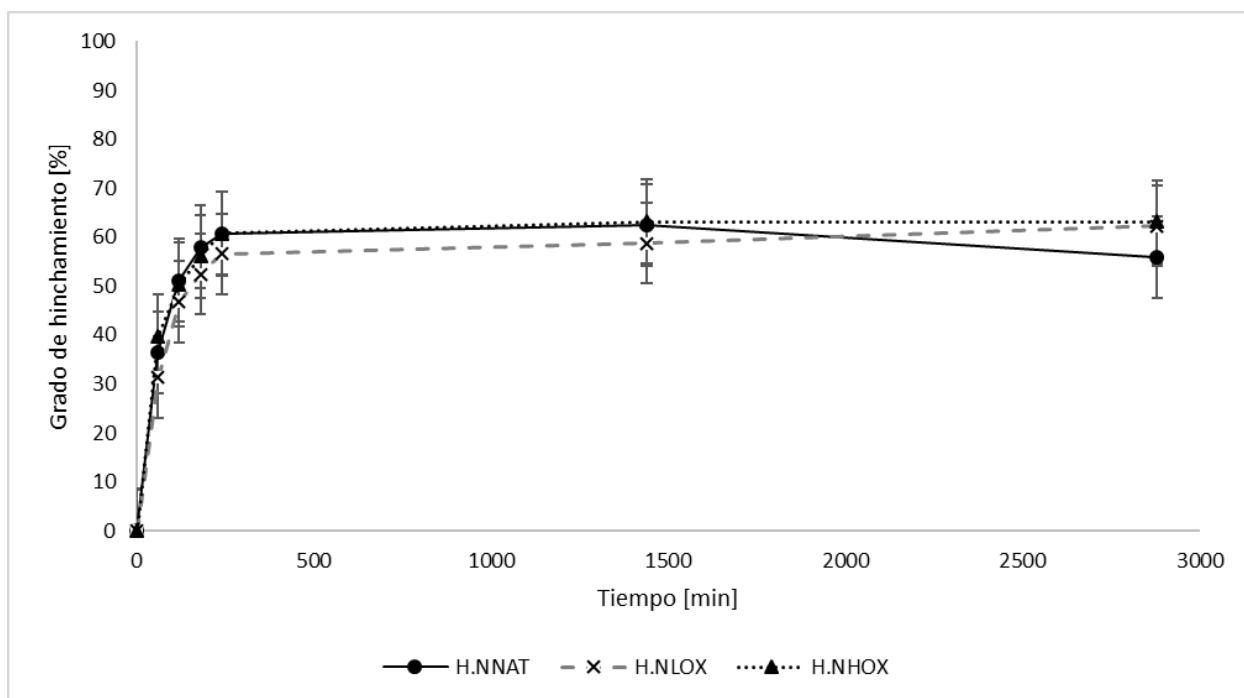


Figura 6: Curvas de hinchamiento para los hidrogeles con pectina de naranja.

La figura 9 indica el grado de hinchamiento para los hidrogeles con pectina de naranja; en este caso no se aprecian diferencias significativas entre hidrogeles, aunque al cumplirse el minuto 2880 del experimento se observa una degradación importante en la estabilidad del hidrogel H.NNAT, a diferencia de sus variaciones con las pectinas oxidadas que se mantuvieron con un peso similar en las últimas 24 de ensayo. Los hidrogeles de maracuyá se comportaron de una manera diferente; el hidrogel H.MNAT mostró poca estabilidad en el segundo día de ensayo y se

degradó en su mayoría, caso contrario a los hidrogeles H.MHOX y H.MLOX que se comportaron de manera similar.

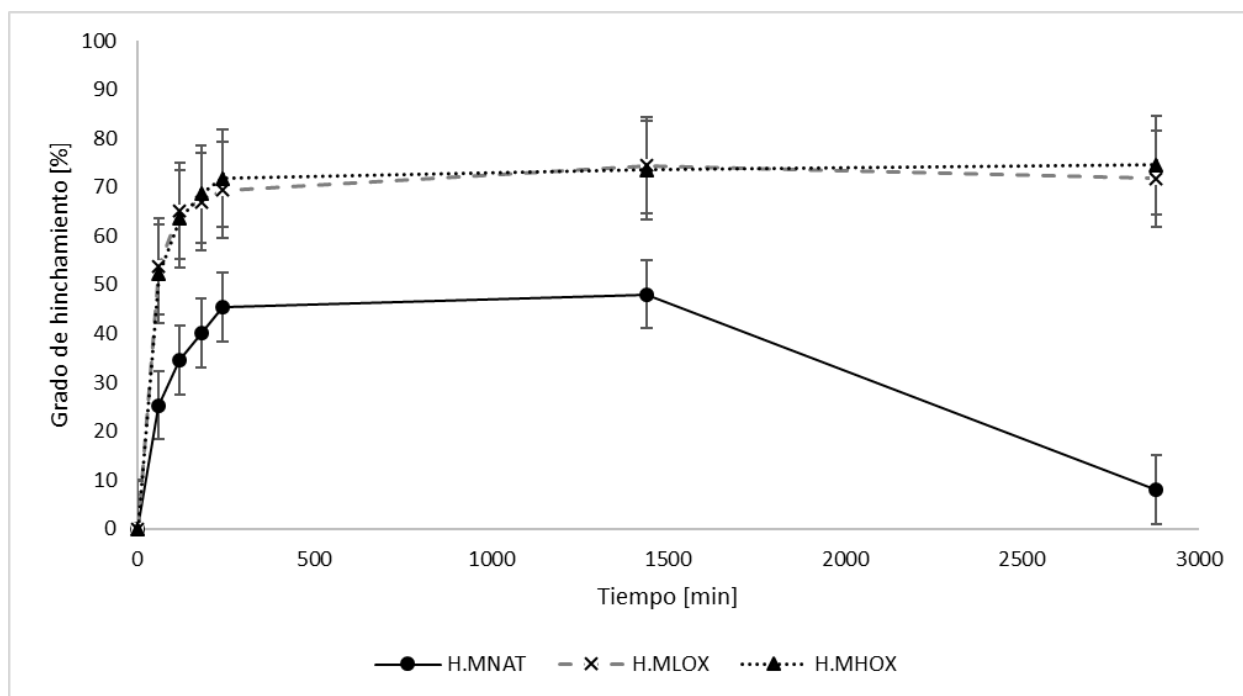


Figura 7: Curvas de hinchamiento para los hidrogeles con pectina de maracuyá.

Conclusiones

Los hidrogeles producidos con pectina nativa y oxidada han mostrado distintas propiedades dependiendo de su material precursor y de acuerdo con los distintos resultados hacen que sean una opción válida para tratar heridas de una manera más ordenada. Las distintas caracterizaciones de las pectinas sirvieron para corroborar lo observado en los ensayos con los hidrogeles, así las pectinas oxidadas permiten producir hidrogeles más estables puesto que en su mayoría tienen un contenido mayor de grupos funcionales para el entrecruzamiento, el uso de las pectinas de bajo grado de oxidación se ve reflejado en la cantidad de grupos carbonilo que contienen puesto que a mayores concentraciones de estos grupos pueden apreciarse efectos tóxicos y por eso fueron las

más adecuadas para los ensayos. Para confirmar la mejora de las propiedades de los hidrogeles al usar pectinas oxidadas se pueden realizar ensayos mecánicos adicionales y también otros estudios como el contenido de ácido galacturónico, además para confirmar su uso en el tratamiento de heridas se deben hacer ensayos de biocompatibilidad.

Referencias

- Almeida, C. (2017). *Diseño de un Proceso Piloto de Extracción de Pectina como gelificante a Partir de Residuos de la Naranja*. Universidad Internacional SEK, Quito. Retrieved from <http://uio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/2715/1/TESIS%20FINALPDF.pdf>
- Alvarez-Lorenzo, C., Blanco-Fernandez, B., Puga, A. M., & Concheiro, A. (2013). Crosslinked ionic polysaccharides for stimuli-sensitive drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(9), 1148-1171. doi:10.1016/j.addr.2013.04.016
- Begam, T., Nagpal, A. K., & Singhal, R. (2003). A comparative study of swelling properties of hydrogels based on poly(acrylamide-co-methyl methacrylate) containing physical and chemical crosslinks. *Journal of Applied Polymer Science*, 89(3), 779-786. doi:10.1002/app.12270
- Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N. E., & Eccleston, G. M. (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(8), 2892-2923. doi:10.1002/jps.21210
- Canteri-Schemin, M. H., Fertoni, H. C. R., Waszczynskyj, N., & Wosiacki, G. (2005). Extraction of pectin from apple pomace. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48(2), 259-266. doi:10.1590/S1516-89132005000200013
- Carbinatto, F. M., de Castro, A. D., Evangelista, R. C., & Cury, B. S. F. (2014). Insights into the swelling process and drug release mechanisms from cross-linked pectin/high amylose starch matrices. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 27-34. doi:10.1016/j.ajps.2013.12.002
- Cuesta, M., & Muñoz, R. (2012). Extracción de pectina a partir de la corteza de maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* degener). *Revista Politécnica*, 31, 91-97.
- de Fátima Sato, M., Carla Rigoni, D., Canteri, M., Lúcia de Oliveira Petkowicz, C., Nogueira, A., & Wosiacki, G. (2011). *Chemical and instrumental characterization of pectin from dried pomace of eleven apple cultivars [Caracterização química e instrumental de pectinas isoladas de bagaço de 11 cultivares de maçã]* (Vol. 33).

- Djagny, K. B., Wang, Z., & Xu, S. (2001). Gelatin: A Valuable Protein for Food and Pharmaceutical Industries: Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(6), 481-492. doi:10.1080/20014091091904
- Garrido, C. (2017). *Extracción y modificación de pectina para la formación de hidrogeles con potencial para la administración controlada de fármacos*. Universidad San Francisco de Quito, Quito.
- Garrido, C. A., Vargas, M., & Alvarez-Barreto, J. F. (2019). Auto-Cross-Linking Hydrogels of Hydrogen Peroxide-Oxidized Pectin and Gelatin for Applications in Controlled Drug Delivery. *International Journal of Polymer Science*, 2019, 11. doi:10.1155/2019/9423565
- Güzel, M., & Akpınar, Ö. (2019). Valorisation of fruit by-products: Production characterization of pectins from fruit peels. *Food and Bioprocess Processing*, 115, 126-133. doi:https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.03.009
- Hoffman, A. S. (2012). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(SUPPL.), 18-23. doi:10.1016/j.addr.2012.09.010
- Jenisha, David, S., & Priyadharsini, J. P. (2015). SCHIFF BASE LIGAND ITS COMPLEXES AND THEIR FT-IR SPECTROSCOPY STUDIES. *International Journal on Applied Bio-Engineering*, 9, 1-4. doi:10.18000/ijabeg.10124
- Kumari, A., Yadav, S. K., & Yadav, S. C. (2010). Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), 1-18. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.09.001
- Martins, J. G., Camargo, S. E. A., Bishop, T. T., Popat, K. C., Kipper, M. J., & Martins, A. F. (2018). Pectin-chitosan membrane scaffold imparts controlled stem cell adhesion and proliferation. *Carbohydrate Polymers*, 197, 47-56. doi:https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.062
- Medina, G. (2006). *Determinación del Potencial Nutritivo y Nutraceutico de dos Ecotipos de Uvilla (Physalis peruviana) y Granadilla (Passiflora ligularis)*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=vpQzAQAAMAAJ&pg=PA133&lpg=PA133&dq=grado+esterificaci%C3%B3n+pectina+granadilla&source=bl&ots=yyPNWEhFTO&sig>

=ACfU3U29U9feXKro32fFKLcfeYS_jQI-1Q&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwie2O-q6JzlAhWkrVkJHS41BfcQ6AEwCHoECAkQAQ#v=onepage&q=grado%20esterificaci%C3%B3n%20pectina%20granadilla&f=false

Raji, Z., Khodaiyan, F., Rezaei, K., Kiani, H., & Hosseini, S. S. (2017). Extraction optimization and physicochemical properties of pectin from melon peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 98, 709-716.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.146>

Shahzad, A., Khan, A., Afzal, Z., Umer, M. F., Khan, J., & Khan, G. M. (2019). Formulation development and characterization of cefazolin nanoparticles-loaded cross-linked films of sodium alginate and pectin as wound dressings. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 255-269. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.090>

Shan Qin, L., Chin, N., & Yusof, Y. A. (2014). Extraction and Characterization of Pectin from Passion Fruit Peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 231-236.

doi:10.1016/j.aaspro.2014.11.033

Singhal, R., & Gupta, I. (2010). A Study on the Effect of Butyl Methacrylate Content on Swelling and Controlled-Release Behavior of Poly (Acrylamide-co-Butyl-Methacrylate-co-Acrylic Acid) Environment-Responsive Hydrogels. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 59(10), 757-776.

doi:10.1080/00914037.2010.483216

Voragen, A. G. J., Coenen, G.-J., Verhoef, R. P., & Schols, H. A. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, 20(2), 263.

doi:10.1007/s11224-009-9442-z

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	35.33	72.66	64.02	36.41	31.33	39.72	25.34	53.84	52.25
120	44.40	82.82	70.93	51.16	46.77	50.27	34.60	65.19	63.50
180	53.68	85.61	77.39	58.00	52.44	56.05	40.17	67.02	68.60
240	58.43	85.97	79.74	60.79	56.54	60.74	45.40	69.43	71.81
1440	61.06	85.90	83.63	62.46	58.78	63.15	48.05	74.39	73.53
2880	60.46	86.15	81.15	55.84	62.31	63.10	8.00	71.73	74.51