



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional del Litoral, para la obtención del grado Académico de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Fenómenos de transferencia asociados a la protección y vehiculización de componentes activos en alimentos

Ing. Jesica Daiana Oroná



Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química

Director de Tesis: **Dr. Juan Manuel Peralta**

Co-directora de Tesis: **Dra. Susana E. Zorrilla**

Miembros del jurado: **Dra. María Alejandra Bertuzzi**

Dra. Noemí E. Zaritzky

Mgter. Liliana G. Santiago

*A la memoria de mi papá
y de mi nono Pedro*

Agradecimientos

A mis directores, el Dr. Juan Manuel Peralta y la Dra. Susana Zorrilla, por guiarme y acompañarme con dedicación y paciencia en el desarrollo de esta Tesis. Gracias por brindarme su tiempo, conocimientos y apoyo, tanto desde lo académico como en lo personal.

A los miembros del jurado por la disposición e interés para participar en la evaluación de esta Tesis.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por el financiamiento de mi beca doctoral.

Al Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química (INTEC), a la Universidad Nacional del Litoral (UNL) y al Centro Científico Tecnológico (CCT) CONICET Santa Fe, por brindarme la infraestructura para realizar mi Tesis.

Al personal del grupo de Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. En particular a Robin, Flor, Emi, Agus y Bren, por el día a día.

A mi mamá, Mirta, y a mis hermanos, Edu y Ema, por acompañarme y apoyarme siempre.

A mis ahijadas, Zoe y Danna, por darme luz.

A mi compañero de vida, Zurdo, por caminar a mi lado y siempre alentarme a seguir.

Resumen

Resumen

La encapsulación es el proceso físico de atrapar una sustancia (activo) dentro de otra sustancia secundaria (encapsulante) para formar pequeñas partículas que pueden liberar su contenido a velocidad controlada en condiciones específicas. En la industria alimentaria, este proceso tiene particular utilidad en la protección y vehiculización de compuestos activos (probióticos, vitaminas, aceites esenciales, etc.) que son incluidos en las formulaciones de los alimentos, pero que son susceptibles a degradarse en las condiciones normales de manufactura de los alimentos y en las condiciones del tracto gastrointestinal. Por lo tanto, la encapsulación adecuada del activo podría prevenir su degradación, aumentando su estabilidad y biodisponibilidad y asegurando su liberación en forma controlada, en el momento y sitio adecuado. En este sentido, el modelado matemático de la cinética de liberación controlada podría ser una herramienta importante durante el desarrollo y/u optimización de los sistemas de encapsulación, ya que permitiría disminuir el número de experimentos necesarios y optimizar el tiempo y los costos. El objetivo general de esta Tesis fue estudiar los fenómenos de transferencia de materia de componentes activos de interés para la industria de alimentaria tanto para su protección como para su vehiculización. Para tal fin, se describieron los principales fenómenos de transferencia asociados al proceso de liberación de activos encapsulados: difusión, erosión e hinchamiento. En primera instancia, estos fenómenos se estudiaron a través de modelos sencillos desarrollados para predecir la liberación controlada de fármacos aplicados en un sistema de encapsulación alimentario modelo. Luego, se desarrolló y validó un modelo matemático mecanístico para predecir la cinética de liberación de un activo alimentario encapsulado en una matriz alimentaria considerando condiciones gastrointestinales humanas bajo difusión molecular del activo y la solución circundante, la disolución del activo no disuelto, las tensiones y la erosión de la matriz. Se obtuvieron parámetros adimensionales característicos relacionados con cada mecanismo considerado. La validación del modelo desarrollado fue complementada con la determinación experimental de los parámetros necesarios para caracterizar a la matriz encapsulante y a los fenómenos de transporte asociados a la cinética de liberación. Finalmente, se analizó el comportamiento de un sistema de encapsulación a través de un análisis de sensibilidad del modelo desarrollado considerando como variables de entrada a los parámetros adimensionales característicos de los mecanismos considerados. Los resultados obtenidos permitieron identificar y estudiar el efecto de los principales fenómenos de transferencia asociados al proceso de liberación de un activo encapsulado. Se considera que el enfoque propuesto en esta Tesis será de utilidad para el diseño de sistemas de encapsulación de interés para la industria alimentaria.

Índices

Índice general

Agradecimientos	I
Resumen	III
Índice de contenidos	VI
Índice de figuras	XI
Índice de tablas	XV

Índice de contenidos

Capítulo 1

1. Introducción y objetivos	1
1.1 Encapsulación	2
1.2 Encapsulación de ingredientes en la industria alimentaria	3
1.2.1 Técnicas de encapsulación de activos alimentarios	3
1.2.2 Materiales encapsulantes	10
1.2.3 Materiales encapsulados	11
1.2.4 Clasificación de los sistemas de encapsulación	12
1.3 Modelado matemático de la cinética de liberación controlada	13
1.3.1 Mecanismos de liberación de activos	14
1.3.2 Modelos disponibles en la literatura	19
1.4 Objetivos	25
1.4.1 Objetivo general	25
1.4.2 Objetivos específicos	25
1.5 Bibliografía	25

Capítulo 2

2. Modelos de liberación controlada de fármacos aplicados a un sistema de encapsulación alimentario	34
--	-----------

2.1	Introducción	35
2.2	Teoría	36
2.2.1	Modelo de He et al. (2005)	36
2.2.2	Modelo de Harland et al. (1988)	38
2.2.3	Modelo de Wu y Brazel (2008)	40
2.3	Materiales y métodos	44
2.3.1	Sistema en estudio	44
2.3.2	Obtención del sistema en estudio	53
2.3.3	Ajuste a los datos experimentales	56
2.4	Resultados y discusión	57
2.4.1	Datos experimentales de la liberación de astaxantina	57
2.4.2	Ajuste de datos experimentales	58
2.5	Conclusiones	66
2.6	Nomenclatura	67
2.7	Bibliografía	70

Capítulo 3

3. Modelado matemático del proceso de liberación de activos alimentarios encapsulados

		75
3.1	Introducción	76
3.2	Teoría	78
3.2.1	Sistema en estudio	78
3.2.2	Desarrollo del modelo	78
3.2.3	Escalado y adimensionalización	83
3.3	Materiales y métodos	85
3.3.1	Variables analizadas	85
3.3.2	Validación experimental	86
3.3.3	Resolución numérica	88
3.4	Resultados y discusión	91
3.4.1	Independencia de malla	91
3.4.2	Validación del modelo	91
3.5	Conclusiones	99
3.6	Nomenclatura	99
3.7	Bibliografía	103

Capítulo 4

4. Determinación de parámetros. Caracterización del polímero que constituye la matriz encapsulante	108
4.1 Introducción	109
4.2 Teoría	111
4.2.1 Determinación del peso molecular del alginato de sodio por viscosimetría capilar	111
4.2.2 Determinación de las fracciones de monómeros que componen al alginato de sodio por espectrometría de resonancia magnética nuclear de protón (^1H RMN)	117
4.3 Materiales y métodos	128
4.3.1 Determinación del peso molecular del alginato de sodio	129
4.3.2 Determinación de las fracciones de monómeros que componen al alginato de sodio	131
4.4 Resultados y discusión	136
4.4.1 Determinación del peso molecular del alginato de sodio	136
4.4.2 Determinación de las fracciones de monómeros que componen al alginato de sodio	140
4.5 Conclusiones	142
4.6 Nomenclatura	142
4.7 Bibliografía	147

Capítulo 5

5. Determinación de parámetros. Coeficientes relacionados con los fenómenos de transporte	152
5.1 Introducción	153
5.2 Teoría	155
5.2.1 Determinación del coeficiente de difusión efectivo del agua en un gel de alginato de calcio	155
5.2.2 Determinación de la constante de depolimerización de un gel de alginato de calcio	157
5.3 Materiales y métodos	163
5.3.1 Determinación del coeficiente de difusión efectivo de agua en un gel de alginato de calcio	164
5.3.2 Determinación del coeficiente de disolución de un gel de alginato de calcio	169
5.3.3 Tratamiento estadístico de los duplicados	171
5.4 Resultados y discusión	172

5.4.1	Determinación del coeficiente de difusión de agua en un gel de alginato de calcio	172
5.4.2	Determinación de la constante de depolimerización de un gel de alginato de calcio	176
5.4.3	Características de las partículas	177
5.4.4	Determinación de calcio por absorción atómica	177
5.4.5	Cinética de depolimerización	179
5.4.6	Estimación del coeficiente de depolimerización	180
5.5	Análisis complementario a la validación del modelo presentado en el Capítulo 3 a partir de los valores característicos conocidos del sistema en estudio	181
5.6	Conclusiones	183
5.7	Nomenclatura	184
5.8	Bibliografía	188

Capítulo 6

6. Análisis de sensibilidad del modelo propuesto para describir el proceso de liberación de activos alimentarios encapsulados	195	
6.1	Introducción	196
6.2	Teoría	198
6.3	Materiales y métodos	198
6.3.1	Variables de entrada	198
6.3.2	Variables de salida	199
6.3.3	Análisis de sensibilidad	199
6.3.4	Resolución numérica	201
6.4	Resultados y discusión	202
6.4.1	Condición de referencia	202
6.4.2	Parámetros relacionados con las tensiones	203
6.4.3	Parámetros relacionados con la erosión	208
6.4.4	Parámetros relacionados con la disolución y difusión del activo	210
6.4.5	Parámetros relacionados con la transferencia externa de agua	212
6.4.6	Importancia relativa de los efectos	213
6.5	Conclusiones	214
6.6	Nomenclatura	215
6.7	Bibliografía	216

Capítulo 7

7. Conclusiones	220
7.1 Conclusiones particulares más relevantes del trabajo	221
7.2 Conclusiones finales	222
Anexos	223
A.1 Solución de la ecuación de difusión de Fick para una esfera utilizada en el modelo He et al. (2005) (Ec. 2.1)	224
A.2 Código de implementación del modelo de He et al. (2005) (Sección 2.3.3)	226
A.3 Código de implementación del modelo de Harland et al. (1988) con condición de contorno de sumidero perfecto (CSP) (Sección 2.3.3)	228
A.4 Código de implementación del modelo de Harland et al. (1988) con condición de contorno de resistencia convectiva externa finita (CRF) (Sección 2.3.3)	230
A.5 Código de implementación del modelo de Wu y Brazel (2008) (Sección 2.3.3)	233
A.6 Resolución numérica del modelo de Wu y Brazel (2008) (Sección 2.3.3)	241
A.7 Test de independencia de malla para la implementación del modelo de Wu y Brazel (2008) (Sección 2.3.3)	245
A.8 Datos experimentales de la fracción liberada de astaxantina desde una matriz de alginato (Tabla 2.4)	246
A.9 Determinación del tamaño de partícula (Tabla 2.5)	247
A.10 Estimación del coeficiente de transferencia superficial de materia (Sección 2.4.2.2)	249
A.11 Cálculo del coeficiente de transferencia de materia superficial teórico para el modelo de Harland et al. (1998) (Sección 2.4.2.4)	251
A.12 Obtención de la expresión para el coeficiente de difusión viscoelástico (Sección 3.2.2.1)	252
A.13 Procedimiento de adimensionalización y escalado (Sección 3.2.3)	255
A.14 Código de la implementación del modelo propuesto el Capítulo 3 (Sección 3.3.3)	263
A.15 Determinación del contenido inicial de agua en las partículas (Sección 3.4.2.1)	274
A.16 Determinación del contenido inicial de activo encapsulado (Sección 3.4.2.1)	275
A.17 Programas de pulsos de ^1H RMN (Sección 4.4.2.1)	276
A.18 Obtención de la expresión para la concentración de soluto en el compartimiento B (Ec. 5.3)	280
A.19 Evaluación del comportamiento del alginato del calcio frente al pH (Sección 5.3.1.3)	283
A.20 Código para la determinación del coeficiente de difusión efectivo de urea en un gel de alginato de calcio (Sección 5.3.1.6)	284
A.21 Tratamiento estadístico de los duplicados (Sección 5.3.3)	286
A.22 Espesores iniciales y finales de los geles de alginato (Tabla 5.2)	303

A.23	Concentración de urea en el compartimiento B a distintos tiempos (Fig. 5.9)	304
A.24	Distribución del tamaño de las partículas usadas para las experiencias de depolimerización (Tabla 5.5)	305
A.25	Determinación de humedad de las partículas de alginato (Tabla 5.5)	306
A.26	Concentración inicial de calcio en las partículas de alginato de calcio (Sección 5.4.4.2)	307
A.27	Estimación de la concentración inicial de calcio teórica en las partículas (Sección 5.4.4.2)	308
A.28	Datos de la concentración de calcio liberado (Tabla 5.6)	312
A.29	Coefficientes de disolución de la literatura (Sección 5.4.6)	313

Índice de figuras

1.1	Ventajas y desventajas del secado spray como técnica de encapsulación	5
1.2	Etapas de la encapsulación de activos mediante la técnica de coacervación	9
1.3	Ejemplos de diferentes estructuras de sistemas de encapsulación	12
1.4	Mecanismos más comunes de liberación en sistemas de encapsulación con estructuras tipo monolito	15
1.5	Mecanismos más comunes de liberación en sistemas de encapsulación con estructuras tipo reservorio	16
1.6	Esquema de los niveles de entrecruzamiento del material encapsulante cuando absorbe solvente	17
2.1	Esquema de la variación del tamaño de partícula debido a la absorción de agua . .	42
2.2	Estructura molecular de la astaxantina	46
2.3	Isómeros geométricos de la astaxantina	47
2.4	Estereoisómeros de la astaxantina	48
2.5	Potenciales beneficios para la salud asociados al consumo de astaxantina	49
2.6	Estructura de los monómeros del alginato	50
2.7	Bloques G, M y MG del alginato	50
2.8	Modelo de entrecruzamiento <i>caja de huevos</i>	52
2.9	Procesos, condiciones y tiempos de residencia promedio de las principales regiones del tracto gastrointestinal	53
2.10	Sistema utilizado para la obtención de astaxantina encapsulada en una matriz de alginato de calcio	55

2.11	Datos experimentales y perfil teórico de la fracción de astaxantina liberada obtenido con el modelo de He et al. (2005)	61
2.12	Datos experimentales y perfil teórico de la fracción de astaxantina liberada obtenido con el modelo de Harland et al. (1988)	63
2.13	Datos experimentales de la fracción de astaxantina liberada y perfiles teóricos de la fracción de astaxantina liberada, de la fracción de agua absorbida y del radio de partícula obtenidos con el modelo de Wu y Brazel (2008)	65
2.14	Evolución temporal de los perfiles locales de la concentración adimensional de agua obtenidos con el modelo de Wu y Brazel (2008)	66
2.15	Evolución temporal de los perfiles locales de la concentración adimensional de activo obtenidos con el modelo de Wu y Brazel (2008)	66
3.1	Principales factores que afectan a la liberación controlada de activos encapsulados .	77
3.2	Sistema en estudio	79
3.3	Modelo de Maxwell considerado para representar el comportamiento viscoelástico del sistema en estudio	81
3.4	Discretización espacial del sistema	88
3.5	Independencia de malla	92
3.6	Datos experimentales y perfil teórico de la fracción de activo liberado	94
3.7	Interacciones iónicas del Ca^{2+} con los grupos carboxílicos de los bloques M y los bloques G en un gel de alginato de calcio	96
3.8	Liberación <i>in vitro</i> de astaxantina de microcápsulas de alginato de calcio bajo condiciones intestinales simuladas a diferentes tiempos	96
3.9	Perfiles teóricos de la fracción de activo liberado, la fracción de agua absorbida, la fracción de polímero remanente y de la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz en función de $t^{1/2}$	98
4.1	Conformación de una cadena polimérica en un solvente termodinámicamente bueno, en un solvente <i>theta</i> y en un solvente termodinámicamente pobre	112
4.2	Tipos de viscosímetros capilares	113
4.3	Partes de un tubo viscosímetro capilar Cannon-Fenske	113
4.4	Perfil de velocidad del fluido dentro del tubo capilar	114
4.5	Espectro electromagnético y zonas de interés en la determinación de compuestos químicos	118

4.6	Orientación y energía de los espines nucleares en ausencia y en presencia de un campo magnético externo	121
4.7	Movimiento periódico de precesión que adquieren los espines nucleares al aplicar un campo magnético	122
4.8	Esquema de un equipo de RMN de onda continua	124
4.9	Distribución de los espines nucleares al aplicar un campo magnético externo y generación de la magnetización macroscópica	125
4.10	Interacción entre la magnetización macroscópica y un pulso de radiofrecuencias . .	125
4.11	Esquema de las etapas de obtención de un espectro de RMN	126
4.12	Monómeros del ácido algínico y espectro ^1H RMN característico de alginatos	128
4.13	Viscosímetro capilar y soporte usados en las determinaciones de viscosimetría . . .	132
4.14	Equipo de viscosimetría usado en las experiencias	132
4.15	Elementos usados en las determinaciones de ^1H RMN	133
4.16	Esquemas de los programas de pulsos empleados en ^1H RMN	134
4.17	Ajuste con las Ecs. (4.9)-(4.10) a los datos experimentales	137
4.18	Ajuste con la Ec. (4.36) a los datos experimentales	138
4.19	Espectros obtenidos por ^1H RMN para el alginato de sodio de baja viscosidad de Sigma-Aldrich y el alginato LV de Kelco	140
5.1	Esquema del corte transversal de una celda de difusión	157
5.2	Esquema de un espectrómetro de absorción atómica de llama	160
5.3	Sistema empleado para obtener los discos de alginato de calcio	165
5.4	Representación de una molécula de agua y de una molécula de urea	165
5.5	Celda de difusión, sistema de ajuste del gel en el orificio de la pared central de la celda y sistema utilizado en las experiencias de difusión	166
5.6	Procedimiento para la determinación de urea	168
5.7	Etapas de reacción de la técnica de determinación de urea	168
5.8	Tendencia que siguen los datos experimentales de los duplicados de la concentración de urea en el compartimiento B de la celda de difusión	173
5.9	Valores experimentales y teóricos de la concentración de urea y de la concentración de urea adimensional en el compartimiento B	174
5.10	Tendencia que siguen los datos experimentales de los duplicados de la concentración de calcio en el medio de disolución	179
5.11	Concentración adimensional de calcio en el medio de disolución en función de t y $t^{1/2}$	180

5.12	Linealización de los perfiles de la concentración adimensional de calcio en el medio de disolución	181
6.1	Perfiles de la fracción de activo liberado, la fracción de agua absorbida, la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz y de la fracción de polímero remanente promedio en el volumen para la condición de referencia	203
6.2	Perfiles de la fracción de activo liberado, la fracción de agua absorbida, la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz y de la fracción de polímero remanente promedio en el volumen para las condiciones <i>CR</i> y <i>EL</i>	204
6.3	Perfiles del flujo Fickiano, del flujo no-Fickiano y el flujo neto para las condiciones <i>CR</i> y <i>EL</i>	206
6.4	Perfiles de la fracción de activo liberado, la fracción de agua absorbida, la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz y de la fracción de polímero remanente promedio en el volumen para las condiciones <i>CR</i> y <i>V</i>	207
6.5	Perfiles de la fracción de activo liberado, la fracción de agua absorbida, la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz y de la fracción de polímero remanente promedio en el volumen para las condiciones <i>CR</i> y <i>ER</i>	208
6.6	Evolución temporal de los perfiles de la concentración adimensional de agua en función de la posición radial correspondiente a la condición <i>ER2</i>	210
6.7	Perfiles de la fracción de activo liberado, la fracción de agua absorbida, la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz y de la fracción de polímero remanente promedio en el volumen para las condiciones <i>CR</i> y <i>DD</i>	211
6.8	Perfiles de la fracción de activo liberado, la fracción de agua absorbida, la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz y de la fracción de polímero remanente promedio en el volumen para las condiciones <i>CR</i> y <i>TE</i>	213
A.6.1	Discretización espacial del dominio	241
A.7.2	Test de independencia de malla para el modelo de Wu y Brazel (2008)	245
A.9.1	Distribución del radio de partícula	248
A.10.1	Baño térmico usado para generar las condiciones de liberación	249
A.17.1	Espectros obtenidos para el alginato de baja viscosidad Sigma-Aldrich a 25 °C con los valores de parámetros de las condiciones C1, C2, C3, C4, C5, C6 y C7	278
A.18.1	Esquema de una celda de difusión.	280
A.19.1	Comportamiento de partículas de alginato de calcio frente al pH.	283

A.21.1	Gráfico de los datos experimentales y de la función de regresión teórica de los duplicados de la concentración de urea en el compartimiento B de la celda de difusión	289
A.21.2	Salida de la función <i>plot</i> de RStudio ($\Gamma = c_B$)	290
A.21.3	Salida de la función <i>influenceIndexPlot</i> de RStudio ($\Gamma = c_B$)	291
A.21.4	Análisis de posibles datos influyentes en los duplicados de c_B	295
A.21.5	Gráfico de los datos experimentales y de la función de regresión teórica de los duplicados de la concentración de calcio en la solución buffer	295
A.21.6	Salida de la función <i>plot</i> de RStudio ($\Gamma = c_{Ca}$)	297
A.21.7	Salida de la función <i>influenceIndexPlot</i> de RStudio ($\Gamma = c_{Ca}$)	298
A.21.8	Análisis de posibles datos influyentes en los duplicados de c_{Ca}	301
A.24.1	Distribución del tamaño de las partículas usadas en las experiencias Ek1 y Ek2 de depolimerización.	305
A.27.1	Dímero formado inicialmente por el alginato y Ca^{2+} (modelo <i>caja de huevos</i>), modelo de entrecruzamiento <i>mitad de caja de huevos</i> e interacción molecular entre grupos G del alginato y Ca^{2+} según el modelo <i>mitad de caja de huevos</i>	309
A.29.1	Concentración adimensional de calcio en el medio de disolución reportados por Kikuchi et al. (1999) y Voo et al. (2015)	313

Índice de tablas

1.1	Principales técnicas de encapsulación	4
1.2	Materiales encapsulantes más empleados en alimentos	11
2.1	Condición inicial y condiciones de contorno para el modelo propuesto por Harland et al. (1988)	39
2.2	Condición inicial y condiciones de contorno para el modelo propuesto por Wu y Brazel (2008)	43
2.3	Formulación de las partículas de astaxantina/alginato	54
2.4	Valores experimentales de la fracción de astaxantina liberada a distintos tiempos del sistema astaxantina/alginato en condiciones intestinales simuladas	58
2.5	Valores promedio de los estimadores propuestos del radio de partícula	58
2.6	Valores iniciales de los parámetros del modelo de He et al. (2005) , Harland et al. (1988) y Wu y Brazel (2008)	59

2.7	Valores de los parámetros del modelo de He et al. (2005) , Harland et al. (1988) y Wu y Brazel (2008) obtenidos del ajuste	60
3.1	Variables adimensionales	83
3.2	Parámetros adimensionales en función de los tiempos característicos de los fenómenos involucrados	86
3.3	Valores que caracterizan el sistema en estudio requeridos para resolver el modelo	93
3.4	Valores de los parámetros adimensionales obtenidos del ajuste a los datos experimentales	93
4.1	Nomenclatura y definición de viscosidades	116
4.2	Valores de los parámetros de la ecuación de MHS para una solución de alginato de sodio en NaCl 0,1 M a 25 °C	130
4.3	Tiempo, viscosidad cinemática y viscosidad específica determinados para soluciones de alginato de sodio en NaCl 0,1 M en un viscosímetro Canon-Fenske N° 50 a 25 °C	136
4.4	Valores de los parámetros de las Ecs. (4.9)-(4.10) obtenidos del ajuste a los datos experimentales	138
4.5	Valores de los parámetros de la Ec. (4.36) obtenidos del ajuste a los datos experimentales	139
4.6	Valores del peso molecular medio en peso, del peso molecular medio viscoso y del peso molecular medio en número del alginato de baja viscosidad de Kelco obtenidos por viscosimetría	139
4.7	Valores de los parámetros de ¹ H RMN de la secuencia de pulsos <i>ledbpgp2s1d</i> empleados para determinar la composición del alginato	140
4.8	Valores de los parámetros que caracterizan a la composición del alginato de baja viscosidad de Sigma-Aldrich	141
4.9	Valores de los parámetros que caracterizan a la composición del alginato de LV de Kelco	142
5.1	Concentraciones de agentes de liberación recomendadas para eliminar la interferencia de fosfatos en la determinación de calcio por espectrometría de absorción atómica con llama de aire-acetileno	162
5.2	Espesores iniciales y espesores finales de los geles de alginato de calcio usados en las experiencias	173
5.3	Valores estimados en cada experiencia para el coeficiente de difusión efectivo de urea en un gel de alginato de calcio	175

5.4	Valores de coeficientes de difusión de urea en agua a diferentes temperaturas empleados para estimar $D_{Tw}(37\text{ °C})$	176
5.5	Moda del radio y humedad de las partículas usadas en las experiencias de depolimerización	177
5.6	Concentración promedio de calcio liberado	178
5.7	Valores que caracterizan al sistema en estudio	182
5.8	Valores de parámetros adimensionales estimados a partir de los valores que caracterizan al sistema en estudio mostrados en la Tabla 5.7	182
5.9	Valores característicos del sistema en estudio estimados a partir de los valores ajustados de los parámetros adimensionales y de los valores característicos conocidos del sistema	183
6.1	Condición de referencia y condiciones perturbadas para estudiar el efecto de las tensiones	201
6.2	Condiciones perturbadas para estudiar el efecto de la erosión de la matriz encapsulante, de la disolución y difusión del activo y de la transferencia de materia externa de agua	202
6.3	Valores de <i>EIR</i> para cada condición perturbada	214
A.8.1	Datos experimentales de la fracción de astaxantina liberada a distintos tiempos en 5 corridas independientes realizadas por duplicado	246
A.9.1	Valores obtenidos en 5 experiencias independientes para los estimadores del radio de partícula	247
A.10.1	Valores estimados de la velocidad del medio de disolución y valores calculados del coeficiente de transferencia superficial de materia	250
A.15.1	Valores de humedad y contenido inicial de agua en las partículas	274
A.16.1	Valores de concentración de astaxantina en las partículas secas, peso de partículas secas y contenido inicial de astaxantina	275
A.17.1	Valores de los parámetros de los programas de pulsos seleccionados para poner a punto la técnica de determinación de la composición del alginato de sodio mediante una técnica de ^1H RMN	276
A.22.1	Valores medidos de los espesores iniciales y finales de los geles de alginato de calcio	303
A.23.1	Valores de concentración de urea en el compartimiento B a distintos tiempos	304
A.25.1	Humedad de las partículas de alginato usadas en las experiencias de depolimerización a diferentes tiempo de secado.	306

A.26.1	Concentración inicial de calcio en las partículas de alginato de calcio	307
A.27.1	Características del alginato de sodio de Kelco LV	309
A.27.2	Composición de la emulsión	310
A.28.1	Concentración de calcio en el medio de disolución a diferentes tiempos	312
A.29.1	Relación de monómeros y peso molecular medio en peso de los alginatos de sodio utilizados por Kikuchi et al. (1999) y Voo et al. (2015) en sus experiencias de depolimerización y valores de κ obtenidos a partir de las cinéticas de elución de Ca^{2+} reportados por estos autores	313

CAPÍTULO 1

Introducción y objetivos

CAPÍTULO 1

Introducción y objetivos

Resumen. En el presente capítulo, se presentaron algunos elementos relacionados con los sistemas de encapsulación alimentarios y el modelado matemático de la cinética de liberación de activos encapsulados. Se definió a la encapsulación, se destacó su importancia en la industria alimentaria, se describieron algunas de las técnicas de encapsulación más empleadas, se mencionaron las principales características que debe reunir un material encapsulante según el componente activo que se pretenda encapsular y se presentó una clasificación de los sistemas de encapsulación según su arquitectura. Además, se definió la liberación controlada de activos encapsulados, se presentó la utilidad de los modelos matemáticos para describir su cinética, se describieron los principales mecanismos de liberación que pueden estar involucrados en el proceso de liberación de activos y se presentaron algunos modelos disponibles en la literatura para describir la cinética de liberación controlada de fármacos, debido a la similitud de estos sistemas con los sistemas de encapsulación alimentarios. Finalmente, se presentaron los objetivos general y específicos de la presente Tesis.

1.1. Encapsulación

La encapsulación se puede definir como el proceso físico de atrapar una sustancia líquida, sólida o gaseosa dentro de otra sustancia secundaria para formar pequeñas partículas que pueden liberar su contenido a velocidad controlada en condiciones específicas. El tamaño de las partículas puede ir desde un par de nanómetros (nanocápsulas) a un par de milímetros (microcápsulas) y pueden tener diferentes formas, dependiendo de los materiales y métodos usados para prepararlas. La sustancia que es encapsulada normalmente es llamada activo, núcleo, fase interna, encapsulado o relleno. El material que envuelve al compuesto activo es comúnmente denominado encapsulante, revestimiento, material de pared, fase externa, fase soporte o membrana (Jackson y Lee, 1991; McClements, 2015; Sobel et al., 2014; Zuidam y Nedovic, 2010).

La versatilidad de la tecnología de encapsulación permite su empleo en distintas industrias, tales como la farmacéutica, química, veterinaria, electrónica, textil, cosmética, alimentaria y agrícola, entre otras (Augustin y Sanguansri, 2015). Los principales objetivos que persigue son prevenir la degradación del compuesto encapsulado, controlar su transporte y liberación, aumentar su estabilidad y convertir líquidos en partículas sólidas para facilitar su manipulación (Risch et al., 1995).

1.2. Encapsulación de ingredientes en la industria alimentaria

A pesar de estar bien desarrollada dentro de la industria farmacéutica, química y cosmética, la encapsulación es una tecnología relativamente nueva en la industria alimentaria (Augustin y Sanguansri, 2015). En este sentido, la aplicación de esta tecnología en el procesamiento de alimentos incluye el recubrimiento tanto de pequeñas moléculas (acidulantes, grasas, *flavors*, etc.) como de ingredientes de gran tamaño (pasas, nueces y otros productos de confitería) (Desai y Park, 2005).

Particularmente en la industria de alimentos, inicialmente la encapsulación se usó para producir compuestos del *flavor* en forma seca y brindarles protección de los factores ambientales (Risch et al., 1995). Actualmente, se utiliza para alcanzar ciertos objetivos tecnológicos y de calidad, tales como enmascarar sabores, olores y colores desagradables, prevenir interacciones y reacciones indeseables entre distintos componentes del alimento, reducir la volatilidad de compuestos de interés e incorporar ingredientes activos dentro de matrices alimentarias sin afectar los atributos de calidad del alimento, entre otros (McClements, 2015). Asimismo, la tendencia de los últimos años hacia un estilo de vida más saludable, llevó a que los consumidores se preocuparan más sobre los alimentos que ingieren, así como también que tomen conocimiento sobre los beneficios que tienen ciertos ingredientes sobre la salud y la prevención de enfermedades (Flores y Kong, 2017). Esto ha resultado en el desarrollo de nuevos alimentos que incluyen compuestos bioactivos (probióticos, vitaminas, aceites esenciales, etc.) en su formulación. Sin embargo, estos compuestos suelen ser sensibles a las condiciones normales de elaboración, almacenamiento y transporte de los alimentos, así como también a las condiciones del tracto gastrointestinal. En este sentido, la encapsulación adecuada del compuesto activo podría prevenir su degradación, aumentando su estabilidad y biodisponibilidad y asegurando su liberación en forma controlada, en el momento y sitio adecuado (Delshadi et al., 2020).

A pesar de brindar muchos beneficios desde el punto de vista tecnológico y de calidad de los alimentos, el proceso de encapsulación presenta las desventajas de aumentar los costos y la complejidad de los procesos de producción tradicionales. Además, se presenta como nuevo desafío obtener un alimento rico, saludable y conveniente que se mantenga estable hasta llegar al consumidor (Zuidam y Nedovic, 2010).

1.2.1. Técnicas de encapsulación de activos alimentarios

Existen muchas técnicas para encapsular ingredientes alimentarios. Su selección depende de la sensibilidad del activo, del tamaño deseado del sistema de encapsulación, de las propiedades físicas y químicas tanto del activo como del material encapsulante, la aplicación del material encapsulado y el mecanismo de liberación. Además, particularmente en la industria de alimentos, el costo resulta ser un punto crítico en la selección tanto de la técnica de encapsulación como del material encapsulante

(Desai y Park, 2005).

Dentro de las técnicas de encapsulación se pueden diferenciar los métodos físicos, los métodos químicos y una combinación de ambos. En la **Tabla 1.1**, se muestran las principales técnicas de encapsulación. Los métodos físicos de encapsulación incluyen secado spray, spray-chilling, spray-cooling, recubrimiento en lecho fluidizado, liofilización y extrusión. Un método químico utilizado para encapsular ingredientes alimentarios es la polimerización interfacial. Las técnicas de encapsulación que involucran métodos físicos y químicos incluyen la coacervación y atrapamiento en liposomas (Jackson y Lee, 1991). Los métodos físicos tienen la ventaja de ser fácilmente escalables y permitir la producción de grandes cantidades de partículas del tipo matricial y con larga vida útil. Sin embargo, requieren altas tensiones de corte o altas temperaturas que limitan su aplicación en compuestos muy lábiles (Gonnet et al., 2010).

Tabla 1.1. Principales técnicas de encapsulación.

Método	Técnica
Físico	Secado spray
	Spray-chilling y spray-cooling
	Recubrimiento en lecho fluidizado
	Liofilización
	Extrusión
Químico	Polimerización interfacial
Físico químico	Coacervación
	Atrapamiento en liposomas

1.2.1.1. Secado spray

El secado spray es la técnica de encapsulación más usada en la industria de los alimentos por ser económica, simple, flexible, adaptable a los equipos de procesamiento más comunes y porque produce partículas de activos alimentarios estables y de buena calidad (Desai y Park, 2005). En general, la técnica consiste en homogeneizar una solución o dispersión de cierta relación activo/encapsulante, atomizarla a alta velocidad en finas gotas de 10 – 15 μm y secar las gotas generadas por contacto con una corriente de aire caliente, cuya temperatura de entrada suele estar entre 150 – 200 °C (Arepally et al., 2020; Desai y Park, 2005; Gonnet et al., 2010).

En general, la alimentación es formulada en base acuosa, lo que limita el número de materiales encapsulantes disponibles. Los materiales encapsulantes típicos son maltodextrinas, goma arábiga, almidón modificado hidrofólicamente y mezclas de estos compuestos. En cuanto al secado propiamente

dicho, la alimentación y la corriente de aire caliente pueden operar en co-corriente o en contracorriente. El secado en co-corriente, cuando el aire de secado fluye en la misma dirección que la alimentación, provee la ventaja de que el polvo seco es expuesto a temperaturas moderadas (50 – 80 °C). Esta configuración es apta para la encapsulación de compuestos sensibles al calor, como nutracéuticos, probióticos, *flavors*, enzimas y péptidos (Abdul Mudalip et al., 2021).

Esta tecnología permite controlar el tamaño, la forma y la morfología de las partículas obtenidas por optimización de los parámetros del proceso y de la formulación de la solución de alimentación. Así, se pueden obtener varios tipos de partículas, como núcleo-carcaza, irregular, multipared, multinúcleo o compuestas (Arpagaus et al., 2018).

En la **Fig. 1.1**, se listan las principales ventajas y desventajas del secado spray como método de encapsulación.



Figura 1.1. Ventajas y desventajas del secado spray como técnica de encapsulación.

1.2.1.2. Spray-chilling y spray-cooling

Los procesos de encapsulación de activos spray-chilling y spray-cooling son similares al proceso de encapsulación mediante secado spray. Las tres técnicas involucran la formación de una dispersión/-disolución con el activo y el material encapsulante, su atomización y posterior endurecimiento de las gotas generadas. La principal diferencia radica en que el spray-chilling y el spray-cooling no involucran una evaporación de agua después de la atomización de la alimentación, sino que la solidificación de las partículas se produce por el contacto de las gotas generadas con aire frío, a una temperatura menor que el punto de fusión o de gelificación del material encapsulante (Zuidam y Nedovic, 2010). La diferencia entre spray-chilling y spray-cooling se halla en el punto de fusión o gelificación del material

encapsulante utilizado. En el primer caso, el punto de fusión o gelificación del material encapsulante se encuentra en el rango de 34 – 42 °C, mientras que para spray-cooling las temperaturas son mayores (Nedovic et al., 2011).

El activo encapsulado puede ser líquido o sólido, y miscible o inmiscible con el material encapsulante. En cuanto al material encapsulante, su selección se debe realizar teniendo en cuenta sus propiedades de superficie, reológicas, de barrera y su temperatura de fusión o gelificación, ya que el endurecimiento de las partículas se alcanza por su enfriamiento o gelificación (Oxley, 2012).

Los materiales encapsulantes que se emplean habitualmente son geles con bajo punto de gelificación y fundidos de bajo punto de fusión (Desai y Park, 2005; Gonnet et al., 2010; Oxley, 2012). Estos últimos son los más empleados en spray-chilling e incluyen aceites vegetales y sus derivados, gomas, grasas, mono y diglicérols, entre otros. En consecuencia, se obtienen partículas insolubles en agua y se usan para encapsular activos solubles en agua (minerales, vitaminas solubles en agua, acidulantes, algunos *flavors*, etc.) (Desai y Park, 2005).

Las principales ventajas de estos métodos, en comparación con el secado spray u otros métodos que involucren a la evaporación del solvente para la obtención de las partículas, son el bajo costo de los materiales encapsulantes y la eficiencia de producción (Oxley, 2012).

1.2.1.3. Recubrimiento en lecho fluidizado

La formación de cápsulas en lecho fluidizado consiste en suspender las partículas de activo en un lecho fluidizado, con una corriente de aire con humedad, temperatura y velocidad controladas. Luego, una mezcla de solvente, actuando como vehículo, y el material encapsulante son atomizados sobre las partículas fluidizadas. En las condiciones adecuadas, se logra el recubrimiento total de la superficie de las partículas de activo con las gotas del material atomizado. Finalmente, el solvente es evaporado, quedando una capa delgada y uniforme de material encapsulante sobre el activo (Foroughi-Dahr et al., 2017).

Dentro de los materiales encapsulantes disponibles se encuentran los derivados de celulosa, dextrinas, emulsificantes, lípidos y derivados de proteínas. En algunos casos, no es necesario utilizar un solvente para vehiculizar al material encapsulante, sino que dicho material se utiliza en estado fundido y el endurecimiento de las cápsulas se logra con una corriente de aire frío. En estos casos, la liberación del activo se logra por un aumento de la temperatura, mientras que un material encapsulante soluble en agua libera su contenido cuando se lo pone en contacto con agua. Desde el punto de vista industrial, es más conveniente la utilización de materiales encapsulantes que no requieran ser solubilizados, ya que se requieren menores tiempos de procesamiento y el consumo de energía es menor, por no requerir evaporación de solvente (Desai y Park, 2005).

1.2.1.4. Liofilización

La liofilización es la técnica más adecuada para la deshidratación y para la encapsulación de aromas y materiales sensibles al calor, ya que se realiza a baja temperatura y presión (Abdul Mudalip et al., 2021; Desai y Park, 2005).

En general, la encapsulación se realiza en cuatro etapas. La primera etapa comprende la preparación del medio de dispersión líquido formado por el activo a encapsular y el material encapsulante. La segunda etapa consiste en enfriar a la solución líquida por debajo de su punto de solidificación. El agua presente cristaliza, mientras que el activo permanece en estado amorfo o vítreo. En la tercer etapa, la presión es reducida hasta valores menores que la presión de vapor del hielo. Esto produce la sublimación del agua contenida en el material (primer secado). Finalmente, la cuarta etapa comprende la evaporación (segundo secado) para remover el agua líquida remanente. Esta última etapa es corta y consume menos energía que la sublimación (Abdul Mudalip et al., 2021).

En esta técnica, la eficiencia en la protección y liberación controlada de activos dependen de la composición y estructura del material encapsulante. Los materiales encapsulantes más utilizados son goma arábica, maltodextrina, almidones emulsificados, proteína del suero lácteo, etc. (Zuidam y Nedovic, 2010).

Las principales desventajas de la liofilización son el elevado consumo de energía, ya que se requiere alcanzar temperaturas menores al punto de congelación del solvente, y los largos tiempos de procesamiento. Además, las partículas generadas suelen ser muy porosas, ofreciéndole al activo una pobre protección (Nedovic et al., 2011). Sin embargo, con una aplicación adecuada de la liofilización se logra una alta eficiencia de encapsulación, así como también una buena preservación del color, sabor, *flavor* y actividad biológica del compuesto activo encapsulado (Abdul Mudalip et al., 2021).

1.2.1.5. Extrusión

El método de extrusión consiste en mezclar el activo con el material encapsulante, forzarlo a pasar por una boquilla de extrusión para formar gotas que se dejarán caer dentro de un baño de solidificación, que al entrar en contacto con el material encapsulante produce su endurecimiento y encapsulación del activo (Nedovic et al., 2011). Las siguientes etapas comprenden la recolección y secado de las partículas.

Los materiales encapsulantes más empleados son los hidrocoloides aniónicos como carragenatos, pectinatos, alginatos, etc. Estos materiales gelifican en contacto con soluciones salinas catiónicas (King, 1995).

Esta técnica posee varias ventajas. Por un lado, es amigable con el medio ambiente al no requerir el uso de solventes ni temperaturas extremas (Fangmeier et al., 2019). Debido a esto, esta técnica ha sido utilizada casi exclusivamente para encapsular *flavors* inestables y compuestos volátiles en

matrices de carbohidratos en estado vítreo. Por otro lado, se imparte a los activos encapsulados una larga vida útil debido a que se previene su oxidación, ya que los gases atmosféricos difunden muy lentamente a través de matrices hidrofílicas en estado vítreo (Poshadri y Kuna, 2010). Desde el punto de vista operativo, la extrusión es una tecnología relativamente de bajo costo, continua y con un alto rendimiento, compatible con otras operaciones unitarias, fácil de controlar y operar (Li, 2009).

1.2.1.6. Polimerización interfacial

La polimerización interfacial consiste en poner en contacto dos monómeros reactivos que son solubles en sus respectivas fases insolubles. En la interfase se produce una reacción de polimerización y la consecuente formación de un film. En general, se usa una fase acuosa y una fase orgánica. Si el activo a encapsular es hidrofílico, la fase acuosa se debe dispersar en la fase orgánica. Si el activo es hidrofóbico, la fase dispersa será la fase orgánica (Perignon et al., 2015). Los polímeros que forman buenas membranas son poliésteres, poliamidas, poliuretanos y poliureas (Jackson y Lee, 1991).

Esta técnica presenta las ventajas de ser simple, permitir el control directo tanto del tamaño de las cápsulas como del espesor de la membrana, tener un costo relativamente bajo y ser escalable, entre otras (Perignon et al., 2015). Sin embargo, su uso en la encapsulación de ingredientes alimentarios está limitado por la baja disponibilidad de materiales de membrana de grado alimentario (Jackson y Lee, 1991).

1.2.1.7. Coacervación

La coacervación es usada para encapsular activos solubles en agua. El activo es suspendido en una solución polimérica no acuosa (material encapsulante). Luego, se promueve la formación de un recubrimiento uniforme de polímero debido a un cambio de temperatura, a la adición de un polímero incompatible, de una sal o de un no-solvente (Li y Jasti, 2006). Esta técnica puede ser simple o compleja según se usen uno o varios tipos de polímeros, respectivamente. La coacervación simple no es muy utilizada para encapsular activos; un ejemplo es la encapsulación de emulsiones aceite/agua en gelatina, donde la solubilidad del polímero es reducida por la temperatura o por sulfato de sodio (Nedovic et al., 2011). En cuanto a la coacervación compleja, las cápsulas son formadas por la interacción iónica de dos polímeros con cargas opuestas y ocurre cuando las cargas son neutralizadas unas con otras (Poshadri y Kuna, 2010). En la industria de alimentos, los materiales más comunes son las proteínas globulares y los polisacáridos iónicos, tales como gelatina y goma acacia, β -lactoglobulina y pectina (McClements, 2015).

Los procesos de coacervación tipo *batch* involucran tres etapas principales que son llevadas a cabo bajo agitación continua (**Fig. 1.2**). La primera etapa consiste en la formación de tres fases químicas

inmiscibles: una fase de material encapsulante, una fase del activo y una fase de líquido que es usado como vehículo durante el proceso. La deposición del encapsulante alrededor del activo comprende la segunda etapa y ocurrirá si el material encapsulante se adsorbe sobre la interfase formada entre el activo y el líquido usado como vehículo. La tercera etapa es la solidificación del material encapsulante y formación de las cápsulas, que usualmente se logra por técnicas térmicas, de entrecruzamiento o desolvatación (Shahidi y Han, 1993).

Esta técnica tiene la ventaja de ser fácilmente escalable a la industria (Gonnet et al., 2010), pero resulta un proceso costoso y los materiales aprobados para ser usados como encapsulantes son limitados (Shahidi y Han, 1993).

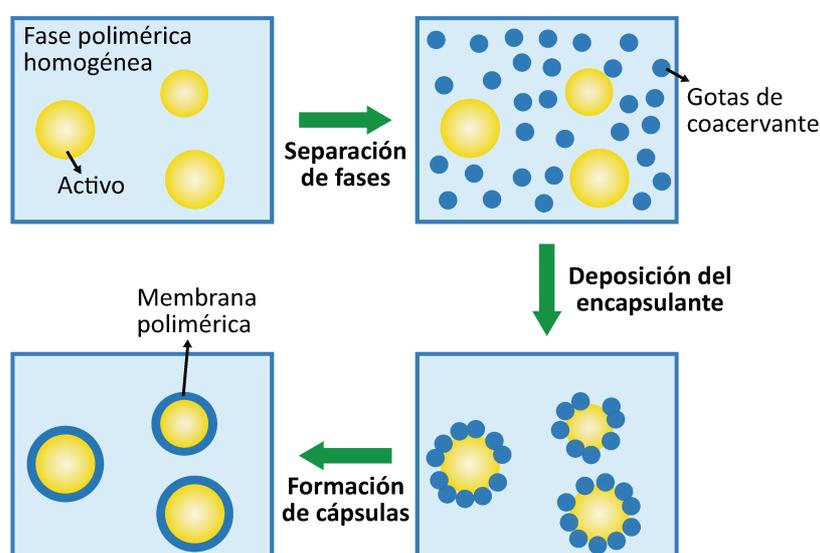


Figura 1.2. Etapas de la encapsulación de activos mediante la técnica de coacervación.

1.2.1.8. Atrapamiento en liposomas

Un liposoma se define como una estructura compuesta de una o más membranas de bicapas lipídicas (por ejemplo, fosfolípidos y colesterol) concéntricas que encierran a un cierto número de compartimientos acuosos o líquidos. Los fosfolípidos se ubican en la capa o capas externas de los liposomas formando cápsulas muy estables, ya que su parte hidrofílica se orienta hacia la fase acuosa, mientras que los grupos hidrofóbicos se asocian con los grupos hidrofóbicos de otros compuestos lipídicos. Suelen tener un tamaño entre 25 nm y varios micrómetros de diámetro (Poshadri y Kuna, 2010).

En la producción de liposomas, se comienza formando una dispersión de fosfolípidos en una solución acuosa de activo. Sin embargo, los liposomas son estructuras termodinámicamente inestables, no se forman espontáneamente en medio acuoso y para su formación se requiere el aporte de energía. El tipo y magnitud de energía utilizada va a depender del tipo de liposoma que se quiera obtener. En

general, se utiliza energía mecánica en forma de ultrasonificación de alta intensidad, homogeneización a alta presión y extrusión (Taylor et al., 2005).

En el área de alimentos, se encapsularon concentrados de enzimas en liposomas que fueron utilizados durante la maduración de quesos duros, así como también para enternecer carnes (Desai y Park, 2005).

Dentro de las principales ventajas de los liposomas se encuentra la estabilidad que le imparte a compuestos solubles en agua en medios con alta actividad de agua, la elevada especificidad para liberar al activo en una determinada parte del alimento, la facilidad de producción y la posibilidad de ser liofilizadas para su conservación (Desai y Park, 2005). Sin embargo, tanto la producción como los materiales requeridos para la obtención de liposomas son costosos.

1.2.2. Materiales encapsulantes

La composición del material encapsulante es el principal determinante de las propiedades funcionales del sistema de encapsulación (Poshadri y Kuna, 2010). Su selección va a depender de las propiedades físicas y químicas del compuesto a encapsular, del proceso de encapsulación y de las propiedades que se pretendan obtener en el sistema de encapsulación. Un encapsulante ideal debería exhibir las siguientes características (Huang et al., 2009; Jackson y Lee, 1991; Poshadri y Kuna, 2010):

- buenas propiedades reológicas a altas concentraciones y fácil manipulación durante el proceso de encapsulación;
- tener la capacidad de dispersar o emulsificar al activo y estabilizar la emulsión producida;
- no reaccionar con el activo ni con otros ingredientes del alimento en el que será incluido;
- contener al activo dentro de su estructura hasta el momento deseado;
- proveer la máxima protección al activo respecto a las condiciones del medio ambiente durante la producción, almacenamiento, transporte y consumo del alimento;
- buena solubilidad en solventes de grado alimentario;
- compatibilidad con la matriz alimenticia en donde va a ser incluido, sin causar efectos adversos en su apariencia, reología, palatabilidad, *flavor* o vida útil;
- económico;
- de grado alimentario.

La mayoría de los materiales encapsulantes usados en la industria alimentaria son biomoléculas. Principalmente son carbohidratos, pero también son muy utilizados lípidos y proteínas (Zuidam y

Nedovic, 2010). En la **Tabla 1.2**, se listan algunos materiales encapsulantes junto con los métodos de encapsulación más empleados.

Tabla 1.2. Materiales encapsulantes más empleados en alimentos (Desai y Park, 2005; Lakkis, 2016).

Categoría	Material encapsulante	Método más usado
Carbohidratos	Almidón, maltodextrinas, quitosano, dextrano, ciclodextrinas, sólidos del jarabe de maíz, almidones modificados	Secado spray, liofilización, extrusión, coacervación
Celulosa	Carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, celuloacetato-ftalato, celuloacetato-butirato-ftalato	Coacervación, secado spray, films erosionables
Gomas	Goma acacia, agar, alginato de sodio, carragenato	Secado spray, extrusión
Lípidos	Cera, parafina, diacilglicérols, aceites, grasas	Emulsión, liposomas, formación de film
Proteínas	Gluten, caseína y casinatos, gelatina, albúmina, péptidos, proteínas de soja	Emulsión, secado spray
Polímeros	Polipropileno, polivinilacetato, poliestireno, polibutadieno	Coacervación

1.2.3. Materiales encapsulados

El material a encapsular puede ser un gas, un material cristalino, una partícula adsorbente irregular, una emulsión, una suspensión de sólidos, una dispersión en líquidos o emulsiones complejas. Es decir que la fase interna puede estar en cualquier estado físico (Jackson y Lee, 1991; Poshadri y Kuna, 2010).

Los materiales relacionados con los alimentos que normalmente son encapsulados son: agentes antimicrobianos, antioxidantes, colores, enzimas, acidulantes, álcalis, buffers, probióticos, *flavors*, levaduras y leudantes químicos, aceites y grasas, vitaminas y minerales, sales, azúcares y gases (Jackson y Lee, 1991; Lakkis, 2016).

1.2.4. Clasificación de los sistemas de encapsulación

Actualmente, una amplia variedad de activos, materiales encapsulantes y tecnologías de encapsulación están comercialmente disponibles para la fabricación de microcápsulas y micropartículas de diferentes tamaños, formas, propiedades morfológicas y costos (Lakkis, 2016).

La arquitectura de los sistemas de encapsulación usualmente se divide en clasificaciones arbitrarias y superpuestas. La más conocida es la que diferencia la estructura tipo reservorio de la estructura tipo monolítica o matriz. La estructura del primer tipo, también llamada cápsula, mononuclear o núcleo-carcaza, consiste en una partícula heterogénea en la que el activo se encuentra formando una fase continua rodeada por una envoltura en forma de membrana de material encapsulante (Fig. 1.3.a). Esta es la morfología más común de sistemas de encapsulación. Su producción suele requerir bajos costos y energía, pero la mayoría de los compuestos activos requieren más que una pared simple debido a su interacción con el material encapsulante (Bamidele y Emmambux, 2020). En la estructura del segundo tipo, el activo se encuentra formando una fase dispersa uniformemente distribuida en una fase sólida homogénea de material encapsulante (Fig. 1.3.d). Además, existen otras variantes y combinaciones entre ambas estructuras. Algunos ejemplos son los reservorios multicapas (Fig. 1.3.b), reservorios multicapa (Fig. 1.3.b), reservorio-matriz (Fig. 1.3.f), estructuras polinucleares tipo matriz (Fig. 1.3.c) o tipo reservorio (Fig. 1.3.e), sistemas con formas irregulares (Fig. 1.3.g) y distintos activos dentro de una misma cápsula (Fig. 1.3.h). Además, se distinguen estructuras tipo coloidosoma (Fig. 1.3.i) y liposoma (Fig. 1.3.j). Los coloidosomas son cápsulas que contienen un núcleo hueco o de hidrogel y sus paredes están formadas

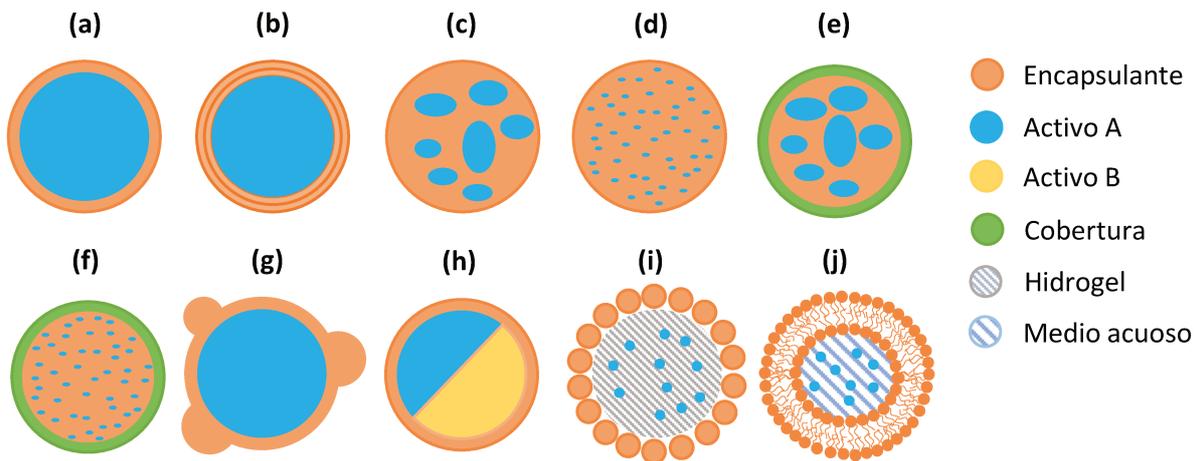


Figura 1.3. Ejemplos de diferentes estructuras de sistemas de encapsulación. (a) Mononuclear, núcleo-carcaza o reservorio, (b) reservorio multicapa, (c) matriz polinuclear, (d) monolito o matriz, (e) reservorio polinuclear, (f) reservorio-matriz, (g) micropartícula irregular, (h) microcápsula de compartimiento dual, (i) coloidosoma y (j) liposoma (Lengyel et al., 2019).

por partículas coloidales ensambladas, mientras que los liposomas son vesículas lipídicas que contiene una o más bicapas de fosfolípidos (Lengyel et al., 2019; Poshadri y Kuna, 2010). Por simplicidad, la **Fig. 1.3** solo muestra sistemas de encapsulación esféricos, pero estos pueden ser cilíndricos, ovoides o de forma irregular.

En la industria de alimentos, la morfología más común es la polinuclear. Esto se debe a que esta técnica permite encapsular dos o más compuestos bioactivos con un solo material encapsulante, lo que reduce costos de producción y consumo de energía. Los sistemas de encapsulación polinuclear son empleados principalmente en bebidas, repostería, carne vacuna y de pollo. Los sistemas de encapsulación tipo matriz también son comunes, ya que permiten la liberación controlada de los activos. Sin embargo, los sistemas multipared no suelen ser empleados por los elevados costos asociados a su producción, ya que requieren diferentes tipos de material encapsulante y técnicas de encapsulación (Bamidele y Emmambux, 2020).

En los sistemas de encapsulación tipo reservorio, las partículas de activo solo deben atravesar una membrana delgada, por lo tanto, la velocidad de liberación será controlada y finita y dependerá principalmente de las propiedades fisicoquímicas del activo y del material encapsulante (espesor, peso molecular, integridad, etc.). En este caso, la cinética de liberación del activo será de orden cero, lo que representa una ventaja frente a los sistemas tipo matriz. Sin embargo, suelen requerir más control de calidad y ser difíciles de fabricar, lo que aumentaría los costos de manufactura (Lengyel et al., 2019).

1.3. Modelado matemático de la cinética de liberación controlada

La liberación controlada puede ser definida como un método en el que uno o más agentes activos o ingredientes quedan disponibles en el sitio y momento deseado a una velocidad específica. Los sistemas de encapsulación pueden ser diseñados para que la liberación controlada del activo sea activada por uno o varios factores desencadenantes que modifican la permeabilidad y estructura de la matriz (Desai y Park, 2005; Lakkis, 2016). Los factores desencadenantes más comunes son una acción mecánica, una acción enzimática, la aplicación de un campo electromagnético, la variación de la temperatura, la variación en el pH, el contacto con un solvente, ultrasonido, entre otros. Además, el proceso de liberación del activo será afectado por las propiedades físicas y químicas tanto del material encapsulado (difusividad, solubilidad, presión de vapor, coeficiente de partición, peso molecular, polaridad) como del encapsulante (espesor, porosidad, inercia química) (Desai y Park, 2005; Jackson y Lee, 1991; Lengyel et al., 2019).

El modelado matemático de la cinética de liberación controlada podría ser una importante herramienta durante el desarrollo y/u optimización de sistemas de encapsulación de activos, ya que permitiría disminuir el número de experimentos necesarios y, en consecuencia, optimizar el tiempo y

los costos (Grassi et al., 2007). Sin embargo, y a pesar de las numerosas aplicaciones de la encapsulación y de las tecnologías de liberación controlada en las distintas industrias, predecir la cinética de liberación de los activos continúa siendo un desafío (Lakkis, 2016). Muchos modelos empíricos, semiempíricos y mecanísticos fueron desarrollados en la industria farmacéutica. Existen pocos modelos disponibles en la literatura que hayan sido desarrollados y/o aplicados en sistemas de encapsulación de ingredientes activos alimenticios.

Los modelos empíricos y semiempíricos no están basados en los fenómenos fisicoquímicos y biológicos involucrados y, por lo tanto, no suelen predecir los efectos producidos por la variación de los parámetros sobre las condiciones del proceso. Sin embargo, estos modelos pueden ser útiles para comparar dos o más perfiles de liberación o cuando faltan conceptos teóricos, la información experimental es limitada y la resolución matemática de modelos mecanísticos resulta muy compleja (Malekjani y Jafari, 2021).

Los modelos mecanísticos tienen una base teórica, brindan información sobre la transferencia de materia y los procesos químicos involucrados durante el transporte y liberación de activos y están fundamentados sobre la evidencia experimental. Por consiguiente, sus parámetros tienen un significado físico y, dándoles un valor adecuado, el modelo puede ser usado para predecir experiencias en diferentes condiciones. En general, el desarrollo de este tipo de modelos consiste en (1) definir los fenómenos estudiados, (2) expresar estos fenómenos en términos matemáticos, (3) validar el modelo resultante con datos experimentales y (4) predecir el comportamiento experimental en diferentes condiciones a las consideradas durante la etapa de validación (Grassi et al., 2007).

1.3.1. Mecanismos de liberación de activos

Considerando un sistema de encapsulación cuyos componentes principales son agua ocluida, el material encapsulante y el activo encapsulado, el proceso de liberación del activo será el resultado de varios mecanismos, tales como la difusión de agua y del activo, la disolución del activo, el hinchamiento y la degradación de la matriz (Siepmann et al., 2012; Vasisht, 2014). Cada uno de ellos tiene el potencial de controlar la cinética de liberación del activo e incluso el mecanismo controlante puede cambiar durante el proceso de liberación (Vasisht, 2014). En la mayoría de las prácticas ingenieriles se considera que uno de ellos es el mecanismo controlante y el que define a la cinética de liberación del activo. Cuando los mecanismos ocurren en serie se asume que el mecanismo controlante será el más lento. En el caso que ocurran en paralelo, el mecanismo más rápido será el que más afecte la cinética de liberación del activo (Morgenroth, 2008).

En el caso de los sistemas de encapsulación tipo matriz, en general, la liberación es controlada por la difusión del activo, que puede ser a través de los poros llenos de agua (**Fig. 1.4.a**) o a través de la matriz intacta (**Fig. 1.4.b**). Además, la difusión de agua dentro del sistema puede causar el

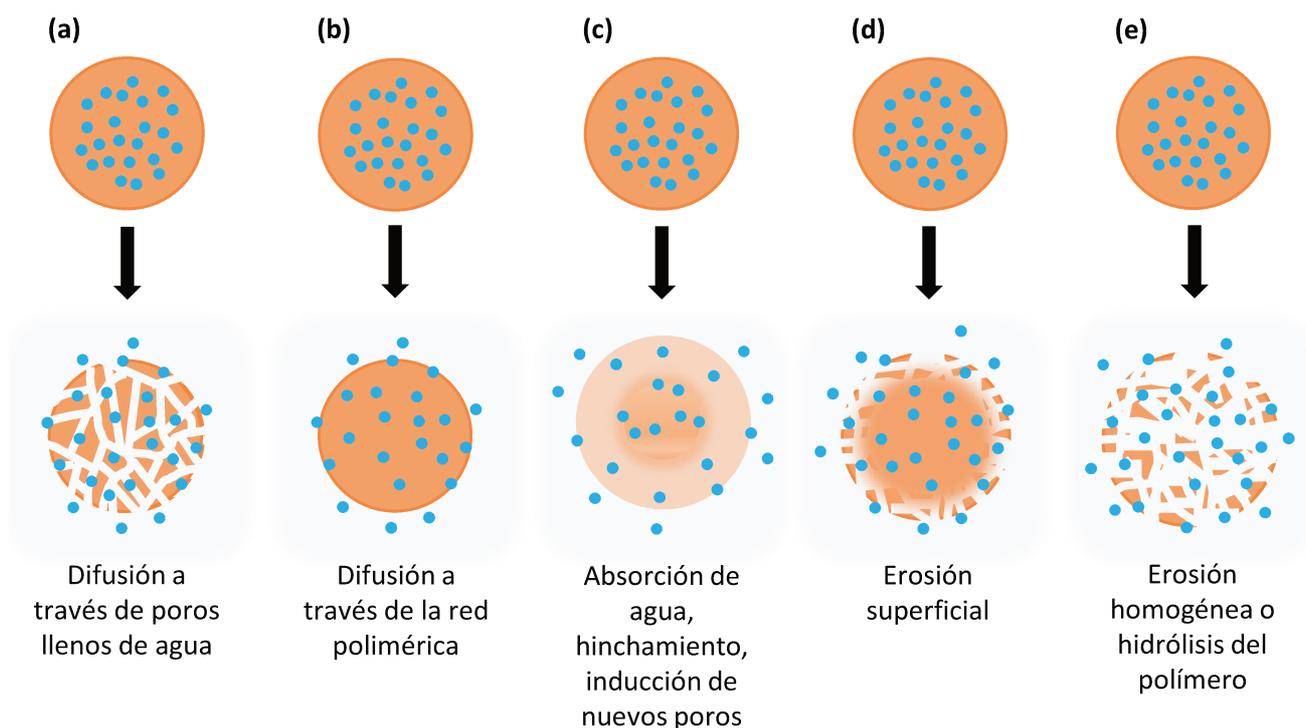


Figura 1.4. Mecanismos más comunes de liberación en sistemas de encapsulación con estructuras tipo monolito (Lengyel et al., 2019).

hinchamiento de la matriz, lo que conlleva a la formación de nuevos poros y/o presión osmótica (**Fig. 1.4.c**). Asimismo, la disolución de la matriz (erosión) puede ser superficial (**Fig. 1.4.d**) u homogénea (**Fig. 1.4.e**). Por otra parte, en este tipo de sistemas de encapsulación, partículas de activo pueden quedar adsorbidas sobre la superficie y serán fácilmente liberados (efecto *burst*), mientras que las partículas que se encuentran dentro de la matriz, serán liberadas lentamente, ya que deben atravesar la matriz previamente. El efecto *burst* puede evitarse aplicando un recubrimiento sobre el sistema de encapsulación o lavándolo para eliminar a las partículas de activo que quedaron adsorbidas sobre la superficie (Lengyel et al., 2019).

En el caso de los sistemas tipo reservorio, la pared encapsulante puede disolverse en el medio (**Fig. 1.5.a**) o actuar como una membrana insoluble en agua, permeable o semipermeable (**Fig. 1.5.b-d**). En el primer caso, el principal mecanismo de liberación es la difusión, mientras que en el caso de recubrimientos semipermeables, la presión osmótica toma importancia (Lengyel et al., 2019).

Para una mejor comprensión del proceso de liberación de activos encapsulados es necesario comprender cada uno de los principales mecanismos involucrados. A continuación, se incluye una descripción de cada uno de ellos.

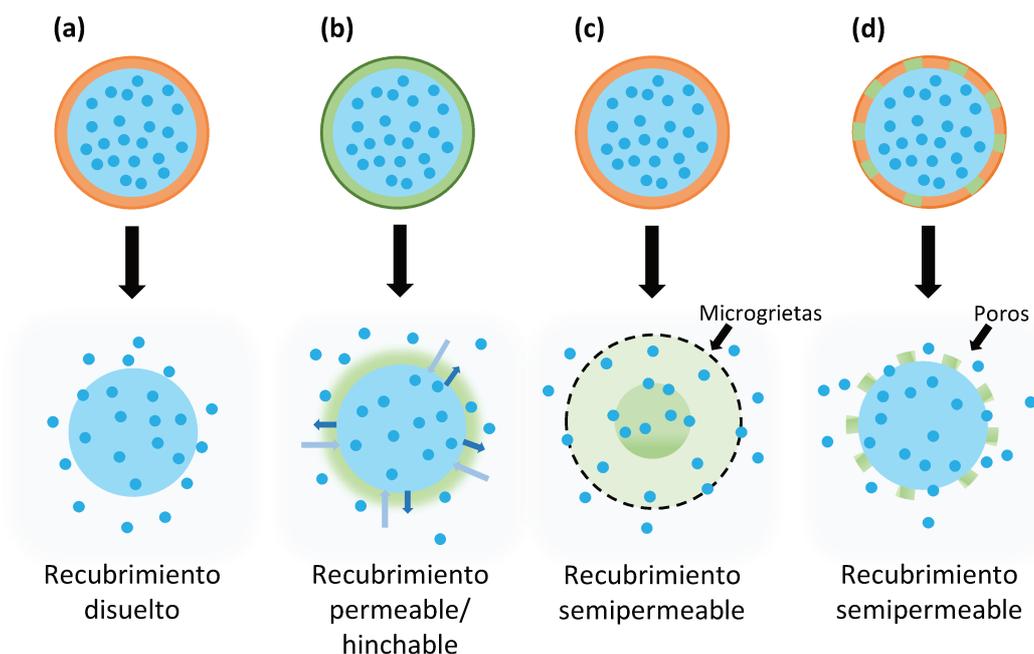


Figura 1.5. Mecanismos más comunes de liberación en sistemas de encapsulación con estructuras tipo reservorio (Lengyel et al., 2019).

1.3.1.1. Difusión

La difusión puede ser definida como el proceso a través del cual las moléculas se transfieren espontáneamente desde una región a otra hasta igualar su potencial químico (Li y Jasti, 2006). La fuerza impulsora para la difusión es el gradiente espacial del potencial químico del activo encapsulado y el activo en el medio de liberación (Nedovic et al., 2011). El proceso de liberación de un activo encapsulado siempre va a tener un componente difusivo porque el activo difunde a través de la membrana encapsulante intacta, hinchada o erosionada (Achenie y Pavurala, 2017; McClements, 2015). Sin embargo, es necesario tener en cuenta que la difusión en una matriz sólida es más complicada que la difusión en un líquido o en un gas. Esto puede deberse a que la difusión en un sólido realmente no ocurre y el compuesto difunde en el líquido contenido dentro de los poros de la matriz y, por lo tanto, dependerá del volumen de solución ocluida (porosidad) y de los patrones de tortuosidad (Varzakas y Tzia, 2015).

La solubilidad del activo en la matriz es una de las propiedades más importantes que afectan al proceso difusivo, ya que a partir de ella se establece la concentración máxima de activo que hay en la matriz y, en consecuencia, la máxima fuerza impulsora de la difusión. Si el activo presenta baja solubilidad o si la velocidad de disolución es muy lenta, solo una pequeña cantidad del activo estará disponible para la difusión (Permanadewi et al., 2019). En este punto toman relevancia la

transición vítrea del material encapsulante y su grado de entrecruzamiento, ya que condicionan tanto su permeabilidad como la solubilidad del activo en ella. Cuando el material encapsulante se encuentra en estado gomoso, el activo puede difundir a través suyo. Sin embargo, cuando se encuentra en estado vítreo actúa como barrera ante la difusión del activo. Respecto al grado de entrecruzamiento del material encapsulante, cuanto mayor es, menor es el volumen libre disponible para la difusión del activo y la velocidad de difusión a través del material encapsulante, será menor (Nedovic et al., 2011; Risch et al., 1995).

1.3.1.2. Hinchamiento

El hinchamiento se define como el aumento en el volumen de la matriz que ocurre cuando se pone en contacto con agua o con otro medio termodinámicamente compatible, debido a la entrada de solvente en los espacios libres entre las cadenas de las macromoléculas (Lenz et al., 2021; Ranga Rao y Padmalatha Devi, 1988). Este mecanismo influye sobre la difusión del activo a través del material encapsulante, ya que el agua actúa como plastificante, haciendo que las cadenas de polímero se relajen y aumente el tamaño de los poros dentro de la matriz (Risch et al., 1995; Siepmann et al., 2012).

En la **Fig. 1.6**, se muestra el efecto de la absorción de agua sobre las cadenas de un polímero hidrofílico. Cuando el sistema está seco (deshidratado), la red polimérica es densa, la movilidad de la macromolécula está restringida y la difusión del activo es limitada. Cuando el sistema se pone

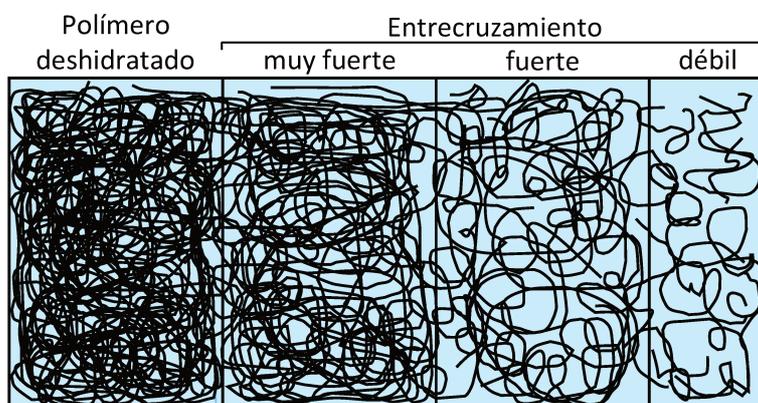


Figura 1.6. Esquema de los niveles de entrecruzamiento del material encapsulante cuando absorbe solvente (Arifin et al., 2006).

en contacto con agua, el solvente ingresa en el sistema disolviendo puntos de entrecruzamientos en el polímero y, como consecuencia, las cadenas se relajan, la movilidad de las macromoléculas y el volumen del sistema aumentan y el activo difunde con mayor facilidad a través de la red polimérica (Arifin et al., 2006; Siepmann et al., 2012). Por lo tanto, la velocidad de liberación del activo va a

depender de la velocidad de hinchamiento y de la velocidad de difusión del agua dentro del sistema (McClements, 2015; Siepmann et al., 2012).

1.3.1.3. Erosión

En primer lugar, se distinguen dos términos utilizados habitualmente para referirse al fenómeno de erosión: *degradación* y *erosión*. El término *degradación* se refiere a una reacción de escisión de la cadena polimérica y ruptura de enlaces (proceso químico), mientras que *erosión* designa a la pérdida de material polimérico como monómeros u oligómeros (proceso químico y físico). Es decir que *erosión* es un término más general e incluye a la degradación (Arifin et al., 2006).

Por un lado, la erosión de la matriz puede ocurrir por razones físicas o químicas. Bajo ciertas condiciones fisiológicas, la absorción de agua por parte del sistema de encapsulación puede producir la hidrólisis de los enlaces lábiles al agua del material encapsulante y romper las cadenas poliméricas. Este fenómeno también puede ocurrir debido a la presencia de enzimas o reacciones químicas en sitios particulares del polímero. Por otro lado, en matrices entrecruzadas físicamente, la erosión usualmente se debe al desentrecruzamiento de las cadenas, inducido por el hinchamiento de la matriz y las condiciones en el medio de liberación. Por lo tanto, las características propias del material encapsulante van a condicionar la cinética de erosión de la matriz (Grassi et al., 2007).

La erosión se puede clasificar en dos tipos: heterogénea y homogénea. La erosión heterogénea o superficial tiene lugar sobre la superficie externa del sistema de encapsulación y produce una disminución de su tamaño (**Fig. 1.4.d**). Ocurre cuando la penetración del fluido externo es más lenta que la erosión del polímero. Mientras que en la erosión homogénea, el fluido externo penetra dentro del sistema de encapsulación provocando la degradación de la matriz (**Fig. 1.4.e**). En este caso, el tamaño del sistema de encapsulación permanece constante y la penetración del fluido externo es más rápida que la erosión del polímero. La manera en que un sistema de encapsulación se erosiona depende de las características del polímero que constituye la matriz. En decir, un polímero con grupos funcionales reactivos se degradará rápido y se esperaría que experimente una erosión superficial. Por el contrario, un polímero con menos grupos funcionales reactivos tenderá a degradarse más lentamente y se esperaría que la erosión sea homogénea (Arifin et al., 2006; Grassi et al., 2007).

Cuando en la matriz predomina la erosión superficial, la cinética de liberación del activo es más fácil de controlar (Atif et al., 2019). En sistemas con geometría plana, la cinética de liberación del activo será aproximadamente de orden cero, mientras que en cilindros y esferas la velocidad de liberación irá disminuyendo en el tiempo debido a la reducción del área externa (Siepmann et al., 2012). Sin embargo, es casi imposible lograr una erosión superficial pura.

En sistemas de encapsulación que presentan erosión homogénea, la cinética de liberación del activo

suele presentar tres etapas. La primera corresponde a la liberación del activo que está sobre la superficie del sistema o desde los poros que están conectados a la superficie (efecto *burst*). Durante la segunda etapa, el sistema permanece en un estado latente en el que existe una pequeña erosión de la matriz, pero la formación de poros no resulta suficiente y el activo remanente continúa encapsulado. En la tercera etapa, el activo es liberado rápidamente por la desintegración de la matriz (Siepmann et al., 2012).

1.3.2. Modelos disponibles en la literatura

Como se mencionó en la **Sección 1.2**, uno de los objetivos más importantes que persigue la encapsulación de activos alimentarios es su liberación en forma controlada, en el sitio adecuado del tracto gastrointestinal. En consecuencia, resulta útil contar con modelos teóricos y matemáticos que permitan describir y predecir los perfiles de liberación de activos encapsulados (McClements, 2015). En la literatura se encuentran numerosos modelos de liberación controlada de fármacos. Sin embargo, los modelos desarrollados para sistemas de encapsulación de activos alimentarios son escasos (Chiarappa et al., 2018a; Fathi et al., 2013a,b). No obstante, debido a las similitudes entre las aplicaciones de la liberación controlada en alimentos y productos farmacológicos, algunos de los modelos para predecir perfiles de liberación de fármacos fueron usados con éxito para modelar la cinética de la liberación controlada de nutrientes en sistemas alimenticios (Malekjani y Jafari, 2021).

1.3.2.1. Modelos de liberación controlada por la difusión

Normalmente, se considera que la liberación de activos es controlada por la difusión en sistemas en que la erosión tiene un efecto marginal y hay poco hinchamiento o este ocurre en forma prácticamente instantánea (Abdekhodaie y Cheng, 1996). La cinética de liberación de activos en este tipo de sistemas puede ser descrita por la segunda ley de Fick (Achenie y Pavurala, 2017). Crank (1975) encontró las soluciones analíticas de la segunda ley de Fick para sistemas de geometrías regulares y coeficiente de difusión constante para distintas condiciones de contorno. Este autor también propuso soluciones numéricas para las situaciones en que el coeficiente de difusión varía con la concentración de soluto. Asimismo, debido a la heterogeneidad y complejidad química y estructural de las matrices, los coeficientes de difusión moleculares se pueden reemplazar por coeficientes de difusión efectivos. De esta forma, se describe la transferencia de materia neta e incorpora el efecto de la porosidad y tortuosidad de la matriz (Grassi et al., 2007; Varzakas y Tzia, 2015).

Los modelos que se encuentran en la literatura, se clasifican según el tipo de sistema de encapsulación para el que fueron desarrollados, es decir, sistemas tipo reservorio o sistemas tipo matriz. Dentro de los últimos, a su vez se clasifican según la concentración inicial de activo encapsulado sea menor o

mayor a su solubilidad en la matriz, es decir, sistemas de activo disuelto o sistemas de activo disperso.

Arifin et al. (2006) plantearon la segunda ley de Fick para un sistema tipo reservorio (**Fig. 1.3.a**) y hallaron el perfil de activo en la membrana de material encapsulante y su perfil de liberación, considerando que dentro del reservorio la concentración de activo es constante y el volumen del medio circundante es grande. Concluyeron que para tiempos lo suficientemente grandes, el perfil de liberación del activo sigue una cinética de orden cero en este tipo de sistemas. Sin embargo, esto solo es válido en un cierto rango de tiempo debido a que la concentración de activo en el reservorio no es infinita y el proceso difusivo prevalece dentro de un cierto límite de tiempo. Siepmann y Siepmann (2012) ampliaron las soluciones a otras geometrías y consideraron una concentración de activo variable en el tiempo.

Los sistemas matriciales (**Fig. 1.3.d**) en los que la concentración inicial de activo es menor a su solubilidad en la matriz, son comúnmente descriptos como sistemas de activo disuelto. Paul y McSpadden (1976) y Arifin et al. (2006) consideraron que el activo estaba uniformemente distribuido en la matriz. Estos autores aplicaron la ecuación de la segunda ley de Fick y consideraron válidas las soluciones propuestas por Crank (1975).

En el caso de sistemas matriciales en los que la concentración inicial de activo es mayor a su solubilidad en la matriz, se los llama sistemas de activo disperso. Inicialmente, Higuchi (1961) planteó un modelo para sistemas de matriz homogénea y geometría plana, considerando al coeficiente de difusión del activo en la matriz constante, condición de contorno de sumidero perfecto y estado pseudo-estacionario. El mismo autor halló una expresión sencilla en la que la cantidad de activo liberado resulta proporcional a la raíz cuadrada de la concentración del activo, de su solubilidad, del coeficiente de difusión y del tiempo. Luego, extendió el modelo para sistemas con matriz granular y para sistemas de geometría esférica (Higuchi, 1963). Varias mejoras se introdujeron al modelo de Higuchi. Cohen y Erneux (1998) incorporaron una solubilidad de activo variable en el tiempo. Por su parte, Abdekhodaie y Cheng (1996) diferenciaron una región de activo no disuelto (región no difusiva) y una región de activo disuelto (región difusiva), separadas por una interfase móvil. En consecuencia, encontraron una solución analítica exacta de la cinética de liberación desde un sistema esférico planteando la segunda ley de Fick con condiciones de contorno móviles y considerando condición de sumidero perfecto. Asimismo, extendieron su modelo a sistemas dentro de un volumen exterior con valor finito (Abdekhodaie y Cheng, 1997). Harland et al. (1988) propusieron un modelo resolviendo la ecuación de difusión para el activo con diferentes condiciones de contorno, con coeficiente de difusión constante e incluyeron la cinética de disolución del activo y la porosidad de la matriz.

Algunos de estos modelos fueron usados para ajustar datos de la liberación de activos alimentarios. El modelo de Higuchi (1961) fue implementado en la liberación de varios flavonoides, como quercetina,

epicatequina, reverastrol y ácido gálico (Flores y Kong, 2017). Por su parte, el modelo de Higuchi (1963) fue aplicado en la liberación de pimienta negra desde una matriz de β -lactoglobulina/alginato de sodio, etilvainillina encapsulada en etilcelulosa y vitaminas hidrosolubles en quitosano (Eltayeb et al., 2015; Estevinho y Rocha, 2017).

En este punto, cabe mencionar que Fathi et al. (2013a) desarrolló un modelo celular-autómata para representar la difusión de un flavonoide (hesperetina) desde una matriz lipídica.

1.3.2.2. Modelos de liberación controlada por el hinchamiento

Los sistemas de encapsulación en los que la cinética de liberación del activo se considera controlada por el hinchamiento, suelen estar constituidos por un material encapsulante polimérico entrecruzado en forma covalente o con un fuerte entrecruzamiento físico. En estos casos, el activo es liberado de las partículas cuando ellas absorben solvente del medio circundante y se hinchan durante un cierto período de tiempo (tiempo de relajación), mientras que la erosión de la matriz suele ocurrir más lentamente y, por lo tanto, su efecto puede despreciarse (Grassi et al., 2007).

En sistemas de encapsulación que se encuentran en estado vítreo (tiempos de relajación largos) o gomoso (tiempos de relajación cortos) durante todo el proceso de liberación, como se mencionó previamente, la cinética de absorción de agua y de liberación del activo pueden ser descritas con la segunda ley de Fick. Si el sistema se encuentra inicialmente en estado vítreo y cuando empieza a absorber solvente se genera una región gomosa de concentración de solvente constante, cuya interfase con la región vítrea se desplaza hacia el interior del sistema a una velocidad constante, se dice que la sorción es Caso II. Fenomenológicamente, se caracteriza porque el perfil de absorción de solvente es lineal. En situaciones intermedias, entre el comportamiento Fickiano y el Caso II, se encuentra el comportamiento anómalo. En este caso, el sistema está inicialmente en estado vítreo, pero la cinética de absorción de solvente no es lineal y la velocidad de desplazamiento de la interfase y la concentración en la región gomosa no son constantes (Astarita y Sarti, 1978; Camera-Roda y Sarti, 1986). El número adimensional de Deborah (De), es usado normalmente para caracterizar el comportamiento viscoelástico del sistema. El De se define como la relación entre el tiempo característico de relajación y el tiempo de difusión del solvente. Por lo tanto, si el tiempo de relajación es mayor que el tiempo de difusión ($De \gg 1$), el sistema se comportará según el Caso II. Por el contrario, si el tiempo de relajación es menor que el de difusión ($De \ll 1$), la cinética de absorción de agua mostrará un comportamiento Fickiano (Camera-Roda y Sarti, 1986; Grassi et al., 1998; Vrentas et al., 1975).

Usualmente, el modelado matemático de la liberación de activos desde una matriz hinchable implica plantear y resolver los balances de materia para el solvente que entra a la matriz desde el medio y el activo que se está liberando. Además se incorporan una expresión que tiene en cuenta la cinética de

hinchamiento de la matriz mientras el solvente está entrando y sus propiedades viscoelásticas (Grassi et al., 2007).

Algunos modelos incorporaron los cambios estructurales en la matriz producidos durante la absorción de solvente y su hinchamiento a través de la variación del coeficiente de difusión. Crank (1953) propuso inicialmente una dependencia del coeficiente de difusión con las tensiones internas y, posteriormente, con la concentración de solvente en la matriz (Crank, 1975). Korsmeyer et al. (1986) usaron este enfoque e incorporaron el cambio de volumen del sistema debido al hinchamiento como una función de la concentración de solvente. Este modelo semi-empírico representado por una función potencial, es ampliamente usado en sistemas de encapsulación de activos alimentarios (Estevinho y Rocha, 2017; Flores y Kong, 2017; Malekjani y Jafari, 2021).

Astarita y Sarti (1978) desarrollaron un modelo para la absorción de solvente en un sistema de geometría plana e inicialmente en estado vítreo. Consideraron la formación de una interfase vítreo-gomosa dependiente de la concentración de solvente y resolvieron las ecuaciones de balance con condiciones de contorno móviles. Cohen y Erneux (1988) combinaron el modelo de Astarita y Sarti (1978) para la absorción de solvente con el modelo de Higuchi (1961) para hallar una expresión de la cinética de liberación del activo que incluyera el efecto del hinchamiento. Peppas et al. (1980) también desarrollaron un modelo para geometría plana, considerando condiciones de contorno móviles, incluyendo el cambio de volumen del sistema como una función de la concentración de solvente.

Por su parte, Lin y Peng (2005) plantearon el problema con la ley de Fick, con coeficiente de difusión constante, pero en un dominio de contorno móvil. Esto les permitió considerar el cambio de volumen del sistema y su efecto sobre los perfiles de absorción de agua y de liberación del activo.

Camera-Roda y Sarti (1986) plantearon el problema del Caso II y comportamiento anómalo al incluir un término que considera al gradiente de tensiones dentro del balance de materia para el solvente. Además, consideraron que el coeficiente de difusión y el tiempo de relajación de la matriz variaban con la concentración del solvente dentro del sistema. Cohen y White (1989) y Fong et al. (1998) plantearon un modelo similar, incluyendo el comportamiento viscoelástico de la matriz a través de la ecuación de Maxwell y la ecuación de Jeffreys. Estos modelos matemáticos fueron desarrollados para describir la cinética de absorción del agua y el comportamiento de la matriz. Posteriormente, fueron incluidos en modelos para describir la cinética de liberación de activos desde matrices viscoelásticas (Grassi et al., 1998; Wu y Brazel, 2008).

1.3.2.3. Modelos de liberación controlada por la erosión

La cinética de liberación de un activo puede considerarse que es controlada por la erosión cuando la matriz del sistema se degrada en forma controlada al entrar en contacto con el solvente y el

hinchamiento es instantáneo o despreciable durante el proceso de liberación (Li y Jasti, 2006).

Como se mencionó en la **Sección 1.3.1**, existen dos escenarios ideales en la erosión de la matriz: la erosión heterogénea (superficial) y la erosión homogénea. Con la finalidad de determinar qué tipo de erosión va a experimentar determinado polímero, von Burkersroda et al. (2002) definieron el número de erosión (ε). Este parámetro es la relación entre los tiempos característicos de difusión de agua dentro de la matriz y de la degradación de la matriz. Si el valor del número de erosión es mayor que uno, la reacción entre el agua y el polímero es rápida respecto a la difusión de agua y la matriz se erosionará en forma homogénea. Por el contrario, si el número de erosión es menor a uno, la degradación de la matriz será más lenta que la difusión de agua y la erosión de la matriz será heterogénea.

En general, los modelos de liberación de activos controlados por la erosión se plantean en base al balance de materia de los componentes del sistema y a una reacción química que representa a la degradación del polímero de la matriz.

Varios autores modificaron los modelos disponibles para la liberación de activos controlada por la difusión e incluyeron el efecto de la erosión homogénea de la matriz al considerar un coeficiente de difusión variable y dependiente del peso molecular del polímero que conforma la matriz (He et al., 2005; Heller, 1980; Wada et al., 1995).

Lee (1980) propuso un modelo para representar la liberación de un activo desde una matriz plana que se erosiona en forma heterogénea. Para plantear los balances, consideró dos fronteras móviles. Una frontera representa un frente de difusión del activo y la otra un frente de erosión de la matriz y para su resolución usó un método integral. Sin embargo, no tuvo en cuenta la absorción de solvente. Thombre y Himmelstein (1984) plantearon un modelo similar, pero para su resolución consideraron la aproximación de estado pseudo-estacionario. Posteriormente, plantearon un modelo de liberación desde una matriz que se erosiona en forma homogénea (Thombre y Himmelstein, 1985). En este caso, los autores plantearon las ecuaciones de balance tanto para el agua, como para el activo y la matriz, con coeficientes de difusión variables y consideraron a la degradación de la matriz como una reacción de hidrólisis auto-catalítica.

Hopfenberg (1976) obtuvo expresiones simples para describir la liberación de activos controlada por la erosión heterogénea. El autor propuso que el único mecanismo por el que se libera el activo desde la matriz es por erosión heterogénea. La erosión fue planteada como una reacción de orden cero y se consideró el efecto del cambio de tamaño del sistema. Se hallaron expresiones analíticas para matrices planas, esféricas y cilíndricas.

Rothstein et al. (2009) desarrollaron un modelo para predecir la cinética de liberación de activos desde una matriz que puede erosionarse en forma homogénea, heterogénea o puede experimentar una transición entre ambos tipos de erosión durante su degradación. Estos autores plantearon los balances

de materia para el solvente que ingresa desde el medio, para el activo disuelto y no disuelto, y para el polímero de la matriz que se degrada siguiendo una cinética de hidrólisis auto-catalizada de primer orden.

El modelo que tiene en cuenta a la erosión más empleado para ajustar perfiles de liberación de activos en alimentos, es la ecuación de Weibull (Estevinho y Rocha, 2017; Flores y Kong, 2017; Malekjani y Jafari, 2021). Esta ecuación es empírica y fue utilizada para describir y ajustar perfiles de liberación de fármacos (Arifin et al., 2006).

1.3.2.4. Modelos de liberación que consideran varios mecanismos simultáneamente

En la literatura se encuentran relativamente pocos modelos que consideren a todos los mecanismos de liberación en forma simultánea.

Siepmann et al. (1999) consideraron un sistema de liberación de un activo desde un sistema hinchable y erosionable de geometría cilíndrica. Consideraron que el sistema se erosiona en forma superficial, una condición de sumidero perfecto y coeficientes de difusión variables. Tanto el hinchamiento como la erosión fueron incluidos al definir condiciones de contorno móviles y volumen variable del sistema. Para su resolución, los autores supusieron que el volumen del sistema es igual a la suma de los volúmenes de sus componentes, que el volumen de solvente absorbido en las direcciones radial y axial contribuyen al hinchamiento en esas direcciones y que la velocidad de erosión de la matriz es una función lineal con el tiempo. Posteriormente, Lamberti et al. (2011) propusieron un modelo similar para una matriz de geometría esférica y cilíndrica, pero supusieron que la variación del volumen del sistema en el tiempo es la diferencia entre el aumento de volumen debido al hinchamiento y su disminución debido a la erosión. Definieron a la velocidad de hinchamiento en función del gradiente de concentración de solvente, mientras que a la velocidad de erosión la consideraron constante.

Ferreira et al. (2014) plantearon un modelo de liberación de activos desde una matriz de geometría cilíndrica. El mismo incluyó los fenómenos de difusión e hinchamiento a través de un planteo similar al propuesto por Cohen y White (1989). Además, consideraron coeficientes de difusión y volumen del sistema variables. Chiarappa et al. (2018a) usaron este modelo, sin considerar la variación del volumen del sistema, para representar la liberación de ácido ascórbico desde un film de pectina hacia un gel de agar, simulando un alimento.

Por un lado, Azhdari et al. (2016) incorporaron al modelo de Ferreira et al. (2014) el efecto de la erosión al incluir el modelo de Rothstein et al. (2009), aunque no consideraron volumen variable. Por otro lado, Chiarappa et al. (2018b) ampliaron el modelo de Ferreira et al. (2014) al incorporar en el balance de materia del activo un flujo convectivo generado por las tensiones desarrolladas en la matriz por la absorción de solvente desde el medio.

Caccavo et al. (2015) obtuvieron un modelo para la liberación de activos desde una matriz de geometría plana e incluyeron los fenómenos de difusión, hinchamiento y erosión. Para su resolución consideraron condiciones de sumidero perfecto, que el sistema no cambia de volumen, que la erosión se debe a la interacción del polímero con el solvente y que el hinchamiento y la erosión deforman el dominio del sistema.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

El objetivo general de esta Tesis fue estudiar los fenómenos de transferencia de materia de componentes activos de interés para la industria alimentaria tanto para su protección como para su liberación en el sitio deseado mediante modelos con base mecánica.

1.4.2. Objetivos específicos

En base al objetivo general, se propusieron como objetivos específicos:

- Estudiar los principales fenómenos de transferencia en un sistema de encapsulación alimentario a través de modelos sencillos desarrollados para predecir la liberación controlada de fármacos.
- Desarrollar y validar un modelo matemático mecánico que permita predecir la cinética de liberación en condiciones gastrointestinales de un activo alimentario encapsulado considerando simultáneamente varios fenómenos de transferencia (por ejemplo, difusión molecular, disolución del activo, evolución de tensiones y erosión de la matriz encapsulante).
- Completar la descripción matemática mediante la determinación experimental de los parámetros necesarios para caracterizar los fenómenos de transferencia inherentes al sistema alimentario estudiado.
- Analizar el comportamiento de un sistema de encapsulación a través de la sensibilidad de las principales variables asociadas con la liberación del activo, a cambios en los parámetros característicos de los fenómenos involucrados.

1.5. Bibliografía

Abdekhodaie, M. y Cheng, Y.L. (1996). Diffusional release of a dispersed solute from a spherical polymer matrix. *Journal of Membrane Science*, 115(2):171–178. doi:10.1016/0376-7388(96)00018-X.

- Abdekhodaie, M. y Cheng, Y.L. (1997). Diffusional release of a dispersed solute from planar and spherical matrices into finite external volume. *Journal of Controlled Release*, 43(2-3):175–182. doi:10.1016/S0168-3659(96)01482-4.
- Abdul Mudalip, S., Khatiman, M., Hashim, N., Che Man, R. y Arshad, Z. (2021). A short review on encapsulation of bioactive compounds using different drying techniques. *Materials Today: Proceedings*, 42:288–296. doi:10.1016/j.matpr.2021.01.543.
- Achenie, L. y Pavurala, N. (2017). Modelling of drug release from a polymer matrix system. *Novel Approaches Drug Designing & Development*, 2(3):1–10.
- Arepally, D., Reddy, R.S. y Goswami, T.K. (2020). Studies on survivability, storage stability of encapsulated spray dried probiotic powder. *Current Research in Food Science*, 3:235–242. doi:10.1016/j.crfs.2020.09.001.
- Arifin, D.Y., Lee, L.Y. y Wang, C.H. (2006). Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13):1274–1325. doi:10.1016/j.addr.2006.09.007.
- Arpagaus, C., Collenberg, A., Rütli, D., Assadpour, E. y Jafari, S.M. (2018). Nano spray drying for encapsulation of pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, 546(1-2):194–214. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.05.037.
- Astarita, G. y Sarti, G.C. (1978). A class of mathematical models for sorption of swelling solvents in glassy polymers. *Polymer Engineering and Science*, 18(5):388–395. doi:10.1002/pen.760180510.
- Atif, R., Yahya, I. y Eltayeb, M. (2019). Simulation of drug release from biodegradable and erodible polymers. En *2019 International Conference on Computer, Control, Electrical, and Electronics Engineering (ICCCEEE)*. IEEE, Khartoum, Sudan, pp. 1–6. doi:10.1109/ICCCEEE46830.2019.9071247.
- Augustin, M. y Sanguansri, L. (2015). Introduction to microencapsulation of functional ingredients in food products. En *Food Products World Congress on Oils & Fats and 31st Lectureship Series*. Rosario, Argentina.
- Azhdari, E., Ferreira, J.A., de Oliveira, P. y da Silva, P.M. (2016). Numerical and analytical study of drug release from a biodegradable viscoelastic platform. *Mathematical Methods in the Applied Sciences*, 39(16):4688–4699. doi:10.1002/mma.3375.
- Bamidele, O.P. y Emmambux, M.N. (2020). Encapsulation of bioactive compounds by “extrusion” technologies: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*:1–19. doi:10.1080/10408398.2020.1793724.

- Caccavo, D., Cascone, S., Lamberti, G. y Barba, A.A. (2015). Modeling the drug release from hydrogel-based matrices. *Molecular Pharmaceutics*, 12(2):474–483. doi:10.1021/mp500563n.
- Camera-Roda, G. y Sarti, G.C. (1986). Non-fickian mass transport through polymers: A viscoelastic theory. *Transport Theory and Statistical Physics*, 15(6-7):1023–1050. doi:10.1080/00411458608212729.
- Chiarappa, G., De’Nobili, M.D., Rojas, A.M., Abrami, M., Lapasin, R., Grassi, G., Ferreira, J.A., Gudiño, E., de Oliveira, P. y Grassi, M. (2018a). Mathematical modeling of L-(+)-ascorbic acid delivery from pectin films (packaging) to agar hydrogels (food). *Journal of Food Engineering*, 234:73–81. doi:10.1016/j.jfoodeng.2018.04.011.
- Chiarappa, G., Abrami, M., Farra, R., Dapas, B., Grassi, G. y Grassi, M. (2018b). Drug delivery from polymeric matrices. En D. Manca (Ed.), *Quantitative systems pharmacology models and model-based systems with applications, computer aided chemical engineering*, vol. 42. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 325–356. doi:10.1016/B978-0-444-63964-6.00011-8.
- Cohen, D.S. y Erneux, T. (1988). Free boundary problems in controlled release pharmaceuticals. I: Diffusion in glassy polymers. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 48(6):1451–1465. doi:10.1137/0148089.
- Cohen, D.S. y Erneux, T. (1998). Controlled drug release asymptotics. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 58(4):1193–1204. doi:10.1137/S0036139995293269.
- Cohen, D.S. y White, A.B. (1989). Sharp fronts due to diffusion and stress at the glass transition in polymers. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 27(8):1731–1747. doi:10.1002/polb.1989.090270811.
- Crank, J. (1953). A theoretical investigation of the influence of molecular relaxation and internal stress on diffusion in polymers. *Journal of Polymer Science*, 11(2):151–168. doi:10.1002/pol.1953.120110206.
- Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion*. Clarendon Press, Oxford, UK, 2da ed.
- Delshadi, R., Bahrami, A., Tafti, A.G., Barba, F.J. y Williams, L.L. (2020). Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles. *Trends in Food Science & Technology*, 104:72–83. doi:10.1016/j.tifs.2020.07.004.
- Desai, K.G.H. y Park, H.J. (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying Technology*, 23(7):1361–1394. doi:10.1081/DRT-200063478.

- Eltayeb, M., Stride, E. y Edirisinghe, M. (2015). Preparation, characterization and release kinetics of ethylcellulose nanoparticles encapsulating ethylvanillin as a model functional component. *Journal of Functional Foods*, 14:726–735. doi:10.1016/j.jff.2015.02.036.
- Estevinho, B.N. y Rocha, F. (2017). Kinetic models applied to soluble vitamins delivery systems prepared by spray drying. *Drying Technology*, 35(10):1249–1257. doi:10.1080/07373937.2016.1242015.
- Fangmeier, M., Lehn, D.N., Maciel, M.J. y Volken de Souza, C.F. (2019). Encapsulation of bioactive ingredients by extrusion with vibrating technology: Advantages and challenges. *Food and Bioprocess Technology*, 12(9):1472–1486. doi:10.1007/s11947-019-02326-7.
- Fathi, M., Mohebbi, M., Varshosaz, J. y Shahidi, F. (2013a). Cellular automata modeling of hesperetin release phenomenon from lipid nanocarriers. *Food and Bioprocess Technology*, 6(11):3134–3142. doi:10.1007/s11947-012-0995-2.
- Fathi, M., Varshosaz, J., Mohebbi, M. y Shahidi, F. (2013b). Hesperetin-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructure lipid carriers for food fortification: Preparation, characterization and modeling. *Food and Bioprocess Technology*, 6(6):1464–1475. doi:10.1007/s11947-012-0845-2.
- Ferreira, J.A., Grassi, M., Gudiño, E. y de Oliveira, P. (2014). A 3D model for mechanistic control of drug release. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 74(3):620–633. doi:10.1137/130930674.
- Flores, F.P. y Kong, F. (2017). In vitro release kinetics of microencapsulated materials and the effect of the food matrix. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8(1):237–259. doi:10.1146/annurev-food-030216-025720.
- Fong, C.F.C.M., Moresoli, C., Xiao, S., Li, Y., Bovenkamp, J. y De Kee, D. (1998). Modeling diffusion through geomembranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 67(11):1885–1889. doi:10.1002/(SICI)1097-4628(19980314)67:11<1885::AID-APP7>3.0.CO;2-H.
- Foroughi-Dahr, M., Mostoufi, N., Sotudeh-Gharebagh, R. y Chaouki, J. (2017). Particle coating in fluidized beds. En *Reference module in chemistry, molecular sciences and chemical engineering*. Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-409547-2.12206-1.
- Gonnet, M., Lethuaut, L. y Boury, F. (2010). New trends in encapsulation of liposoluble vitamins. *Journal of Controlled Release*, 146(3):276–290. doi:10.1016/j.jconrel.2010.01.037.
- Grassi, M., Grassi, G., Lapasin, R. y Colombo, I. (2007). *Understanding drug release and absorption mechanisms: A physical and mathematical approach*. CRC Press, Boca Raton, USA.

- Grassi, M., Lapasin, R. y Priel, S. (1998). Modeling of drug release from a swellable matrix. *Chemical Engineering Communications*, 169(1):79–109. doi:10.1080/00986449808912722.
- Harland, R.S., Dubernet, C., Benoît, J.P. y Peppas, N.A. (1988). A model of dissolution-controlled, diffusional drug release from non-swellable polymeric microspheres. *Journal of Controlled Release*, 7(3):207–215. doi:10.1016/0168-3659(88)90053-3.
- He, J., Zhong, C. y Mi, J. (2005). Modeling of drug release from bioerodible polymer matrices. *Drug Delivery*, 12(5):251–259. doi:10.1080/10717540500176043.
- Heller, J. (1980). Theory and practice of controlled drug delivery from bioerodible polymers. En R. Baker (Ed.), *Controlled release of bioactive materials*. Academic Press, Inc., New York, USA, 1era ed.
- Higuchi, T. (1961). Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(10):874–875. doi:10.1002/jps.2600501018.
- Higuchi, T. (1963). Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52(12):1145–1149. doi:10.1002/jps.2600521210.
- Hopfenberg, H.B. (1976). Controlled release from erodible slabs, cylinders, and spheres. En *Controlled release polymeric formulations*, vol. 33. American Chemical Society, Washington DC, USA, pp. 26–32. doi:10.1021/bk-1976-0033.ch003.
- Huang, Q., Given, P., Qian, M. y Society, A.C. (Eds.) (2009). *Micro/nanoencapsulation of active food ingredients*. No. 1007 en ACS symposium series, American Chemical Society, Washington DC, USA.
- Jackson, L. y Lee, K. (1991). Microencapsulation and the food industry. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 24:289–297.
- King, A.H. (1995). Encapsulation of food ingredients. A review of available technology, focusing on hydrocolloids. En *Encapsulation and controlled release of food Ingredients*, ACS Symposium Series, vol. 590, cap. 3. American Chemical Society, pp. 26–39. doi:10.1021/bk-1995-0590.ch003.
- Korsmeyer, R.W., Lustig, S.R. y Peppas, N.A. (1986). Solute and penetrant diffusion in swella-ble polymers. I. Mathematical modeling. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 24(2):395–408. doi:10.1002/polb.1986.090240214.
- Lakkis, J.M. (Ed.) (2016). *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 2da ed.

- Lamberti, G., Galdi, I. y Barba, A.A. (2011). Controlled release from hydrogel-based solid matrices. A model accounting for water up-take, swelling and erosion. *International Journal of Pharmaceutics*, 407(1-2):78–86. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.01.023.
- Lee, P. (1980). Diffusional release of a solute from a polymeric matrix—approximate analytical solutions. *Journal of Membrane Science*, 7(3):255–275. doi:10.1016/S0376-7388(00)80472-X.
- Lengyel, M., Kállai-Szabó, N., Antal, V., Laki, A.J. y Antal, I. (2019). Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery. *Scientia Pharmaceutica*, 87(3):20. doi:10.3390/scipharm87030020.
- Lenz, J., Bunjes, H., Kwade, A. y Juhnke, M. (2021). An improved method for the simultaneous determination of water uptake and swelling of tablets. *International Journal of Pharmaceutics*, 595:120229. doi:10.1016/j.ijpharm.2021.120229.
- Li, X. y Jasti, B.R. (2006). *Design of controlled release drug delivery systems*. McGraw-Hill chemical engineering, McGraw-Hill, New York, USA. doi:10.1036/0071417591.
- Li, Y.O. (2009). *Development of microencapsulation-based technologies for micronutrient fortification in staple foods for developing countries*. PhD thesis, University of Toronto, Toronto, Canadá.
- Lin, J.S. y Peng, Y.L. (2005). Swelling controlled release of drug in spherical polymer-penetrant systems. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 48(6):1186–1194. doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2004.08.031.
- Malekjani, N. y Jafari, S.M. (2021). Modeling the release of food bioactive ingredients from carriers/nanocarriers by the empirical, semiempirical, and mechanistic models. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1):3–47. doi:10.1111/1541-4337.12660.
- McClements, D.J. (2015). *Nanoparticle- and microparticle-based delivery systems: encapsulation, protection and release of active compounds*. CRC Press, Boca Ratón, USA.
- Morgenroth, E. (2008). Modelling biofilms. En M. Henze, M. van Loosdrecht, G. Ekama y D. Brdjanovic (Eds.), *Wastewater treatment. Principles, modelling and design*. IWA Publishing, London, UK.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. y Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1:1806–1815. doi:10.1016/j.profoo.2011.09.265.

- Oxley, J. (2012). Spray cooling and spray chilling for food ingredient and nutraceutical encapsulation. En *Encapsulation technologies and delivery systems for food ingredients and nutraceuticals*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK, pp. 110–130. doi:10.1533/9780857095909.2.110.
- Paul, D. y McSpadden, S. (1976). Diffusional release of a solute from a polymer matrix. *Journal of Membrane Science*, 1:33–48. doi:10.1016/S0376-7388(00)82256-5.
- Peppas, N.A., Gurny, R., Doelker, E. y Buri, P. (1980). Modelling of drug diffusion through swellable polymeric systems. *Journal of Membrane Science*, 7(3):241–253. doi:10.1016/S0376-7388(00)80471-8.
- Perignon, C., Ongmayeb, G., Neufeld, R., Frere, Y. y Poncelet, D. (2015). Microencapsulation by interfacial polymerisation: Membrane formation and structure. *Journal of Microencapsulation*, 32(1):1–15. doi:10.3109/02652048.2014.950711.
- Permanadewi, I., Kumoro, A.C., Wardhani, D.H. y Aryanti, N. (2019). Modelling of controlled drug release in gastrointestinal tract simulation. *Journal of Physics: Conference Series*, 1295:012063. doi:10.1088/1742-6596/1295/1/012063.
- Poshadri, A. y Kuna, A. (2010). Microencapsulation technology: A review. *The Journal of Research ANGRAU*, 38(1):86–102.
- Ranga Rao, K. y Padmalatha Devi, K. (1988). Swelling controlled-release systems: Recent developments and applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 48(1):1–13. doi:10.1016/0378-5173(88)90245-1.
- Risch, S.J., Reineccius, G. y Society, A.C. (Eds.) (1995). *Encapsulation and controlled release of food ingredients*. No. 590 en ACS symposium series, American Chemical Society, Washington DC, USA.
- Rothstein, S.N., Federspiel, W.J. y Little, S.R. (2009). A unified mathematical model for the prediction of controlled release from surface and bulk eroding polymer matrices. *Biomaterials*, 30(8):1657–1664. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.002.
- Shahidi, F. y Han, X. (1993). Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6):501–547. doi:10.1080/10408399309527645.
- Siepmann, J., Kranz, H., Bodmeier, R. y Peppas, N. (1999). HPMC-matrices for controlled drug delivery: A new model combining diffusion, swelling, and dissolution mechanisms and predicting the release kinetics. *Pharmaceutical Research*, 16(11):1748–1756. doi:10.1023/a:1018914301328.

- Siepmann, J., Siegel, R.A. y Rathbone, M.J. (Eds.) (2012). *Fundamentals and applications of controlled release drug delivery*. No. 4 en *Advances in delivery science and technology*, Springer US, New York, USA. doi:10.1007/978-1-4614-0881-9.
- Siepmann, J. y Siepmann, F. (2012). Modeling of diffusion controlled drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 161(2):351–362. doi:10.1016/j.jconrel.2011.10.006.
- Sobel, R., Versic, R. y Gaonkar, A.G. (2014). Introduction to microencapsulation and controlled delivery in foods. En A. Gaonkar, N. Vasisht, A. Khare y R. Sobel (Eds.), *Microencapsulation in the food Industry*. Elsevier Academic Press, San Diego, USA, 1era ed., pp. 3–12. doi:10.1016/B978-0-12-404568-2.00001-7.
- Taylor, T.M., Weiss, J., Davidson, P.M. y Bruce, B.D. (2005). Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7-8):587–605. doi:10.1080/10408390591001135.
- Thombre, A.G. y Himmelstein, K.J. (1984). Modelling of drug release kinetics from a laminated device having an erodible drug reservoir. *Biomaterials*, 5(5):250–254. doi:10.1016/0142-9612(84)90068-1.
- Thombre, A.G. y Himmelstein, K.J. (1985). A simultaneous transport-reaction model for controlled drug delivery from catalyzed bioerodible polymer matrices. *AIChE Journal*, 31(5):759–766. doi:10.1002/aic.690310509.
- Varzakas, T. y Tzia, C. (Eds.) (2015). *Handbook of food processing and engineering: Food engineering fundamentals, Contemporary Food Engineering*, vol. 1. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.
- Vasisht, N. (2014). Factors and mechanisms in microencapsulation. En A. Gaonkar, N. Vasisht, A. Khare y R. Sobel (Eds.), *Microencapsulation in the food Industry*. Elsevier Academic Press, San Diego, USA, 1era ed., pp. 15–24. doi:10.1016/B978-0-12-404568-2.00001-7.
- von Burkersroda, F., Schedl, L. y Göpferich, A. (2002). Why degradable polymers undergo surface erosion or bulk erosion. *Biomaterials*, 23(21):4221–4231. doi:10.1016/S0142-9612(02)00170-9.
- Vrentas, J.S., Jarzebski, C.M. y Duda, J.L. (1975). A Deborah number for diffusion in polymer-solvent systems. *AIChE Journal*, 21(5):894–901. doi:10.1002/aic.690210510.
- Wada, R., Hyon, S.H. y Ikada, Y. (1995). Kinetics of diffusion-mediated drug release enhanced by matrix degradation. *Journal of Controlled Release*, 37(1-2):151–160. doi:10.1016/0168-3659(95)00075-J.

Wu, L. y Brazel, C.S. (2008). Mathematical model to predict drug release, including the early-time burst effect, from swellable homogeneous hydrogels. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(5):1518–1526. doi:10.1021/ie071139m.

Zuidam, N. y Nedovic, V. (Eds.) (2010). *Encapsulation technologies for active food ingredients and food processing*. Springer New York, New York, USA. doi:10.1007/978-1-4419-1008-0.

CAPÍTULO 2

Modelos de liberación controlada de fármacos
aplicados a un sistema de encapsulación
alimentario

CAPÍTULO 2

Modelos de liberación controlada de fármacos aplicados a un sistema de encapsulación alimentario

Resumen. En el presente capítulo, se evaluaron modelos sencillos desarrollados para predecir la liberación controlada de fármacos en sistemas de encapsulación alimentarios. En cada uno de ellos se consideró que en el proceso de liberación prevalece el efecto de la difusión del activo en simultáneo con la erosión, la disolución o el hinchamiento de la matriz. Estos modelos fueron usados para obtener parámetros característicos del sistema a partir de los datos experimentales de liberación *in vitro* de astaxantina encapsulada en una matriz de alginato de calcio. En general, se obtuvieron ajustes aceptables a partir de los datos experimentales.

2.1. Introducción

Actualmente, la tecnología de encapsulación es ampliamente utilizada en la industria de alimentos con el objetivo de incorporar compuestos funcionales dentro de los alimentos (Yang et al., 2020). Estos compuestos pueden ser moléculas bioactivas (antioxidantes, minerales, vitaminas, fitoesteroles, ácidos grasos) o células vivas (probióticos) que en general se incorporan para controlar el *flavor*, color y textura de los alimentos. Sin embargo, estos compuestos suelen ser susceptibles a las condiciones ambientales, de procesamiento y almacenamiento de los alimentos y/o a las condiciones gastrointestinales. Por lo tanto, la encapsulación sería una herramienta útil para asegurar su protección (Nedovic et al., 2011).

Las técnicas de encapsulación y los materiales encapsulantes disponibles son numerosos. En general, la preparación de las cápsulas requiere un equipamiento simple, de producción continua, bajo costo de producción, amigable con el medio ambiente y que se tengan en cuenta los requerimientos sanitarios de la industria alimentaria (Yang et al., 2020). Los materiales encapsulantes, deben ser de grado alimentario, de bajo costo y funcionales respecto al objetivo de la encapsulación. El criterio de selección de la técnica de encapsulación y del material encapsulante va a depender especialmente del tipo de activo a encapsular, de sus características, del alimento en el que van a ser incorporadas las cápsulas, en qué lugar, con qué cinética y bajo qué condiciones deberán liberar su contenido (Nedovic et al., 2011).

En la mayoría de las aplicaciones de la tecnología de encapsulación en alimentos, se desea la liberación controlada del activo encapsulado. Esto significa que el activo debe ser liberado con una

cinética determinada, durante un periodo de tiempo específico y en el sitio deseado (Boostani y Jafari, 2021). En este sentido, los modelos matemáticos que permitan predecir el comportamiento de los sistemas de encapsulación y la cinética de liberación, podrían ser empleados para su diseño y optimización disminuyendo la cantidad de ensayos experimentales (Malekjani y Jafari, 2021).

Los sistemas de encapsulación de activos alimentarios diseñados para liberar en forma controlada su contenido en el tracto gastrointestinal presentan similitudes con los sistemas de administración de fármacos. Esto permitió que varios modelos matemáticos desarrollados para predecir la cinética de liberación de fármacos fueran aplicados con éxito para describir la cinética de liberación de nutrientes desde sistemas de encapsulación alimentarios (Malekjani y Jafari, 2021). En base a esto, en el presente capítulo se presentan modelos disponibles en la literatura de liberación controlada de fármacos que consideran a los principales mecanismos de liberación (difusión, erosión, disolución e hinchamiento). Estos modelos fueron aplicados a un sistema de encapsulación alimentario compuesto por astaxantina/alginato (activo/material encapsulante) diseñado para su empleo en nutraceúticos y alimentos funcionales (Niizawa et al., 2019).

El objetivo del presente capítulo fue utilizar modelos sencillos desarrollados para predecir la liberación controlada de fármacos en un sistema de encapsulación alimentario.

2.2. Teoría

Se seleccionaron de la literatura modelos matemáticos desarrollados para describir la cinética de liberación de fármacos. Cada uno de ellos considera que en el proceso de liberación prevalece el efecto de la difusión del activo en simultáneo con la erosión, la disolución o el hinchamiento de la matriz.

2.2.1. Modelo de He et al. (2005)

2.2.1.1. Descripción del sistema

El sistema en estudio de He et al. (2005) fue una esfera de radio R . Estos autores consideraron que las principales especies que conforman el sistema son la matriz polimérica encapsulante (matriz) y un fármaco (activo). El activo puede difundir desde la matriz hacia el medio circundante durante todo el proceso de liberación. Simultáneamente, se produce la escisión de las cadenas poliméricas que conforman la matriz.

2.2.1.2. Modelo matemático

He et al. (2005) propusieron un modelo para describir la cinética de liberación de un activo desde una matriz bioerosionable. Para ello, los autores consideraron que esta cinética puede ser planteada como una combinación de los efectos de la difusión del activo y de la erosión de la matriz. El modelo

matemático presentado considera que (a) el activo se encuentra inicialmente disperso en la matriz, (b) al final del proceso de liberación se alcanza la erosión completa de la matriz y (c) los fenómenos ocurren principalmente en la dirección radial. Así, el modelo propuesto por He et al. (2005) para geometría esférica es:

$$\Phi_L = \frac{M_t}{M_\infty} = 6\sqrt{\frac{D_t t}{\pi R^2}} - 3\frac{D_t}{R^2} + F_E \left[\frac{\exp(k_e t - k_e T_{\text{máx}})}{1 + \exp(k_e t - k_e T_{\text{máx}})} \right] \quad (2.1)$$

donde Φ_L es la fracción de activo liberado a tiempo t [-], M_t y M_∞ son la cantidad de activo liberada a tiempo t y a $t \rightarrow \infty$ [mol m⁻³], respectivamente, D_t es el coeficiente de difusión del activo en la matriz a tiempo t [m² s⁻¹], t es el tiempo [s], F_E es un factor que tiene en cuenta la contribución de la erosión en el proceso de liberación [-], k_e es el coeficiente de aceleración que describe la probabilidad de corte de un sitio activado durante el intervalo de tiempo comprendido entre la generación del oligómero y su disolución [s⁻¹] y $T_{\text{máx}}$ es el tiempo de máxima velocidad de erosión de la matriz [s]. F_E indica que una fracción del activo que originalmente se liberaba al medio a través de la difusión ahora es liberado debido a la erosión de la matriz. k_e es una medida de la facilidad relativa con la que se descompone el polímero. $T_{\text{máx}}$ es un valor descriptivo del tiempo promedio de erosión y está relacionado con la velocidad de escisión de la cadena polimérica.

Los dos primeros términos de la **Ec. (2.1)** tienen en cuenta la contribución de la difusión del activo en la matriz y el efecto de la erosión sobre la difusión. Por un lado, los autores consideraron que la liberación del fármaco por difusión Fickiana puede ser descrita por las ecuaciones propuestas por Baker y Lonsdale (1974) y Ritger y Peppas (1987). Estos términos surgen de resolver la ecuación de difusión de Fick para una esfera, considerando una condición de concentración de activo prescrita en su superficie (concentración constante), coeficiente de difusión constante y tiempo cortos ($M_t/M_\infty \leq 0,6$) (**Anexo A.1**). Por otro lado, el efecto de la erosión sobre la difusión del activo fue incluido al considerar que el coeficiente de difusión aumenta en el tiempo debido a la escisión de la cadena polimérica que constituye la matriz. Al respecto, los autores propusieron que la escisión de la cadena polimérica puede ser descrita por una cinética de hidrólisis de primer orden autocatalizada. En base a esto, la variación del coeficiente de difusión del activo en el tiempo fue planteada según,

$$D_t = D_0 \exp(k_s t) \quad (2.2)$$

donde D_0 es el coeficiente de difusión inicial del activo [m² s⁻¹] y k_s es la constante de velocidad de escisión de la cadena polimérica [s⁻¹]. Esta constante está directamente relacionada con la reactividad de los enlaces dentro de la cadena de polímero.

El tercer término de la **Ec. (2.1)** tiene en cuenta la contribución de la erosión al proceso de liberación del activo. Este término describe a la erosión de la matriz como un proceso combinado de ramificación y terminación de la descomposición del polímero causada por la formación de núcleos

activados en la matriz. La degradación de la matriz se inicia en estos núcleos debido a la hidrólisis del polímero, generando oligómeros de diferentes pesos moleculares. Estos se forman en principio sobre la superficie de la partícula y se propagan hacia su interior, aumentando la porosidad del sistema. La degradación del polímero y la generación de una estructura porosa facilita la disolución de los oligómeros de bajo peso molecular y del fármaco encapsulado (Fitzgerald y Corrigan, 1993).

2.2.2. Modelo de Harland et al. (1988)

2.2.2.1. Descripción del sistema

El sistema en estudio de Harland et al. (1988) consistió en una esfera porosa de radio R . Los autores consideraron que las principales especies que conforman el sistema son el agua del medio circundante, la matriz y un activo soluble en agua. Inicialmente el activo se encuentra disperso en la matriz (no soluble). Sin embargo, cuando el sistema es puesto en contacto con un medio acuoso, el activo se disuelve y difunde hacia el medio circundante a través de los poros de la matriz.

2.2.2.2. Modelo matemático

El modelo propuesto por Harland et al. (1988) fue obtenido a partir de un balance de materia para el activo con diferentes condiciones de contorno. Estos autores consideraron que el proceso de liberación del activo depende de los fenómenos de disolución/difusión acoplados (**Ec. 2.3**). Además, supusieron que (a) los principales fenómenos ocurren en la dirección radial, (b) la concentración inicial de activo ($c_{A,0}$) es mayor que su solubilidad en el sistema, (c) la matriz polimérica no se hincha ni erosiona y (d) la variación de R no es significativa durante el proceso de liberación.

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = D_A \left(\frac{\partial^2 c_A}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_A}{\partial r} \right) + k (\varepsilon c_s - c_A) \quad 0 \leq r < R \quad t > 0 \quad (2.3)$$

donde c_A es la concentración del activo [mol m^{-3}], D_A es el coeficiente de difusión del activo en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], r es la posición radial [m], k es la constante de disolución de primer orden que caracteriza a la velocidad de disolución del activo en ausencia de polímero encapsulante [s^{-1}], ε es la porosidad del sistema [-] y c_s es la concentración de saturación de activo en el sistema [mol m^{-3}].

Por un lado, el primer término de la **Ec. (2.3)** describe la difusión del activo en los poros creados en el sistema debido a la continua disolución de activo. El coeficiente de difusión que caracteriza a este fenómeno fue considerado constante. Por otro lado, el segundo término describe al proceso de disolución del activo. En la condición en que la concentración inicial del activo es menor que su solubilidad en el sistema ($c_{A,0} \leq \varepsilon c_s$), este término se desprecia y la **Ec. (2.3)** se reduce a la clásica ecuación de difusión de Fick.

La **Ec. (2.3)** fue resuelta teniendo en cuenta las condiciones iniciales y de contorno mostradas en la **Tabla 2.1**. Las soluciones analíticas adimensionales para la condición de sumidero perfecto (CSP) y de resistencia convectiva externa finita a la transferencia de materia (CRF) están dadas por las **Ecs. (2.8)-(2.9)**, respectivamente. La CSP implica considerar que el medio de liberación del activo está caracterizado por un volumen infinito, es decir que la concentración del activo en el medio puede ser

Tabla 2.1. Condición inicial y condiciones de contorno para el modelo propuesto por [Harland et al. \(1988\)](#).

Condición inicial	
$c_A = c_{A,0}$	$0 \leq r \leq R \quad t = 0 \quad (2.4)$
Condiciones de contorno	
<i>Condición de simetría (CSP y CRF)</i>	
$\frac{\partial c_A}{\partial r} = 0$	$r = 0 \quad t > 0 \quad (2.5)$
<i>Condición de sumidero perfecto (CSP)</i>	
$c_A = 0$	$r = R \quad t > 0 \quad (2.6)$
<i>Condición de resistencia convectiva externa finita (CRF)</i>	
$-D_A \left. \frac{\partial c_A}{\partial r} \right _{r=R} = h(c_s - c_A)$	$r = R \quad t > 0 \quad (2.7)$

considerada igual a cero durante todo el proceso de liberación. Además, en esta condición se considera que la resistencia convectiva externa a la transferencia de materia es despreciable (el coeficiente de transferencia de materia $h \rightarrow \infty$) ([Siepmann et al., 2012](#)).

Solución analítica para CSP,

$$\Phi_L = \frac{M_t}{M_\infty} = 6 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(Di + n^2\pi^2) Di \tau + n^2\pi^2 \{1 - \exp[-(Di + n^2\pi^2) \tau]\}}{(Di + n^2\pi^2)^2} \quad (2.8)$$

Solución analítica para CRF,

$$\Phi_L = \frac{M_t}{M_\infty} = 6Bi^2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(Di + \alpha_n^2 R^2) Di \tau - \alpha_n^2 R^2 \{\exp[-(Di + \alpha_n^2 R^2) \tau] - 1\}}{(Di + \alpha_n^2 R^2)^2 [\alpha_n^2 R^2 + Bi(Bi - 1)]} \quad (2.9)$$

donde Di es el número de disolución/difusión definido en la **Ec. (2.10)**, n es el n -ésimo término de la suma infinita, τ es el tiempo adimensional definido en la **Ec. (2.11)**, Bi es el número de Biot másico

definido en la **Ec. (2.12)** y α_n es la n -ésima raíz de la **Ec. (2.13)**. Por un lado, Di representa la importancia relativa de los fenómenos de disolución y difusión en el proceso de liberación global. Por otro lado, Bi relaciona la velocidad de transferencia de materia respecto a la velocidad de difusión.

$$Di = kR^2/D_A \quad (2.10)$$

$$\tau = D_A t/R^2 \quad (2.11)$$

$$Bi = hR/D_A \quad (2.12)$$

$$\alpha_n R \cot(\alpha_n R) + Bi - 1 = 0 \quad (2.13)$$

Harland et al. (1988) consideraron que, en los sistemas estudiados, el coeficiente de difusión del activo es similar en la matriz polimérica y en el medio circundante. Por lo tanto y por simplicidad, los autores asumieron un solo valor de coeficiente de difusión del activo (D_A) en ambas fases y reemplazaron el Bi por el número de Sherwood (Sh , **Ec. 2.14**) en la **Ec. (2.9)**.

$$Sh = hR/D_A \quad (2.14)$$

2.2.3. Modelo de Wu y Brazel (2008)

2.2.3.1. Descripción del sistema

Wu y Brazel (2008) consideraron un sistema de encapsulación, inmerso en un medio acuoso, compuesto por un polímero inicialmente en estado vítreo, agua y un activo. El agua del medio puede difundir hacia el interior del sistema de encapsulación produciendo la relajación del polímero, la variación del volumen del sistema y la liberación del activo. Los autores consideraron un sistema de geometría cilíndrica. En la presente Tesis, el modelo propuesto fue extendido a un sistema de geometría esférica y de radio inicial R_0 .

2.2.3.2. Modelo matemático

Wu y Brazel (2008) propusieron un modelo para representar la liberación de una droga desde una matriz hinchable. Estos autores consideraron que los polímeros vítreos entrecruzados pueden relajarse y alcanzar un estado gomoso por absorción de un solvente termodinámicamente compatible. Esta transición de estado se produce cuando la concentración de solvente en el polímero alcanza un valor crítico (c_w^*). Es decir, la relajación del polímero ocurre cuando la concentración de agua en el polímero c_w alcanza un valor de c_w^* . Debajo de este valor, dicha relajación ocurre en una escala de tiempo mucho mayor a la escala de tiempo de la difusión, por lo que resulta despreciable. Wu y Brazel (2008) se basaron en las propuestas de Camera-Roda y Sarti (1990) y Grassi et al. (1998). Además, consideraron

mezcla perfecta en la región gomosa ($c_w > c_w^*$), que no hay expansión de volumen en la región vítrea ($c_w < c_w^*$), que el volumen que ocupa el activo es despreciable y que los principales fenómenos tienen lugar en la dirección radial r . En base a lo expuesto, los balances de materia para el agua y para el activo están dados por las **Ecs. (2.15)-(2.16)**, respectivamente.

Agua ($0 \leq r < R_t, t > 0$):

$$\frac{\rho_w}{(\rho_w - c_w)} \frac{\partial c_w}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 D_{w,m}^f \frac{\partial c_w}{\partial r} \right) + \frac{p_w}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 D_{w,m}^r \frac{\partial c_w}{\partial r} \right) \quad (2.15)$$

Activo ($0 \leq r < R_t, t > 0$):

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 D_{A,m} \frac{\partial c_A}{\partial r} \right) - p_v \frac{c_A}{(\rho_w - c_w)} \frac{\partial c_w}{\partial t} \quad (2.16)$$

donde R_t es el radio del sistema a tiempo t [m], ρ_w es la densidad del agua [mol m^{-3}], $D_{w,m}^f$ es el coeficiente de difusión de agua en la matriz relacionado con el flujo Fickiano [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], $D_{w,m}^r$ es el coeficiente de difusión de agua en la matriz relacionado con el flujo no-Fickiano [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], p_w es un factor de probabilidad de la absorción de agua que representa qué tan rápido se relajan las cadenas de polímero para acomodar la acumulación de agua [-], $D_{A,m}$ es el coeficiente de difusión del activo en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$] y p_v es la probabilidad de la expansión local de volumen [-].

En primer lugar, [Wu y Brazel \(2008\)](#) consideraron que los coeficientes de difusión del agua y del activo en la matriz dependen de c_w según las expresiones propuestas por [Camera-Roda y Sarti \(1990\)](#) y [Grassi et al. \(1998\)](#) (**Ecs. 2.17-2.21**). Además, los autores definieron las expresiones para p_w y p_v a través de la **Ec. (2.22)** y de las **Ecs. (2.23)-(2.24)**, respectivamente.

$$D_{w,m}^f = D_{w,s} \quad (2.17)$$

$$D_{w,m}^r = D_w \exp[-\beta_1 (c_w^{eq} - c_w)] - D_{w,m}^f \quad c_w \geq c_w^* \quad (2.18)$$

$$D_{w,m}^r = 0 \quad c_w < c_w^* \quad (2.19)$$

$$D_{A,m} = D_{A,w} \exp[-\beta_3 (c_w^{eq} - c_w)] \quad c_w \geq c_w^* \quad (2.20)$$

$$D_{A,m} = 0 \quad c_w < c_w^* \quad (2.21)$$

$$p_w = \exp[(-\lambda + \lambda^{eq}) D_{w,m} V_0^2 / (V_t R_0)^2] \quad (2.22)$$

$$p_v = 1 \quad c_w \geq c_w^* \quad (2.23)$$

$$p_v = 0 \quad c_w < c_w^* \quad (2.24)$$

donde $D_{w,s}$ es el coeficiente de difusión de agua en la matriz seca [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], D_w es el coeficiente de auto-difusión del agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], c_w^{eq} es la concentración de agua en el equilibrio [mol m^{-3}], $D_{A,w}$ es el

coeficiente de difusión del activo en agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], $D_{w,m}$ es el coeficiente de difusión total del agua ($D_{w,m} = D_{w,m}^f + D_{w,m}^r$) [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], λ es una constante de relajación y está dada por la **Ec. (2.25)** [s], λ^{eq} es la constante de relajación para el hidrogel hinchado en el equilibrio [s], V_0 y V_t son el volumen inicial y el volumen a tiempo t del sistema [m^3], respectivamente y β_1 y β_3 son constantes [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$].

$$\lambda = \lambda^{eq} \exp[\beta_2 (-c_w + c_w^{eq})] \quad (2.25)$$

donde β_2 es una constante [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$].

En segundo lugar, [Wu y Brazel \(2008\)](#) explicaron que cuando un hidrogel es sumergido en agua, ésta ingresa a la matriz aumentando la movilidad de las cadenas poliméricas y disminuyendo su temperatura de transición vítrea. Cuando la concentración de agua alcanza un valor crítico c_w^* el polímero se relaja y forma una capa gomosa. Este fenómeno ocurre inicialmente en las regiones más externas del sistema y se va moviendo hacia el interior. Durante este proceso, las capas hinchadas se expanden para acomodar la cantidad de agua que está ingresando. En consecuencia, la región vítrea va disminuyendo su espesor hasta desaparecer mientras el volumen del sistema aumenta (**Fig. 2.1**). Los autores propusieron que la evolución del radio R_t del sistema se puede estimar suponiendo que la expansión de volumen solo se da en la región gomosa y que el volumen del activo es despreciable. En consecuencia,

$$V_t = V_0 + V_w - V_c \quad (2.26)$$

donde V_w es el volumen que ocupa el agua dentro del sistema [m^3] y V_c es el volumen de agua que se encuentra por debajo de c_w^* [m^3] y, en consecuencia, no contribuye al hinchamiento. Desarrollando la **Ec. (2.26)** en coordenadas esféricas,

$$R_t = R_0 \left\{ 1 + \frac{3}{R_0^3} \int_{R_g}^{R_t} r^2 \frac{c_w}{\rho_w} dr - \frac{c_w^*}{\rho_w} \left[1 - \left(\frac{R_g}{R_0} \right)^3 \right] \right\}^{1/3} \quad (2.27)$$

donde R_g es el radio de la región del sistema que se encuentra en estado vítreo [m].

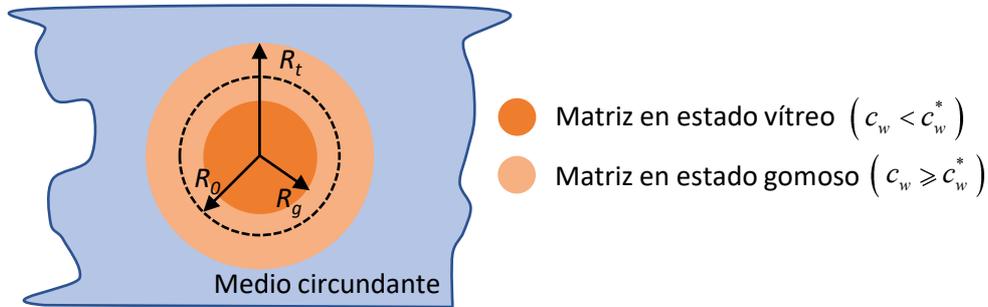


Figura 2.1. Esquema de la variación del tamaño de partícula debido a la absorción de agua.

En tercer lugar, para resolver el modelo propuesto, los autores consideraron las condiciones iniciales y de contorno que se muestran en la **Tabla 2.2**.

En cuarto lugar, a partir de los perfiles locales de c_w y c_A , se obtuvieron los perfiles temporales de la fracción de agua absorbida promedio en el volumen (Φ_w) y la fracción de activo liberado promedio en el volumen (Φ_L),

$$\Phi_w = \frac{1}{V_t} \int_{V_t} \left(\frac{c_w}{c_w^{eq}} \right) dV \quad (2.28)$$

$$\Phi_L = 1 - \frac{1}{V_t} \int_{V_t} \left(\frac{c_A}{c_{A,0}} \right) dV \quad (2.29)$$

Tabla 2.2. Condición inicial y condiciones de contorno para el modelo propuesto por [Wu y Brazel \(2008\)](#).

Condición inicial			
$c_w = c_{w,0}$	$0 \leq r \leq R_0$	$t = 0$	(2.30)
$c_A = c_{A,0}$	$0 \leq r \leq R_0$	$t = 0$	(2.31)
Condiciones de contorno			
<i>Agua y Activo: condición de simetría</i>			
$\frac{\partial c_w}{\partial r} = \frac{\partial c_A}{\partial r} = 0$	$r = 0$	$t > 0$	(2.32)
<i>Agua: resistencia convectiva externa despreciable</i>			
$c_w = c_w^{eq}$	$r = R_t$	$t > 0$	(2.33)
<i>Activo: condición de sumidero perfecto</i>			
$c_A = 0$	$r = R_t$	$t > 0$	(2.34)

2.3. Materiales y métodos

2.3.1. Sistema en estudio

Los modelos matemáticos descritos la **Sección 2.2** fueron empleados para ajustar datos de liberación *in vitro* del sistema de encapsulación diseñado por Niizawa et al. (2019). El sistema consistió en astaxantina (activo) encapsulada en una matriz de alginato de calcio (matriz encapsulante). A continuación se detallan las principales características e importancia tecnológica de estos compuestos.

2.3.1.1. Componente activo: astaxantina

La astaxantina es un subproducto metabólico de varios microorganismos. Las fuentes más comunes de este compuesto son las microalgas *Haematococcus pluvialis*, levaduras *Phaffia rhodozyma* y *Xanthophyllomyces dendrorhous*, desechos de crustáceos como camarones, bacteria *Bacillus circulans*, *Agrobacterium aurantiacum* y también algunas plantas como *Adonis sp.* (Martínez-Delgado et al., 2017). Sin embargo, la astaxantina para uso en alimentos es normalmente extraída de *H. pluvialis* (Ambati et al., 2014).

Desde el punto de vista estructural, la astaxantina es un carotenoide xantófilo de color rojo. Los carotenoides son tetraterpenos constituidos por múltiples unidades de isopreno con un anillo de ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos. Son compuestos lipofílicos que interactúan y se unen a las superficies hidrofóbicas de las membranas celulares y son capaces de absorber luz y capturar oxígeno singlete. Debido a que poseen 7 o más enlaces dobles conjugados, tienen colores que van del amarillo al rojo. Dentro de los carotenoides se encuentran las xantófilas, que se distinguen de los carotenos por contener oxígeno en sus anillos terminales (Martínez-Delgado et al., 2017).

Este compuesto representa un activo de interés debido a que posee mayor capacidad antioxidante que la vitamina E y el β -caroteno y no muestra actividad pro-oxidante (Yamashita, 2013). Además de su aporte al color de un alimento, se ha demostrado que el consumo de astaxantina provee numerosos beneficios para la salud, lo cual permite el diseño de alimentos funcionales sensorialmente atractivos (Stachowiak y Szulc, 2021). Sin embargo, debido a su estructura altamente conjugada e insaturada, la astaxantina es inestable en las condiciones de procesamiento de alimentos y puede ser fácilmente degradada. En consecuencia, la degradación de este compuesto produce la disminución de su actividad biológica y el alimento en el que fue incorporada pierde valor nutricional, además de color y características organolépticas (Martínez-Delgado et al., 2017). Asimismo, este compuesto presenta una baja solubilidad en agua, lo que limita su uso en sistemas acuosos. Por esta razón, la encapsulación adecuada de la astaxantina previene su degradación y facilita su manipulación (Niizawa et al., 2019).

En la actualidad, el principal uso de la astaxantina es en la industria de alimentos para peces.

Es uno de los principales pigmentos usados en acuicultura para la pigmentación de salmón, trucha y camarón. No obstante, durante los últimos años se ha extendido su uso a la industria cosmética, nutraceútica y de alimentos para el consumo humano. En algunos países se ha usado para fortificar alimentos y bebidas. Además, investigaciones científicas han mostrado una influencia positiva de la astaxantina sobre el color de la yema de huevos y en la piel y carne de pollos (Stachowiak y Szulc, 2021).

Respecto a la normativa para el empleo de astaxantina, la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos aprobó su uso como colorante en animales y comida para peces, mientras que la *European Food and Safety Authority* (EFSA) de la Unión Europea aprobó su uso en alimentos destinados al consumo humano (Ambati et al., 2014). Esta última, estableció un índice de ingesta diaria de astaxantina de 0,2 mg por kg de peso corporal por día (14 mg día⁻¹ para un adulto de 70 kg), ya sea por el consumo de pescados y crustáceos, suplementos dietarios u otras fuentes como lácteos líquidos fermentados y no fermentados, productos fermentados de soja o bebidas de frutas (EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA) et al., 2020).

Estructura química. Como se mencionó previamente, la astaxantina se clasifica como un carotenoide xantófilo. Su nombre IUPAC es 3,3'-dihidroxi- β - β caroteno-4,4'-diona (Rammuni et al., 2019), mientras que su fórmula molecular y masa molar son C₄₀H₅₂O₄ y 596,84 g mol⁻¹, respectivamente (Martínez-Delgado et al., 2017).

La estructura molecular de la astaxantina está compuesta por una cadena lineal de polieno y dos anillos β terminales (**Fig. 2.2**). El sistema de 11 dobles enlaces conjugados determina su color rojo y es responsable de su potencial antioxidante. Los anillos terminales contienen dos grupos funcionales polares: un hidroxilo y un grupo ceto. La presencia de estos grupos es la característica que diferencia a la astaxantina del resto de los carotenoides. Gracias a su estructura polar-no polar, este compuesto puede unir su cadena hidrofóbica de polieno dentro de la bicapa lipídica de las membranas celulares, y localizar a sus anillos polares terminales cerca de su superficie. En consecuencia, la astaxantina presenta una actividad antioxidante en sistemas lipídicos mucho mayor que otros carotenoides (Stachowiak y Szulc, 2021).

Los dobles enlaces del polieno hacen que la astaxantina tenga cuatro isómeros geométricos (**Fig. 2.3**). Sin embargo, la mayoría de los carotenoides encontrados en la naturaleza son isómeros *trans* debido a que usualmente son más estables que los isómeros *cis* (Martínez-Delgado et al., 2017).

La molécula de astaxantina presenta dos carbonos asimétricos, localizados en las posiciones 3 y 3' de los anillos de β -ionona. Debido a esto, presenta tres estereoisómeros: 3R,3'R, 3S,3'S y 3R,3'S (**Fig. 2.4**). Sin embargo, las formas 3R,3'R y 3S,3'S son las más abundantes en la naturaleza. Además, los grupos hidroxilos ubicados en los carbonos asimétricos pueden estar o no esterificados con ácidos

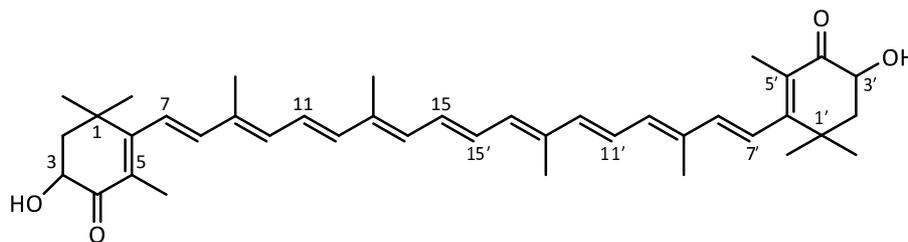


Figura 2.2. Estructura molecular de la astaxantina (Martínez-Delgado et al., 2017).

grasos como el ácido palmítico, el ácido esteárico o el ácido linoleico (Martínez-Delgado et al., 2017).

La astaxantina es encontrada en la naturaleza como cualquiera de sus estereoisómeros, isómeros geométricos, monoesterificada, diesterificada y libre. El contenido de cada una de las formas va a depender de la fuente de la que fue extraída (Stachowiak y Szulc, 2021).

Solubilidad. La astaxantina presenta una solubilidad muy baja en agua (Stachowiak y Szulc, 2021). Sin embargo, es altamente soluble en solventes orgánicos como acetona y ácido acético. Además, la solubilidad en medio ácido de este compuesto aumenta de 10 a 20 veces respecto a condiciones de pH neutras y básicas (Kim et al., 2008). En la astaxantina extraída de *H. pluvialis* predomina el isómero todo-*trans*-(3S,3'S)-astaxantina (Yuan y Chen, 1998). AK Scientific, inc. (2021) reportó una solubilidad de 0,083 g L⁻¹ de este isómero en agua. Además, informó que la solubilidad de este compuesto en cloroformo es de 6 y de 0,5 g L⁻¹ en dimetilformamida.

Estabilidad química. La astaxantina es altamente inestable debido a la presencia de grupos hidroxilo y ceto en su estructura, pero principalmente por el alto contenido de dobles enlaces conjugados en la cadena de polieno. Los grupos hidroxilo y ceto tienden a hacer a la molécula inestable, especialmente en condiciones alcalinas, mientras que la cadena de polieno es susceptible a la oxidación, isomerización y fragmentación. Estas reacciones de degradación provocan la pérdida de actividad biológica del compuesto, la pérdida de color y la producción de una serie de compuestos de bajo peso molecular indeseables, similares a los obtenidos de la oxidación de ácidos grasos (Martínez-Delgado et al., 2017).

Las reacciones de degradación de la astaxantina son inducidas por el calor y la luz. Además, la presencia de lípidos y ácidos grasos insaturados pueden acelerar dichas reacciones. Por este motivo, es importante seleccionar de forma adecuada el método para preservar la estabilidad de la astaxantina según la composición del alimento en el que va a ser incluida y las condiciones de procesamiento a las que va a estar expuesta (Martínez-Delgado et al., 2017).

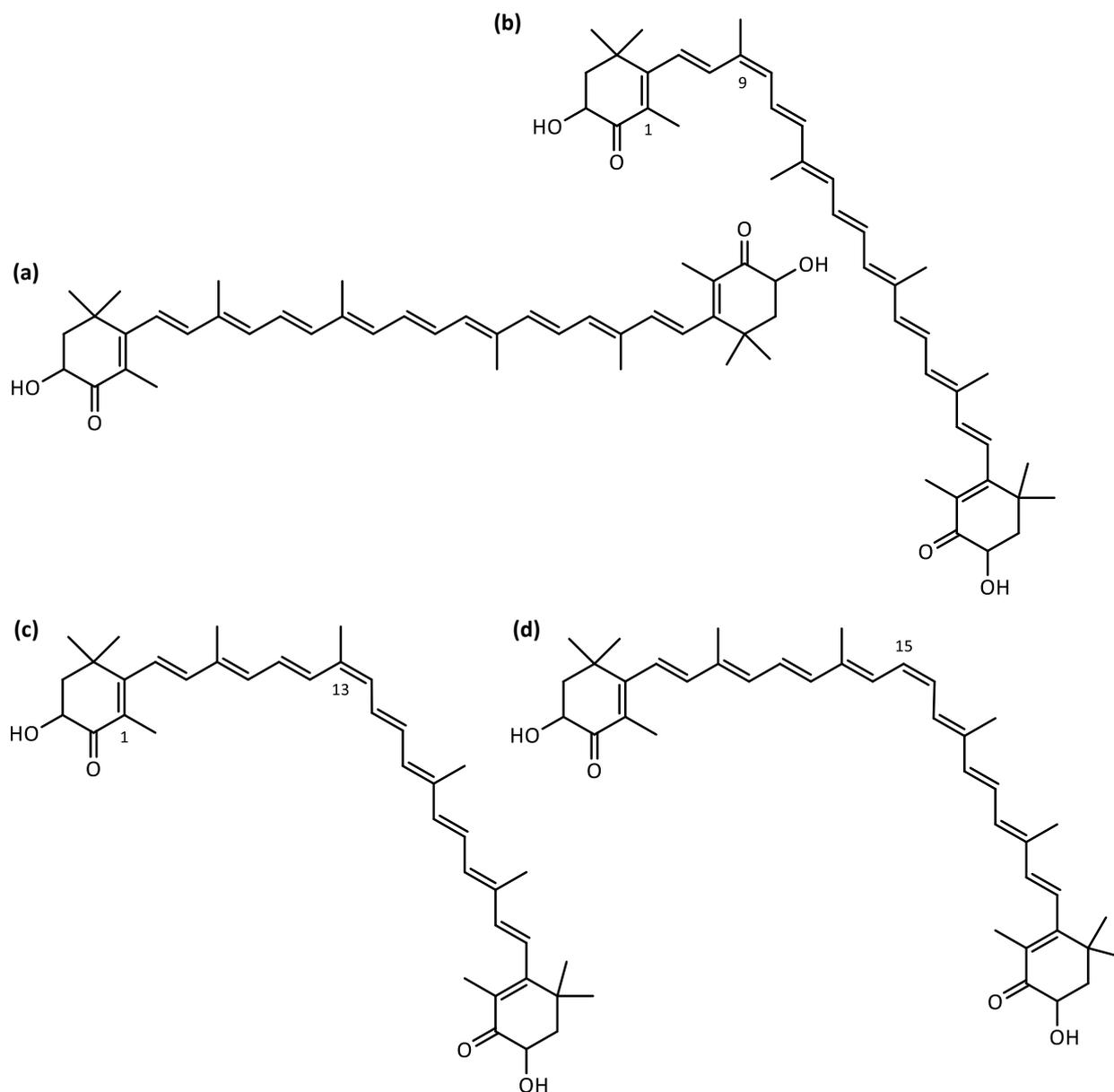


Figura 2.3. Isómeros geométricos de la astaxantina. Estructura de la (a) *todo-trans*-astaxantina, (b) *9-cis* astaxantina, (c) *13-cis* astaxantina y (d) *15-cis* astaxantina (Liu y Osawa, 2007; Martínez-Delgado et al., 2017).

Potenciales beneficios sobre la salud. El consumo de astaxantina tiene numerosos beneficios sobre la salud debido a su elevada actividad antioxidante. Se ha demostrado que esta actividad antioxidante es 10 veces mayor que la del β -caroteno y 100 mayor que la de la vitamina E. Debido a esto, se han realizado numerosas investigaciones que demuestran su potencial en la prevención y en el tratamiento de enfermedades asociadas con las especies reactivas del oxígeno, como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades oculares, aterosclerosis y diabetes tipo 2. Además, contrarresta la gastritis crónica tipo B, las úlceras pépticas y el carcinoma gástrico. Asimismo, previene

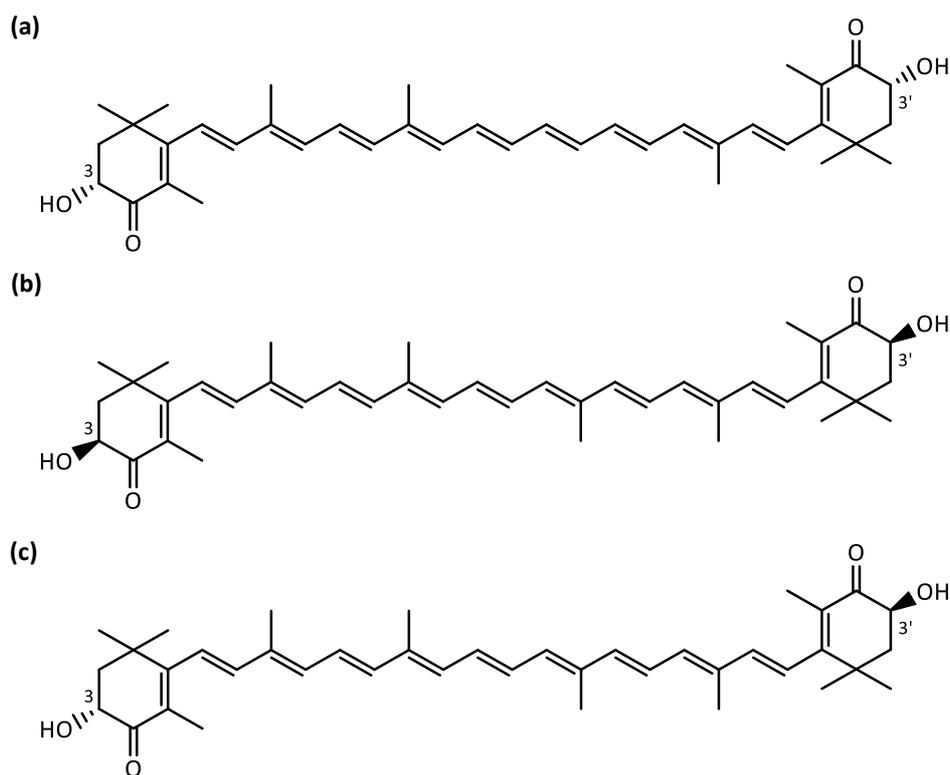


Figura 2.4. Estereoisómeros de la astaxantina. Estructura de la (a) 3R,3'R, (b) 3S,3'S y (c) 3R,3'S astaxantina (Stachowiak y Szulc, 2021).

los procesos fotooxidativos causados por la radiación UV cuando es administrada oralmente o a través de cremas, aceites o bálsamos. Debido a esto, la astaxantina es un compuesto valorado en la industria cosmética ya que previene el envejecimiento de la piel, reduce las manchas y la profundidad de las arrugas y aumenta la elasticidad e hidratación de la piel (Stachowiak y Szulc, 2021).

Se recomienda un consumo diario en adultos de 4 – 12 mg de astaxantina para obtener sus beneficios. Sin embargo, ensayos clínicos han demostrado que la astaxantina exhibe un efecto inmunomodulador con un consumo diario de 2 mg. No se reportaron efectos pro-oxidativos por un consumo mayor a las recomendadas (Stachowiak y Szulc, 2021).

En la **Fig. 2.5**, se resumen los potenciales beneficios para la salud asociados con el consumo de antaxantina.

2.3.1.2. Componente de la matriz encapsulante: alginato

Los alginatos son un grupo de biopolímeros ampliamente investigado y utilizado en diversas áreas debido a su baja inmunogenicidad, baja toxicidad, un costo relativamente bajo y la capacidad de formar geles estables e irreversibles (Ahmed, 2019; Bjørnøy et al., 2016). En la industria de alimentos, su uso fue implementado como espesante, agente gelificante, estabilizante, emulsionante, en forma de

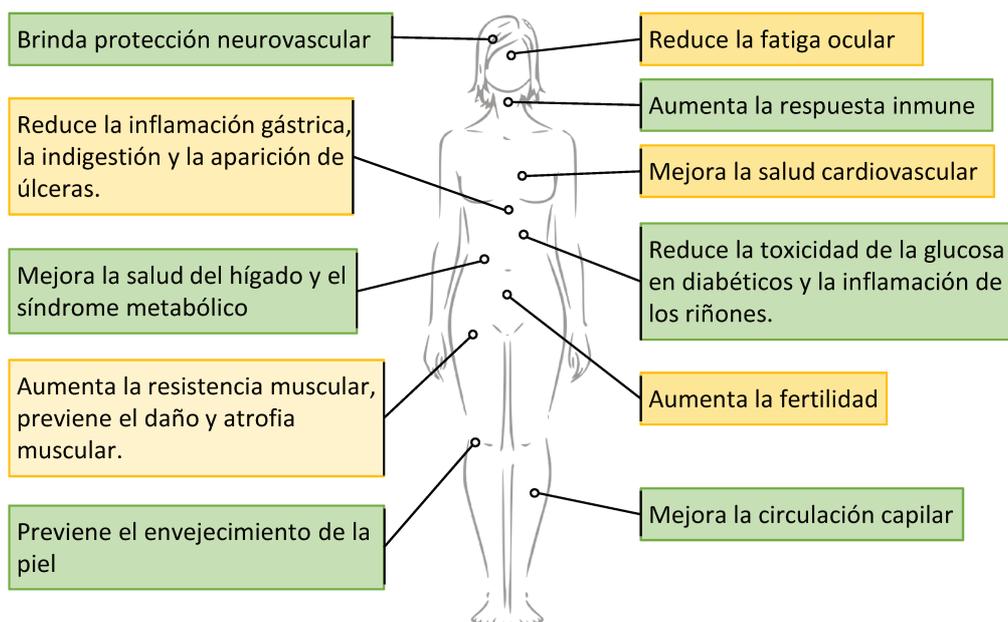


Figura 2.5. Potenciales beneficios para la salud asociados al consumo de astaxantina (Yamashita, 2013).

película para cubrir y prolongar la vida útil de alimentos frescos, y como material encapsulante tanto de nutrientes como de microorganismos (Ahmed, 2019).

Desde el punto de vista químico, los alginatos son polisacáridos aniónicos naturales que están presentes como componentes estructurales en las paredes celulares de algas marrones (*Phaeophyceae*) y como componente capsular de cepas bacterianas tales como *Azotobacter* y *Pseudomonas*. Comercialmente se encuentran disponibles como sales de sodio, magnesio, potasio o amonio en forma de filamentos, granular o en polvo. Generalmente son extraídos de las algas, aunque las sales provenientes de las fuentes bacterianas son producidas en forma más controlada y tienen características físicas y químicas definidas. El peso molecular varía generalmente en un rango de 60 – 700 kDa y depende fuertemente de la fuente de la que provienen (Ahmed, 2019; Lee y Mooney, 2012).

Estructura química. Los alginatos son copolímeros lineales formados por bloques de residuos de α -L-guluronato (G) y de β -D-manuronato (M) (Fig. 2.6) unidos por enlaces glicosídicos (1,4). Los bloques pueden estar constituidos por residuos consecutivos de G (bloques G: -GGGG-), residuos consecutivos de M (bloques M: -MMMM-) y residuos alternados de M y G (bloques MG: -MGMG-) (Fig. 2.7). Debido a la forma particular de los monómeros que los componen y la manera en que se encuentran unidos, los bloques M, G y MG son sustancialmente diferentes. Específicamente, los bloques G forman bucles, mientras que los bloques M tienen una disposición más extendida. En consecuencia, las propiedades del alginato van a depender tanto de su peso molecular (grado de polimerización) como

de la proporción y la forma en que están unidos sus monómeros. Esto último es determinado por la variedad de algas de la que fue extraído el alginato (Harris, 1990).

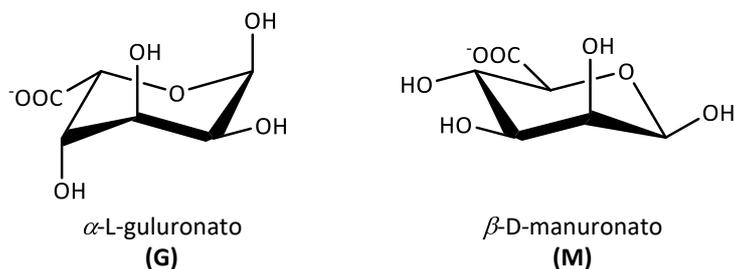


Figura 2.6. Estructura de los monómeros del alginato (Silva et al., 2017).

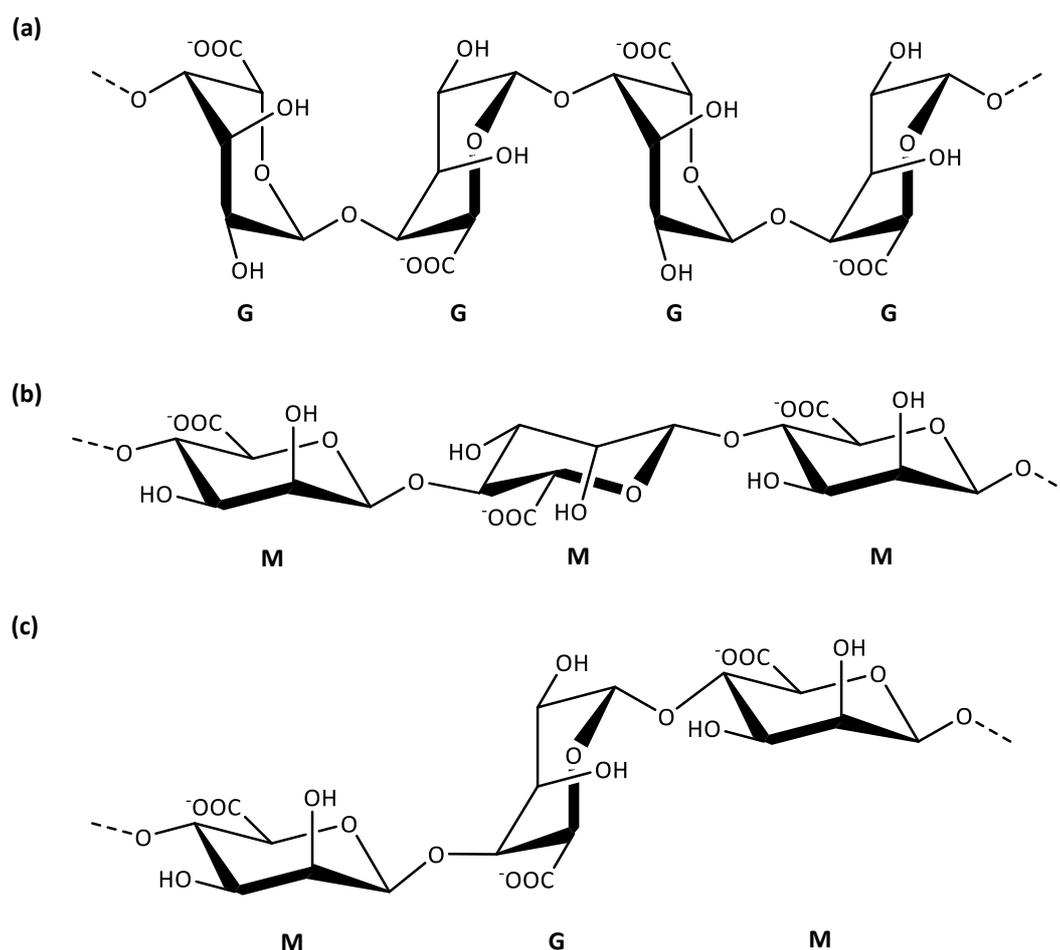


Figura 2.7. Bloques de (a) poli- α -1,4-L-guluronato (-GGGG-), (b) poli- β -1,4-D-manuronato (-MMMM-) y (c) monómeros aleatorios de MG (-MGMG-) (Silva et al., 2017).

Formación de gel. Los alginatos son utilizados usualmente en forma de hidrogel. Los hidrogeles son redes tridimensionales entrecruzadas formadas por polímeros hidrofílicos con un alto contenido de agua.

Los polímeros hidrofílicos pueden entrecruzarse física y/o químicamente para formar los hidrogeles y sus propiedades fisicoquímicas dependerán de ello, además de la densidad de entrecruzamiento y del peso molecular y composición química del polímero (Lee y Mooney, 2012).

Los hidrogeles de alginato se pueden obtener principalmente por entrecruzamiento iónico, covalente o térmico (Lee y Mooney, 2012). Sin embargo, en la industria de alimentos la propiedad más valorada de los alginatos es su capacidad de formar geles por entrecruzamiento iónico (Ahmed, 2019), mientras que el entrecruzamiento covalente y térmico tienen mayores aplicaciones biomédicas (Lee y Mooney, 2012).

Entrecruzamiento iónico. El método más común para preparar hidrogeles mediante una solución acuosa de alginato es combinar dicha solución con un agente de entrecruzamiento iónico (Lee y Mooney, 2012). Los agentes de entrecruzamiento más comunes son cationes divalentes, tales como el Ca^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , entre otros (Li et al., 2017). Se ha demostrado que segmentos de cadena de bloques G se unen selectivamente a iones divalente en un sitio de unión compuesto por COO^- , O(5) y O(4) de una cadena y O(2) y O(3) de la cadena precedente (Smidsrød, 1974). Debido a la forma de la estructura que forman los bloques G y el catión, se la denomina modelo de entrecruzamiento *caja de huevos* (Fig. 2.8) (Silva et al., 2017). La afinidad del alginato hacia diferentes iones divalentes decrece en el siguiente orden: $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Ba} > \text{Sr} > \text{Ca} > \text{Co, Ni, Zn} > \text{Mn}$. Sin embargo, el ion Ca^{2+} es el agente de entrecruzamiento más utilizado debido a que no presenta toxicidad y a su bajo costo. El entrecruzamiento del alginato con calcio puede ser realizado principalmente por dos métodos: método de gelificación externa o difusión y método de gelificación interna. En el método de gelificación externa, los iones difunden dentro de la solución de alginato desde un reservorio exterior. En el método de gelificación interna, la fuente de iones es colocado dentro de la solución de alginato y la liberación de cationes es controlada por la solubilidad de la fuente de iones o el pH (Silva et al., 2017). El compuesto más empleado como fuente de Ca^{2+} es el cloruro de calcio (CaCl_2) debido a su alta solubilidad en soluciones acuosas (método de gelificación externa). Sin embargo, el sulfato de calcio (CaSO_4) y el carbonato de calcio (CaCO_3) también son usados como fuente de Ca^{2+} cuando se requiere una velocidad de gelificación lenta, debido a la baja solubilidad de estas sales en agua pura (método de gelificación interna) (Lee y Mooney, 2012; Silva et al., 2017).

La estructura de los geles de alginato obtenidos por entrecruzamiento iónico, va a depender de la proporción de bloques G de las cadenas de alginato y de su disposición dentro de las mismas, por lo tanto las propiedades de los geles de alginato formados por entrecruzamiento iónico dependen fuertemente de la estructura química del polímero. Geles con un mayor contenido de residuos G exhibirán mayor dureza que aquellos que tengan un menor contenido (Lee y Mooney, 2012). Además, las propiedades físicas de los geles de alginato, tales como la porosidad, el volumen de agua, la esfericidad y la

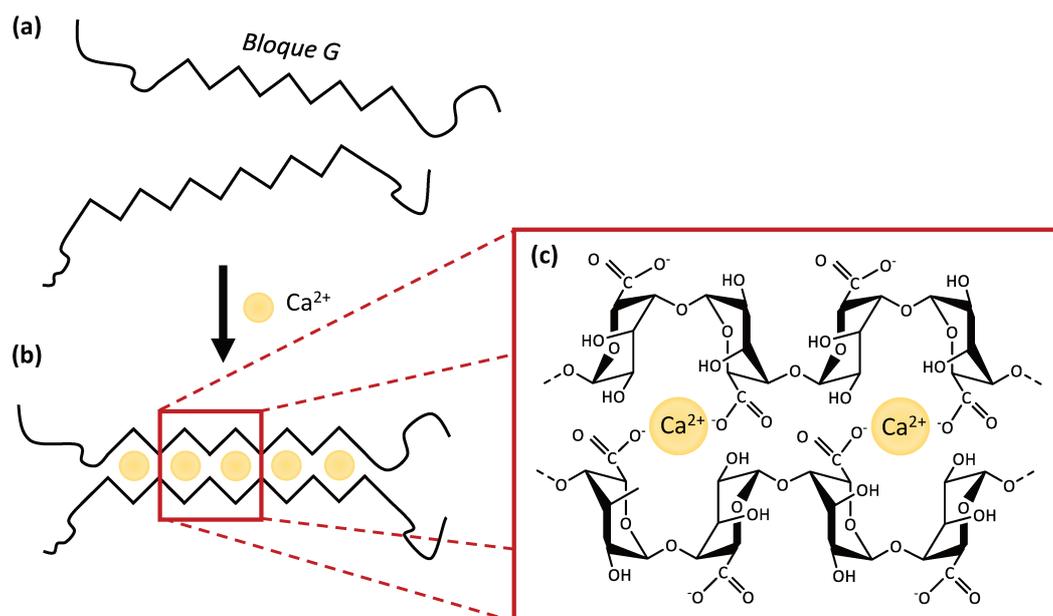


Figura 2.8. (a) Cadenas de alginato en solución. (b) Modelo de entrecruzamiento *caja de huevos*. (c) Interacción de los bloques G del polímero con cationes Ca^{2+} (Silva et al., 2017).

elasticidad, van a ser influenciadas también por el agente y el método de entrecruzamiento seleccionado (Silva et al., 2017).

Estabilidad de geles de alginato en las condiciones del tracto gastrointestinal. Como se mencionó previamente en la **Sección 1.2**, uno de los principales objetivos de la encapsulación en la industria de alimentos es prevenir la degradación de activos alimentarios y aumentar su estabilidad y biodisponibilidad. La biodisponibilidad, se define como la porción de ingredientes ingeridos que entra al sistema circulatorio y está accesible para los procesos biológicos. Ésta depende de la bioaccesibilidad, que se define como la porción del ingrediente activo que es liberado desde el alimento dentro del tracto gastrointestinal (TGI) para ser absorbido en el intestino delgado (Boostani y Jafari, 2021). Debido a esto, es importante conocer el comportamiento del material encapsulante en las condiciones predominantes del TGI.

En la **Fig. 2.9**, se muestran las condiciones de pH y tiempos de residencia aproximados durante el proceso de digestión de alimentos en las partes más importantes del TGI. Hoad et al. (2009) y Rayment et al. (2009) realizaron ensayos *in vitro* e *in vivo* con el objeto de evaluar el comportamiento de partículas de alginato durante su proceso de digestión. Estos autores no reportaron el comportamiento de las partículas en el tramo boca-estómago, sin embargo notaron que las mismas llegaron intactas al estómago. Allí, las partículas se contrajeron disminuyendo su tamaño y aumentando la densidad del gel. Esto estaría asociado a la elevada acidez del medio ($\text{pH} \approx 2$ luego de ingerir un alimento)

que produciría la protonación de los grupos carboxílicos del alginato y una reducción de la repulsión electrostática. Además, a bajos valores de pH, los iones calcio se disocian y los grupos carboxílicos protonados de cadenas de alginato adyacentes se unen a través de puentes de hidrógeno, generando un gel ácido más denso y menos poroso que el inicial. De esta manera, las partículas alcanzan las condiciones intestinales. Los autores reportaron que allí las partículas se hincharon y el gel se hizo más poroso y débil. Esto pudo deberse a un aumento de las fuerzas repulsivas por un valor de pH mayor al pKa de los monómeros del alginato ($\text{pH} \approx 6,5 - 7,5$). Después de un tiempo, los autores observaron que las partículas comenzaron a disolverse. Esto estaría asociado al aumento de la concentración de iones monovalentes en el medio que desplazarían a los cationes de entrecruzamiento dentro del gel, produciendo la disociación de las cadenas de alginato y disolución del gel. Los autores notaron que al final de la fase intestinal la mayoría de las partículas de alginato de los ensayos *in vivo* y todas las partículas de los ensayos *in vitro* se habían desintegrado.

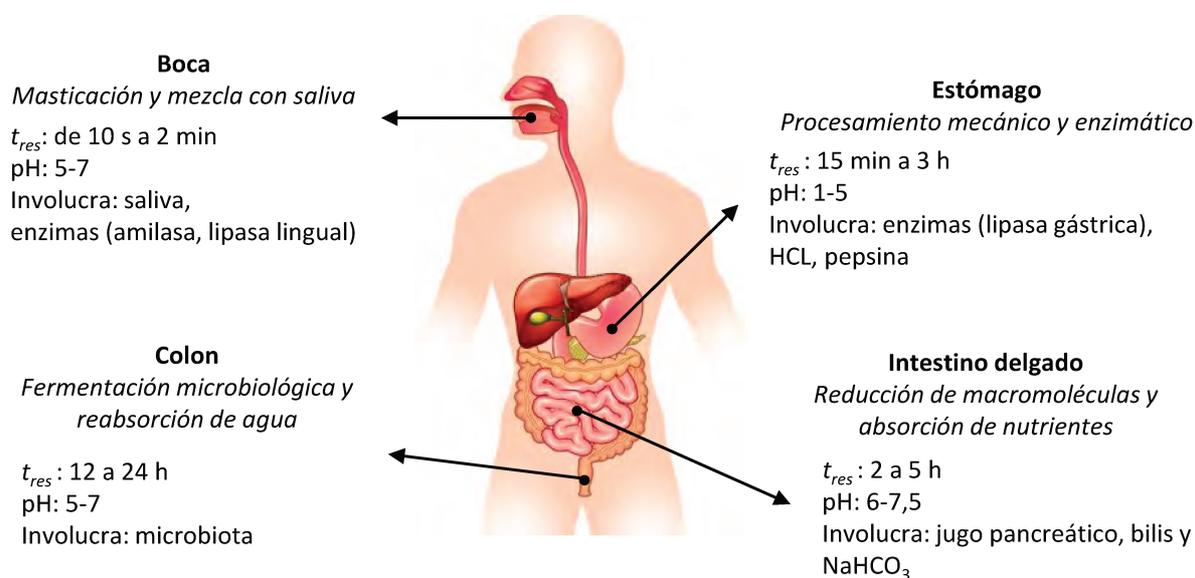


Figura 2.9. Procesos, condiciones y tiempos de residencia promedio (t_{res}) de las principales regiones del tracto gastrointestinal (TGI) (Guerra et al., 2012).

Una consecuencia del comportamiento de las partículas de alginato detallado en el párrafo anterior, es su utilidad como material encapsulante en sistemas de encapsulación cuyo activo deba liberarse durante la fase intestinal del proceso de digestión.

2.3.2. Obtención del sistema en estudio

El sistema de encapsulación que se usó como referencia en esta Tesis forma parte de la línea de investigación experimental del grupo de trabajo en el tema de encapsulación. Las condiciones de encapsulación y las experiencias de liberación *in vitro* fueron presentadas por Niizawa et al. (2019). A

continuación, se detallan los aspectos experimentales que son necesarios para la validación y análisis de los modelos matemáticos de la presente Tesis.

2.3.2.1. Materiales

Astaxantina extraída de *H. pluvialis* obtenida de la Colección de Cultivos de Algas de la Universidad de Buenos Aires. Alginato de sodio de baja viscosidad (Kelco, Atlanta, USA), polisorbato 80, etanol absoluto, etil acetato, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , NaCl , HCl , NaOH (Cicarelli Reagents S.A., Santa Fe, Argentina), aceite de soja (AGD, Córdoba, Argentina), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Anedra, Buenos Aires, Argentina).

2.3.2.2. Obtención de partículas de astaxantina/alginato

Las partículas de astaxantina/alginato fueron obtenidas mediante la técnica de gelificación iónica externa. La astaxantina fue encapsulada como oleorresina en aceite de soja debido a su baja solubilidad en agua (**Sección 2.3.1.1**). La metodología consistió en obtener una dispersión homogénea de alginato de sodio, oleorresina y emulsionante (polisorbato 80) con un homogeneizador UltraTurrax T25 Basic (IKA, Staufen, Alemania). Luego, esta dispersión fue goteada dentro de una solución agitada de CaCl_2 con un agitador IKA C-Mag HS7 (IKA, Staufen, Alemania). El goteo se realizó con una bomba peristáltica ISCO Serie Wiz 1610-004 (ISCO, Lincoln, USA) a $0,37 \text{ mL min}^{-1}$ y con una aguja de 22G. En la **Fig. 2.10**, se muestra el sistema de goteo utilizado. Finalizado el goteo de la dispersión, las partículas se mantuvieron en agitación en la solución de CaCl_2 durante 30 min. Finalmente, las partículas fueron filtradas, lavadas y secadas a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 2 h en una estufa TDC60 Tecno Dalvo (Tecno Dalvo, Santa Fe, Argentina) para eliminar el exceso de agua. En la **Tabla 2.3**, se muestra la formulación de las partículas.

Tabla 2.3. Formulación de las partículas de astaxantina/alginato.

Variable	Unidad	Valor
Concentración de CaCl_2	mM	250
Concentración de oleorresina	$\mu\text{g mL}^{-1}$	60
Alginato/oleorresina	v:v	3
Concentración de alginato	% m:m	2
Concentración de emulsionante	% m:m	2



Figura 2.10. Sistema utilizado para la obtención de astaxantina encapsulada en una matriz de alginato de calcio. **1.** Contenedor de la emulsión alginato/oleorresina/emulsionante. **2.** Bomba peristáltica. **3.** Aguja de goteo. **4.** Contenedor de la solución de CaCl_2 . **5.** Sistema de agitación de la solución de CaCl_2 . **(a)** Solución de alginato de Na conteniendo oleorresina astaxantina/aceite emulsificada. **(b)** Solución de CaCl_2 conteniendo partículas de oleorresina/alginato de calcio.

2.3.2.3. Liberación *in vitro* de astaxantina desde partículas de alginato

La liberación *in vitro* de astaxantina desde partículas de alginato fueron llevadas a cabo en condiciones intestinales simuladas. El medio de disolución fue una solución de buffer fosfato de 0,05 M y pH 7,4. Las condiciones de temperatura de $37,0 \pm 0,5$ °C y agitación de 100 rpm fueron obtenidas mediante un baño térmico Dubnoff digital (Vicking, Buenos Aires, Argentina). Una cantidad determinada de partículas fue colocada en el fluido intestinal simulado y mantenidas durante diferentes intervalos de tiempo (300, 600, 900, 1800, 3600, 7200, 10800 y 14400 s). Las experiencias fueron llevadas a cabo por duplicado en 5 corridas independientes. Luego del tiempo de extracción, se agregó etil acetato a cada muestra y se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 min en una centrífuga Gelec modelo G-142 N° A04381 (Gelec, Buenos Aires, Argentina) con la finalidad de separar las partículas de alginato remanentes de la fase orgánica. El sobrenadante fue usado para determinar la astaxantina liberada desde las partículas. La concentración de astaxantina fue determinada usando un método espectrofotométrico derivativo de primer orden. La lectura se realizó en un espectrofotómetro Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) en el rango de longitud de onda entre 400 – 700 nm.

2.3.3. Ajuste a los datos experimentales

Los modelos de He et al. (2005), Harland et al. (1988) y Wu y Brazel (2008) fueron ajustados a los datos experimentales de liberación de astaxantina. Para ello, se utilizó la función *nonlin_curvefit* del paquete de optimización de GNU/Octave 6.2.0. La bondad del ajuste obtenido fue evaluado mediante el error absoluto promedio porcentual (*EAPP*),

$$EAPP = \frac{100}{J} \sum_{j=1}^J \left| 1 - \frac{\Phi_{LT,j}}{\Phi_{LE,j}} \right| \quad (2.35)$$

donde J es el número de datos experimentales y $\Phi_{LT,j}$ y $\Phi_{LE,j}$ son los j -ésimos valores teóricos y experimentales de la fracción de activo liberado promedio en el volumen, respectivamente. En general, valores del *EAPP* menores al 10 % sugieren que el ajuste es altamente preciso, mientras que valores entre 10 – 20 % son considerados buenos, entre 20 – 50 % son considerados aceptables y valores mayores al 50 % son considerados ajustes imprecisos (Montaño Moreno et al., 2013).

Los códigos de implementación de los modelos de He et al. (2005) y Harland et al. (1988) se muestran en los **Anexos A.2-A.4**. Las simulaciones se llevaron a cabo en una computadora Intel Core i5 7200 de 2,70 GHz con 8 GB de RAM. Los modelos tardaron aproximadamente 0,5 s en converger. El código de implementación del modelo de Wu y Brazel (2008) se muestra en el **Anexo A.5**. Este modelo fue discretizado usando un método de diferencias finitas centradas para las derivadas respecto a la posición y adelantadas para las derivadas respecto del tiempo. Se usó un método de resolución explícito (**Anexo A.6**). El radio de partícula fue dividido en $P = 200$ segmentos y el paso del tiempo considerado fue de $\Delta t = 6 \times 10^{-4}$ s. Se consideró que el espesor del paso radial ($\Delta r = R_t/P$) puede variar ante una variación en el volumen del dominio en estudio. En el **Anexo A.7**, se muestran los resultados de un test de independencia de malla. Estas simulaciones se llevaron a cabo en el cluster Pirayu. Este cluster está compuesto por 35 nodos (procesadores Intel(R) Xeon(R) E5-2650 v3 @ 2.30GHz 25 MB) que conforman un total de 720 cores y 4,48 TB de memoria (Pirayú, 2021). El modelo tardó 76 h en converger.

2.3.3.1. Determinación y adopción de los valores iniciales de los parámetros de los modelos

El radio de partícula R fue estimado experimentalmente. Dado que la función *nonlin_curvefit* requiere un valor inicial de los parámetros del modelo para comenzar a iterar, estos fueron obtenidos de la literatura (D , D_0), adoptados (k_s , F_E , k_e , $T_{\text{máx}}$, k , λ^{eq} , c_w^* , β_1 , β_2 , β_3 , $D_{A,w}$, $D_{w,s}$) o estimados (h).

Determinación del tamaño de partícula (R). El tamaño de partícula fue medido por análisis de imagen de al menos 50 micropartículas por imagen (Niizawa et al., 2019). Para cada una de 5 corridas independientes se obtuvo la distribución del radio de partícula y se calculó la moda del radio (R_m), el radio promedio (R_p) y el radio correspondiente al momento medio de área superficial ($R_{3,2}$). El R_m se define como el radio correspondiente a la mayor frecuencia de ocurrencia. El R_p y el $R_{3,2}$ fueron calculados según las Ecs. (2.36)-(2.37), respectivamente (Rawle, 2003).

$$R_p = \frac{\sum_{z=1}^Z R_z}{Z} \quad (2.36)$$

$$R_{3,2} = \frac{\sum_{z=1}^Z R_z^3}{\sum_{z=1}^Z R_z^2} \quad (2.37)$$

donde R_z es el radio de la partícula z [m] y Z es el número total de partículas.

Estimación del coeficiente de transferencia superficial de materia (h). Para estimar los valores de h , se usaron las expresiones propuestas por Welty et al. (2015) para una esfera dentro de una corriente líquida.

$$Sh = (4 + 1,21Pe^{2/3})^{1/2} \quad Pe < 10000 \quad (2.38)$$

$$Sh = 1,01Pe^{1/3} \quad Pe > 10000 \quad (2.39)$$

donde Sh fue definido en la Sección 2.2.2 como el número de Sherwood (Ec. 2.14) y Pe es el número de Peclet considerando un D_A igual en ambas fases (Harland et al., 1988),

$$Pe = \frac{v_\infty d}{D_A} \quad (2.40)$$

donde v_∞ es la velocidad del fluido exterior [$m\ s^{-1}$] y d es el diámetro de partícula [m].

2.4. Resultados y discusión

2.4.1. Datos experimentales de la liberación de astaxantina

2.4.1.1. Fracción de astaxantina liberada desde una matriz de alginato

En la Tabla 2.4, se muestra el valor promedio de la fracción de astaxantina liberada ($\Phi_{L,E}$) desde un sistema de encapsulación astaxantina/alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas. Los valores mostrados corresponden al promedio de 5 corridas independientes realizadas por duplicado (Anexo A.8).

2.4.2. Ajuste de datos experimentales

2.4.2.1. Determinación del tamaño de partícula

El radio de partícula presentó una distribución aproximadamente gaussiana (**Anexo A.9**). Los valores promedio obtenidos de R_m , R_p , y $R_{3,2}$ se muestran en la **Tabla 2.5**. Se consideró a R_m como el estimador más apropiado para R .

Tabla 2.4. Valores experimentales de la fracción de astaxantina liberada ($\Phi_{L,E}$) a distintos tiempos en condiciones intestinales simuladas. (pH 7,4, $T = 37$ °C). La desviación estándar fue calculada a partir de 5 corridas independientes realizadas por duplicado.

t [min]	t [s]	$\Phi_{L,E}$ [-]
5	300	$0,045 \pm 0,023$
10	600	$0,095 \pm 0,013$
15	900	$0,186 \pm 0,027$
30	1800	$0,354 \pm 0,025$
60	3600	$0,475 \pm 0,046$
120	7200	$0,674 \pm 0,014$
180	10800	$0,826 \pm 0,072$
240	14400	$0,924 \pm 0,052$

Tabla 2.5. Valores promedio de los estimadores propuestos del radio de partícula (R).

Estimador de R	Valor (10^{-3}) [m]
R_m	1,02
R_p	1,03
$R_{3,2}$	1,03
SD	0,05

2.4.2.2. Determinación de los valores iniciales de los parámetros de los modelos

En la **Tabla 2.6**, se muestran los valores de inicialización de los parámetros de los modelos. Los valores iniciales de D_0 y D_A fueron obtenidos de la literatura. Los parámetros k_s , F_E y k_e fueron adoptados considerando el rango de valores obtenidos por He et al. (2005) para una amplia gama de sistemas de encapsulación. El valor de $T_{\text{máx}}$ fue adoptado en el orden de magnitud del tiempo

máximo de simulación. El valor de k fue adoptado en el orden de magnitud reportado por Harland et al. (1988) y h fue estimado. Los parámetros λ^{eq} , c_w^* , β_1 , β_2 , β_3 , $D_{A,w}$ y $D_{w,s}$ fueron adoptados en base a los valores reportados por Wu y Brazel (2008) para un sistema encapsulado-encapsulante de proxifilina-polivinil alcohol. Se usó un valor de $c_w^{eq} = 5,48 \times 10^4 \text{ mol m}^{-3}$ correspondiente a geles de pectina de bajo metoxilo y de agar (Chiarappa et al., 2018), y un valor de $D_w = 2,9 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (Holz et al., 2000).

Tabla 2.6. Valores iniciales de los parámetros del modelo de He et al. (2005), Harland et al. (1988) y Wu y Brazel (2008).

Modelo	Parámetro	Unidades	Valor	Fuente
He et al. (2005)	D_0	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$2,03 (\pm 0,01) \times 10^{-10}$	Karki et al. (2016)
	k_s	s^{-1}	1×10^{-7}	Adoptado
	F_E	-	0,5	Adoptado
	k_e	s^{-1}	1×10^{-6}	Adoptado
	$T_{\text{máx}}$	s	15000	Adoptado
Harland et al. (1998)	D_A	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$2,03 (\pm 0,01) \times 10^{-10}$	Karki et al. (2016)
	k	s^{-1}	1×10^{-3}	Adoptado
	h	m s^{-1}	$7,20 (\pm 0,02) \times 10^{-6}$	Estimado
Wu y Brazel (2008)	λ^{eq}	s	264	Adoptado
	c_w^*	mol m^{-3}	$0,3 c_w^{eq}$	Adoptado
	β_1	$\text{m}^3 \text{ mol}^{-1}$	$5,4 \times 10^{-5}$	Adoptado
	β_2	$\text{m}^3 \text{ mol}^{-1}$	$3,6 \times 10^{-5}$	Adoptado
	β_3	$\text{m}^3 \text{ mol}^{-1}$	$1,6 \times 10^{-4}$	Adoptado
	$D_{A,w}$	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$8,33 \times 10^{-10}$	Adoptado
	$D_{w,s}$	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$0,001 D_w$	Adoptado

Estimación del coeficiente de transferencia superficial de materia (h). Este parámetro fue estimado a partir de las Ecs. (2.38)-(2.40) con $d = 2,038 (\pm 0,100) \times 10^{-3} \text{ m}$, correspondiente a la moda del diámetro de partícula (Tabla 2.5), $D_A = 2,03 (\pm 0,01) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ (Karki et al., 2016) y un valor de $v_\infty = 3,60 (\pm 0,04) \times 10^{-2} \text{ m s}^{-1}$ estimado experimentalmente. Con estos valores, se obtuvo $Pe = 3,60 (\pm 0,04) \times 10^5$, $Sh = 72,20 \pm 0,24$ y un valor de $h = 7,20 (\pm 0,02) \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$. En el Anexo A.10, se muestra la metodología empleada para estimar v_∞ y h .

2.4.2.3. Ajuste del modelo de He et al. (2005) a los datos experimentales

En la **Tabla 2.7**, se muestra el valor de los parámetros del modelo propuesto por He et al. (2005) obtenidos para el sistema astaxantina/alginato. El valor de $EAPP$ obtenido fue de 35,8%, por lo tanto se puede considerar que el ajuste fue aceptable (Montaño Moreno et al., 2013).

Tabla 2.7. Valores de los parámetros del modelo de He et al. (2005), Harland et al. (1988) y Wu y Brazel (2008) obtenidos del ajuste.

Modelo	Parámetro	Unidades	Valor	$EAPP$ [%]	
He et al. (2005)	D_0	$m^2 s^{-1}$	$4,57 \times 10^{-12}$		
	k_s	s^{-1}	$9,59 \times 10^{-5}$		
	F_E	-	0	35,8	
	k_e	s^{-1}	0		
	$T_{m\acute{a}x}$	s	22758		
Harland et al. (1998)	<i>Condición de sumidero perfecto (CSP)</i>				
	D_A	$m^2 s^{-1}$	$6,00 \times 10^{-12}$	38,7	
	k	s^{-1}	$5,78 \times 10^{-5}$		
	<i>Condición de resistencia convectiva externa finita (CRF)</i>				
	D_A	$m^2 s^{-1}$	$8,51 \times 10^{-12}$	17,6	
	k	s^{-1}	$4,74 \times 10^{-6}$		
h	$m s^{-1}$	$8,33 \times 10^{-6}$			
Wu y Brazel (2008)	λ^{eq}	s	1314		
	c_w^*	$mol m^{-3}$	$0,9 c_w^{eq}$		
	β_1	$m^3 mol^{-1}$	$6,84 \times 10^{-5}$	49,2	
	β_2	$m^3 mol^{-1}$	$2,68 \times 10^{-4}$		
	β_3	$m^3 mol^{-1}$	$4,14 \times 10^{-5}$		
	$D_{A,w}$	$m^2 s^{-1}$	$9,27 \times 10^{-12}$		
$D_{w,s}$	$m^2 s^{-1}$	$0,001 D_w$			

En primer lugar, se observa que el valor de F_E obtenido del ajuste es igual a cero. Esto significa que el término del modelo asociado con la erosión (tercer término de la **Ec. 2.1**) se hace nulo. Por lo tanto, el efecto de la erosión sobre el proceso de liberación de astaxantina sería despreciable frente al efecto del mecanismo de difusión. Sin embargo, la erosión también se incluyó en el modelo a través del parámetro k_s . Este parámetro considera el efecto de la erosión sobre el coeficiente de difusión del compuesto encapsulado (**Ec. 2.2**). En la **Fig. 2.11**, se muestra el efecto que produce k_s sobre un

perfil puramente difusivo obtenido con un valor de $D = D_0$ (**Tabla 2.7**). Se observa que si no se considerase el efecto de la erosión, la liberación del activo sería más lenta y a $t = 14400$ s el valor de Φ_L sería aproximadamente 32 % menor. [Sriamornsak et al. \(2007\)](#) estudiaron el comportamiento de partículas de metronidazol encapsulado en una matriz de alginato de calcio en medios con diferentes pH. El metronidazol es un compuesto ampliamente utilizado como antiparasitario y antibacteriano de peso molecular igual a $171,15 \text{ g mol}^{-1}$. Por un lado, estos autores reportaron que a pH cercanos a la neutralidad, las partículas experimentaban pérdida de masa debido a la erosión de la matriz. Esto coincide con el comportamiento del alginato reportado por [Hoad et al. \(2009\)](#) y [Rayment et al. \(2009\)](#) detallado en la **Sección 2.3.1.2**. Por otro lado, [Sriamornsak et al. \(2007\)](#) observaron que el proceso de liberación del metronidazol era más rápido en condiciones cercanas a la neutralidad. Esto estaría asociado al efecto que ejerce la erosión sobre el proceso global de liberación del compuesto encapsulado, ya que el metronidazol es un compuesto poco soluble en agua pero soluble en soluciones ácidas ([PubChem, 2021](#)).

En segundo lugar, los valores de k_e y $T_{\text{máx}}$ obtenidos del ajuste (**Tabla 2.7**) no influyen en el resultado final. Esto se debe a que $F_E = 0$ anula el término en que se encuentran estos parámetros.

En tercer lugar, el valor de D_0 obtenido del ajuste (**Tabla 2.7**) se encuentra en el orden de magnitud reportado por [Cussler \(2009\)](#) para moléculas difundiendo en polímeros. Además, varios

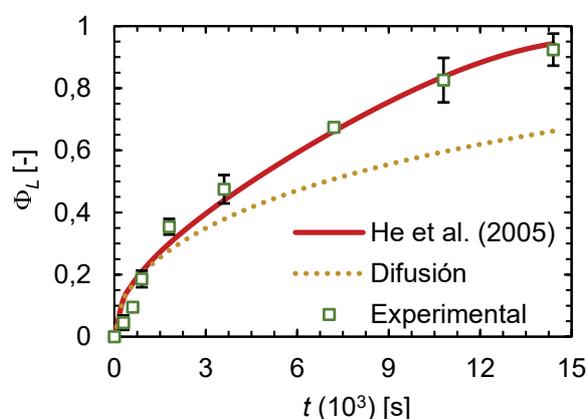


Figura 2.11. Datos experimentales y perfil teórico de la fracción de astaxantina liberada (Φ_L) obtenido con el modelo de [He et al. \(2005\)](#).

autores determinaron un valor de coeficiente de difusión de la astaxantina en diferentes medios. Por un lado, [Colín-Chávez et al. \(2013\)](#) determinaron el coeficiente de difusión de astaxantina difundiendo a través de un film monocapa de polietileno de baja densidad y de un film bicapa de polietileno de alta densidad/polietileno de baja densidad. Los films fueron puestos en contacto con un simulante de alimento graso (solución de etanol al 95 %). El coeficiente de difusión de la astaxantina a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ fue de $7,40 (\pm 0,00) \times 10^{-15} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ y $5,59 (\pm 0,07) \times 10^{-15} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ en el film monocapa y en el film bicapa,

respectivamente. Por otro lado, [Karki et al. \(2016\)](#) estimaron un valor de $2,03 (\pm 0,01) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ y $1,8 (\pm 0,3) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ para la astaxantina difundiendo en agua y etanol, respectivamente. Estos valores fueron obtenidos en forma teórica a través de simulaciones de dinámica molecular. Para ello, los autores consideraron a una única molécula de todo-*trans*-astaxantina con sus dos carbonos asimétricos en configuración R (**Fig. 2.4**) difundiendo a través del solvente, una temperatura de 300 K y una presión de 1 bar.

En la **Fig. 2.11**, se muestran los datos experimentales de liberación de astaxantina y la curva teórica obtenida del ajuste. Se observa que la curva obtenida con el modelo se desvía de la forma de la curva experimental a $t < 900 \text{ s}$ y $t > 10800 \text{ s}$. En ambos casos los valores teóricos son mayores que los experimentales. Esto puede deberse a que a valores de t chicos, el modelo propuesto por [He et al. \(2005\)](#) considera que la liberación del activo sigue una cinética tipo Fick. Esto es, hasta $t \approx 900 \text{ s}$, la curva teórica obtenida con el modelo de [He et al. \(2005\)](#) coincide con la curva obtenida con el modelo puramente difusivo. Adicionalmente, la desviación observada a valores de t grandes se puede deber a que el modelo fue desarrollado partiendo de la ecuación de difusión a través de una esfera que considera coeficiente de difusión constante y tiempos cortos ($M_t/M_\infty \leq 0,6$) (**Sección 2.2.1**).

2.4.2.4. Ajuste del modelo de [Harland et al. \(1988\)](#) a los datos experimentales

En la **Tabla 2.7**, se muestra el valor de los parámetros de los modelos propuestos por [Harland et al. \(1988\)](#) obtenidos para el sistema astaxantina/alginato. El valor de $EAPP$ obtenido fue de 38,7% para el modelo CSP y 17,6% para CRF. Por lo tanto, se puede considerar que el ajuste fue aceptable en el primer caso y bueno en el segundo ([Montaño Moreno et al., 2013](#)).

Por un lado, los valores de D_A obtenidos con ambos modelos se encuentran en el mismo orden de magnitud que el obtenido con el modelo de [He et al. \(2005\)](#). Por otro lado, el k obtenido con el modelo CSP es un orden de magnitud mayor que el obtenido con el modelo CRF. Esto significa que en el primer caso el activo se estaría disolviendo más rápido que en el segundo caso ([Peppas, 1983](#)). [Peppas \(1983\)](#) propuso un rango de valores para k entre $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ y $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. [Gurny et al. \(1982\)](#) reportaron un valor de $1,7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para la disolución de cloruro de potasio en agua en un medio estanco. Este compuesto presenta una solubilidad en agua de 357,3 g L⁻¹ a 26°C ([Sunier y Baumbach, 1976](#)). Es decir que el KCl es altamente soluble en agua ([U. S. Pharmacopeia, 2021](#)) y resulta esperable que se disuelva rápidamente. En cuanto a la astaxantina, debido a que es prácticamente insoluble en agua (**Sección 2.3.1.1**), valores de k pequeños resultan razonables.

Respecto al coeficiente de transferencia superficial de materia (h), se estimó un valor teórico de $1,73 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1}$ (**Anexo A.11**). Este valor es ligeramente menor que el obtenido del ajuste (**Tabla 2.7**). Esto puede deberse a agitaciones y ondas no consideradas en la estimación del valor teórico

(Treybal, 1988).

En la **Fig. 2.12**, se muestra el perfil de liberación de astaxantina obtenido experimentalmente y los perfiles teóricos obtenidos con los modelos propuestos por Harland et al. (1988). Se observa que el perfil teórico obtenido con el modelo CRF ajusta mejor a los datos experimentales en todo el rango de tiempo. Esto puede deberse a que el modelo CSP tiene implícito un valor de h tendiendo a infinito. Esta condición no es esperable en el caso particular de astaxantina difundiendo a través de una matriz de alginato de calcio hacia un medio acuoso. Esto puede explicarse a través de la **Ec. (2.41)**. Esta expresión fue obtenida a través de la combinación de la **Ec. (2.39)** y la **Ec. (2.14)**. Por un lado, los parámetros que más afectan al valor de h son D_A y R . Aquí, h es proporcional a $D_A^{2/3}$ e inversamente proporcional a $R^{2/3}$. Sin embargo, en el sistema en estudio es esperable un valor de D menor a R en varios órdenes de magnitud. Por otro lado, h es proporcional a $v_\infty^{1/3}$. No obstante, debido a que el modelo representa la liberación *in vitro* del activo, la v_∞ máxima estimada en el tracto gastrointestinal es de $0,04 \text{ m s}^{-1}$ (Mohr y Steffen, 2011). En consecuencia, se esperaría que el valor de h en el sistema en estudio sea finito y tenga un valor pequeño.

$$h = 1,01 \left(\frac{v_\infty}{2} \right)^{1/3} \left(\frac{D_A}{R} \right)^{2/3} \quad (2.41)$$

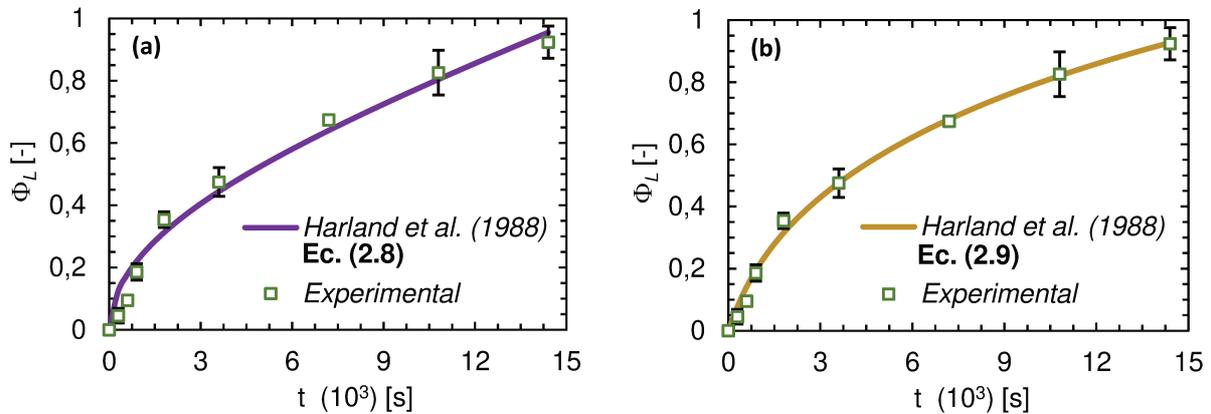


Figura 2.12. Datos experimentales y perfil teórico de la fracción de astaxantina liberada (Φ_L) obtenido con el modelo de Harland et al. (1988). (a) Condición de sumidero perfecto. (b) Condición de resistencia convectiva externa finita.

Finalmente, es necesario resaltar que los modelos propuestos por Harland et al. (1988) fueron planteados bajo las suposiciones de que el activo encapsulado es soluble en agua y que la matriz no se erosiona. En este sentido, a pesar de que los ajustes obtenidos resultaron aceptables, no describen la física del sistema astaxantina/alginato. Esto se debe a que, como se mencionó previamente, la astaxantina es prácticamente insoluble en agua (**Sección 2.3.1.1**) y la matriz de alginato se erosiona en las condiciones experimentales estudiadas (**Sección 2.3.1.2**).

2.4.2.5. Ajuste del modelo de Wu y Brazel (2008) a los datos experimentales

En la **Tabla 2.7**, se muestra el valor de los parámetros del modelo propuesto por [Wu y Brazel \(2008\)](#) obtenidos para el sistema astaxantina/alginato. El valor de $EAPP$ obtenido fue de 49,2%. Por lo tanto, se puede considerar que el ajuste no fue bueno ([Montaño Moreno et al., 2013](#)).

El valor ajustado de λ^{eq} fue de 1314 s. Sin embargo, en la literatura se reportaron tiempos de relajación para el alginato de calcio en torno a los 10 s ([Zhao et al., 2010](#)). El efecto del tiempo de relajación de la matriz puede ser analizado a través de un índice del carácter no-Fickiano del flujo de agua (R_d) y del número de Deborah (De) ([Grassi et al., 1998](#)),

$$R_d = \frac{D_w}{D_{w,m}^f} \quad (2.42)$$

$$De = \frac{\lambda^{eq}}{(R_t^2/D_w)} \quad (2.43)$$

Por un lado, un valor de $R_d = 1$ significa que el flujo de agua sigue una cinética tipo Fick. Cuanto más alejado se encuentre R_d de 1, mayor será la desviación del flujo de agua de la cinética tipo Fick. Por otro lado, De se define como la relación entre el tiempo característico relajación de la matriz y el tiempo característico de difusión de agua. Si $De \ll 1$, la relajación de la matriz se produce instantáneamente. Por el contrario, si $De \gg 1$, la relajación de la matriz ocurre a tiempos muy largos. Mientras que si $De \approx 1$, los fenómenos de relajación y de difusión de agua ocurren en la misma escala de tiempo. Para el sistema en estudio se obtuvo $R_d \approx 1000$ y $De \approx 3,7$. Estos valores fueron calculados a partir de $D_{w,m}$ y de λ^{eq} obtenidos del ajuste (**Tabla 2.7**), D_w obtenido de la literatura (**Sección 2.4.2.2**) y R_m determinado experimentalmente (**Sección 2.3.3.1**). En consecuencia, los valores de R_d y De indicarían un fuerte carácter no-Fickiano del flujo de agua en la matriz.

En bibliografía, se reportaron valores de β_1 , β_2 y β_3 de $5,4 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$, $3,6 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$ y $1,6 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$, respectivamente, para el sistema proxifilina-PVC (fármaco-matriz) ([Wu y Brazel, 2008](#)). [Grassi et al. \(1998\)](#) y [Camera-Roda y Sarti \(1990\)](#) propusieron valores de $2,52 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$ y $2,16 \times 10^{-4} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1}$ para β_1 y β_2 , respectivamente.

El valor ajustado de $D_{A,w}$ está en el orden de magnitud de los valores obtenidos mediante los modelos de [He et al. \(2005\)](#) y [Harland et al. \(1988\)](#).

En la **Fig. 2.13.(a)**, se muestran los datos experimentales de la fracción de astaxantina liberada y la curva teórica obtenida del ajuste. En la misma, se observa que el modelo de [Wu y Brazel \(2008\)](#) no describió adecuadamente los datos experimentales para $t < 0,6 \times 10^3 \text{ s}$ y $t > 7 \times 10^3 \text{ s}$.

En la **Fig. 2.13.(b)**, se muestran los perfiles teóricos de la fracción de agua absorbida (Φ_w) y del radio de partícula (R_t/R_0). En primer lugar, se observa que el sistema alcanza rápidamente el estado gomoso. Esto es, en $t \approx 1,2 \times 10^3 \text{ s}$, $\Phi_w \geq \Phi_w^* = 0,9$ ($c_w = c_w^*$) (**Tabla 2.7**). Luego, Φ_w

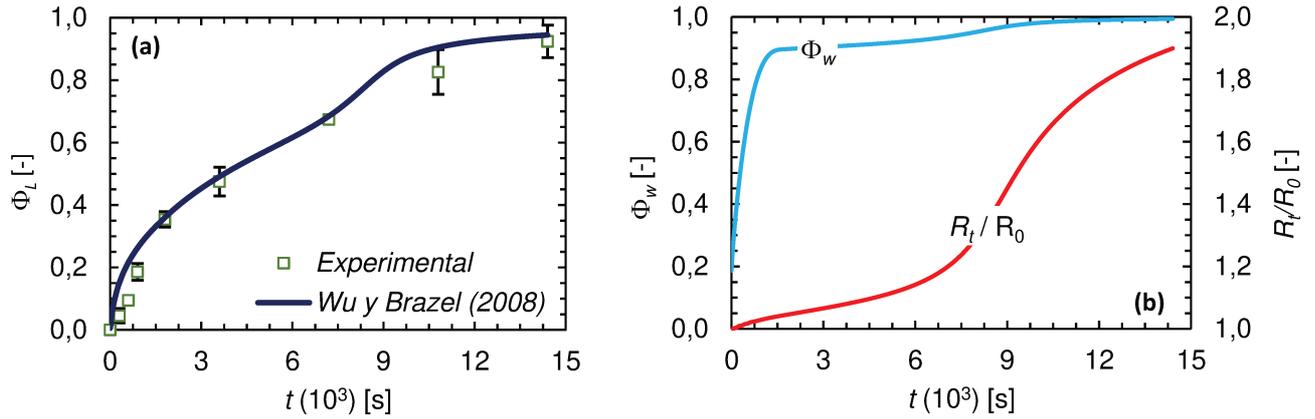


Figura 2.13. (a) Datos experimentales y perfil teórico de la fracción de astaxantina liberada (Φ_L) y perfiles teóricos de (b) la fracción de agua absorbida (Φ_w) y del radio de partícula (R_t/R_0) obtenidos con el modelo de Wu y Brazel (2008).

tiende asintóticamente a 1. Esto significa que c_w tiende a su valor de equilibrio en todo el volumen del sistema. Respecto al tamaño de partícula, se observa un aumento lento hasta $t \approx 7 \times 10^3$ s. Entre $t = 7 \times 10^3$ s y $t = 11 \times 10^3$ s, el aumento es más acelerado. Finalmente, para $t \geq 11 \times 10^3$ s, el tamaño de partícula continúa aumentando, pero en forma más lenta. Sin embargo, Bajpai y Kirar (2016) reportaron que las partículas de alginato de calcio se degradan en un par de horas cuando son expuestas a una solución buffer de fosfato a pH = 7,4. Esto se debe a que los iones presentes en el medio se intercambian con los iones Ca^{2+} que están formando la estructura de *caja de huevos* en el gel de alginato de calcio (Fig 2.8).

En las Figs. 2.14-2.15, se muestra la evolución temporal de los perfiles locales de la concentración adimensional de agua y de concentración adimensional de activo en el dominio, respectivamente. Respecto a la concentración de agua, se observa que inicialmente $c_w/c_w^{eq} \approx 0,2$ en todo el dominio. Luego, ésta aumenta en las regiones más externas. Allí, la matriz alcanza el estado gomoso, mientras que en las regiones interiores permanece en estado vítreo. Esto es, $c_w/c_w^{eq} \geq 0,9$ en $r/R_0 \approx 1$. Para $t > 1,5 \times 10^3$ s, en todo el sistema $c_w/c_w^{eq} > 0,9$, es decir que la matriz se encuentra en estado gomoso en todo el dominio. Además, en las regiones próximas a la superficie del sistema, la concentración de agua va alcanzado lentamente su valor de equilibrio ($c_w/c_w^{eq} \approx 1$). En cuanto a la concentración de activo, inicialmente su valor es uniforme e igual a $c_A/c_{A,0} = 1$ en todo el dominio. Luego, a medida que la matriz alcanza el estado gomoso, el activo que se encuentra en las regiones más externas del dominio puede difundir hacia el medio circundante. Esto significa que $c_A/c_{A,0}$ disminuye en las regiones más externas. Luego, cuando todo el dominio alcanza el estado gomoso, el activo encapsulado puede difundir, en principio dentro de la matriz (que va aumentando su tamaño) y luego desde la matriz al

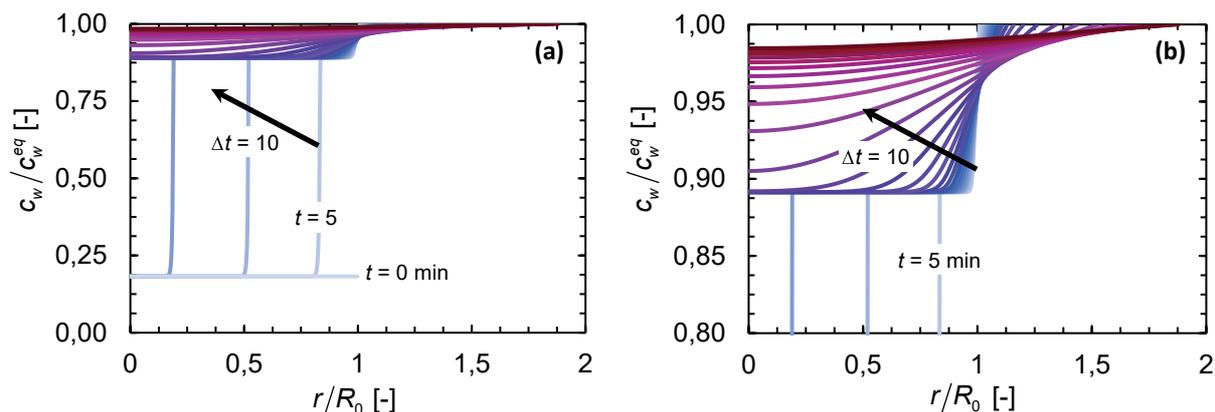


Figura 2.14. Evolución temporal de los perfiles locales de la concentración adimensional de agua (c_w/c_w^{eq}) en un rango de (a) $0 \leq c_w/c_w^{eq} \leq 1$ y de (b) $0,8 \leq c_w/c_w^{eq} \leq 1$ obtenidos con el modelo de Wu y Brazel (2008).

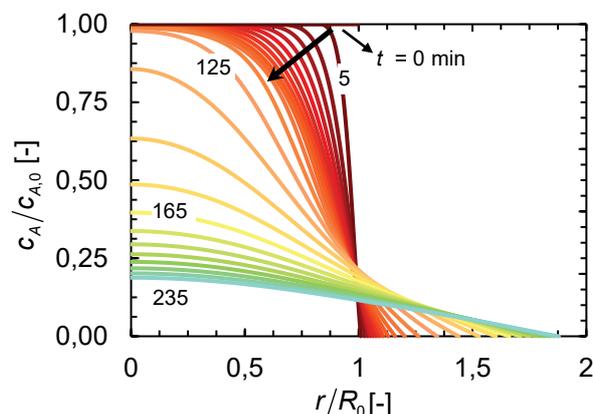


Figura 2.15. Evolución temporal de los perfiles locales de la concentración adimensional de activo ($c_A/c_{A,0}$) obtenidos con el modelo de Wu y Brazel (2008).

medio circundante.

2.5. Conclusiones

Se seleccionaron y utilizaron modelos, desarrollados para describir la cinética de liberación de fármacos, para representar la cinética de liberación *in vitro* de un activo alimentario encapsulado. Cada uno de ellos considera que en el proceso de liberación prevalece el efecto de la difusión del activo en simultáneo con la erosión, la disolución o el hinchamiento de la matriz. En general, se obtuvieron ajustes aceptables de los datos experimentales. Sin embargo, los modelos seleccionados no fueron suficientes para describir completamente los aspectos más importantes de la física del sistema.

2.6. Nomenclatura

Bi Número de Biot másico, definido en la **Ec. (2.12)** [-]

c_A Concentración del activo [mol m^{-3}]

$c_{A,0}$ Concentración inicial del activo [mol m^{-3}]

c_s Concentración de saturación de activo en el sistema [mol m^{-3}]

c_w^* Concentración crítica de agua [mol m^{-3}]

c_w Concentración de agua [mol m^{-3}]

c_w^{eq} Concentración de agua en el equilibrio [mol m^{-3}]

d Diámetro de partícula [m]

D_0 Coeficiente de difusión inicial del activo [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

D_A Coeficiente de difusión del activo [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{A,m}$ Coeficiente de difusión del activo en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{A,mc}$ Coeficiente de difusión del activo en el medio circundante [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{A,w}$ Coeficiente de difusión del activo en agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

D_t Coeficiente de difusión del activo en la matriz a tiempo t [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

D_w Coeficiente de auto-difusión del agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,m}$ Coeficiente de difusión total del agua en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,m}^f$ Coeficiente de difusión de agua en la matriz relacionado con el flujo Fickiano [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,m}^r$ Coeficiente de difusión de agua en la matriz relacionado con el flujo no-Fickiano [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,s}$ Coeficiente de difusión de agua en la matriz seca [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

Di Número de disolución/difusión, definido en la **Ec. (2.10)** [-]

$EAPP$ Error absoluto promedio porcentual [%]

F_E Factor que tiene en cuenta la contribución de la erosión en el proceso de liberación (**Ec. 2.1**) [-]

h Coeficiente de transferencia superficial de materia del activo [m s^{-1}]

J Número de datos experimentales [-]

k Constante de disolución de primer orden que caracteriza a la velocidad de disolución del activo en ausencia de polímero encapsulante [s^{-1}]

k_e Coeficiente de aceleración que describe la probabilidad de corte de un sitio activado durante el intervalo de tiempo comprendido entre la generación del oligómero y su disolución [s^{-1}]

k_s Constante de velocidad de escisión de la cadena polimérica [s^{-1}]

M_∞ Cantidad de activo liberado a tiempo infinito [mol m^{-3}]

M_t Cantidad de activo liberado a tiempo t [mol m^{-3}]

n n -ésimo término de la serie infinita [-]

P Número de segmentos en que se divide el radio del dominio [-]

p_v Probabilidad de la expansión local de volumen [-]

p_w Factor de probabilidad de la absorción de agua [-]

Pe Número de Peclet [-]

R Radio del dominio [m]

r Posición radial [m]

R_0 Radio inicial del sistema [m]

$R_{3,2}$ Radio del momento medio de área superficial [m]

R_g Radio de la región en estado vítreo [m]

R_m Moda del radio de partícula [m]

R_p Radio de partícula promedio [m]

R_t Radio del sistema a tiempo t [m]

R_z Radio de la partícula z [m]

Sh Número de Sherwood, definido en la **Ec. (2.14)** [-]

t Tiempo [s]

$T_{\text{máx}}$ Tiempo de máxima velocidad erosión de la matriz [s]

V_0 Volumen inicial del sistema [m^3]

v_∞ Velocidad del fluido exterior [m s^{-1}]

V_c Volumen de la concentración crítica de agua [m^3]

V_t Volumen del sistema a tiempo t [m^3]

V_w Volumen de agua [m^3]

Z Número total de partículas [-]

Símbolos griegos

α_n n -ésima raíz de la **Ec. (2.13)** [-]

β_1 Constante [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$]

β_2 Constante [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$]

β_3 Constante [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$]

Δr Paso en la dirección radial [m]

Δt Paso de tiempo [s]

ε Porosidad [-]

λ Constante de relajación del sistema a tiempo t [s]

λ^{eq} Constante de relajación para el hidrogel hinchado en el equilibrio [s]

ρ_w Densidad del agua [mol m^{-3}]

τ Tiempo adimensional, definido en la **Ec. (2.11)** [-]

Φ_L Fracción de activo liberado [-]

Φ_w Fracción de agua absorbida promedio en el volumen [-]

Subíndices

E Valor experimental

j Valor j -ésimo

T Valor teórico

z z -ésima partícula

2.7. Bibliografía

- Ahmed, S. (Ed.) (2019). *Alginates: Applications in the biomedical and food industries*. Scrivener Publishing/Wiley, Hoboken, USA, 1era ed.
- AK Scientific, inc. (2021). Fine & specialty chemicals in catalog & bulk. All-trans-astaxanthin, 95%. https://aksci.com/item_detail.php?cat=J90065. (Accedido el 16.09.2021).
- Ambati, R., Phang, S.M., Ravi, S. y Aswathanarayana, R. (2014). Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications — A review. *Marine Drugs*, 12(1):128–152. doi:10.3390/md12010128.
- Bajpai, S.K. y Kirar, N. (2016). Swelling and drug release behavior of calcium alginate/poly (sodium acrylate) hydrogel beads. *Designed Monomers and Polymers*, 19(1):89–98. doi:10.1080/15685551.2015.1092016.
- Baker, R. y Lonsdale, H. (1974). Controlled release: Mechanisms and rates. En A. Tanquary y R. Lacey (Eds.), *Controlled Release of Biologically Active Agents*. Plenum Press, New York, USA, pp. 15–71.
- Bjørnøy, S.H., Mandaric, S., Bassett, D.C., Åslund, A.K., Ucar, S., Andreassen, J.P., Strand, B.L. y Sikorski, P. (2016). Gelling kinetics and in situ mineralization of alginate hydrogels: A correlative spatiotemporal characterization toolbox. *Acta Biomaterialia*, 44:243–253. doi:10.1016/j.actbio.2016.07.046.
- Boostani, S. y Jafari, S.M. (2021). A comprehensive review on the controlled release of encapsulated food ingredients; fundamental concepts to design and applications. *Trends in Food Science & Technology*, 109:303–321. doi:10.1016/j.tifs.2021.01.040.
- Camera-Roda, G. y Sarti, G.C. (1990). Mass transport with relaxation in polymers. *AIChE Journal*, 36(6):851–860. doi:10.1002/aic.690360606.
- Chiarappa, G., De’Nobili, M.D., Rojas, A.M., Abrami, M., Lapasin, R., Grassi, G., Ferreira, J.A., Gudiño, E., de Oliveira, P. y Grassi, M. (2018). Mathematical modeling of L-(+)-ascorbic acid delivery from pectin films (packaging) to agar hydrogels (food). *Journal of Food Engineering*, 234:73–81. doi:10.1016/j.jfoodeng.2018.04.011.
- Colín-Chávez, C., Soto-Valdez, H., Peralta, E., Lizardi-Mendoza, J. y Balandrán-Quintana, R. (2013). Diffusion of natural astaxanthin from polyethylene active packaging films into a fatty food simulant. *Food Research International*, 54(1):873–880. doi:10.1016/j.foodres.2013.08.021.

- Cussler, E.L. (2009). *Diffusion: Mass transfer in fluid systems*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 3ra ed. doi:10.1017/CBO9780511805134.
- EFSA Panel on Nutrition, Novel Foods and Food Allergens (NDA), Turck, D., Castenmiller, J., de Henauw, S., Hirsch-Ernst, K.I., Kearney, J., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H.J., Naska, A., Pelaez, C., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Cubadda, F., Engel, K., Frenzel, T., Heinonen, M., Marchelli, R., Neuhäuser-Berthold, M., Poulsen, M., Sanz, Y., Schlatter, J.R., van Loveren, H., Ackerl, R., Gelbmann, W., Steinkellner, H. y Knutsen, H.K. (2020). Safety of astaxanthin for its use as a novel food in food supplements. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 18(2). doi:10.2903/j.efsa.2020.5993.
- Fitzgerald, J.F. y Corrigan, O.I. (1993). Mechanisms governing drug release from poly- α -hydroxy aliphatic esters: diltiazem base release from poly-lactide-co-glycolide delivery systems. En M.A. El-Nokaly, D.M. Piatt y B.A. Charpentier (Eds.), *Polymeric delivery systems*, vol. 520. American Chemical Society, Washington DC, USA, pp. 311–326. doi:10.1021/bk-1993-0520.ch023.
- Grassi, M., Lapasin, R. y Pricl, S. (1998). Modeling of drug release from a swellable matrix. *Chemical Engineering Communications*, 169(1):79–109. doi:10.1080/00986449808912722.
- Guerra, A., Etienne-Mesmin, L., Livrelli, V., Denis, S., Blanquet-Diot, S. y Alric, M. (2012). Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. *Trends in Biotechnology*, 30(11):591–600. doi:10.1016/j.tibtech.2012.08.001.
- Gurny, R., Doelker, E. y Peppas, N. (1982). Modelling of sustained release of water-soluble drugs from porous, hydrophobic polymers. *Biomaterials*, 3(1):27–32. doi:10.1016/0142-9612(82)90057-6.
- Harland, R.S., Dubernet, C., Benoît, J.P. y Peppas, N.A. (1988). A model of dissolution-controlled, diffusional drug release from non-swellable polymeric microspheres. *Journal of Controlled Release*, 7(3):207–215. doi:10.1016/0168-3659(88)90053-3.
- Harris, P. (Ed.) (1990). *Food gels*. No. 2 en Elsevier Applied Food Science Series, Elsevier Science Publishers, Essex, UK.
- He, J., Zhong, C. y Mi, J. (2005). Modeling of drug release from bioerodible polymer matrices. *Drug Delivery*, 12(5):251–259. doi:10.1080/10717540500176043.
- Hoad, C., Rayment, P., Cox, E., Wright, P., Butler, M., Spiller, R. y Gowland, P. (2009). Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 2: *In vivo* characterisation. *Food Hydrocolloids*, 23(3):833–839. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.04.013.

- Holz, M., Heil, S.R. y Sacco, A. (2000). Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate ^1H NMR PFG measurements. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2(20):4740–4742. doi:10.1039/b005319h.
- Karki, K.J., Samanta, S. y Roccatano, D. (2016). Molecular properties of astaxanthin in water/ethanol solutions from computer simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(35):9322–9328. doi:10.1021/acs.jpcc.6b06055.
- Kim, S., Cho, E., Yoo, J., In, M. y Chae, H. (2008). Solubility and storage stability of astaxanthin. *KSBB Journal*, 23:546–550.
- Lee, K.Y. y Mooney, D.J. (2012). Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 37(1):106–126. doi:10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003.
- Li, J., He, J. y Huang, Y. (2017). Role of alginate in antibacterial finishing of textiles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94:466–473. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.10.054.
- Liu, X. y Osawa, T. (2007). Cis astaxanthin and especially 9-cis astaxanthin exhibits a higher antioxidant activity in vitro compared to the all-trans isomer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 357(1):187–193. doi:10.1016/j.bbrc.2007.03.120.
- Malekjani, N. y Jafari, S.M. (2021). Modeling the release of food bioactive ingredients from carriers/-nanocarriers by the empirical, semiempirical, and mechanistic models. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1):3–47. doi:10.1111/1541-4337.12660.
- Martínez-Delgado, A.A., Khandual, S. y Villanueva-Rodríguez, S.J. (2017). Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods for preservation. *Food Chemistry*, 225:23–30. doi:10.1016/j.foodchem.2016.11.092.
- Mohr, F. y Steffen, R. (2011). Physiology of gastrointestinal motility. En R. Wyllie y J.S. Hyams (Eds.), *Pediatric gastrointestinal and liver disease*. Elsevier Saunders, Philadelphia, USA, 4ta ed., pp. 39–49. doi:10.1016/B978-1-4377-0774-8.10005-3.
- Montaño Moreno, J.J., Palmer Pol, A. y Sesé Abad, A. (2013). Using the R-MAPE index as a resistant measure of forecast accuracy. *Psicothema*, (25.4):500–506. doi:10.7334/psicothema2013.23.
- Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S. y Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1:1806–1815. doi:10.1016/j.profoo.2011.09.265.

- Niizawa, I., Espinaco, B.Y., Zorrilla, S.E. y Sihufe, G.A. (2019). Natural astaxanthin encapsulation: Use of response surface methodology for the design of alginate beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121:601–608. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.10.044.
- Peppas, N.A. (1983). A model of dissolution-controlled solute release from porous drug delivery polymeric systems. *Journal of Biomedical Materials Research*, 17(6):1079–1087. doi:10.1002/jbm.820170615.
- Pirayú (2021). Centro de Cómputos del CIMEC. Equipamiento en Pirayu. <https://cimec.org.ar/c3/pirayu/equipos.php>. (Accedido el 27.08.2021).
- PubChem (2021). National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. Compound summary: Metronidazole. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Metronidazole>. (Accedido el 07.06.2021).
- Rammuni, M., Ariyadasa, T.U., Nimarshana, P. y Attalage, R. (2019). Comparative assessment on the extraction of carotenoids from microalgal sources: Astaxanthin from *H. pluvialis* and β -carotene from *D. salina*. *Food Chemistry*, 277:128–134. doi:10.1016/j.foodchem.2018.10.066.
- Rawle, A. (2003). Basic of principles of particle-size analysis. *Surface coatings international. Part A, Coatings journal*, 86(2):58–65.
- Rayment, P., Wright, P., Hoad, C., Ciampi, E., Haydock, D., Gowland, P. y Butler, M.F. (2009). Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: *In vitro* characterisation. *Food Hydrocolloids*, 23(3):816–822. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.04.011.
- Ritger, P.L. y Peppas, N.A. (1987). A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*, 5(1):23–36. doi:10.1016/0168-3659(87)90034-4.
- Siepmann, J., Siegel, R.A. y Rathbone, M.J. (Eds.) (2012). *Fundamentals and applications of controlled release drug delivery*. No. 4 en *Advances in delivery science and technology*, Springer US, New York, USA. doi:10.1007/978-1-4614-0881-9.
- Silva, T.L.d., Vidart, J.M.M., Silva, M.G.C.d., Gimenes, M.L. y Vieira, M.G.A. (2017). Alginate and sericin: Environmental and pharmaceutical applications. En E.A. Shalaby (Ed.), *Biological activities and application of marine polysaccharides*. InTech Open, London, UK, 1era ed., pp. 57–85. doi:10.5772/65257.
- Smidsrød, O. (1974). Molecular basis for some physical properties of alginates in the gel state. *Faraday Discuss. Chem. Soc.*, 57(0):263–274. doi:10.1039/DC9745700263.

- Sriamornsak, P., Thirawong, N. y Korkerd, K. (2007). Swelling, erosion and release behavior of alginate-based matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 66(3):435–450. doi:10.1016/j.ejpb.2006.12.003.
- Stachowiak, B. y Szulc, P. (2021). Astaxanthin for the food industry. *Molecules*, 26(9):2666. doi:10.3390/molecules26092666.
- Sunier, A.A. y Baumbach, J. (1976). The solubility of potassium chloride in ordinary and heavy water. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 21(3):335–336. doi:10.1021/je60070a011.
- Treybal, R.E. (1988). *Operaciones en transferencia de masa*. McGraw-Hill Interamericana, Bogotá, Colombia, 2da ed.
- U. S. Pharmacopeia (2021). Description and solubility. http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_desc-sol-2-5.html. (Accedido el 16.09.2021).
- Welty, J.R., Rorrer, G.L. y Foster, D.G. (2015). *Fundamentals of momentum, heat, and mass transfer*. John Wiley & Sons, Hoboken, USA, 6ta ed.
- Wu, L. y Brazel, C.S. (2008). Mathematical model to predict drug release, including the early-time burst effect, from swellable homogeneous hydrogels. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(5):1518–1526. doi:10.1021/ie071139m.
- Yamashita, E. (2013). Astaxanthin as a medical food. *Functional Foods in Health and Disease*, 3(7):254. doi:10.31989/ffhd.v3i7.49.
- Yang, M., Liang, Z., Wang, L., Qi, M., Luo, Z. y Li, L. (2020). Microencapsulation delivery system in food industry-challenge and the way forward. *Advances in Polymer Technology*:1–14. doi:10.1155/2020/7531810.
- Yuan, J.P. y Chen, F. (1998). Chromatographic separation and purification of trans-astaxanthin from the extracts of *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8):3371–3375. doi:10.1021/jf980039b.
- Zhao, X., Huebsch, N., Mooney, D.J. y Suo, Z. (2010). Stress-relaxation behavior in gels with ionic and covalent crosslinks. *Journal of Applied Physics*, 107(6):063509. doi:10.1063/1.3343265.

CAPÍTULO 3

Modelado matemático del proceso de liberación
de activos alimentarios encapsulados

CAPÍTULO 3

Modelado matemático del proceso de liberación de activos alimentarios encapsulados

Resumen. En el presente capítulo, se desarrolló y validó un modelo matemático que permite predecir la cinética de liberación de un activo encapsulado. Se consideró que los principales componentes del sistema son agua (ocluida y en el medio circundante), un activo (disuelto y no disuelto) y la matriz encapsulante. Los mecanismos tenidos en cuenta durante el proceso de liberación fueron el ingreso de agua al sistema por difusión molecular desde el medio circundante, provocando la erosión de la matriz, el desarrollo de tensiones, la disolución del activo no disuelto y la liberación del activo por difusión. Se obtuvieron parámetros adimensionales característicos relacionados con cada mecanismo considerado. El modelo fue validado con datos de liberación *in vitro* de astaxantina (activo) encapsulada en una matriz de alginato de calcio (matriz) (error absoluto promedio porcentual < 10 %).

3.1. Introducción

Un modelo matemático es una construcción matemática resumida y simplificada desarrollada con el propósito de describir cualitativa y/o cuantitativamente las características más relevantes del sistema en estudio (Bender, 2000). En general, dentro de las principales etapas que comprende su desarrollo y optimización se encuentran la formulación del problema, la validación del modelo con datos experimentales y la verificación de la sensibilidad del modelo asociada a cada uno de sus parámetros (análisis de sensibilidad) (Bender, 2000; Tilden y Seinfeld, 1982).

El modelado matemático consiste en cuantificar y desarrollar conceptualmente un proceso para mejorar su comprensión. Por lo tanto, la etapa de formulación del problema comienza con la indentificación y definición de dicho problema (Ramachandran, 2014). En particular, el desarrollo de un modelo matemático para describir la liberación de activos consiste en identificar a los principales mecanismos que puedan estar involucrados durante el proceso de liberación. Estos mecanismos van a depender de varios factores, tales como la composición y naturaleza del material encapsulante, las características del activo encapsulado, el medio de liberación, las propiedades físicas del sistema de encapsulación (tamaño, forma, morfología), entre otros (Fig. 3.1) (Malekjani y Jafari, 2021). Luego de identificar el problema, es necesario definir un volumen de control o sistema en estudio. Este es el volumen en que el modelo desarrollado va a ser válido. Seguidamente, puede plantearse un modelo

empírico o mecánico. En el primer caso, los fenómenos que suceden en el sistema en estudio son descritos a través de principios inciertos y los modelos resultan estocásticos o probabilísticos. En el segundo caso, se utilizan las leyes de conservación (balances de materia, energía y de momento) para describir lo que sucede físicamente en el sistema (Ferrareso Lona, 2018).

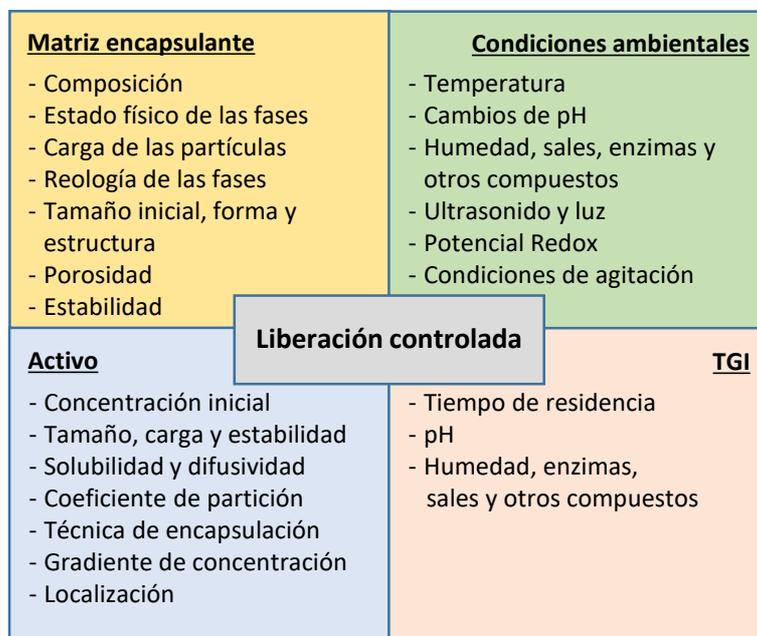


Figura 3.1. Principales factores que afectan a la liberación controlada de activos encapsulados (Malekjani y Jafari, 2021).

Por un lado, los modelos mecánicos se pueden clasificar en modelos de parámetros distribuidos o modelos de parámetros agrupados. Los modelos de parámetros distribuidos consideran que las variables de interés varían de un punto a otro dentro del sistema en estudio (Ferrareso Lona, 2018). Este tipo de modelos requieren de la definición de condiciones de contorno, es decir, especificaciones sobre el comportamiento de la variable de interés en la frontera del volumen de control (Hong, 2004). En contraparte, los modelos de parámetros agrupados consideran que las variables de interés son homogéneas a través del volumen de control. Por otro lado, los modelos mecánicos se clasifican en modelos en estado no estacionario y modelos en estado estacionario. En el primer caso, los modelos consideran que las variables de interés varían en el tiempo (Ferrareso Lona, 2018) y requieren de la definición de condiciones iniciales, es decir, de los valores de las variables de interés al inicio del intervalo de tiempo considerado (Hong, 2004). En contraste, los modelos en estado estacionario consideran que las variables de interés son estáticas. En muchos casos, el sistema en estudio no resulta estrictamente dentro de una de las clasificaciones mencionadas, sin embargo, pueden plantearse hipótesis válidas dentro de un cierto rango que permitan simplificar la resolución del modelo ya sea mediante métodos

analíticos o métodos numéricos (Ferrareso Lona, 2018).

La etapa de validación experimental de las predicciones derivadas de un modelo es una parte indispensable del proceso de modelado. Esta etapa comprende comparar los resultados obtenidos a partir del modelo con datos obtenidos experimentalmente. Esto no solo implica un ajuste cuantitativo de los datos, sino que también se requiere un análisis cualitativo. Ambos criterios deben complementarse para que la etapa de validación sea exitosa (Dym, 2004). En cuanto a la etapa de análisis de sensibilidad, la misma consiste en analizar los cambios generados sobre las variables de salida cuando los parámetros de entrada son modificados en forma controlada (Iooss y Saltelli, 2017). Esta etapa será abordada detalladamente en el **Capítulo 6**.

El objetivo del presente capítulo fue desarrollar un modelo matemático que permita predecir la cinética de liberación de un activo encapsulado. Los principales componentes del sistema son: agua (ocluida y en el medio circundante), un activo (disuelto y no disuelto) y la matriz encapsulante. Se consideró que los mecanismos involucrados durante el proceso de liberación son el ingreso de agua al sistema por difusión molecular desde el medio circundante, provocando la erosión de la matriz, el desarrollo de tensiones, la disolución del activo no disuelto y la liberación del activo por difusión. La validación del modelo se realizó con un sistema de encapsulación activo/encapsulante de astaxantina/alginato de calcio cuya liberación se llevó a cabo en condiciones simuladas del tracto gastrointestinal humano.

3.2. Teoría

3.2.1. Sistema en estudio

El sistema en estudio fue una esfera de radio R y volumen V inmersa en un fluido infinito. Las principales especies que componen el sistema son la matriz polimérica encapsulante (matriz), agua ocluida en la matriz y un compuesto activo (activo) (**Fig. 3.2**). El activo se encuentra distribuido uniformemente en el sistema y puede estar disuelto en el agua ocluida o retenido físicamente en la matriz (no disuelto). Se consideró que el medio infinito está constituido por una solución acuosa. El agua del medio circundante puede difundir dentro del sistema provocando la degradación de la matriz (erosión), la disolución del activo no disuelto e inducir tensiones en la matriz (hinchamiento).

3.2.2. Desarrollo del modelo

Azhdari et al. (2016) propusieron un modelo mecanístico para describir la liberación controlada de un fármaco inicialmente distribuido en forma homogénea en una matriz encapsulante erosionable y viscoelástica inmersa en un medio acuoso. El modelo se basó en plantear los balances de materia para las principales especies del sistema, es decir, para el agua, la matriz polimérica encapsulante, el

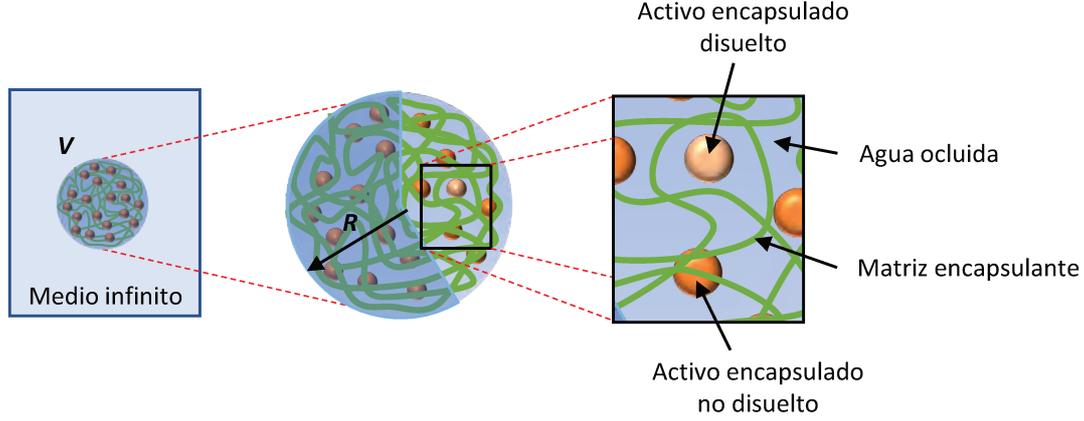


Figura 3.2. Sistema en estudio.

activo no disuelto y el activo disuelto. Los balances (**Ecs. 3.1-3.5**) consideran la absorción de agua, la erosión de la matriz, la variación de las propiedades viscoelásticas que experimenta la matriz debido a la absorción de agua, la disolución del activo no disuelto y la difusión del activo disuelto desde el sistema de encapsulación hacia el medio circundante. Las principales consideraciones que se tuvieron en cuenta para facilitar su resolución fueron que (a) la matriz es homogénea e isotrópica, (b) el cambio de volumen del dominio estudiado es despreciable (V es constante), (c) no hay interacciones entre el activo y la matriz y (d) la difusión del activo no disuelto es despreciable. Entonces,

Agua:

$$\frac{\partial c_w}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_w \nabla c_w)}_{\text{Difusión}} + \underbrace{\nabla \cdot (D_v \nabla \sigma)}_{\text{Hinchamiento}} - \underbrace{k c_w M}_{\text{Erosión}} \quad (3.1)$$

Tensiones en la matriz:

$$\frac{\partial \sigma}{\partial t} = -k_1 E \frac{\partial c_w}{\partial t} - \frac{E}{\mu} \sigma \quad (3.2)$$

Matriz polimérica:

$$\frac{\partial M}{\partial t} = \underbrace{-k_m c_w M}_{\text{Erosión}} \quad (3.3)$$

Activo no disuelto:

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = \underbrace{-k_{dis} \left(\frac{c_s}{c_{s,0}} \right) \left(\frac{c_{A,ms} - c_A}{c_{A,ms}} \right) \left(\frac{c_w}{c_{w,\infty}} \right)}_{\text{Disolución}} \quad (3.4)$$

Activo disuelto:

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = \underbrace{\nabla \cdot (D_A \nabla c_A)}_{\text{Difusión}} - \underbrace{\frac{\partial c_s}{\partial t}}_{\text{Disolución}} \quad (3.5)$$

donde c_w es la concentración de agua ocluida [mol m^{-3}], t es el tiempo [s], D_w es el coeficiente de difusión de agua en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], D_v es el coeficiente de difusión viscoelástico [$\text{mol Pa}^{-1} \text{m}^{-1} \text{s}^{-1}$], σ es la tensión de la matriz [Pa], k es una constante cinética de consumo de agua [$\text{Da}^{-1} \text{s}^{-1}$], M es el peso molecular de la matriz polimérica [Da], k_1 es una constante de proporcionalidad entre la deformación de la matriz (ε) y la concentración de agua ($\varepsilon = k_1 c_w$) [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$], E es el módulo elástico de la matriz polimérica [Pa], μ es el módulo viscoso de la matriz polimérica [Pa s], k_m es una constante cinética de degradación de la matriz polimérica [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$], c_s es la concentración de activo no disuelto [mol m^{-3}], k_{dis} es una constante cinética de disolución del activo no disuelto [$\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$], $c_{s,0}$ es la concentración inicial de activo no disuelto [mol m^{-3}], c_A es la concentración de activo disuelto [mol m^{-3}], $c_{A,ms}$ es la máxima concentración de activo disuelto en la solución del medio circundante [mol m^{-3}], $c_{w,\infty}$ es la concentración de agua en la solución del medio circundante [mol m^{-3}], y D_A es el coeficiente de difusión del activo disuelto [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$].

La ecuación **Ec. (3.1)** tiene en cuenta la contribución de tres mecanismos. El primer término considera la difusión molecular de agua debido a la existencia de un gradiente de concentración (flujo Fickiano). Este flujo es caracterizado por D_w . El segundo término representa un flujo no-Fickiano debido a la existencia de un gradiente de tensiones como consecuencia de la deformación de la matriz generada por la presencia de agua (Ferreira et al., 2015). Este flujo depende de las características viscoelásticas de la matriz y es caracterizado por D_v . El tercer término considera que el agua es consumida en una reacción de depolimerización de la matriz polimérica (Rothstein et al., 2009).

La matriz polimérica puede exhibir un amplio rango de comportamientos viscoelásticos dependiendo de las propiedades geométricas y físicas del polímero que la conforma (Cohen y White, 1991). Las ecuaciones constitutivas que describen gran parte de este rango suelen ser complejas, por lo tanto se han propuesto ecuaciones simples para describir rangos más chicos de materiales y deformaciones (Vrentas y Vrentas, 2013). En base a esto, la evolución de las tensiones en la matriz fue representada por un modelo de Maxwell (**Ec. 3.2**). Se consideró el modelo de Maxwell más simple compuesto por un amortiguador conectado en serie con un resorte (**Fig. 3.3**) (Cohen y White, 1989). La deformación de la matriz fue considerada proporcional a la concentración de agua ocluida ($\varepsilon \propto c_w$) (Azhdari et al., 2016).

La **Ec. (3.3)** representa la cinética de depolimerización de la matriz. Esta cinética fue propuesta por Rothstein et al. (2009) como una reacción de primer orden respecto a la concentración y al peso molecular del polímero encapsulante. Los autores reportaron que este modelo es adecuado tanto para sistemas de encapsulación cuyas matrices se erosionan en forma superficial, homogénea e incluso para aquellas que experimentan una transición de erosión superficial a erosión homogénea durante el periodo de liberación del activo.

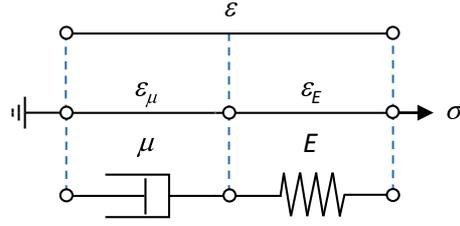


Figura 3.3. Modelo de Maxwell considerado para representar el comportamiento viscoelástico del sistema en estudio.

El activo encapsulado puede estar no disuelto o disuelto. Por un lado, el activo no disuelto debe disolverse antes de estar disponible para su liberación. La cinética de disolución del activo depende de la cinética de solubilidad y concentración del activo, así como también de la concentración de agua en el sistema (**Ec. 3.4**) (Rothstein et al., 2009). Por otro lado, el activo disuelto puede difundir al medio. La difusión del activo disuelto es caracterizado por D_A (**Ec. 3.5**).

Debido a la geometría y características del sistema en estudio (**Sección 3.2.1**), el sistema de **Ecs. (3.1)-(3.5)** fue planteado en coordenadas esféricas. Se consideró que los principales cambios ocurren en la dirección radial r . Los balances para cada componente del sistema resultan,

Agua ($0 \leq r < R, t > 0$):

$$\frac{\partial c_w}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 D_w \frac{\partial c_w}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 D_v \frac{\partial \sigma}{\partial r} \right) - k c_w M \quad (3.6)$$

Tensiones en la matriz ($0 \leq r < R, t > 0$):

$$\frac{\partial \sigma}{\partial t} = -k_1 E \frac{\partial c_w}{\partial t} - \frac{E}{\mu} \sigma \quad (3.7)$$

Matriz polimérica ($0 \leq r < R, t > 0$):

$$\frac{\partial M}{\partial t} = -k_m c_w M \quad (3.8)$$

Activo no disuelto ($0 \leq r < R, t > 0$):

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = -k_{dis} \left(\frac{c_s}{c_{s,0}} \right) \left(\frac{c_{A,ms} - c_A}{c_{A,ms}} \right) \left(\frac{c_w}{c_{w,\infty}} \right) \quad (3.9)$$

Activo disuelto ($0 \leq r < R, t > 0$):

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 D_A \frac{\partial c_A}{\partial r} \right) - \frac{\partial c_s}{\partial t} \quad (3.10)$$

3.2.2.1. Coeficientes de difusión y propiedades viscoelásticas de la matriz

Coeficientes de difusión molecular. La estructura de la matriz puede variar durante el proceso de liberación del activo como consecuencia de la erosión (Thombre y Himmelstein, 1985). Estos cambios

pueden afectar a la difusión de las moléculas de agua y de activo ya que dependen del espacio disponible entre las cadenas del polímero que componen la matriz (Caccavo et al., 2016). Por un lado, si el efecto de la erosión de la matriz polimérica no es apreciable durante el proceso de liberación del activo, D_w y D_A pueden considerarse constantes. Por otro lado, si el efecto de erosión de la matriz polimérica es considerable, el espacio disponible entre las cadenas del polímero aumenta en el tiempo como consecuencia de la disminución de su peso molecular. En este caso, D_w y D_A no pueden considerarse constantes (Vorotnikov, 2009). Debido a esto, se consideró que D_w y D_A pueden variar durante el proceso de liberación debido a la pérdida de material polimérico. Esta funcionalidad fue representada por las **Ecs. (3.11)-(3.12)**, respectivamente (Thombre y Himmelstein, 1985).

$$D_w = D_{w,0} \exp\left[k_w\left(1 - \frac{M}{M_0}\right)\right] \quad (3.11)$$

$$D_A = D_{A,0} \exp\left[k_A\left(1 - \frac{M}{M_0}\right)\right] \quad (3.12)$$

donde $D_{w,0}$ y $D_{A,0}$ son los coeficientes iniciales de difusión de agua y de activo en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], respectivamente, M_0 es el peso molecular inicial de la matriz polimérica [Da] y k_w [-] y k_A [-] son constantes.

Coefficiente de difusión viscoelástico. El coeficiente de difusión viscoelástico (D_v) fue estimado usando una aproximación propuesta por Ferreira et al. (2014) basada en la ecuación de Hagen-Poiseuille (**Ec. 3.13**). La explicación y deducción para hallar esta expresión se encuentra en detalle en el **Anexo A.12**.

$$D_v = \frac{c_w^2}{(c_{w,p} - c_w)} \frac{R_v^2}{8\mu_v} \quad (3.13)$$

donde R_v es el radio de sistema de encapsulación seco ($c_w = 0$) [m], $c_{w,p}$ es calculado como la densidad de agua sobre su peso molecular [mol m^{-3}] y μ_v representa la viscosidad de una solución polímero-solvente caracterizado por la concentración local de agua [Pa s]. De esta expresión se deriva que D_v es positivo, aumenta en función de c_w y que $D_v \approx 0$ cuando la concentración de agua ocluida no es apreciable ($c_w \approx 0$) (Ferreira et al., 2015).

Propiedades viscoelásticas de la matriz encapsulante. El comportamiento reológico del sistema depende del peso molecular del polímero que conforma la matriz (Vrentas y Vrentas, 2013). Debido a ello, las propiedades viscoelásticas de la matriz (E y μ) pueden variar cuando la erosión de la matriz es apreciable. Esto fue incluido mediante las **Ecs. (3.14)-(3.15)** propuestas por Azhdari et al. (2016).

$$E = k_E M^\alpha \quad (3.14)$$

$$\mu = k_\mu M^\beta \quad (3.15)$$

donde k_E [Pa Da^{-α}], k_μ [Pa s Da^{-β}], α [-] y β [-] son constantes.

3.2.2.2. Condiciones iniciales y de contorno

El sistema de ecuaciones diferenciales parciales (**Ecs. 3.6-3.10**) fue completado con las condiciones iniciales y de contorno. Las condiciones iniciales para el agua, las tensiones en la matriz, la matriz polimérica, el activo no disuelto y el activo disuelto son $c_{w,0}$, σ_0 , M_0 , $c_{s,0}$ y $c_{A,0}$, respectivamente. Estas fueron consideradas uniformes en todo el dominio del sistema en estudio ($0 \leq r \leq R$). Las condiciones de contorno para el agua y el activo disuelto son la condición de simetría en $r = 0$ (**Ec. 3.16**) y la condición de transferencia de materia convectiva finita en $r = R$ (**Ecs. 3.17-3.18**):

$$\frac{\partial c_w}{\partial r} = \frac{\partial c_A}{\partial r} = 0 \quad r = 0 \quad t > 0 \quad (3.16)$$

$$-D_w \frac{\partial c_w}{\partial r} - D_v \frac{\partial \sigma}{\partial r} = A_c(c_w - c_{w,\infty}) \quad r = R \quad t > 0 \quad (3.17)$$

$$D_A \frac{\partial c_A}{\partial r} = h(c_{A,\infty} - c_A) \quad r = R \quad t > 0 \quad (3.18)$$

donde $c_{A,\infty}$ es la concentración de activo en el medio circundante [mol m⁻³] y A_c y h son los coeficientes de transferencia superficial de materia del agua y del activo disuelto [m s⁻¹], respectivamente.

3.2.3. Escalado y adimensionalización

El escalado y adimensionalización es una técnica ampliamente utilizada en el modelado matemático y análisis numérico. Dentro de los principales objetivos que persigue esta técnica, se encuentran: (a) transformar en adimensionales a las variables dependientes e independientes, (b) hacer que dichas variables tengan un valor en el orden de la unidad y (c) reducir el número de parámetros físicos independientes en el modelo (Langtangen y Pedersen, 2016). El sistema de **Ecs. (3.6)-(3.18)** fue escalado y adimensionalizado teniendo en cuenta las sugerencias propuestas por Bejan (2013) y Langtangen y Pedersen (2016). La metodología consistió en seleccionar convenientemente a valores característicos del sistema y emplear a estos valores para adimensionalizar a las variables del modelos (**Tabla 3.1**).

Tabla 3.1. Variables adimensionales.

$\tilde{t} = D_{w,0}t/R^2$	$\tilde{r} = r/R$	$\tilde{D}_w = D_w/D_{w,0}$
$\tilde{c}_w = c_w/c_{w,\infty}$	$\tilde{\sigma} = \sigma/\sigma_0$	$\tilde{M} = M/M_0$
$\tilde{D}_v = D_v/D_{v,0}$	$\tilde{\mu} = \mu/\mu_0$	$\tilde{E} = E/E_0$
$\tilde{c}_s = c_s/c_{s,0}$	$\tilde{c}_A = c_A/c_{A,ms}$	$\tilde{D}_A = D_A/D_{A,0}$

Luego, estas variables adimensionales fueron incluidas en el modelo dimensional para obtener su forma

adimensional y escalada (**Ecs. 3.19-3.35**). La implementación de la metodología se muestra en detalle en el **Anexo A.13**.

Agua ($0 \leq \tilde{r} < 1, \tilde{t} > 0$):

$$\begin{aligned} \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{t}} = & \tilde{D}_w \left[\frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} \left(\frac{2}{\tilde{r}} - k_w \frac{\partial \tilde{M}}{\partial \tilde{r}} \right) + \frac{\partial^2 \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}^2} \right] \\ & + \Gamma_w \frac{\tilde{c}_w}{(1 - \tilde{c}_w)} \left\{ \frac{\partial \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}} \left[\frac{2}{\tilde{r}} \tilde{c}_w + \frac{(2 - \tilde{c}_w)}{(1 - \tilde{c}_w)} \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} \right] + \tilde{c}_w \frac{\partial^2 \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}^2} \right\} \\ & - \delta_w \tilde{c}_w \tilde{M} \end{aligned} \quad (3.19)$$

Tensiones en la matriz ($0 \leq \tilde{r} < 1, \tilde{t} > 0$):

$$\frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{t}} = -\zeta \frac{1}{\tilde{E}} \frac{\partial \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{t}} - \delta_\sigma \frac{\tilde{\sigma}}{\tilde{\mu}} \quad (3.20)$$

Matriz polimérica ($0 \leq \tilde{r} < 1, \tilde{t} > 0$):

$$\frac{\partial \tilde{M}}{\partial \tilde{t}} = -\delta_M \tilde{c}_w \tilde{M} \quad (3.21)$$

Activo no disuelto ($0 \leq \tilde{r} < 1, \tilde{t} > 0$):

$$\frac{\partial \tilde{c}_s}{\partial \tilde{t}} = -\delta_s \tilde{c}_s (1 - \tilde{c}_A) \tilde{c}_w \quad (3.22)$$

Activo disuelto ($0 \leq \tilde{r} < 1, \tilde{t} > 0$):

$$\frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{t}} = \gamma_A \tilde{D}_A \left[\frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} \left(\frac{2}{\tilde{r}} - k_A \frac{\partial \tilde{M}}{\partial \tilde{r}} \right) + \frac{\partial^2 \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}^2} \right] - \theta \frac{\partial \tilde{c}_s}{\partial \tilde{t}} \quad (3.23)$$

Coefficientes de difusión molecular:

$$\tilde{D}_w = \exp \left[k_w (1 - \tilde{M}) \right] \quad (3.24)$$

$$\tilde{D}_A = \exp \left[k_A (1 - \tilde{M}) \right] \quad (3.25)$$

Propiedades viscoelásticas de la matriz:

$$\tilde{E} = \tilde{M}^\alpha \quad (3.26)$$

$$\tilde{\mu} = \tilde{M}^\beta \quad (3.27)$$

Condiciones iniciales ($0 \leq \tilde{r} \leq 1, \tilde{t} = 0$):

$$\tilde{c}_w = \frac{c_{w,0}}{c_{w,\infty}} \quad (3.28)$$

$$\tilde{\sigma} = 1 \quad (3.29)$$

$$\tilde{M} = 1 \quad (3.30)$$

$$\tilde{c}_s = 1 \quad (3.31)$$

$$\tilde{c}_A = \frac{c_{A,0}}{c_{A,ms}} \quad (3.32)$$

Condiciones de contorno:

$$\frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} = \frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} = 0 \quad \tilde{r} = 0 \quad \tilde{t} > 0 \quad (3.33)$$

$$\tilde{D}_w \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} + \Gamma_w \frac{\tilde{c}_w^2}{(1 - \tilde{c}_w)} \frac{\partial \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}} + \Lambda \tilde{c}_w = \Lambda \quad \tilde{r} = 1 \quad \tilde{t} > 0 \quad (3.34)$$

$$\gamma_A \tilde{D}_A \frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} + \alpha_A \tilde{c}_A = \alpha_A \tilde{c}_{A,\infty} \quad \tilde{r} = 1 \quad \tilde{t} > 0 \quad (3.35)$$

Luego de implementar la técnica de escalado y adimensionalización, se definieron parámetros adimensionales. Cada uno de ellos es una relación de tiempos característicos (t_c) de los fenómenos considerados en el modelo (**Tabla 3.2**).

3.3. Materiales y métodos

3.3.1. Variables analizadas

Variables representativas fueron convenientemente seleccionadas para estudiar los fenómenos de transporte del sistema en estudio: la fracción de activo liberado promedio en el volumen (Φ_L), la fracción de agua absorbida promedio en el volumen (Φ_w), la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz promedio en el volumen (Φ_σ) y la fracción de polímero remanente promedio en el volumen (Φ_M). Entonces, las **Ecs. (3.36)-(3.39)** presentan las variables analizadas en función de las variables del sistema:

$$\Phi_L = 1 - \frac{1}{V} \int_V \left(\frac{c_s + c_A}{c_{s,0} + c_{A,0}} \right) dV \quad (3.36)$$

$$\Phi_w = \frac{1}{V} \int_V \left(\frac{c_w}{c_{w,\infty}} \right) dV \quad (3.37)$$

$$\Phi_\sigma = \frac{1}{V} \int_V \left(\frac{\sigma}{\sigma_0} \right) dV \quad (3.38)$$

$$\Phi_M = \frac{1}{V} \int_V \left(\frac{M}{M_0} \right) dV \quad (3.39)$$

Tabla 3.2. Parámetros adimensionales en función de los tiempos característicos de los fenómenos involucrados.

Parámetro adimensional (Tiempos característicos)	Representación matemática
Difusión de agua/Tensiones	$\Gamma_w = (R^2/D_{w,0})/[8R^2\mu_v/(R_v^2\sigma_0)]$
Difusión de agua/Erosión	$\delta_w = (R^2/D_{w,0})/[1/(kM_0)]$
Difusión de agua/Relajación (viscoso-total)	$\delta_\sigma = (R^2/D_{w,0})/(k_1c_{w,\infty}\mu_0/\sigma_0)$
Relajación (viscoso-elástico)/Relajación (viscoso-total)	$\zeta = (\mu_0/E_0)/(\mu_0k_1c_{w,\infty}/\sigma_0)$
Difusión de agua/Depolimerización	$\delta_M = (R^2/D_{w,0})/[1/(k_m c_{w,\infty})]$
Difusión de agua/Disolución del activo	$\delta_s = (R^2/D_{w,0})/(c_{s,0}/k_{dis})$
Difusión de agua/Difusión del activo	$\gamma_A = (R^2/D_{w,0})/(R^2/D_{A,0})$
Disolución del activo/Máx. de disolución	$\theta = [1/(k_{dis}c_{A,ms})]/[1/(k_{dis}c_{s,0})]$
Difusión de agua/Difusión externa de agua	$\Lambda = (R^2/D_{w,0})/(R/A_c)$
Difusión de agua/Difusión externa de activo	$\alpha_A = (R^2/D_{w,0})/(R/h)$

3.3.2. Validación experimental

La validación del modelo se realizó evaluando su capacidad para describir los datos experimentales de la liberación *in vitro* de astaxantina encapsulada en una matriz de alginato de calcio (**Sección 2.3.1**). El procedimiento involucró distintas etapas. La primera consistió en la determinación y adopción de algunos valores del sistema. La segunda consistió en el ajuste de los datos experimentales con el modelo propuesto y la obtención de los valores de los parámetros adimensionales presentados en la **Tabla 3.2**. En esta etapa se obtuvieron distintos conjuntos de valores que ajustaron adecuadamente a los datos experimentales. Por ello, fue necesaria una tercera etapa de selección del conjunto de

parámetros que mejor representó a la física del sistema en estudio.

3.3.2.1. Determinación y adopción de valores característicos del sistema en estudio

La implementación del modelo requiere la adopción y/o determinación de algunos valores que caracterizan el sistema. Por un lado, los valores de R , $c_{w,0}$ y $c_{s,0}$ fueron determinados experimentalmente. Por otro lado, $D_{w,0}$, α y β fueron tomados de la literatura y $c_{A,\infty}$, $c_{A,0}$, $c_{A,ms}$, $c_{w,\infty}$ y $c_{w,p}$ fueron adoptados. Para ello, se consideró (a) una relación de volumen entre el fluido del medio circundante y la esfera mucho mayor a 1 (es decir, $c_{A,\infty} = 0$), (b) que la solubilidad del activo está en el orden de 1 % del valor de $c_{s,0}$ (AK Scientific, inc., 2021), (c) que la concentración inicial de activo encapsulado era mucho mayor que $c_{A,ms}$ (es decir, $c_{A,0} = 0$) y (d) que el líquido del medio circundante era agua pura ($c_{w,\infty} = 5,56 \times 10^4 \text{ mol m}^{-3}$).

Determinación del radio de partícula (R). El tamaño de partícula fue medido por análisis de imagen (Niizawa et al., 2019). La metodología se encuentra detallada en la **Sección 2.3.3.1**.

Determinación del contenido inicial de agua ($c_{w,0}$). El contenido inicial de agua en la partícula fue estimado con la siguiente expresión,

$$c_{w,0} = \frac{H\rho_p}{M_w} \quad (3.40)$$

donde H es la humedad inicial de partícula [g g^{-1}], ρ_p es la densidad de las partículas [g m^{-3}] y M_w es el peso molecular del agua [g mol^{-1}]. H fue determinada experimentalmente por gravimetría. Para ello, 750 mg de partículas húmedas fueron secadas en una estufa Tecno Dalvo TDE60 (Tecno Dalvo, Santa Fe, Argentina) a 100 °C hasta peso constante, luego H fue determinado por diferencia de peso.

Determinación del contenido inicial de activo ($c_{s,0}$). Se consideró que la astaxantina contenida inicialmente en las partículas se encontraba no disuelta, es decir que la concentración inicial de activo en las partículas es igual a $c_{s,0}$. Su valor fue estimado con la siguiente expresión,

$$c_{s,0} = \frac{wW}{VM_A} \quad (3.41)$$

donde w es la concentración inicial de astaxantina [g g^{-1}], W es el peso de partícula seca [g] y M_A es el peso molecular de la astaxantina [g mol^{-1}]. El valor de w fue determinado experimentalmente. Brevemente, se coloraron 250 mg de partículas en un tubo falcon de 15 mL, se agregó 4 mL de solvente acetato de etilo/etanol (1:1 v:v) y la solución fue homogeneizada durante 2 min a 20000 rpm (Ultra Turrax T50, IKA, Staufen, Alemania). Esto provocó la disrupción de las partículas y la liberación de astaxantina de la matriz. Luego, los tubos fueron centrifugados a 5000 rpm durante 5 min. Se tomó 1

mL del sobrenadante y se midió la concentración de astaxantina con un método espectrofotométrico derivativo de primer orden en un espectrofotómetro Cary 60 UV-Vis (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) (Niizawa et al., 2019). El peso W fue determinado gravimétricamente.

3.3.2.2. Ajuste de los datos experimentales

El ajuste de los datos experimentales y la obtención de los parámetros del modelo fueron llevados a cabo con la función *nonlin_min* (GNU/Octave 4.4, paquete de optimización). Esta función obtiene el conjunto de parámetros que minimizan una función escalar. La función objetivo fue el error absoluto promedio porcentual (*EAPP*) definido por la **Ec. (2.35)**.

3.3.3. Resolución numérica

Para resolver numéricamente el modelo, se implementó el método de diferencias finitas. Este método es considerado determinístico, es decir que para un dado conjunto de valores de las variables entrada, las variables salida son siempre las mismas e independientes de la cantidad de veces que el modelo sea resuelto o de la computadora utilizada para su resolución. La implementación del método de diferencias finitas requiere la definición de una malla para la posterior discretización de las ecuaciones que conforman el modelo (Mazumder, 2016). Debido a que los cambios dentro del sistema en estudio ocurren principalmente en la dirección radial, se definió una malla que divide radialmente al dominio espacial en P segmentos uniformes de espesor igual a $\Delta\tilde{r} = 1/P$. Los nodos fueron enumerados desde $i = 1$ en el centro del sistema ($\tilde{r} = 0$) hasta $i = P + 1$ en la superficie ($\tilde{r} = 1$) (**Fig. 3.4**). En consecuencia, la distancia al nodo i desde el centro del sistema está dado por,

$$\tilde{r}_i = (i - 1)\Delta\tilde{r} \tag{3.42}$$

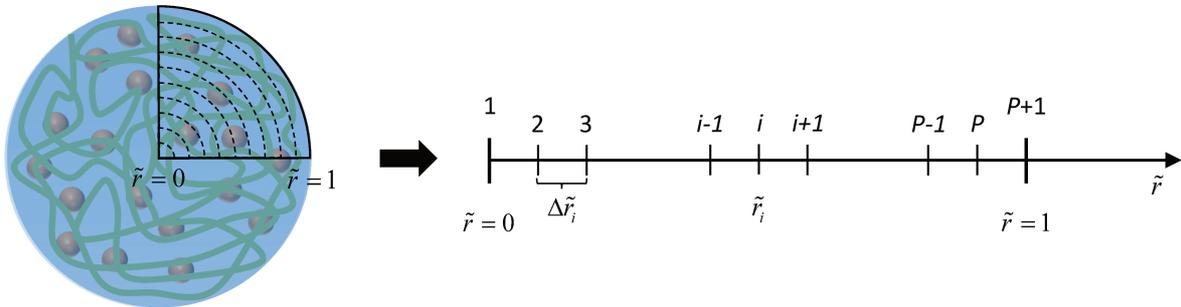


Figura 3.4. Discretización espacial del sistema.

En cuanto al tiempo, fue dividido en N nodos temporales espaciados uniformemente por $\Delta\tilde{t}$, de

forma que el tiempo transcurrido después de n pasos de tiempo está dado por,

$$\tilde{t}_n = n\Delta\tilde{t} \quad (3.43)$$

y el tiempo acumulado fue contabilizado de la siguiente manera,

$$\tilde{t}_{n+1} = \tilde{t}_n + n\Delta\tilde{t} \quad (3.44)$$

Las ecuaciones que conforman el modelo (**Ecs. 3.19-3.35**) fueron discretizadas por un método implícito. Es decir, las derivadas espaciales fueron evaluadas en $\tilde{t} = \tilde{t}_{n+1}$. Además, las derivadas correspondientes a los nodos central e interiores fueron aproximadas con series de Taylor centradas, mientras que en el nodo superficial se utilizó una aproximación cuadrática (**Ecs. 3.45-3.53**). El método implícito requiere tiempos largos e importantes requerimientos computacionales para converger. No obstante, presenta la ventaja de que es incondicionalmente estable numéricamente (Li et al., 2018). Es decir, la convergencia de las soluciones son independientes de los valores de $\Delta\tilde{t}$ y $\Delta\tilde{r}$ utilizados. Sin embargo, emplear valores muy grandes de ambos parámetros implican soluciones poco precisas y emplear valores muy chicos significan largos tiempos de simulación (Schwedes et al., 2017). Debido a esto, el valor de $\Delta\tilde{r}$ utilizado en las simulaciones fue determinado a partir de un test de independencia de malla, mientras que el valor de $\Delta\tilde{t}$ fue adoptado igual a $2,8 \times 10^{-4}$ ($\Delta t = 0,1$ s). Realizar un test de independencia de malla consiste en realizar continuos refinamiento de la malla utilizada para discretizar espacialmente al sistema en estudio (disminuir el valor de $\Delta\tilde{r}$) hasta que la variación de la solución entre refinamientos sucesivos no sea significativa (Schwedes et al., 2017).

En base a lo anterior, el sistema de ecuaciones usadas para resolver el modelo (**Ecs. 3.19-3.35**) resulta,

Agua:

Nodo central ($i = 1$)

$$\begin{aligned} \tilde{c}_{w,1}^{n+1}(\Delta\tilde{r}^2 + 6\Delta\tilde{t}\tilde{D}_{w,1}^n) &= 6\Delta\tilde{t}\tilde{D}_{w,1}^n\tilde{c}_{w,2}^{n+1} + 6\Gamma_w\Delta\tilde{t}\frac{(\tilde{c}_{w,1}^n)^2}{(1 - \tilde{c}_{w,1}^n)}(\tilde{\sigma}_2^{n+1} - \tilde{\sigma}_1^{n+1}) \\ &+ \tilde{c}_{w,1}^n\Delta\tilde{r}^2(1 - \delta_M\tilde{M}_1^n\Delta\tilde{t}) \end{aligned} \quad (3.45)$$

Nodos interiores ($i = 2 : P$)

$$\begin{aligned}
\tilde{c}_{w,i}^{n+1} \left(\Delta \tilde{r}^2 + 2\tilde{D}_{w,i}^n \Delta \tilde{t} \right) &= \tilde{D}_{w,i}^n \Delta \tilde{t} \left\{ \tilde{c}_{w,i-1}^{n+1} \left[\frac{i-2}{i-1} + \frac{k_w}{4} \left(\tilde{M}_{i+1}^{n+1} - \tilde{M}_{i-1}^{n+1} \right) \right] \right. \\
&+ \left. \tilde{c}_{w,i+1}^{n+1} \left[\frac{i}{i-1} - \frac{k_w}{4} \left(\tilde{M}_{i+1}^{n+1} - \tilde{M}_{i-1}^{n+1} \right) \right] \right\} \\
&+ \Gamma_w \Delta \tilde{t} \left(\frac{\tilde{c}_{w,i}^n}{1 - \tilde{c}_{w,i}^n} \right) \left\{ \tilde{\sigma}_{i-1}^{n+1} \left[\tilde{c}_{w,i}^n \left(\frac{i-2}{i-1} \right) - \frac{1}{4} \left(\frac{2 - \tilde{c}_{w,i}^n}{1 - \tilde{c}_{w,i}^n} \right) \left(\tilde{c}_{w,i+1}^{n+1} - \tilde{c}_{w,i-1}^{n+1} \right) \right] \right. \\
&- \left. 2\tilde{\sigma}_i^{n+1} \tilde{c}_{w,i}^n + \tilde{\sigma}_{i+1}^{n+1} \left[\tilde{c}_{w,i}^n \left(\frac{i}{i-1} \right) + \frac{1}{4} \left(\frac{2 - \tilde{c}_{w,i}^n}{1 - \tilde{c}_{w,i}^n} \right) \left(\tilde{c}_{w,i+1}^{n+1} - \tilde{c}_{w,i-1}^{n+1} \right) \right] \right\} \\
&+ \tilde{c}_{w,i}^n \left(1 - \delta_w \tilde{M}_i^n \Delta \tilde{t} \right) \Delta \tilde{r}^2
\end{aligned} \tag{3.46}$$

Nodo superficial ($i = P + 1$)

$$\begin{aligned}
\tilde{c}_{w,P+1}^{n+1} \left(3\tilde{D}_{w,P+1}^n + 2\Delta \tilde{r} \Lambda \right) &= 2\Delta \tilde{r} \Lambda + \tilde{D}_{w,P+1}^n \left(4\tilde{c}_{w,P}^{n+1} - \tilde{c}_{w,P-1}^{n+1} \right) \\
&- \Gamma_w \frac{(\tilde{c}_{w,P+1}^n)^2}{(1 - \tilde{c}_{w,P+1}^n)} \left(3\tilde{\sigma}_{P+1}^{n+1} - 4\tilde{\sigma}_P^{n+1} + \tilde{\sigma}_{P-1}^{n+1} \right)
\end{aligned} \tag{3.47}$$

Tensiones en la matriz ($i = 1 : P + 1$):

$$\tilde{\sigma}_i^{n+1} = \frac{\tilde{E}_i^n}{\zeta} (\tilde{c}_{w,i}^n - \tilde{c}_{w,i}^{n+1}) - \frac{\Delta \tilde{t} \delta_\sigma}{\zeta} \frac{\tilde{E}_i^n \tilde{\sigma}_i^n}{\tilde{\mu}_i^n} \tag{3.48}$$

Matriz polimérica ($i = 1 : P + 1$):

$$\tilde{M}_i^{n+1} = \tilde{M}_i^n \left(1 - \Delta \tilde{t} \delta_M \tilde{c}_{w,i}^n \tilde{M}_i^n \right) \tag{3.49}$$

Activo no disuelto ($i = 1 : P + 1$):

$$\tilde{c}_{s,i}^{n+1} = \tilde{c}_{s,i}^n \left[1 - \delta_s \left(1 - \tilde{c}_{A,i}^n \right) \tilde{c}_{w,i}^n \Delta \tilde{t} \right] \tag{3.50}$$

Activo disuelto:

Nodo central ($i = 1$)

$$\tilde{c}_{A,1}^{n+1} \left(\Delta \tilde{r}^2 + 6\tilde{D}_{A,1}^n \gamma_A \Delta \tilde{t} \right) = 6\tilde{D}_{A,1}^n \gamma_A \Delta \tilde{t} \tilde{c}_{A,2}^{n+1} + \theta \Delta \tilde{r}^2 \left(\tilde{c}_{s,1}^n - \tilde{c}_{s,1}^{n+1} \right) + \Delta \tilde{r}^2 \tilde{c}_{A,1}^n \tag{3.51}$$

Nodos interiores ($i = 2 : P$):

$$\begin{aligned}
\tilde{c}_{A,i}^{n+1} \left(\Delta \tilde{r}^2 + 2\Delta \tilde{t} \tilde{D}_{A,i}^n \gamma_A \right) &= \Delta \tilde{t} \tilde{D}_{A,i}^n \gamma_A \left\{ \tilde{c}_{A,i-1}^{n+1} \left[\frac{(i-2)}{(i-1)} + \frac{k_A}{4} \left(\tilde{M}_{i+1}^{n+1} - \tilde{M}_{i-1}^{n+1} \right) \right] \right. \\
&+ \left. \tilde{c}_{A,i+1}^{n+1} \left[\frac{i}{(i-1)} - \frac{k_A}{4} \left(\tilde{M}_{i+1}^{n+1} - \tilde{M}_{i-1}^{n+1} \right) \right] \right\} \\
&+ \theta \Delta \tilde{r}^2 \left(\tilde{c}_{s,i}^n - \tilde{c}_{s,i}^{n+1} \right) + \Delta \tilde{r}^2 \tilde{c}_{A,i}^n
\end{aligned} \tag{3.52}$$

Nodo superficial ($i = P + 1$)

$$\tilde{c}_{A,P+1}^{n+1} \left(3\gamma_A \tilde{D}_{A,P+1}^n + 2\Delta \tilde{r} \alpha_A \right) = 2\Delta \tilde{r} \alpha_A \tilde{c}_{A,\infty} + \gamma_A \tilde{D}_{A,P+1}^n \left(4\tilde{c}_{A,P}^{n+1} - \tilde{c}_{A,P-1}^{n+1} \right) \quad (3.53)$$

Las variables con superíndice $n + 1$ están evaluadas en \tilde{t}_{n+1} (“*tiempo actual*”) y son las incógnitas del sistema. Las variables evaluadas en \tilde{t}_n (“*tiempo viejo*”) tienen un valor conocido.

Debido a la complejidad del sistema de ecuaciones, el modelo fue resuelto por un método iterativo. Además, este tipo de métodos generalmente son estables y amortiguan los errores (Vrahatis et al., 2003). En consecuencia, el sistema de **Ecs. (3.45)-(3.53)** fue resuelto iterativamente a través del método de Gauss-Seidel con un error de convergencia de 10^{-5} . La selección del método se debió a que es simple de implementar y más efectivo que otros métodos iterativos disponibles, como el método de Jacobi (Mazumder, 2016).

El modelo fue implementado en GNU/Octave 4.4. El código de implementación se encuentra en el **Anexo A.14**. Las simulaciones fueron llevadas a cabo en el cluster Pirayu. Este cluster está compuesto por 35 nodos (procesadores Intel(R) Xeon(R) E5-2650 v3 @ 2.30GHz 25 MB) que conforman un total de 720 cores y 4,48 TB de memoria (Pirayú, 2021).

3.4. Resultados y discusión

3.4.1. Independencia de malla

El test de independencia de malla fue realizado usando los perfiles de Φ_L , Φ_w , Φ_σ y Φ_M (**Fig. 3.5**). El refinamiento de malla se realizó variando P entre 5 y 20. Los perfiles de las variables analizadas prácticamente no variaron para valores de $P > 10$. Por lo tanto, para las simulaciones se utilizó un valor de $P = 20$.

3.4.2. Validación del modelo

3.4.2.1. Valores característicos del sistema en estudio

Los valores que caracterizan el sistema en estudio requeridos para resolver el modelo se muestran en la **Tabla 3.3**.

Determinación del radio de partícula. El valor de R utilizado como estimador del radio de partícula corresponde a la moda del radio determinado en la **Sección 2.4.2.1**.

Determinación del contenido inicial de agua ($c_{w,0}$). El contenido inicial de agua en las partículas fue estimado a partir de la **Ec. (3.40)**. El valor promedio de H obtenido experimentalmente fue de 50,0 ($\pm 7,0$) % (m:m), ρ_p fue estimado en $3,7 \times 10^5 \text{ g m}^{-3}$ y $M_A = 18 \text{ g mol}^{-1}$. Con estos valores,

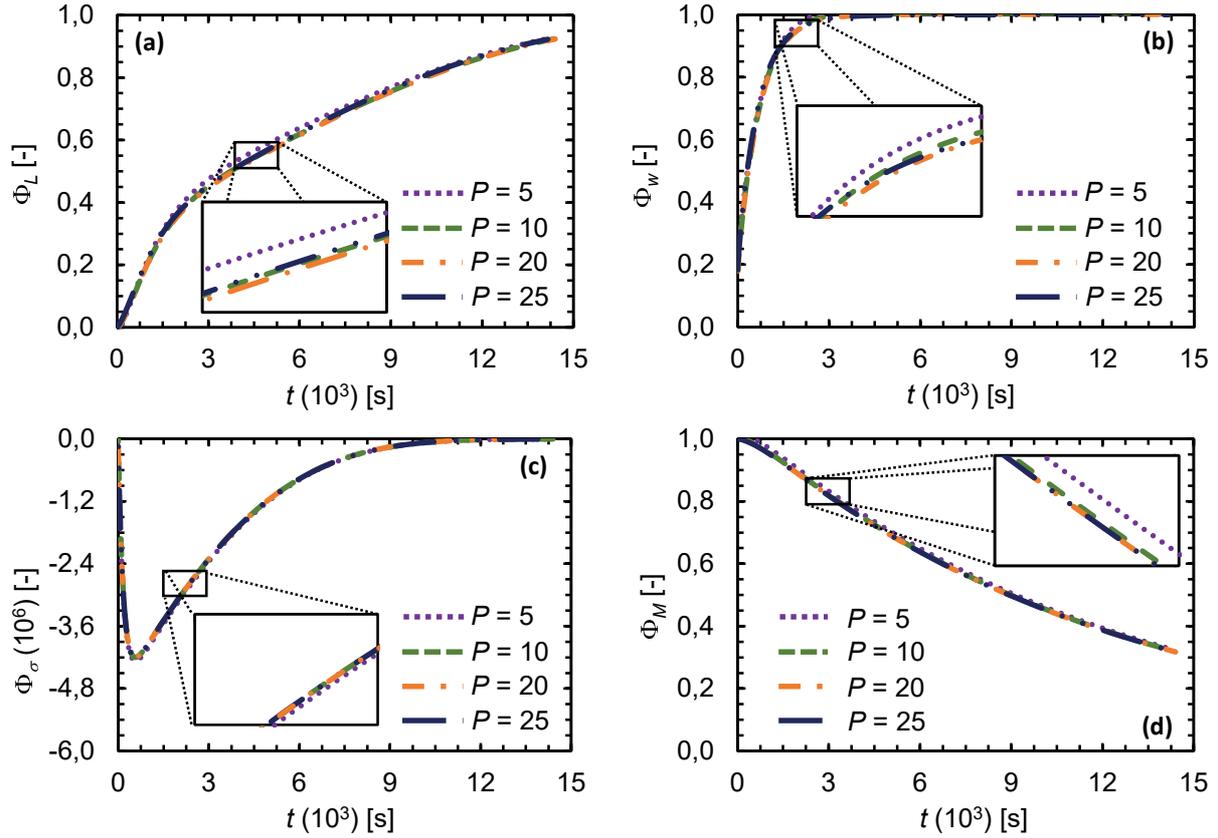


Figura 3.5. Independencia de malla usando los perfiles de (a) la fracción de activo liberado (Φ_L), (b) la fracción de agua absorbida (Φ_w), (c) la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz (Φ_σ) y la fracción de polímero remanente (Φ_M) para distintos valores de P .

el valor de $c_{w,0}$ obtenido fue $1,0 (\pm 0,1) \times 10^4 \text{ mol m}^{-3}$. El valor de $c_{w,0}$ obtenido en cada experiencia se muestra en el **Anexo A.15**.

Determinación del contenido inicial de activo ($c_{s,0}$). El contenido inicial de astaxantina encapsulada fue estimado por la **Ec. (3.41)**. Los valores de w y W fueron determinados experimentalmente en 5 experiencias independientes (**Anexo A.16**). El volumen V fue estimado con $R = R_m$ y M_A fue considerado igual a $594,84 \text{ g mol}^{-1}$ (Martínez-Delgado et al., 2017). El valor de $c_{s,0}$ obtenido fue de $5,02 \pm 0,15 \text{ mol m}^{-3}$.

3.4.2.2. Valores de los parámetros adimensionales del modelo

En la **Tabla 3.4**, se muestra el conjunto de valores de los parámetros adimensionales que mejor ajustaron a los datos experimentales y mejor describieron a la física del sistema en estudio. Se consideró que el ajuste obtenido fue altamente preciso ($EAPP < 10\%$) (Montaño Moreno et al., 2013). La **Fig. 3.6** muestra a los datos experimentales y al perfil teórico de Φ_L . Para analizar el efecto de cada

Tabla 3.3. Valores que caracterizan el sistema en estudio requeridos para resolver el modelo.

Parámetro	Unidades	Valor	Fuente
$c_{A,\infty}$	mol m^{-3}	0	Adoptado
$c_{A,0}$	mol m^{-3}	0	Adoptado
$c_{A,ms}$	mol m^{-3}	$5,56 \times 10^{-2}$	Adoptado
$c_{s,0}$	mol m^{-3}	$5,02 \pm 0,15$	Medido
$c_{w,\infty}$	mol m^{-3}	$5,56 \times 10^4$	Adoptado
$c_{w,0}$	mol m^{-3}	$1,0 (\pm 0,1) \times 10^4$	Medido
$c_{w,p}$	mol m^{-3}	$5,56 \times 10^4$	Adoptado
$D_{w,0}$	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	$2,9 \times 10^{-9}$	De’Nobili et al. (2015)
R	m	$1,02 (\pm 0,05) \times 10^{-3}$	Medido
α	-	0,2	Azhdari et al. (2016)
β	-	0,7	Azhdari et al. (2016)

fenómeno sobre el perfil de liberación del activo, se consideró que los fenómenos de transporte ocurren en paralelo. Esto implica que la velocidad global del proceso de liberación está determinada por los fenómenos que ocurren en menor tiempo (Morgenroth, 2008).

Tabla 3.4. Valores de los parámetros adimensionales obtenidos del ajuste a los datos experimentales.

Parámetro adimensional	Valor	Parámetro adimensional	Valor
Γ_w	$2,5 \times 10^{-17}$	γ_A	$7,7 \times 10^{-6}$
δ_w	0,005	θ	1,424
δ_σ	0,006	Λ	0,797
ζ	0,078	α_A	0,040
δ_M	0,090	k_w	10,000
δ_s	0,107	k_A	9,993
Error absoluto promedio porcentual = 6,1 %			

La cinética de absorción de agua es determinada por tres mecanismos (difusión, hinchamiento y erosión) y cada uno está caracterizado por un parámetro adimensional. Γ_w caracteriza el efecto de las tensiones y se define como la relación entre la cinética de difusión molecular y la cinética de difusión viscoelástica (Tabla 3.2). El valor de Γ_w obtenido del ajuste fue de $2,5 \times 10^{-17}$ (Tabla 3.4), es decir que el t_c de difusión molecular es mucho menor que el t_c de difusión viscoelástico. Esto significa que el

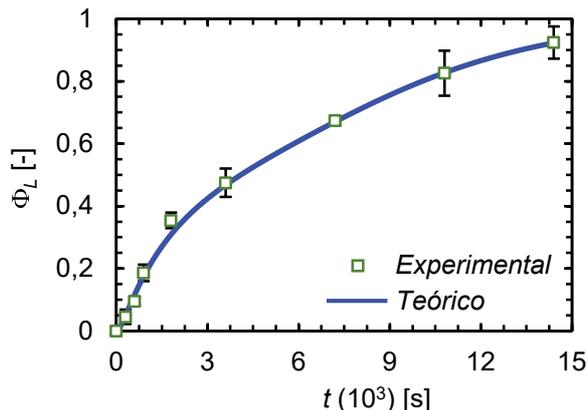


Figura 3.6. Datos experimentales y perfil teórico de la fracción de activo liberado promedio en el volumen (Φ_L). Las barras de error representan la desviación estándar de 5 experiencias independientes.

efecto de las tensiones en la matriz es despreciable en comparación con el efecto de la difusión molecular. Ferreira et al. (2015) reportaron que la cinética de absorción de agua puede ser representada por la ley de Fick cuando la velocidad de entrada de agua es mucho menor o mucho mayor que la velocidad de relajación de la matriz. Asimismo, cuando el flujo asociado a ambos fenómenos se encuentran dentro del mismo orden de magnitud, la cinética de absorción de agua muestra una desviación del comportamiento Fickiano. Esto puede deberse a que el agua difunde dentro de la matriz antes de que su estructura se relaje completamente, mientras tanto las cadenas poliméricas pueden reacomodarse causando una eliminación parcial de agua de la matriz. Esta exclusión de solvente es más pronunciada cuando el t_c de relajación (viscoso-elástico) es mucho mayor que el t_c de difusión de agua (De Kee et al., 2005). Esta relación es el número de Deborah (De) (Vrentas y Vrentas, 2013) y puede ser representado por la relación entre ζ y δ_σ , es decir $De = \zeta/\delta_\sigma$ (Tabla 3.2). En este caso, $De \approx 13$. Sin embargo, Chiarappa et al. (2018) observaron que el comportamiento reológico de la matriz encapsulante no afectó considerablemente a la cinética de liberación del activo.

El parámetro k_w representa el efecto de la degradación de la matriz encapsulante sobre la difusión de agua. El valor obtenido ($k_w = 10$, Tabla 3.4) es similar al reportado por (Thombre y Himmelstein, 1985) para la erosión de una matriz de poli (orto-éster). Esto implica que la erosión de la matriz aumenta el espacio difusivo y acelera la absorción de agua por difusión.

El efecto del consumo de agua debido a la degradación del polímero está caracterizado por δ_w . Este parámetro relaciona la cinética de difusión molecular del agua y la cinética de su consumo (Tabla 3.1). El valor obtenido del ajuste fue mucho menor a uno ($\delta_w = 0,005$, Tabla 3.4), es decir que la velocidad de difusión de agua es mayor a la de su consumo. Esto significa que el consumo de agua debido a la reacción de degradación del polímero no tiene un efecto considerable sobre la cinética de absorción de agua.

En conclusión, el mecanismo que más influyó en la cinética de absorción de agua fue la difusión molecular y la erosión de la matriz. Sin embargo, la desviación del comportamiento Fickiano observada puede deberse a los cambios estructurales que experimenta la matriz encapsulante (De Kee et al., 2005).

Las propiedades viscoelásticas de la matriz fueron caracterizadas por δ_σ y ζ . Estos parámetros representan a los componentes viscoso y elástico del modelo de Maxwell (**Ec. 3.2**), respectivamente. El valor obtenido para δ_σ (0,006) fue menor que el obtenido para ζ (0,078) (**Tabla 3.4**), por lo tanto el comportamiento viscoso resulta despreciable frente al comportamiento elástico de la matriz. Debido a ello, se podría inferir que la matriz encapsulante se encuentra en estado vítreo (Fong et al., 1998).

El parámetro δ_M , que caracteriza a la erosión de la matriz, es la relación entre el t_c de difusión de agua y el t_c de degradación del polímero (**Tabla 3.2**). El valor de δ_M obtenido del ajuste fue de 0,090 (**Tabla 3.4**), es decir que la difusión de agua fue más rápida que la depolimerización de la matriz. Esto significa que la matriz encapsulante experimentó una erosión homogénea (Rothstein et al., 2009). Por un lado, Arifin et al. (2006) reportaron que los polímeros con grupos funcionales poco reactivos tienden a tener una velocidad de degradación menor a la velocidad de difusión del agua dentro de la matriz. Como consecuencia, la disponibilidad de agua como reactivo de la reacción de depolimerización (**Ec. 3.3**) tiende a ser alta y uniforme dentro del sistema. Por otro lado, Tønnesen y Karlsen (2002) observaron un escaso hinchamiento en partículas de alginato de calcio en condiciones estomacales. Sin embargo, reportaron que en condiciones intestinales estas partículas experimentaban hinchamiento y degradación. Ésto coincide con el comportamiento observado por Hoad et al. (2009) y Rayment et al. (2009) en partículas de alginato de calcio durante el proceso de digestión y que fue descrito en la **Sección 2.3.1.2**. Bajpai y Sharma (2004) explicaron que si geles de alginato son sumergidos en un medio fosfato con pH alcalino, los cationes presentes en el medio ingresan a la estructura y desplazan al Ca^{2+} unido iónicamente con los grupos carboxílicos de los bloques M (**Fig. 3.7**). Esto produce un aumento en el número de COO^- libres y, como consecuencia, un aumento de la repulsión electrostática. Debido a esto, las cadenas de alginato se relajan, absorben agua y el gel se hincha. Sin embargo, la estructura mantiene su integridad debido a que se encuentra estabilizada por las interacciones entre el Ca^{2+} y los COO^- de los grupos G de los bloques G (estructura de *caja de huevos*) (**Fig. 3.7**). Estas interacciones se caracterizan por ser fuertes y auto-cooperativas. Después del hinchamiento, los cationes que ingresan al gel desde el medio comienzan a intercambiarse con los Ca^{2+} que están formando parte de la estructura de *caja de huevos*. Esto provoca que el gel comience a perder material polimérico y finalmente se desintegre. Esta descripción resulta consistente con los fenómenos observados en las fotos de liberación de astaxantina (**Fig. 3.8**).

La cinética de disolución del activo no disuelto fue caracterizada por δ_s . Este parámetro se define como la relación entre el t_c de difusión molecular del agua y el t_c de disolución del activo no disuelto

(Tabla 3.2). El valor obtenido del ajuste para δ_s fue de 0,107 (Tabla 3.4), es decir que la cinética de difusión de agua es más rápida que la correspondiente a la disolución del activo no disuelto.

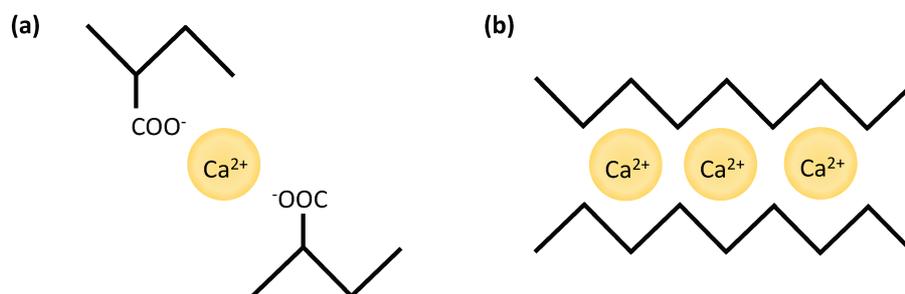


Figura 3.7. Interacciones iónicas del Ca^{2+} con los grupos carboxílicos de los (a) bloques M y (b) bloques G en un gel de alginato de calcio.

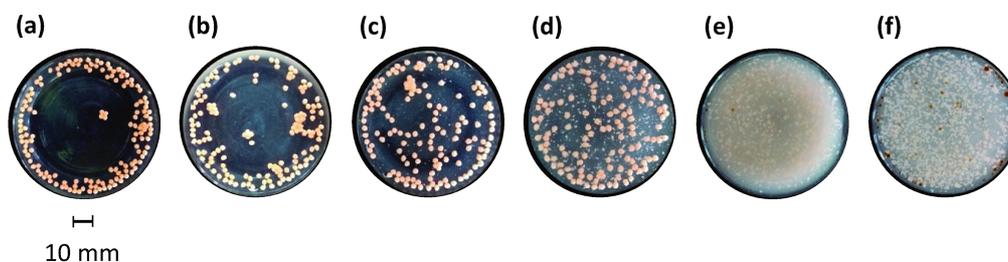


Figura 3.8. Liberación *in vitro* de astaxantina de microcápsulas de alginato de calcio bajo condiciones intestinales simuladas a diferentes tiempos: (a) 0 s, (b) 300 s, (c) 600 s, (d) 900 s, (e) 3600 s y (f) 14400 s.

La difusión del activo disuelto en la matriz fue caracterizado por γ_A . Este parámetro se define como la relación de t_c de difusión molecular de agua respecto al t_c de difusión molecular de activo disuelto (Tabla 3.2). El valor obtenido del ajuste para γ_A fue de $7,7 \times 10^{-6}$ (Tabla 3.4). Es decir, la difusión de agua es más rápida que la del activo. En general, los coeficientes de difusión de solutos en hidrogeles son menores que en solución debido a la presencia de la red polimérica que limita el volumen libre disponible para la difusión (Golmohamadi y Wilkinson, 2013). Sin embargo, De'Nobili et al. (2015) encontraron que el coeficiente de difusión del agua en geles de pectina y pectina/alginato eran similares a su coeficiente de auto-difusión. Holz et al. (2000) reportaron un valor de coeficiente de auto-difusión para el agua a 37 °C de $2,9 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Karki et al. (2016) estimaron valores de $2,03 (\pm 0,01) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ y $1,8 (\pm 0,3) \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ para los coeficientes de difusión de astaxantina en agua pura y etanol, respectivamente. Por lo tanto, usando estos valores de coeficiente de difusión se obtienen valores de γ_A mayores que el obtenido del ajuste. Sin embargo, como se mencionó en el Capítulo 2, los valores de coeficientes de difusión reportados por Karki et al. (2016) fueron obtenidos

en forma teórica a través de simulaciones de dinámica molecular.

El parámetro k_A es una constante del modelo que representa la variación del coeficiente de difusión del activo en el agua ocluida debido a la degradación de la matriz encapsulante (**Ec. 3.25**), mientras que k_A multiplicado por γ_A representa el efecto de la degradación sobre la difusión del activo (**Ec. 3.23**). El valor de k_A obtenido en el ajuste fue de 9,993 (**Tabla 3.4**). Este valor se encuentra dentro del orden de magnitud del valor reportado por [Thombre y Himmelstein \(1985\)](#).

El parámetro θ representa a la generación de activo disuelto a partir de activo no disuelto. El valor de θ obtenido del ajuste fue 1,424 (**Tabla 3.4**). Este valor es mucho mayor que γ_A y que $k_A\gamma_A$. Por lo tanto, la generación de activo disuelto es el mecanismo que más afecta al proceso de liberación del activo. [Rothstein et al. \(2009\)](#) reportaron que en sistemas donde las moléculas encapsuladas son hidrofóbicas, el fenómeno de disolución afecta considerablemente a su perfil de liberación.

Finalmente, los parámetros Λ y α_A representan a las condiciones de contorno asociadas al transporte de agua y de activo, respectivamente. Por un lado, el valor de Λ obtenido del ajuste fue de 0,797 (**Tabla 3.4**). Esto significa que la resistencia interna se encuentra dentro del mismo orden de magnitud que la resistencia externa a la difusión de agua. Por otro lado, el valor de α_A obtenido fue de 0,040. Es decir, la velocidad de difusión externa del activo es menor que la velocidad de difusión interna del agua ([Achanta et al., 1997](#)).

3.4.2.3. Perfiles teóricos

La **Fig. 3.9** muestra los perfiles teóricos de Φ_L , Φ_w , Φ_M y Φ_σ obtenidos a partir del modelo y de los valores de los parámetros adimensionales de la **Tabla 3.4**. Los perfiles son convenientemente presentados en función de $\tilde{t}^{1/2}$. Por un lado, un proceso de sorción/desorción en el cual la cantidad de materia absorbida/desorbida resulta proporcional a $\tilde{t}^{1/2}$ puede ser definido como un proceso Fickiano. Por otro lado, cualquier otra dependencia de la cantidad de materia absorbida/desorbida respecto a $\tilde{t}^{1/2}$ conduce a que los procesos sean generalmente clasificados como no-Fickianos o anómalos ([Grassi et al., 1998](#)).

El proceso de liberación del activo presenta tres etapas, según las regiones que se distinguen en los perfiles de la **Fig. 3.9**. En la primera etapa, cuando $t^{1/2} < 20$ ($t = 400$ s), la concentración de agua en el sistema aumenta, mientras las tensiones en la matriz disminuyen. Ambos varían linealmente con $t^{1/2}$. [Arifin et al. \(2006\)](#) reportaron que los polímeros hidrofílicos son susceptibles al hinchamiento debido a que el agua penetra y produce que la matriz polimérica se relaje. [Chiarappa et al. \(2018\)](#) explicaron que cuanto más negativo es el valor de las tensiones en la matriz, mayor es su hinchamiento. [Ahearne et al. \(2005\)](#) notaron que los geles de alginato pierden su fuerza mecánica rápidamente bajo condiciones fisiológicas donde el sodio está presente. Sin embargo, la velocidad de degradación de la

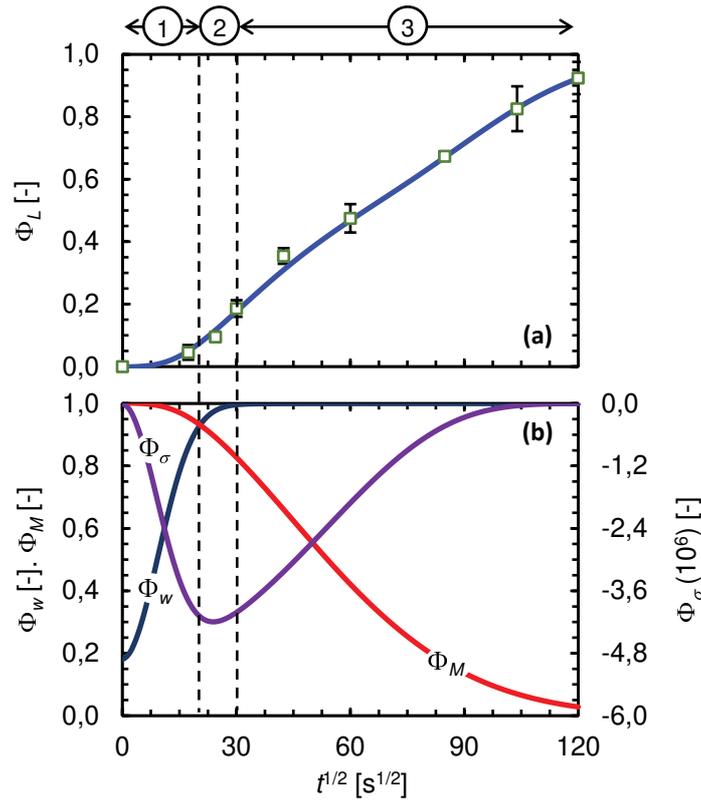


Figura 3.9. Perfiles teóricos de (a) la fracción de activo liberado (Φ_L) y (b) de la fracción de agua absorbida (Φ_w), la fracción de polímero remanente (Φ_M) y de la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz (Φ_σ) en función de $t^{1/2}$.

matriz encapsulante es lenta durante esta etapa. Los fenómenos descritos coinciden con los observados en las **Figs. 3.8 (a)-(b)**.

En la segunda etapa, $20 < t^{1/2} < 30$ ($400 < t < 900$ s), el sistema de encapsulación alcanza su máxima hidratación e hinchamiento, mientras que la velocidad de degradación de la matriz aumenta (**Fig. 3.9.b**). Esto se visualiza en las **Figs. 3.8.(c)-(d)**. Allí, se observa un desarrollo de turbidez en el sobrenadante debido a que las partículas comienzan a perder matriz encapsulante. Este comportamiento es similar al descrito por Bajpai y Sharma (2004). Estos autores reportaron que partículas de alginato de calcio inicialmente ganan peso debido a la absorción de agua. Luego, el peso de las partículas alcanzan un valor máximo y, finalmente, disminuye debido a la degradación de la matriz.

Por último, en la tercera etapa, $t^{1/2} > 30$ ($t > 900$ s), el perfil de Φ_L comienza a variar linealmente con $t^{1/2}$, mientras Φ_σ aumenta hasta valores cercanos a cero con una tendencia similar al decrecimiento de Φ_M (**Fig. 3.9**). Dalaty et al. (2016) relacionaron la reducción del hinchamiento con la pérdida de la integridad y pérdida de peso de la matriz. Por lo tanto, el proceso de liberación de activo es afectado principalmente por la erosión durante esta etapa (Serrano-Aroca et al., 2017). Las imágenes de las **Figs. 3.8.(e)-(f)** muestran mayor turbidez en el sobrenadante. Además, se pueden observar las gotas

naranjas de la astaxantina liberada. Arifin et al. (2006) y Harland et al. (1988) reportaron que para matrices poliméricas biodegradables, la liberación de activos es normalmente controlada por el proceso de escisión hidrolítica de las cadenas de polímero que provocan la erosión de la matriz.

3.5. Conclusiones

Se presentó y validó un modelo mecanístico para predecir la cinética de liberación de un activo encapsulado. El sistema en estudio consistió en un activo encapsulado uniformemente distribuido en la matriz (no disuelto) y en el agua ocluida (disuelto). La matriz puede hincharse y erosionarse después de interactuar con el agua del medio circundante. Se obtuvieron parámetros adimensionales característicos relacionados a cada mecanismo considerado. Estos parámetros brindan información sobre el efecto de cada fenómeno en el comportamiento del sistema de encapsulación. La validación del modelo se realizó con datos experimentales de liberación *in vitro* de astaxantina encapsulada en una matriz de alginato de calcio. El modelo presentado resulta relativamente simple. Debido a ello puede ser utilizado como una herramienta de diseño y optimización de la cinética de liberación de un amplio rango de sistemas de encapsulación.

3.6. Nomenclatura

A_c Coeficiente de transferencia superficial de materia del agua [m s^{-1}]

\tilde{c}_A Concentración adimensional de activo disuelto (**Tabla 3.1**) [-]

c_A Concentración de activo disuelto [mol m^{-3}]

$c_{A,0}$ Concentración inicial de activo [mol m^{-3}]

$c_{A,\infty}$ Concentración activo en el medio circundante [mol m^{-3}]

$c_{A,ms}$ Máxima concentración de activo disuelto en la solución del medio circundante [mol m^{-3}]

\tilde{c}_s Concentración adimensional de activo no disuelto (**Tabla 3.1**) [-]

c_s Concentración de activo no disuelto [mol m^{-3}]

$c_{s,0}$ Concentración inicial de activo no disuelto [mol m^{-3}]

\tilde{c}_w Concentración adimensional de agua ocluida (**Tabla 3.1**) [-]

c_w Concentración de agua ocluida [mol m^{-3}]

$c_{w,0}$ Concentración inicial de agua ocluida [mol m^{-3}]

$c_{w,\infty}$ Concentración de agua en la solución del medio circundante [mol m^{-3}]

$c_{w,p}$ Densidad del agua sobre su peso molecular [mol m^{-3}]

\tilde{D}_A Coeficiente de difusión adimensional de activo (**Tabla 3.1**) [-]

D_A Coeficiente de difusión del activo disuelto [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{A,0}$ Coeficiente inicial de difusión de activo [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

\tilde{D}_v Coeficiente de difusión viscoelástico adimensional (**Tabla 3.1**) [-]

D_v Coeficiente de difusión viscoelástico [$\text{mol Pa}^{-1} \text{m}^{-1} \text{s}^{-1}$]

$D_{v,0}$ Coeficiente de difusión viscoelástico inicial [$\text{mol Pa}^{-1} \text{m}^{-1} \text{s}^{-1}$]

\tilde{D}_w Coeficiente de difusión adimensional del agua en la matriz (**Tabla 3.1**) [-]

D_w Coeficiente de difusión de agua en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,0}$ Coeficiente inicial de difusión de agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

De Número de Deborah [-]

\tilde{E} Módulo elástico adimensional de la matriz (**Tabla 3.1**) [-]

E Módulo elástico de la matriz polimérica [Pa]

E_0 Módulo elástico inicial de la matriz polimérica [Pa]

$EAPP$ Error absoluto promedio porcentual [%]

H Humedad inicial de la partícula [g g^{-1}]

h Coeficiente de transferencia superficial de materia del activo disuelto [m s^{-1}]

k Constante cinética de consumo de agua [$\text{Da}^{-1} \text{s}^{-1}$]

k_1 Constante [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$]

k_μ Constante [$\text{Pa s Da}^{-\beta}$]

k_A Constante [-]

k_{dis} Constante cinética de disolución del activo no disuelto [$\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$]

k_E Constante [$\text{Pa Da}^{-\alpha}$]

k_m Constante cinética de degradación de la matriz polimérica [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$]

k_w Constante [-]

\tilde{M} Peso molecular adimensional de la matriz polimérica (**Tabla 3.1**) [-]

M Peso molecular de la matriz polimérica [Da]

M_0 Peso molecular inicial de la matriz polimérica [Da]

M_A Peso molecular del activo [g mol^{-1}]

M_w Peso molecular del agua [g mol^{-1}]

N Número de nodos en que se divide el dominio temporal [-]

P Número de segmentos en que se divide el dominio radial [-]

R Radio del dominio [m]

\tilde{r} Posición radial adimensional (**Tabla 3.1**) [-]

r Posición radial [m]

R_m Moda del radio de partícula [m]

R_v Radio del sistema de encapsulación seco [m]

\tilde{t} Tiempo adimensional (**Tabla 3.1**) [-]

t Tiempo [s]

t_c Tiempo característico [s]

\tilde{t}_n Tiempo adimensional transcurrido después de n pasos de tiempo [-]

V Volumen del dominio [m^3]

W Masa de partícula seca [g_{ss}]

w Concentración inicial de activo [g g^{-1}]

Símbolos griegos

α Constante [-]

α_A Parámetro característico de difusión externa de activo (**Tabla 3.2**) [-]

β Constante [-]

γ_A Parámetro característico de difusión del activo (**Tabla 3.2**) [-]

Γ_w Parámetro característico de tensiones (**Tabla 3.2**) [-]

$\Delta\tilde{r}$ Tamaño adimensional del segmento en que se divide el dominio radial [-]

Δt Tamaño del paso de tiempo [s]

$\Delta\tilde{t}$ Tamaño adimensional del paso de tiempo [-]

δ_σ Parámetro característico de relajación (viscoso-total) (**Tabla 3.2**) [-]

δ_M Parámetro característico de depolimerización (**Tabla 3.2**) [-]

δ_s Parámetro característico de disolución del activo (**Tabla 3.2**) [-]

δ_w Parámetro característico de erosión (**Tabla 3.2**) [-]

ε Deformación de la matriz [-]

ε_μ Deformación viscosa de la matriz [-]

ε_E Deformación elástica de la matriz [-]

ζ Parámetro característico de relajación (viscoso-elástico) (**Tabla 3.2**) [-]

θ Parámetro característico de máxima disolución del activo (**Tabla 3.2**) [-]

Λ Parámetro característico de difusión externa de agua (**Tabla 3.2**) [-]

$\tilde{\mu}$ Módulo viscoso adimensional de la matriz (**Tabla 3.1**) [-]

μ Módulo viscoso de la matriz polimérica [Pa s]

μ_0 Módulo viscoso inicial de la matriz polimérica [Pa s]

μ_w Viscosidad de una solución polímero-solvente caracterizado por una concentración de agua igual a c_w [Pa s]

ρ_p Densidad de la partícula [g m⁻³]

$\tilde{\sigma}$ Tensión adimensional de la matriz (**Tabla 3.1**) [-]

σ Tensión de la matriz [Pa]

σ_0 Tensión inicial de la matriz [Pa]

Φ_σ Fracción de tensiones desarrolladas en la matriz promedio en el volumen [-]

Φ_L Fracción de activo liberado promedio en el volumen [-]

Φ_M Fracción de polímero remanente promedio en el volumen [-]

Φ_w Fracción de agua absorbida promedio en el volumen [-]

Subíndices

i i -ésimo nodo radial

n n -ésimo paso de tiempo

3.7. Bibliografía

Achanta, S., Okos, M.R., Cushman, J.H. y Kessler, D.P. (1997). Moisture transport in shrinking gels during saturated drying. *AIChE Journal*, 43(8):2112–2122. doi:10.1002/aic.690430818.

Ahearne, M., Yang, Y., El Haj, A.J., Then, K.Y. y Liu, K.K. (2005). Characterizing the viscoelastic properties of thin hydrogel-based constructs for tissue engineering applications. *Journal of The Royal Society Interface*, 2(5):455–463. doi:10.1098/rsif.2005.0065.

AK Scientific, inc. (2021). Fine & specialty chemicals in catalog & bulk. All-trans-astaxanthin, 95%. https://aksci.com/item_detail.php?cat=J90065. (Accedido el 16.09.2021).

Arifin, D.Y., Lee, L.Y. y Wang, C.H. (2006). Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(12-13):1274–1325. doi:10.1016/j.addr.2006.09.007.

Azhdari, E., Ferreira, J.A., de Oliveira, P. y da Silva, P.M. (2016). Numerical and analytical study of drug release from a biodegradable viscoelastic platform. *Mathematical Methods in the Applied Sciences*, 39(16):4688–4699. doi:10.1002/mma.3375.

Bajpai, S. y Sharma, S. (2004). Investigation of swelling/degradation behaviour of alginate beads crosslinked with Ca^{2+} and Ba^{2+} ions. *Reactive and Functional Polymers*, 59(2):129–140. doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2004.01.002.

Bejan, A. (2013). *Convection heat transfer*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, USA, 4ta ed. doi:10.1002/9781118671627.

Bender, E.A. (2000). *Introduction to mathematical modeling*. Dover Publications, New York, USA, 1era ed. OCLC: 868271427.

- Caccavo, D., Cascone, S., Lamberti, G., Barba, A.A. y Larsson, A. (2016). Swellable hydrogel-based systems for controlled drug delivery. En A.D. Sezer (Ed.), *Smart Drug Delivery System*. InTech Open, London, UK, 1era ed., pp. 237–303. doi:10.5772/61792.
- Chiarappa, G., Abrami, M., Farra, R., Dapas, B., Grassi, G. y Grassi, M. (2018). Drug delivery from polymeric matrices. En D. Manca (Ed.), *Quantitative Ssystems pharmacology models and model-based systems with applications, computer aided chemical engineering*, vol. 42. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 325–356. doi:10.1016/B978-0-444-63964-6.00011-8.
- Cohen, D.S. y White, A.B. (1989). Sharp fronts due to diffusion and stress at the glass transition in polymers. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 27(8):1731–1747. doi:10.1002/polb.1989.090270811.
- Cohen, D.S. y White, Jr., A.B. (1991). Sharp fronts due to diffusion and viscoelastic relaxation in polymers. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 51(2):472–483. doi:10.1137/0151023.
- Dalaty, A.A., Karam, A., Najlah, M., Alany, R.G. y Khoder, M. (2016). Effect of non-cross-linked calcium on characteristics, swelling behaviour, drug release and mucoadhesiveness of calcium alginate beads. *Carbohydrate Polymers*, 140:163–170. doi:10.1016/j.carbpol.2015.12.010.
- De Kee, D., Liu, Q. y Hinestroza, J. (2005). Viscoelastic (non-Fickian) diffusion. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 83(6):913–929. doi:10.1002/cjce.5450830601.
- De'Nobili, M.D., Rojas, A.M., Abrami, M., Lapasin, R. y Grassi, M. (2015). Structure characterization by means of rheological and NMR experiments as a first necessary approach to study the L-(+)-ascorbic acid diffusion from pectin and pectin/alginate films to agar hydrogels that mimic food materials. *Journal of Food Engineering*, 165:82–92. doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.05.014.
- Dym, C.L. (2004). 4 - Approximating and validating models. En C.L. Dym (Ed.), *Principles of mathematical modeling*. Academic Press, Burlington, USA, 2da ed., pp. 13–32. doi:10.1016/B978-012226551-8/50005-3.
- Ferrareso Lona, L.M. (2018). *A step by step approach to the modeling of chemical engineering processes: Using excel for simulation*. Springer International Publishing, Cham, Suiza, 1era ed. doi:10.1007/978-3-319-66047-9.
- Ferreira, J., Grassi, M., Gudiño, E. y de Oliveira, P. (2015). A new look to non-Fickian diffusion. *Applied Mathematical Modelling*, 39(1):194–204. doi:10.1016/j.apm.2014.05.030.
- Ferreira, J.A., Grassi, M., Gudiño, E. y de Oliveira, P. (2014). A 3D model for mechanistic control of drug release. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 74(3):620–633. doi:10.1137/130930674.

- Fong, C.F.C.M., Moresoli, C., Xiao, S., Li, Y., Bovenkamp, J. y De Kee, D. (1998). Modeling diffusion through geomembranes. *Journal of Applied Polymer Science*, 67(11):1885–1889. doi:10.1002/(SICI)1097-4628(19980314)67:11<1885::AID-APP7>3.0.CO;2-H.
- Golmohamadi, M. y Wilkinson, K.J. (2013). Diffusion of ions in a calcium alginate hydrogel-structure is the primary factor controlling diffusion. *Carbohydrate Polymers*, 94(1):82–87. doi:10.1016/j.carbpol.2013.01.046.
- Grassi, M., Lapasin, R. y Pricl, S. (1998). Modeling of drug release from a swellable matrix. *Chemical Engineering Communications*, 169(1):79–109. doi:10.1080/00986449808912722.
- Harland, R.S., Dubernet, C., Benoît, J.P. y Peppas, N.A. (1988). A model of dissolution-controlled, diffusional drug release from non-swellable polymeric microspheres. *Journal of Controlled Release*, 7(3):207–215. doi:10.1016/0168-3659(88)90053-3.
- Hoad, C., Rayment, P., Cox, E., Wright, P., Butler, M., Spiller, R. y Gowland, P. (2009). Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 2: *In vivo* characterisation. *Food Hydrocolloids*, 23(3):833–839. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.04.013.
- Holz, M., Heil, S.R. y Sacco, A. (2000). Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate ^1H NMR PFG measurements. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2(20):4740–4742. doi:10.1039/b005319h.
- Hong, C.P. (2004). *Computer modelling of heat and fluid flow in materials processing*. No. 5 en Series in materials science and engineering, IoP, Bristol, UK, 1era ed.
- Iooss, B. y Saltelli, A. (2017). Introduction to sensitivity analysis. En R. Ghanem, D. Higdon y H. Owhadi (Eds.), *Handbook of uncertainty quantification*. Springer International Publishing, Cham, Suiza, 1era ed., pp. 1103–1122. doi:10.1007/978-3-319-12385-1_31.
- Karki, K.J., Samanta, S. y Roccatano, D. (2016). Molecular properties of astaxanthin in water/ethanol solutions from computer simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(35):9322–9328. doi:10.1021/acs.jpcc.6b06055.
- Langtangen, H.P. y Pedersen, G.K. (2016). *Scaling of differential equations*. No. 2 en SimulaBriefs on Computing, Springer International Publishing, Cham, Suiza, 1era ed. doi:10.1007/978-3-319-32726-6.
- Li, Z., Qiao, Z. y Tang, T. (2018). *Numerical solution of differential equations: Introduction to finite difference and finite element methods*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 1era ed. doi:10.1017/9781316678725.

- Malekjani, N. y Jafari, S.M. (2021). Modeling the release of food bioactive ingredients from carriers/nanocarriers by the empirical, semiempirical, and mechanistic models. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1):3–47. doi:10.1111/1541-4337.12660.
- Martínez-Delgado, A.A., Khandual, S. y Villanueva-Rodríguez, S.J. (2017). Chemical stability of astaxanthin integrated into a food matrix: Effects of food processing and methods for preservation. *Food Chemistry*, 225:23–30. doi:10.1016/j.foodchem.2016.11.092.
- Mazumder, S. (2016). *Numerical methods for partial differential equations: Finite difference and finite volume methods*. Academic Press, Oxford, UK.
- Montaño Moreno, J.J., Palmer Pol, A. y Sesé Abad, A. (2013). Using the R-MAPE index as a resistant measure of forecast accuracy. *Psicothema*, (25.4):500–506. doi:10.7334/psicothema2013.23.
- Morgenroth, E. (2008). Modelling biofilms. En M. Henze, M. van Loosdrecht, G. Ekama y D. Brdjanovic (Eds.), *Wastewater treatment. Principles, modelling and design*. IWA Publishing, London, UK.
- Niizawa, I., Espinaco, B.Y., Zorrilla, S.E. y Sihufe, G.A. (2019). Natural astaxanthin encapsulation: Use of response surface methodology for the design of alginate beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121:601–608. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.10.044.
- Pirayú (2021). Centro de Cómputos del CIMEC. Equipamiento en Pirayu. <https://cimec.org.ar/c3/pirayu/equipos.php>. (Accedido el 27.08.2021).
- Ramachandran, P.A. (2014). *Advanced transport phenomena: Analysis, modeling and computations*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Rayment, P., Wright, P., Hoad, C., Ciampi, E., Haydock, D., Gowland, P. y Butler, M.F. (2009). Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: *In vitro* characterisation. *Food Hydrocolloids*, 23(3):816–822. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.04.011.
- Rothstein, S.N., Federspiel, W.J. y Little, S.R. (2009). A unified mathematical model for the prediction of controlled release from surface and bulk eroding polymer matrices. *Biomaterials*, 30(8):1657–1664. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.002.
- Schwedes, T., Ham, D.A., Funke, S.W. y Piggott, M.D. (2017). *Mesh dependence in PDE-constrained optimisation*. Springer International Publishing, Cham, Suiza. doi:10.1007/978-3-319-59483-5.
- Serrano-Aroca, A., Ruiz-Pividal, J.F. y Llorens-Gámez, M. (2017). Enhancement of water diffusion and compression performance of crosslinked alginate films with a minuscule amount of graphene oxide. *Scientific Reports*, 7(1):1–8. doi:10.1038/s41598-017-10260-x.

- Thombre, A.G. y Himmelstein, K.J. (1985). A simultaneous transport-reaction model for controlled drug delivery from catalyzed bioerodible polymer matrices. *AIChE Journal*, 31(5):759–766. doi:10.1002/aic.690310509.
- Tilden, J.W. y Seinfeld, J.H. (1982). Sensitivity analysis of a mathematical model for photochemical air pollution. *Atmospheric Environment*, 16(6):1357–1364. doi:10.1016/0004-6981(82)90056-7.
- Tønnesen, H.H. y Karlsen, J. (2002). Alginate in drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 28(6):621–630. doi:10.1081/DDC-120003853.
- Vorotnikov, D.A. (2009). Weak solvability for equations of viscoelastic diffusion in polymers with variable coefficients. *Journal of Differential Equations*, 246(3):1038–1056. doi:10.1016/j.jde.2008.09.005.
- Vrahatis, M., Magoulas, G. y Plagianakos, V. (2003). From linear to nonlinear iterative methods. *Applied Numerical Mathematics*, 45(1):59–77. doi:10.1016/S0168-9274(02)00235-0.
- Vrentas, J.S. y Vrentas, C.M. (2013). *Diffusion and mass transfer*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.

CAPÍTULO 4

Determinación de parámetros.

Caracterización del polímero que constituye la matriz encapsulante

CAPÍTULO 4

Determinación de parámetros. Caracterización del polímero que constituye la matriz encapsulante

Resumen. En el presente capítulo, se caracterizó el alginato de sodio utilizado como matriz encapsulante en el sistema de encapsulación alimentario empleado para validar los modelos matemáticos presentados en los **Capítulos 2** y **3**. Para ello, se determinó su peso molecular medio y la relación cuantitativa de las fracciones de los monómeros que lo componen (grupos M y grupos G) a través de las técnicas de viscosimetría capilar y de resonancia magnética nuclear de protón (^1H RMN), respectivamente. El valor del peso molecular medio en peso obtenido fue de $192 \pm 1,81$ kDa y el valor de la relación entre M y G fue de 1,809. Ambos parámetros están íntimamente relacionados con las propiedades físicas de los geles de alginato y con su funcionalidad como material encapsulante.

4.1. Introducción

El alginato es un polisacárido abundante en la naturaleza. Se encuentra como componente estructural de algas marrones (*Phaeophyceae*) y como componente capsular de ciertas cepas bacterianas (*Azotobacter*, *Pseudomonas*). Se emplea principalmente en la industria de alimentos, médica, farmacéutica y textil debido a su capacidad de gelificar, aumentar la viscosidad del medio y sus propiedades estabilizantes de dispersiones (Fertah et al., 2017; Hecht y Srebnik, 2016). Las aplicaciones biotecnológicas de este polisacárido están basadas fundamentalmente en su capacidad de formar geles por entrecruzamiento iónico con cationes multivalente (Ca^{2+}). Este proceso es instantáneo y prácticamente independiente de la temperatura. En consecuencia, obtener geles de alginato con un amplio rango de propiedades mecánicas resulta un proceso simple y de bajo costo (Hecht y Srebnik, 2016).

Como se mencionó en el **Capítulo 2**, a nivel molecular los alginatos son copolímeros lineales binarios de residuos del ácido β -D-manurónico (M) y α -L-gulurónico (G) unidos mediante enlaces glicosídicos (1-4) (**Fig. 2.6**). Los monómeros pueden estar unidos formando secuencias homogéneas (bloques M o bloques G) o secuencias heterógenas (bloques MG) (**Fig. 2.7**). Debido a que el alginato proviene de fuentes naturales, la composición química y las secuencias de sus monómeros dentro de la cadena polimérica pueden variar dependiendo de la especie de algas de la que fue extraído e incluso dependiendo del tejido dentro de la misma especie (Hecht y Srebnik, 2016).

Los alginatos son típicamente descritos por su peso molecular medio y la relación cuantitativa entre sus monómeros (F_M/F_G), ya que estos parámetros están íntimamente relacionados con la funcionalidad de los alginatos como material encapsulante (Helmiyati y Aprilliza, 2017). Es decir, las propiedades físicas de los geles de alginato están fuertemente relacionadas con el peso molecular, la composición y la secuencia estructural del polímero (Martinsen et al., 1989). Por un lado, la viscosidad de las soluciones de alginato dependen de su peso molecular medio. Esto es, el alginato de sodio es soluble en agua y la viscosidad de soluciones de igual concentración aumenta con el peso molecular del polímero (Donnan y Rose, 1950). Por otro lado, sus propiedades gelificantes son afectadas por la distribución de unidades M y G dentro de la cadena polimérica (Jensen et al., 2015). En general, un alginato con una baja relación de F_M/F_G forma geles quebradizos, mientras que uno con una alta relación forma geles más débiles y flexibles (Jensen et al., 2015; Salomonsen et al., 2008). Hecht y Srebnik (2016) explicaron que esto se debe a que la gelificación del alginato es un resultado de la unión selectiva de los iones Ca^{2+} a las regiones de la cadena del polímeros ricas en residuos G. Esto permite la asociación de las cadenas y la formación de una estructura de *caja de huevos* (**Fig. 2.8**). Estos autores reportaron que bloques G aislados y purificados actúan como moduladores de gel, formando zonas de unión de alto orden compuestas por dos o más cadenas. Por su parte, los bloques M y los bloques MG tienen una baja selectividad hacia el ión Ca^{2+} . Esto estaría asociado a que sus estructuras son más planas y los lugares disponibles para que ocupe el catión son más superficiales.

El peso molecular de biopolímeros puede ser determinado a través de tecnologías como osmometría, cromatografía por permeación en gel, dispersión de luz, viscosimetría, entre otros (Masuelli y Illanes, 2014). Dentro de la viscosimetría existen tres tipos principales de viscosímetros disponibles: capilar, rotacional y de caída de bola (*falling-ball*). Sin embargo, los viscosímetros capilares son los más empleados (Kulicke y Clasen, 2004). Además, presentan la ventaja de tener un bajo costo operativo y los resultados obtenidos a través de esta técnica son de buena calidad cuando los biopolímeros analizados son solubles en agua (Masuelli y Illanes, 2014). Esta técnica analiza la forma en que un polímero afecta el movimiento de la solución. Esto se debe a la capacidad de este tipo de compuestos de aumentar la viscosidad del medio, aún a muy bajas concentraciones, debido a su elevado peso molecular (Kulicke y Clasen, 2004).

El método de referencia para la determinación de la relación F_M/F_G es la espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (^1H RMN) (Jensen et al., 2015). Este método requiere la solubilización y depolimerización del alginato, además de una alta temperatura (> 80 °C) durante la adquisición de los datos. La finalidad de ambas etapas radica en (a) disminuir la viscosidad de la solución para aumentar la resolución del espectro y (b) desplazar la resonancia del agua lejos de la región espectral de interés y evitar solapamientos (Grasdalen et al., 1979). La depolimerización suele realizarse a través

de una hidrólisis suave con ácidos inorgánicos. Ésta debe ser controlada con el objetivo de evitar una hidrólisis completa, posibles epimerizaciones y lecturas erróneas de F_M/F_G . Sin embargo, esta metodología suele resultar laboriosa y costosa. Vilén et al. (2011) propusieron un método basado en una secuencia de pulsos editada para difusión estándar en RMN. El fundamento de esta técnica se basa en la diferencia de velocidad de difusión de las moléculas de agua y del alginato debido a la diferencia de tamaños. Esto permite que la resonancia del agua se pueda separar de la correspondiente al polímero sin hidrolizar y a temperatura ambiente (Jensen et al., 2015).

El objetivo del presente capítulo fue caracterizar al alginato de sodio utilizado como matriz encapsulante en el sistema de encapsulación alimentario empleado para validar los modelos matemáticos de los **Capítulos 2 y 3**. Para ello, se determinó su peso molecular medio y las fracciones de los monómeros que lo componen a través de las técnicas de viscosimetría capilar y de ^1H RMN con una secuencia de pulsos editada para difusión estándar, respectivamente.

4.2. Teoría

4.2.1. Determinación del peso molecular del alginato de sodio por viscosimetría capilar

La medición de la viscosidad es una de las técnicas más simples para estimar el peso molecular de una macromolécula (López Serrano Ramos y Mendizábal Mijares, 2015). Sin embargo, se debe tener en cuenta que la viscosidad de una solución polimérica no depende únicamente del peso molecular del polímero, sino que además depende de su concentración, del solvente y de la temperatura (Kulicke y Clasen, 2004).

Las aproximaciones teóricas para determinar la estructura de un polímero en solución suponen un estado de solvatación pseudo-ideal. En este estado, las fuerzas de solvatación del solvente (interacciones polímero-solvente) y las fuerzas de agregación de los segmentos de las cadenas poliméricas (interacciones polímero-polímero) están en equilibrio. Aquí, el polímero permanece en un estado no perturbado (**Fig. 4.1.b**). El solvente y la temperatura que producen este estado pseudo-ideal son denominados solvente y temperatura *theta* (θ), respectivamente (Kulicke y Clasen, 2004). Sin embargo, la determinación del peso molecular de un polímero a través de la técnica de viscosimetría requiere que las cadenas poliméricas se encuentren mutuamente aisladas, es decir, que las interacciones polímero-polímero sean mínimas. Esto se puede conseguir a través de soluciones poliméricas diluidas y utilizando un solvente termodinámicamente bueno (Podzimek, 2011). Esto significa que cuando un polímero se disuelve en un solvente termodinámicamente bueno, las fuerzas de atracción entre los segmentos de las cadenas de polímeros son menores que la interacciones polímero-solvente. Aquí, el polímero adquiere una conformación extendida (Cowie y Arrighi, 2007; Podzimek, 2011). La interacción de los dos componentes provocan un aumento de las dimensiones del polímero con respecto al estado sin solvatar

(**Fig. 4.1.a**). Debido a la gran diferencia de tamaño entre el solvente y el soluto, las propiedades de fricción del solvente en la mezcla cambian considerablemente y se produce un aumento de la viscosidad. El efecto sobre la viscosidad refleja el tamaño y la forma del soluto disuelto, incluso en soluciones diluidas (Chanda, 2013). En contraparte, cuando un polímero es disuelto en un solvente termodinámicamente pobre, las interacciones polímero-solvente no están favorecidas y predominan las fuerzas de atracción entre las cadenas. Aquí, las cadenas adoptan una conformación cerrada y contraída (**Fig. 4.1.c**). Debido a esto las cadenas de polímero tienden a colapsar o agregarse (Cowie y Arrighi, 2007; Podzimek, 2011).

La viscosidad de un líquido depende fuertemente de la temperatura. Debido a ello, las medidas de viscosidad deben realizarse en condiciones de temperatura controlada ($\pm 0,1$ °C). Además, antes de realizar las medidas, el viscosímetro debe estar a la temperatura requerida y en equilibrio térmico (Chanda, 2013).

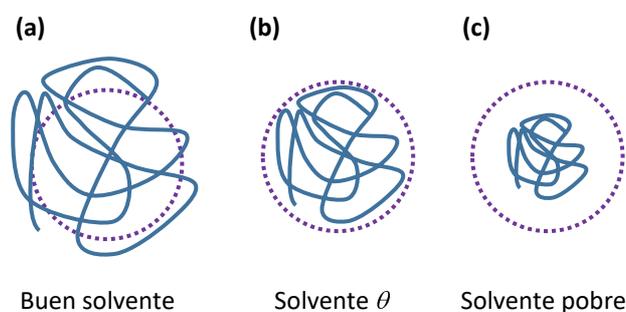


Figura 4.1. Conformación de una cadena polimérica (a) en un solvente termodinámicamente bueno, (b) en un solvente *theta* (θ) y (c) en un solvente termodinámicamente pobre.

4.2.1.1. Viscosimetría capilar

En la **Fig. 4.2**, se muestran diferentes tipos de viscosímetros capilares. En la presente Tesis, la determinación del peso molecular del alginato se realizó con un viscosímetro del tipo Cannon-Fenske de dos brazos. En la **Fig. 4.3**, se muestran las principales partes de este tipo de viscosímetros. En general, la técnica consiste en colocar a través del tubo de llenado un volumen específico V de la solución cuya viscosidad se desea determinar. La muestra queda almacenada en el reservorio. Luego, se aplica una determinada presión en el tubo de llenado. Esto provoca el ascenso de la solución hasta la bola de entrada. En ese momento, la presión es suprimida y el fluido comienza a caer por su propio peso a través de un capilar de longitud l y radio R . Se mide y se registra el tiempo que el volumen conocido de muestra tarda en atravesar dos puntos de medida (marca anular superior de medida y marca anular inferior de medida) (Schott-Geräte, 2004). A partir de este valor de tiempo se puede

calcular la viscosidad cinemática ν y la viscosidad dinámica η de la solución. A diferencia de otros tipos de viscosímetros, los del tipo capilar permiten regular la temperatura de operación. Esto se debe a que pueden ser sumergidos en un baño térmico (Kulicke y Clasen, 2004).

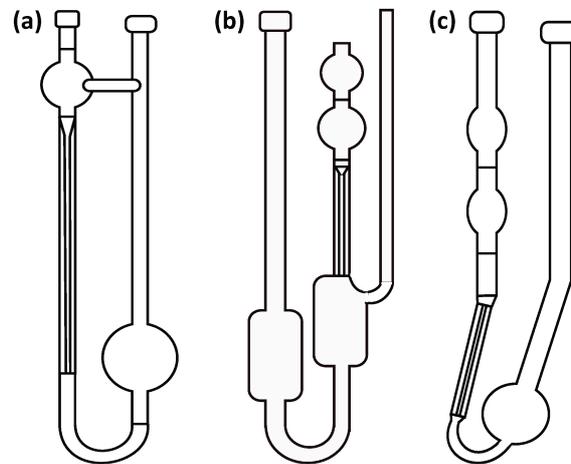


Figura 4.2. Diferentes tipos de viscosímetros capilares: (a) viscosímetro de Ostwald, (b) viscosímetro de Ubbelohde y (c) viscosímetro Cannon-Fenske (Kulicke y Clasen, 2004).

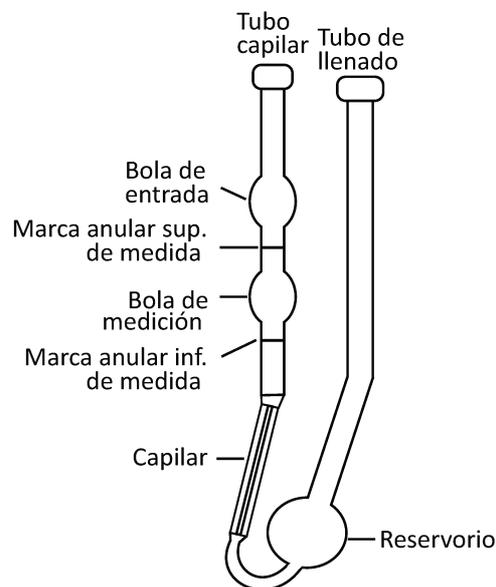


Figura 4.3. Partes de un viscosímetro capilar Cannon-Fenske (Schott-Geräte, 2004).

La determinación de la viscosidad a través de esta técnica se realiza bajo las suposiciones de que dentro del capilar (a) el flujo es isotérmico y laminar, (b) existe una condición de flujo estacionario, (c) la muestra se comporta como un fluido newtoniano, (d) la viscosidad es independiente de la presión, (e) la muestra es un líquido incompresible, (f) hay adherencia del líquido a las paredes y (g) la longitud

l del capilar es lo suficientemente grande para hacer despreciable la influencia del flujo a la entrada y a la salida del capilar. En estas condiciones ideales, el fluido se mueve por influencia de la gravedad describiendo un perfil de velocidad parabólico (**Fig. 4.4**) y la ley de Hagen-Poiseuille (**Ec. 4.1**) es la base de la estimación de la viscosidad (Wilke et al., 2015).

$$v = \frac{\pi R^4 g H}{8 V l} t' \quad (4.1)$$

donde g es la aceleración de la gravedad [mm s^{-2}], H es la altura hidrostática media del capilar [mm] y t' es el tiempo [s]. Esta expresión puede reescribirse,

$$v = K t' \quad (4.2)$$

donde K es un factor de proporcionalidad entre v y t' que depende de las características del capilar. En general, el valor del parámetro K es brindado por el fabricante del capilar.

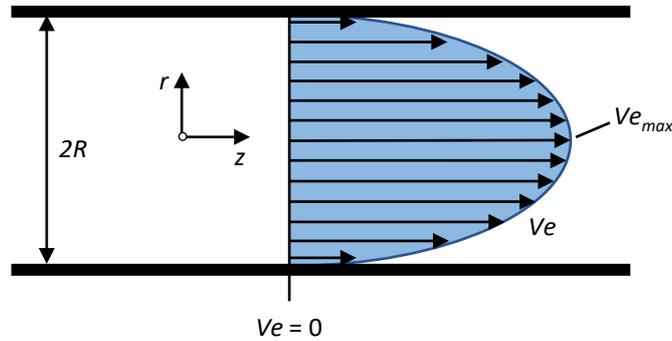


Figura 4.4. Perfil de velocidad del fluido dentro del tubo capilar. Aquí, r es la dirección radial, R es el radio del capilar, V_e es la velocidad del fluido y $V_{e_{max}}$ es su velocidad máxima (Wilke et al., 2015).

Usualmente, el flujo de la solución dentro del capilar se desvía del comportamiento ideal. Esto significa que hay un aumento aparente de viscosidad debido (a) a la conversión de energía potencial en energía cinética, que a su vez se disipa formando vórtices a la salida del capilar y (b) al trabajo inicial requerido para la formación del gradiente de velocidad de perfil parabólico (Elias, 1977). Debido a esto es necesario incluir en la **Ec. (4.2)** un término de corrección que es especialmente relevante para tiempos cortos de medición (Kulicke y Clasen, 2004).

$$v = K(t' - \tau) = K t \quad (4.3)$$

donde t es el tiempo [s] medido en el viscosímetro corregido por el factor de corrección Hagenbach-Couette τ [s]. El valor del factor τ puede ser determinado por comparación de medidas en capilares de igual R , pero de diferentes l . Sin embargo, en general su valor es brindado por el fabricante del capilar y depende del tiempo de flujo y del capilar utilizado (Kulicke y Clasen, 2004).

En conclusión, la viscosidad cinemática de soluciones con flujo newtoniano pueden ser determinada a partir de los valores de t registrados en un viscosímetro capilar a través de la **Ec. (4.3)**. Además, se puede obtener un valor para la η multiplicando el valor de v por la densidad de la solución (Wilke et al., 2015).

4.2.1.2. Viscosidad intrínseca

Cuando la finalidad de las medidas de viscosidad se llevan a cabo para caracterizar a un polímero, resulta más adecuado determinar el valor de la viscosidad intrínseca $[\eta]$ en lugar de medir el valor de v o η . Este parámetro representa una forma de medir la capacidad del polímero en estudio para aumentar la viscosidad de la solución respecto a la del solvente (Lu y Mays, 2021), depende del tamaño y de la forma de la molécula del polímero y es función de la concentración del polímero (Podzimek, 2011). Para determinar un valor de $[\eta]$ de un polímero particular, se requiere medir la viscosidad relativa η_r ,

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} \quad (4.4)$$

donde η es la viscosidad dinámica de la solución polimérica [cP] y η_0 es la viscosidad dinámica del solvente puro [cP]. Considerando la **Ec. (4.3)**, la relación entre v y η y la **Ec. (4.4)**, η_r se puede expresar,

$$\eta_r = \frac{t\rho}{t_0\rho_0} \quad (4.5)$$

donde t y ρ son el tiempo corregido medido en el viscosímetro capilar [s] y la densidad correspondientes a la solución polimérica [g mL⁻¹], mientras que t_0 y ρ_0 son el tiempo corregido [s] y la densidad correspondientes al solvente puro [g mL⁻¹]. Además, considerando que las soluciones poliméricas están altamente diluidas, el valor de ρ puede considerarse igual a ρ_0 (Lu y Mays, 2021) y la expresión de η_r resulta,

$$\eta_r = \frac{t}{t_0} \quad (4.6)$$

A partir de η_r , otras viscosidades de interés pueden ser definidas y calculadas (**Tabla 4.1**). Por un lado, la viscosidad específica (η_{sp}) caracteriza la contribución relativa del polímero a la viscosidad de la solución (López Serrano Ramos y Mendizábal Mijares, 2015). Por otro lado, la viscosidad reducida (η_{red}) y la viscosidad inherente (η_{inh}) se definen con el fin de eliminar el efecto de la concentración del polímero sobre la viscosidad. Sin embargo, ambas viscosidades no son totalmente independientes de la concentración, ya que aún en soluciones muy diluidas existen pequeñas interacciones polímero-polímero que deben ser consideradas. Estas interacciones disminuyen con la disminución de la concentración de las soluciones (Kulicke y Clasen, 2004). La funcionalidad de η_{red} y η_{inh} con la concentración pueden

ser expresadas como una serie de potencias (Meira y Gugliotta, 2019). Las expresiones usualmente utilizadas son la ecuación de Huggins (Ec. 4.7) y la ecuación de Kraemer (Ec. 4.8) (Chanda, 2013),

$$\eta_{red} = [\eta] + k_H[\eta]^2c + k'_H[\eta]^3c^2 + \dots \quad (4.7)$$

$$\eta_{inh} = [\eta] + k_K[\eta]^2c + k'_K[\eta]^3c^2 + \dots \quad (4.8)$$

donde k_H , k'_H , k_K , k'_K son constantes [-] y c es la concentración de polímero en solución [g mL⁻¹]. En ambas expresiones, $[\eta]$ es la viscosidad intrínseca y caracteriza a la interacción polímero-solvente [mL g⁻¹], mientras que el resto de los términos representan la interacción polímero-polímero (Meira y Gugliotta, 2019). Para soluciones lo suficientemente diluidas, los términos cuadráticos de las Ecs. (4.7)-(4.8) se pueden despreciar y la funcionalidad de η_{red} y η_{inh} con c se reducen a expresiones lineales,

$$\eta_{red} = [\eta] + k_H[\eta]^2c \quad (4.9)$$

$$\eta_{inh} = [\eta] + k_K[\eta]^2c \quad (4.10)$$

En estas condiciones, k_H y k_K se relacionan mediante (Podzimek, 2011),

$$k_K = k_H - 0,5 \quad (4.11)$$

Entonces, el valor de $[\eta]$ puede ser obtenido en la condición de dilución ideal ($c \rightarrow 0$). En esta condición solo se cuantifica la interacción de las moléculas de polímero aisladas con el solvente. No obstante, experimentalmente no se puede lograr la condición ideal de solución diluida (Kulicke y Clasen, 2004). En consecuencia, el procedimiento para obtener un valor de $[\eta]$ consiste en determinar los valores de η_{red} y/o η_{inh} para soluciones diluidas de polímeros a varias concentraciones. Luego, estos valores son ajustados con las Ecs. (4.9) y (4.10), respectivamente. Finalmente, $[\eta]$ se obtiene extrapolando dichas funciones a $c = 0$ (Chanda, 2013; Kulicke y Clasen, 2004; Lu y Mays, 2021).

Tabla 4.1. Nomenclatura y definición de viscosidades (Lu y Mays, 2021).

Símbolo	Nombre común	Nombre IUPAC	Definición
η_r	Viscosidad relativa	Relación de viscosidad	η/η_0
η_{sp}	Viscosidad específica	Viscosidad específica	$\eta_r - 1$
η_{red}	Viscosidad reducida	Número de viscosidad	η_{sp}/c
η_{inh}	Viscosidad inherente	Número logarítmico de viscosidad	$\log(\eta_r)/c$
$[\eta]$	Viscosidad intrínseca	Número límite de viscosidad	$\eta_{red \rightarrow 0}$ o $\eta_{inh \rightarrow 0}$

4.2.1.3. Ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (MHS)

La viscosidad intrínseca $[\eta]$ de un polímero en un determinado solvente se puede relacionar con su peso molecular (M) a través de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (MHS) (Kulicke y Clasen, 2004; Meira y Gugliotta, 2019),

$$[\eta] = kM^a \quad (4.12)$$

donde k [g mL^{-1}] y a [-] son constantes empíricas que dependen del polímero, el solvente, la temperatura a la que se determina la viscosidad y del estimador de M que se pretende obtener. En la literatura, se definen diferentes valores de pesos moleculares promedio: peso molecular promedio en peso (\bar{M}_w), peso molecular medio viscoso (\bar{M}_v) y el peso molecular medio en número (\bar{M}_n) (Oberlerchner et al., 2015). Estos estimadores son definidos por las Ecs. (4.13)-(4.15).

$$\bar{M}_w = \sum_{i=1}^P w_i M_i \quad (4.13)$$

$$\bar{M}_v = \sum_{i=1}^P (w_i M_i^a)^{1/a} \quad (4.14)$$

$$\bar{M}_n = \sum_{i=1}^P (w_i M_i)^{-1} \quad (4.15)$$

donde w_i y M_i son la fracción másica [g g^{-1}] y el peso molecular [kDa] de la fracción i , respectivamente, e N es el número de pesos moleculares de las cadenas que componen al polímero. Como una consecuencia de sus definiciones, los valores de los estimadores del peso molecular en orden creciente es: $\bar{M}_n \leq \bar{M}_v \leq \bar{M}_w$ (Meira y Gugliotta, 2019). Adicionalmente, se puede estimar la polidispersidad de los pesos moleculares de una muestra de polímero (Ec. 4.16). Este parámetro permite tener una idea de la distribución de la longitud de las cadenas que componen al polímero. Un valor de $Q = 1$ significa que la muestra está compuesta por cadenas de polímeros de igual peso molecular. En contraparte, cuanto mayor es el valor de Q , mayor es el número de pesos moleculares de las cadenas (Kulicke y Clasen, 2004). Notar que $Q \geq 1$ ($\bar{M}_n \leq \bar{M}_w$).

$$Q = \frac{\bar{M}_w}{\bar{M}_n} \quad (4.16)$$

4.2.2. Determinación de las fracciones de monómeros que componen al alginato de sodio por espectrometría de resonancia magnética nuclear de protón (^1H RMN)

La espectroscopía estudia la interacción entre la radiación electromagnética y la materia. En esta interacción, la radiación electromagnética puede comportarse como onda o como partícula (Fenández,

2014). En su comportamiento de onda, cada rayo de radiación puede ser caracterizado por su frecuencia f o longitud de onda λ (Macomber, 1998). En consecuencia, el espectro electromagnético clasifica las diferentes radiaciones electromagnéticas según su f o λ . Las ondas de radio son las de mayor longitud de onda y menor frecuencia y las de rayos gamma son las de menor longitud de onda y mayor frecuencia (Fig. 4.5). En general, existen tres zonas del espectro electromagnético de especial interés en la determinación de compuestos químicos. En particular, la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) emplea longitudes de onda en el orden de las radiofrecuencias (Fig. 4.5) (Fenández, 2014). Respecto al comportamiento corpuscular de la radiación electromagnética, ésta interactúa

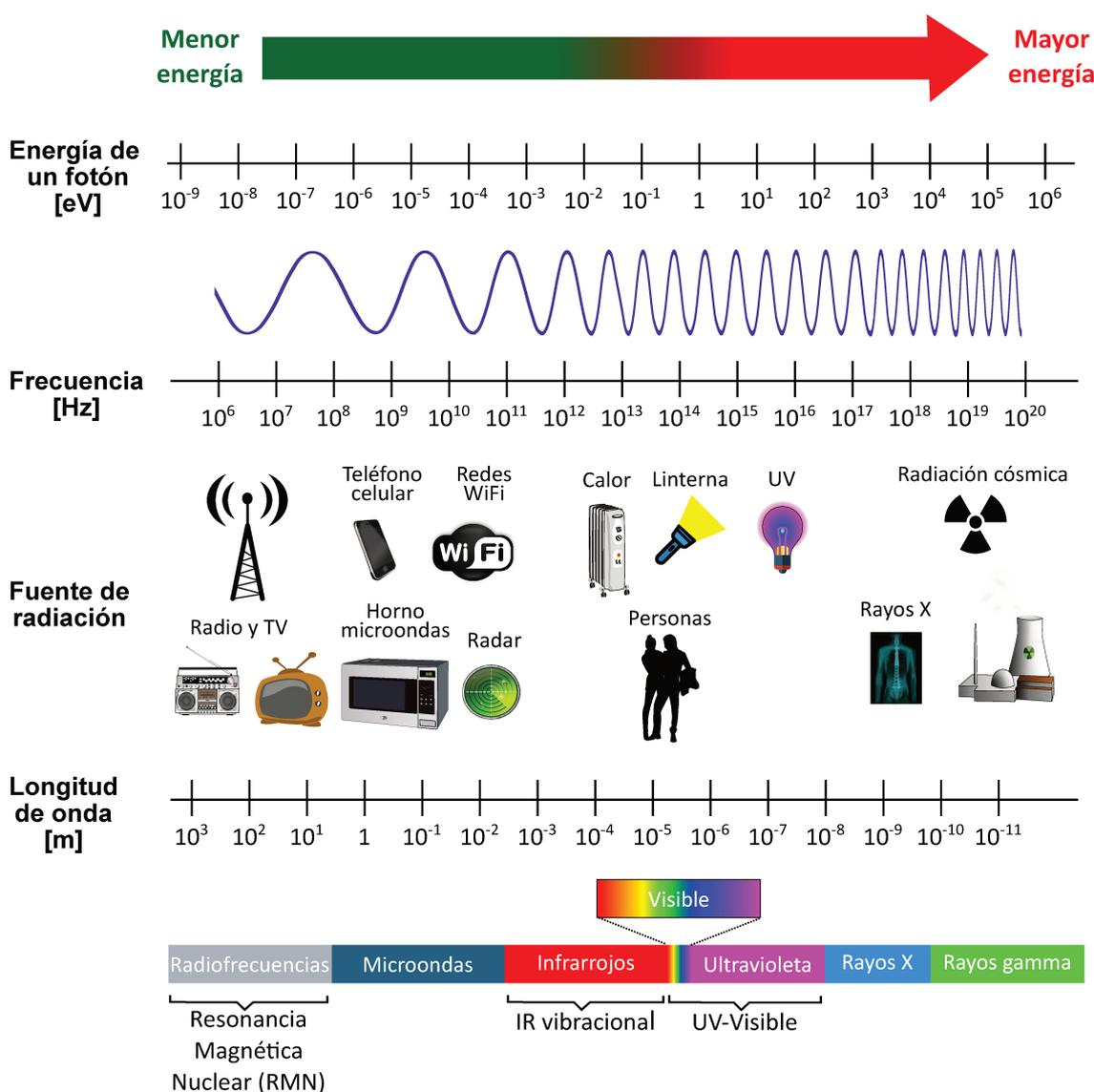


Figura 4.5. Espectro electromagnético y zonas de interés en la determinación de compuestos químicos (Fenández, 2014).

con la materia en forma de partículas llamadas fotones. Cada fotón tiene una cantidad discreta de

energía E dada por la ecuación de Planck (Fenández, 2014; Macomber, 1998),

$$E = hf \tag{4.17}$$

donde $h = 6,63 \times 10^{-34}$ J s es la constante de Planck.

En RMN, las interacciones de interés entre la radiación electromagnética y las partículas de materia son la absorción y la emisión. Brevemente, cuando una partícula absorbe radiación, el fotón desaparece y toda su energía es transferida a la partícula. Como consecuencia, la partícula de materia tiene un exceso de energía y se dice que está en un estado excitado. Luego, la partícula puede relajarse, volver a su estado basal y emitir un fotón. Sin embargo, para que una partícula de materia pueda absorber (o emitir) un fotón, inicialmente debe tener algún tipo de movimiento periódico uniforme con una frecuencia característica fija. Además, dicha frecuencia debe ser exactamente la misma que la frecuencia del fotón absorbido (o emitido). Cuando existe esta condición se dice que el sistema está en resonancia (Macomber, 1998).

4.2.2.1. Propiedades magnéticas de los núcleos

Núcleos atómicos. Los átomos están formados por una nube de electrones dispuestos alrededor de un núcleo. Además, el núcleo está compuesto por protones y neutrones. El número de protones que tiene el núcleo caracteriza al átomo y es el número atómico Z . Sin embargo, el número de neutrones N puede ser diferente en núcleos de un mismo átomo dando origen a los isótopos de dicho átomo. Por ejemplo, todos los átomos cuyos núcleos tienen $Z = 1$ son átomos de hidrógeno (H). Sin embargo, algunos átomos de H pueden carecer de neutrones ($N = 0$) o pueden tener un neutrón ($N = 1$). Ambos constituyen isótopos estables de H, denominados ^1H y ^2H , respectivamente. El superíndice de cada isótopo representa la suma $Z + N$ (Macomber, 1998).

Momento angular de espín de los núcleos. Los núcleos atómicos rotan sobre sí mismos (espín) y presentan un momento angular L determinado por la expresión,

$$L = \sqrt{I(I+1)}\hbar \tag{4.18}$$

donde $\hbar = h/(2\pi)$ [J s] e I [-] es el número cuántico de momento angular o espín nuclear (Fenández, 2014; Levitt, 2008). Por un lado, en los átomos cuyos valores de Z y N son pares, $I = 0$. Esto significa que sus núcleos no presentan movimiento de espín. Por otro lado, en aquellos átomos cuyos valores de Z , N o $Z + N$ son impares, sus núcleos presentan movimiento de espín e I toma valores específicos distintos de cero. Los núcleos con forma esférica (^1H , ^{13}C , ^{15}N , etc.) presentan un valor de $I = 1/2$, mientras que los no esféricos tienen un $I \geq 1$ (^2H , ^1B , ^{14}N , etc.) (Lambert y Mazzola, 2004).

Los estados cuánticos de espín permitidos están dados por m_I . El número de valores que toma m_I para un valor dado de I son $2I + 1$. Así, para un núcleo con $I = 1/2$ existen dos estados cuánticos posibles de espín dados por $m_I = -1/2, 1/2$ (Fenández, 2014; Levitt, 2008).

Momento magnético nuclear. Los núcleos atómicos que no presentan momento de espín ($I = 0$) no poseen propiedades magnéticas y son invisibles a experimentos de RMN. Sin embargo, aquellos núcleos que presentan un movimiento de espín generan un campo magnético debido a que son partículas cargadas (Lambert y Mazzola, 2004). El momento magnético μ producido debido al movimiento de espín del núcleo varía de átomo a átomo según (Fenández, 2014; Harris, 1986),

$$\mu = \gamma L \tag{4.19}$$

donde γ es la constante giromagnética [-]. El valor de γ describe cuánto varía la energía del estado de espín de un dado núcleo debido a los cambios en el campo magnético externo. Cada isótopo con espín nuclear distinto de cero tiene un valor de γ único y característico (Macomber, 1998).

Niveles de energía. En ausencia de un campo magnético, los estados cuánticos de espín se orientan al azar y presentan la misma energía (**Fig. 4.6.a**). A este estado de los espines se lo denomina degenerado. Sin embargo, cuando se aplica un campo magnético externo, los núcleos pueden adoptar $2I + 1$ orientaciones de espín no degenerados (**Fig. 4.6.b**) (Harris, 1986; Macomber, 1998). Esto significa que si se aplica un campo magnético B_0 en una dirección definida z a núcleos con $I = 1/2$, los momentos magnéticos se orientan de forma que los núcleos con $m_I = 1/2$ presentan su momento magnético alineado con el campo y los núcleos con $m_I = -1/2$ tienen su momento magnético opuesto al campo aplicado (Fenández, 2014). A esta separación de estados de espín de los núcleos se lo conoce como efecto nuclear Zeeman (Levitt, 2008). La tendencia que presentan los núcleos para adquirir un determinado estado de espín puede ser estimada a través de la ley de Boltzmann. En el caso de $I = 1/2$ (Lambert y Mazzola, 2004),

$$\frac{n_{m_I=1/2}}{n_{m_I=-1/2}} = \exp\left(\frac{\Delta E}{k_B T}\right) \tag{4.20}$$

donde $n_{m_I=1/2}$ y $n_{m_I=-1/2}$ es la población que tiende a adquirir un estado de espín $m_I = 1/2$ y $m_I = -1/2$, respectivamente, ΔE es la diferencia de energía entre ambos estados [J], k_B es la constante de Boltzmann [J K^{-1}] y T es la temperatura [K].

La cantidad de energía E asociada al estado de espín m_I generado por B_0 aplicado en la dirección z , se puede calcular a partir de,

$$E = -\mu_z B = -\gamma m_I \hbar B_0 \tag{4.21}$$

donde μ_z es el momento magnético de espín en la dirección z generado por el estado de espín m_I [-]. En base a esto, el estado de espín con el mayor valor positivo de m_I será el de menor energía y el más estable. En el caso de $I = 1/2$, el estado más estable es el de $m_I = 1/2$. Respecto a la diferencia de energía para este caso particular (Macomber, 1998),

$$\Delta E = E_{m_I=-1/2} - E_{m_I=1/2} \quad (4.22)$$

$$\Delta E = -[(-1/2) - (1/2)] \gamma \hbar B_0 \quad (4.23)$$

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 \quad (4.24)$$

Como puede observarse en la **Ec. (4.24)** y en la **Fig. (4.6.b)**, la diferencia de energía depende del campo magnético aplicado. Si el campo magnético es bajo, ΔE es pequeño. Esto a la vez produce que la diferencia de población entre los dos estados de espín posibles también sea baja (**Ec. 4.20**) (Fenández, 2014).

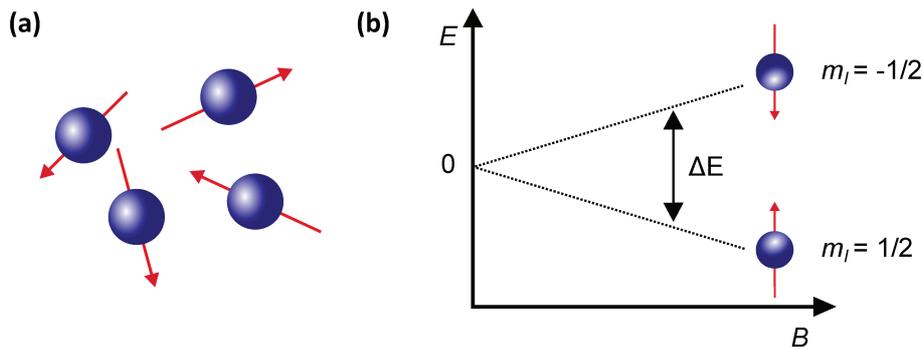


Figura 4.6. Orientación y energía (E) de los espines nucleares en (a) ausencia y en (b) presencia de un campo magnético externo (B) (Lambert y Mazzola, 2004).

Precesión. Como se mencionó previamente, para que los núcleos puedan absorber (o emitir) fotones deben tener algún tipo de movimiento periódico uniforme. Dicho movimiento es generado a partir de la aplicación de un campo magnético externo B_0 . Brevemente, al aplicar B_0 en la dirección z sobre núcleos con $I = 1/2$, una parte de los núcleos adoptarán un momento magnético en la dirección $+z$, mientras que el resto lo hará en $-z$. Sin embargo, dichos núcleos no presentarán una alineación paralela al eje z . Esto se debe a que B_0 actúa sobre el componente x de μ generando una fuerza en la dirección y ($F = B_{0,z} \times \mu_x$). Como consecuencia, el movimiento de μ describe una trayectoria cónica alrededor del eje z (**Fig. 4.7**). A este movimiento periódico se lo denomina precesión (Harris, 1986; Lambert y Mazzola, 2004). Los núcleos preceden a una frecuencia fija característica llamada frecuencia de Larmor

(w_L) dada por (Macomber, 1998),

$$w_L = \gamma B_0 \tag{4.25}$$

A través de esta expresión se observa que w_L solo depende de γ y B_0 y es independiente del valor de m_I . Es decir, que todos los núcleos con un mismo valor de γ dentro de un campo magnético fijo van a adquirir un movimiento de precesión con igual frecuencia, independientemente de la orientación de su espín (Macomber, 1998). Respecto a γ , su valor depende de las propiedades del núcleo considerado y es diferente incluso entre isótopos de un mismo elemento (Lambert y Mazzola, 2004).

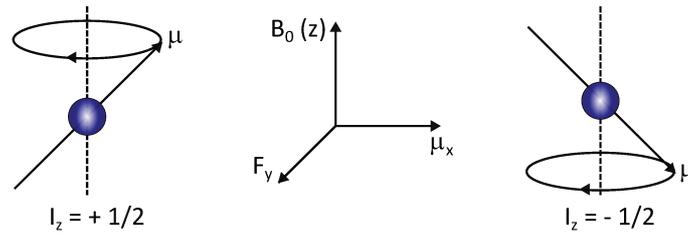


Figura 4.7. Movimiento periódico de precesión que adquieren los espines nucleares al aplicar un campo magnético B_0 en la dirección z (Lambert y Mazzola, 2004).

4.2.2.2. Resonancia magnética nuclear

Un experimento de RMN se basa en aplicar un campo magnético B_0 en la dirección z con el objeto de generar el efecto de Zeemann. La mayor parte de los núcleos adquirirán una orientación de espín con $m_I = 1/2$ (Ec. 4.20). Sin embargo, su movimiento de precesión tendrá la misma frecuencia w_L (Ec. 4.25). Luego, se aplica un segundo campo magnético B_1 , de menor intensidad que B_0 y con una frecuencia igual a w_L que se encuentra en la región de las radiofrecuencias del espectro electromagnético (Fig. 4.5). Esto produce que los núcleos con $m_I = 1/2$ absorban energía y los núcleos con $m_I = -1/2$ emitan energía. Debido a que el número de núcleos con estado de espín inicial de $m_I = 1/2$ es mayor, el efecto neto será la absorción de energía. La cantidad de energía absorbida puede ser detectada electrónicamente y mostrada en un gráfico de frecuencias vs. cantidad de energía absorbida. Por un lado, la magnitud de γ tiene una influencia importante en la magnitud de la resonancia. Esto se debe a que la ΔE es proporcional a γ (Ec. 4.24) y cuando ΔE es grande hay una gran diferencia de población entre los estados de espín (Ec. 4.20). En consecuencia, la energía neta absorbida será mayor. En este sentido, los protones tienen uno de los mayores γ , por lo tanto, la señal que emiten en RMN es muy fuerte. Sin embargo, otros núcleos importantes, como ^{13}C y ^{15}N , tienen valores de γ mucho menores y sus señales son menos intensas. Por otro lado, debido a que la

frecuencia de resonancia es fuertemente dependiente del entorno químico (apantallamiento nuclear), la RMN puede ser utilizada para determinar estructuras químicas (Lambert y Mazzola, 2004).

4.2.2.3. Apantallamiento nuclear

Las frecuencias de resonancia no son iguales para todos los núcleos de hidrógeno, sino que dependen del entorno químico que rodea a cada núcleo. Esto se debe a que la nube de electrones que rodea a los núcleos también presenta carga, movimiento y, por lo tanto, momento magnético. Como consecuencia, los electrones generan un campo magnético que se opone a B_0 en el microentorno alrededor de los núcleos. Esta modulación electrónica del campo B_0 se denomina apantallamiento nuclear y el campo local alrededor de los núcleos puede calcularse (Fenández, 2014; Lambert y Mazzola, 2004). Aquí, el campo magnético neto (B_e) que actúa sobre el protón se estima como,

$$B_e = (1 - \sigma) B_0 \quad (4.26)$$

donde σ es la constante de apantallamiento [-].

Como resultado del apantallamiento nuclear, la frecuencia de resonancia varía (Fenández, 2014; Lambert y Mazzola, 2004),

$$\omega_L = \frac{\gamma}{2\pi} (1 - \sigma) B_0 \quad (4.27)$$

Esto significa que una disminución del apantallamiento resulta en una mayor frecuencia de resonancia para un determinado valor de B_0 . Por ejemplo, la presencia de un grupo aceptor de electrones reduce la densidad de electrones alrededor de un protón. Esto reduce el apantallamiento y aumenta la frecuencia de resonancia respecto a una molécula que carece de un grupo aceptor de electrones (Lambert y Mazzola, 2004).

En conclusión, los núcleos con distinto entorno químico presentan una constante de apantallamiento diferente, generando diferentes señales en el espectro de RMN (Fenández, 2014).

4.2.2.4. Desplazamiento químico

Las señales del espectro de RMN se miden en una escala independiente del campo magnético aplicado llamada desplazamiento químico δ [ppm],

$$\delta = \frac{f_m - f_r}{f_r} 10^6 \quad (4.28)$$

donde f_m y f_r son la frecuencia de la muestra y de un compuesto de referencia [Hz], respectivamente. Para protones y carbonos, la sustancia de referencia es el tetrametilsilano ($\text{Si}(\text{CH}_3)_4$, TMS). Esto se debe a que esta sustancia es soluble en la mayoría de los solventes orgánicos, es inerte y volátil. Además, su baja electronegatividad genera que los protones y carbonos estén rodeados por una nube

relativamente densa de electrones. Esto produce un gran apantallamiento y una muy baja frecuencia de resonancia (Lambert y Mazzola, 2004).

4.2.2.5. Método de pulsos

Durante los inicios de la RMN, se utilizaban equipos de onda continua. Estos equipos están constituidos por tres bobinas que se colocan perpendiculares entre sí alrededor de la muestra: la bobina generadora del campo magnético B_0 , la bobina que irradia a la muestra con una frecuencia f en el orden de las radiofrecuencias y la bobina receptora, que registra señales de radiofrecuencia y es capaz de detectar cuando la muestra está absorbiendo (Fig. 4.8). En estos equipos, el experimento de resonancia puede hacerse manteniendo fijo el valor de campo y variando la frecuencia aplicada (barrido de frecuencias) o manteniendo fijo el valor de frecuencia aplicada y variando el campo (barrido de campo). En el momento en que se alcanza la condición de resonancia, la bobina receptora registra una señal e indica que a esa frecuencia los núcleos de la muestra están en resonancia. Sin embargo, el empleo de los equipos de onda continua tienen la desventaja de ser lentos (Laurella, 2017).

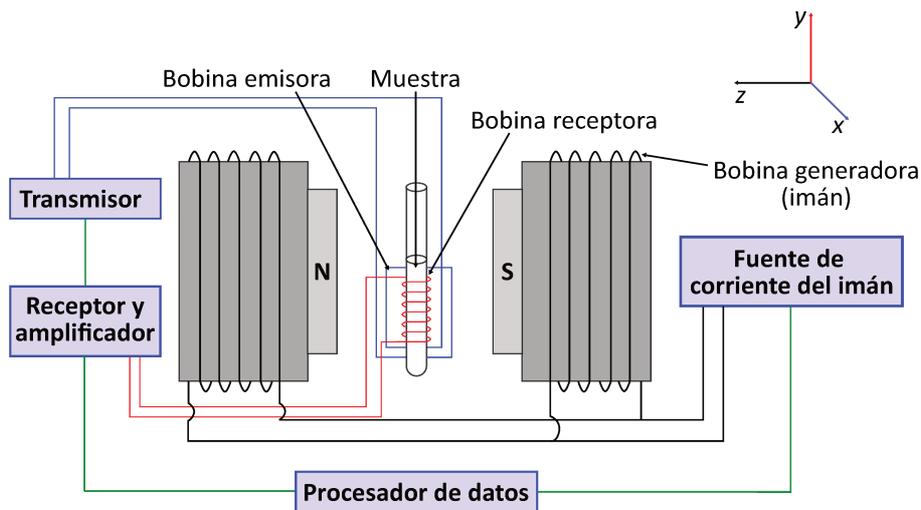


Figura 4.8. Esquema de un equipo de RMN de onda continua (Laurella, 2017).

En la actualidad, los equipos de RMN son más sofisticados que los equipo de onda continua y registran las señales a través del método de pulsos. La base de este método radica en el efecto Zemman. Como se mencionó en la Sección 4.2.2.1, al aplicar un campo magnético B_0 , los núcleos de los protones comienzan a precesar alrededor de él (Fig. 4.7). Además, el número de núcleos que adquieren un estado de espín $m_I = 1/2$ es mayor que los núcleos con $m_I = -1/2$ (Ec. 4.20). A pesar de que esta diferencia es pequeña, el resultado de la suma vectorial de los momentos magnéticos es un vector en la dirección $+z$ denominado magnetización macroscópica (M_0) (Fig. 4.9). Si en esta condición se aplica

un pulso de radiofrecuencia B_1 en la dirección x y su frecuencia coincide con la frecuencia de resonancia de algunos núcleos, la componente magnética de B_1 interactúa con M_0 . Como consecuencia, M_0 se mueve hacia la dirección perpendicular a ambos, es decir, hacia el eje y (**Fig. 4.10**). El ángulo de rotación de M_0 (φ) aumenta mientras B_1 esté presente. Esto significa que el valor exacto de φ puede ser determinado por el tiempo de aplicación de B_1 (t_p). En general, un t_p aproximado de $3 \mu\text{s}$ genera un $\varphi = 30^\circ$, mientras que un t_p de 8 y de $16 \mu\text{s}$ generan un φ de 90° y 180° , respectivamente (**Fig. 4.10**) (Lambert y Mazzola, 2004; Laurella, 2017).

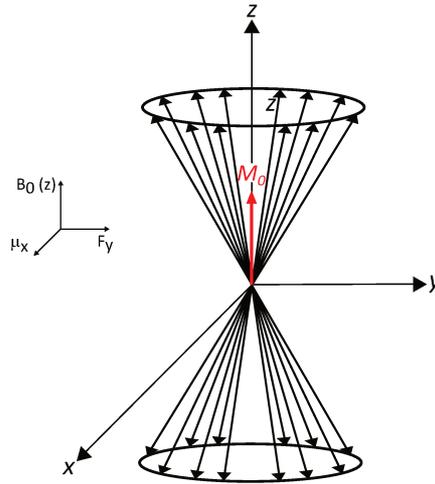


Figura 4.9. Distribución de los espines nucleares al aplicar un campo magnético externo (B_0) en la dirección z y generación de la magnetización macroscópica (M_0) (Lambert y Mazzola, 2004).

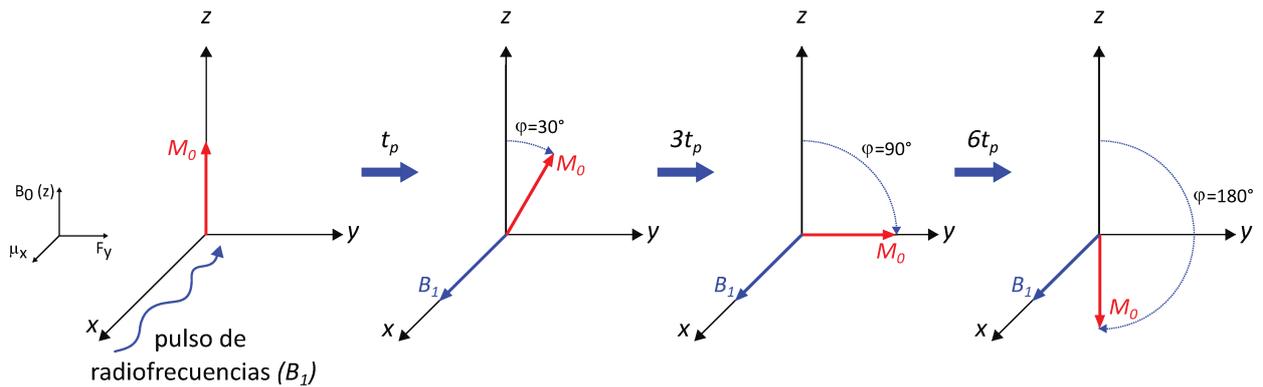


Figura 4.10. Interacción entre la magnetización macroscópica (M_0) y un pulso de radiofrecuencias (B_1) aplicado en la dirección x durante un tiempo t_p (Lambert y Mazzola, 2004).

Si se aplicara un solo pulso de radiofrecuencia, los únicos vectores M_0 que rotarían serían los correspondientes a los protones que resuenan a esa frecuencia particular, quedando el resto de los M_0 alineados con el eje z . Sin embargo, el método de pulsos consiste en aplicar un espectro de

frecuencias diferentes por un tiempo muy corto (pulso de frecuencias). De este modo, todos los M_0 correspondientes a todos los protones de la muestra rotan al mismo tiempo y se ubican en el plano xy . Una vez que se logra esto, se deja de aplicar el pulso de radiofrecuencias. En este instante, las M_0 se encuentran en un estado de no equilibrio (excitado) y tienden a volver a su estado inicial alineados con el eje z . A este proceso se lo denomina relajación y se distinguen dos tipos, la relajación espín-espín (*spin-spin relaxation*) y la relajación espín-retículo o espín-red (*spin-lattice relaxation*). El primer tipo corresponde al decaimiento que experimenta M_0 en la dirección y y es caracterizado por un tiempo T_2 (Lambert y Mazzola, 2004; Laurella, 2017). El valor de T_2 representa el tiempo medio que un núcleo se mantuvo en un determinado estado de espín. En cuanto al segundo tipo, corresponde a la reaparición de los M_0 en dirección z y es caracterizado por un tiempo T_1 (Lambert y Mazzola, 2004; Laurella, 2017). El valor de T_1 representa el tiempo de vida media necesario para que un sistema de núcleos excitados vuelva a su estado de equilibrio. El equipo solo percibe la componente y de los M_0 , por lo tanto la señal es cada vez menos intensa. A este proceso de decrecimiento de la señal de RMN con el tiempo se lo llama Caída Libre de la Inducción (*Free Induction Decay*, FID). El gráfico de la FID muestra la intensidad en función del tiempo y es una superposición de todas las componentes y de los M_0 de los diferentes protones de la muestra. Sin embargo, en un espectro RMN interesan las diferentes frecuencias que se están superponiendo para generar la FID, por lo tanto el dominio de tiempo es transformado al dominio de frecuencias a través del método de transformada de Fourier (TF). Esto permite obtener un gráfico intensidad vs. frecuencia que puede ser transformado fácilmente en un gráfico típico de RMN de intensidad vs. desplazamiento químico (δ) (Lambert y Mazzola, 2004; Laurella, 2017). En la **Fig. 4.11**, se muestra un esquema de la obtención de un espectro de RMN.

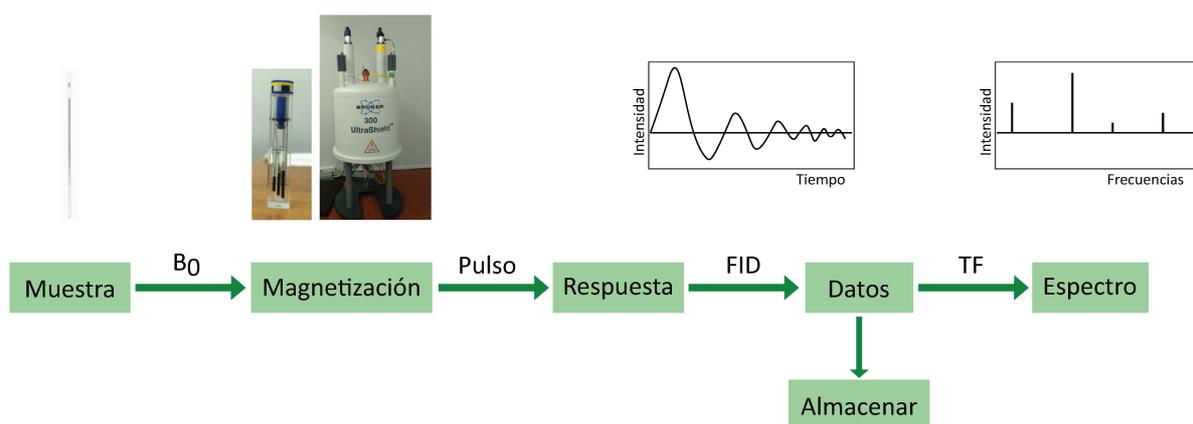


Figura 4.11. Esquema de las etapas de obtención de un espectro de RMN (Laurella, 2017).

La principal ventaja del método de frecuencias de pulsos radica en que las frecuencias de resonancia de todos los protones de la muestra son medidas en simultáneo, en consecuencia el tiempo de medida

es corto. Esto permite que se puedan realizar varias medidas consecutivas a fin de incrementar la señal y obtener espectros con alta resolución. Cada una de estas medidas es un *scan* (Laurella, 2017).

4.2.2.6. Caracterización del espectro del alginato

Grasdalen et al. (1979) caracterizaron el espectro del alginato obtenidos mediante la técnica de ^1H RMN. A partir del mismo, estos autores hallaron las relaciones de área entre las señales que permiten estimar la fracción de G (F_G), la fracción de M (F_M) y las fracciones de distintas secuencias. En la **Fig. 4.12**, se muestran las estructuras de los monómeros que conforman la molécula de alginato y un espectro característico de alginato obtenido con ^1H RMN. En general, se distinguen 3 señales: la señal A, que corresponde al hidrógeno de la posición 1 (H1) de los grupos G, la señal B, constituida por señales del H1 de los grupos M y de hidrógeno de la posición 5 (H5) de los grupos G formando secuencias GGM y MGM, y una señal C, que corresponde a H5 de los grupos G formando secuencias GG. A partir de esto, las fracciones de los monómeros pueden estimarse mediante (Grasdalen et al., 1979),

$$F_G = \frac{I_A}{I_B + I_C} \quad (4.29)$$

$$F_G + F_M = 1 \quad (4.30)$$

donde I_A , I_B e I_C son las intensidades integradas de las señales A, B y C, respectivamente. Además, considerando que para cadenas largas la fracción de la secuencia MG (F_{MG}) es igual a la fracción de la secuencia GM (F_{GM}), los mismos autores propusieron expresiones para estimar las fracciones de distintas secuencias (**Ecs. 4.31-4.33**). Asimismo, Trica et al. (2019) utilizaron el parámetro ζ (**Ec. 4.34**) para evaluar la distribución de los monómeros en la molécula de alginato. Estos autores sugirieron que un valor de $\zeta > 1$ indica que los monómeros se distribuyen principalmente en bloques alternantes. Por el contrario, un valor de $\zeta < 1$ significa que la cadena de alginato está conformada principalmente por bloques homopoliméricos.

$$F_{GG} = \frac{I_C}{I_B + I_C} \quad (4.31)$$

$$F_{GG} + F_{GM} = F_G \quad (4.32)$$

$$F_{MM} + F_{MG} = F_M \quad (4.33)$$

$$\zeta = \frac{F_{GM}}{F_M F_G} \quad (4.34)$$

donde F_{GG} y F_{MM} son las fracciones de las secuencias GG y MM, respectivamente.

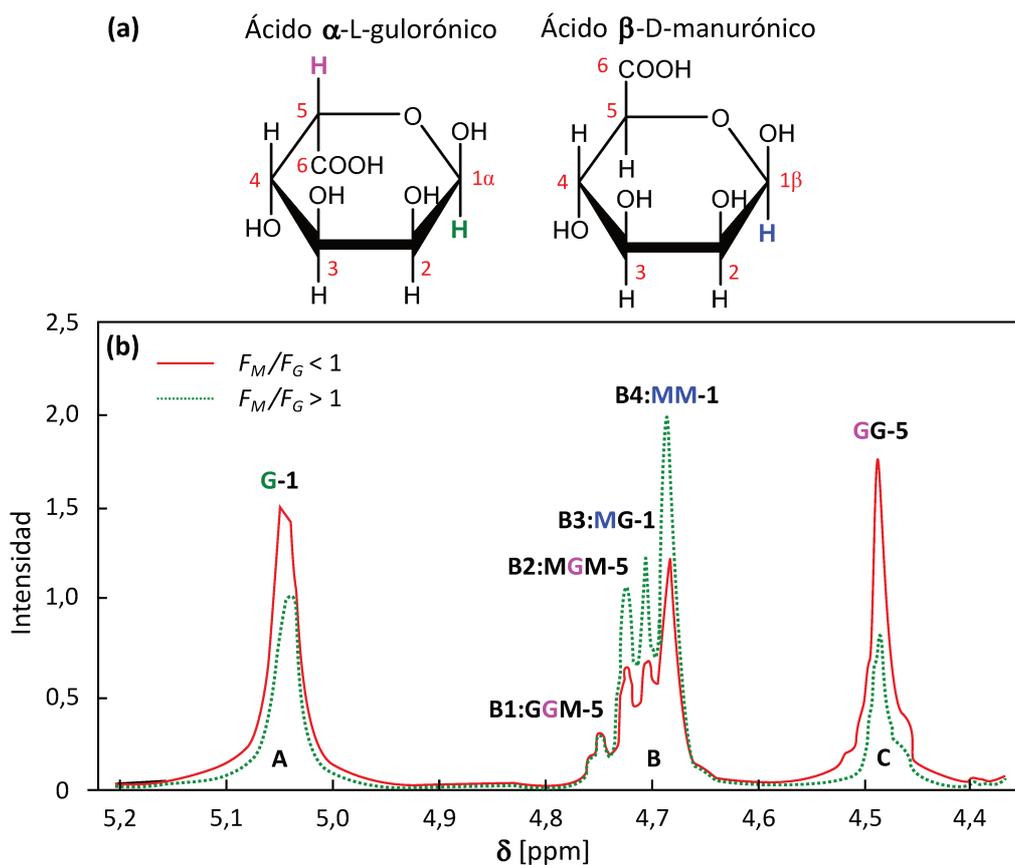


Figura 4.12. (a) Monómeros del ácido alginico. (b) Espectro ^1H RMN característico de alginatos (Jensen et al., 2015).

4.3. Materiales y métodos

Se caracterizó un alginato de sodio de baja viscosidad (Kelco, Atlanta, USA). Para las experiencias de viscosimetría se usó cloruro de sodio (NaCl) (Cicarelli Laboratorios, Santa Fe, Argentina), un viscosímetro AVS300 Schott Geräte (Schott Geräte, Maguncia, Alemania) y un baño térmico CT 1150/2 Schott Geräte (Schott Geräte, Maguncia, Alemania). Para las experiencias de RMN se usó alginato de sodio de alga marrón de baja viscosidad de Sigma-Aldrich (ref: A1112, Sigma Chemical Co., St. Louis, Alemania) y un espectrómetro digital de Resonancia Magnética Nuclear multinuclear Bruker Avance II de 300 MHz (Bruker, Rheinstetten, Alemania).

4.3.1. Determinación del peso molecular del alginato de sodio

4.3.1.1. Selección del solvente

La selección del solvente para las experiencias de viscosimetría se realizó teniendo en cuentas las siguientes consideraciones generales: (a) se deben evitar solventes higroscópicos, muy volátiles y de baja viscosidad y (b) en lo posible se deben usar buenos solventes para minimizar los errores por agregación de moléculas de soluto y su adsorción a las paredes de los capilares. En un buen solvente, la molécula gana energía libre y se expande. Esto se debe a que se maximiza la interacción polímero-solvente y se minimizan las interacciones intramoleculares (Meira y Gugliotta, 2019). La bondad del solvente se puede evaluar a través de las constantes k_H y k_K de las ecuaciones de Huggins (Ec. 4.7) y de Kraemer (Ec. 4.8), respectivamente (Podzimek, 2011). A pesar de que el significado molecular de ambas constantes no está determinado, estudios teóricos para moléculas en forma de espiral definieron a k_H a través de la siguiente expresión (Elias, 1977),

$$k_H = k_{hid} - \frac{3A_2M}{[\eta]} F(\alpha) \quad (4.35)$$

donde k_{hid} es un factor hidrodinámico, A_2 es el segundo coeficiente del virial, M es el peso molecular del polímero y F es una función del factor de expansión α . El factor k_{hid} tiene un valor entre 0,5 – 0,7. Por un lado, en solventes θ , $A_2 = 0$. En consecuencia, en esta condición se esperaría un valor de $0,5 \leq k_H \leq 0,7$. Por otro lado, en buenos solventes $A_2 > 0$, por lo tanto $k_H < 0,5 - 0,7$. En general, en esta condición se esperan valores de k_H entre 0,25 – 0,35 ($-0,25 \leq k_K \leq -0,15$) (Elias, 1977).

da Costa et al. (2017) demostraron que las soluciones de NaCl actúan como buen solvente para el alginato. Esto significa que reduce la repulsión electrostática entre el polímero y el solvente y facilita su interacción. Adicionalmente, numerosos autores emplearon soluciones de NaCl para caracterizar moléculas de alginato por viscosimetría (Martinsen et al., 1991; Masuelli y Illanes, 2014; Pasut et al., 2008; Yamashita et al., 2021). Debido a esto, se seleccionó como solvente a una solución de NaCl 0,1 M. Ésta fue preparada con agua ultrapura a temperatura ambiente.

Parámetros de la ecuación MHS. En la literatura, se encuentran distintos valores de los parámetros k y a de la Ec. (4.12) para estimar \bar{M}_w , \bar{M}_v y \bar{M}_n del alginato de sodio en NaCl 0,1 M a 25 °C (Tabla 4.2). Los valores de a reportados se encuentran dentro de un rango de 0,91 y 1,13. En general, los valores más chicos corresponden a alginatos con una relación de $F_M/F_G > 1$, mientras que los valores más grandes corresponden a alginatos ricos en grupos G (Clementi et al., 1998).

Tabla 4.2. Valores de los parámetros de la ecuación de MHS (**Ec. 4.12**) para una solución de alginato de sodio en NaCl 0,1 M a 25 °C.

Estimador de M	Unidad	F_M/F_G [-]	k [g mL ⁻¹]	a [-]	Fuente
\bar{M}_w	kDa	Todos	2,3	0,984	Clementi et al. (1998)
\bar{M}_v	kDa	< 1	$6,9 \times 10^{-4}$	1,13	Martinsen et al. (1991)
		> 1	$7,3 \times 10^{-3}$	0,92	
\bar{M}_n	kDa	Todos	9,5	0,963	Clementi et al. (1998)

4.3.1.2. Selección de las concentraciones de las soluciones de alginato de sodio

La selección de las concentraciones de las soluciones de alginato de sodio empleadas para determinar el peso molecular del polímero se realizó considerando las sugerencias de varios autores halladas en la literatura (Elias, 1977; Ibrahim, 1965; Kulicke y Clasen, 2004; Meira y Gugliotta, 2019). En primer lugar, se tuvo en cuenta que las soluciones empleadas deben ser diluidas. La finalidad de esto es minimizar las interacciones polímero-polímero. En segundo lugar, la concentración mínima y la concentración máxima de las soluciones fueron determinadas considerando que la η_{rel} se encuentre dentro de un rango de 1,2 – 2. Esto se debe a que por debajo del valor mínimo ($\eta_{rel} = 1,2$), podría haber adsorción del polímero en las paredes internas del capilar. Mientras que por arriba del valor máximo ($\eta_{rel} = 2$) podría haber interacción polímero-polímero y, como consecuencia, una funcionalidad no lineal de η_{red} con la concentración. En tercer lugar, Kulicke y Clasen (2004) sugirieron el empleo de entre 6 y 10 soluciones de distintas concentraciones de polímero para disminuir el error cometido en la regresión lineal. En consecuencia, se prepararon 8 soluciones de alginato de sodio en un rango de concentraciones entre 0,025 – 0,1 % (m:v).

Preparación de las soluciones. Se preparó una solución madre de alginato de sodio de 0,5 % (m:v) en NaCl 0,1 M. A partir de ella se obtuvieron por dilución las soluciones con las concentraciones requeridas. Para preparar la solución madre, se disolvieron 1,25 g de alginato de sodio en aproximadamente 100 mL de NaCl 0,1 M. El agregado de alginato se hizo en forma gradual y con agitación vigorosa para evitar la formación de grumos. Luego de finalizar el agregado del polímero, la solución se mantuvo en agitación durante 2 h. Pasado este tiempo, la solución se colocó en un matraz de 250 mL y se llevó a volumen con NaCl.

Todas las soluciones fueron filtradas con filtros de nylon de 0,45 μm (D'Amico Sistemas, Buenos Aires, Argentina).

4.3.1.3. Selección del diámetro del capilar

La selección del diámetro del capilar se realizó considerando las sugerencias de [Elias \(1977\)](#) y las recomendaciones del fabricante del viscosímetro ([Schott-Geräte, 2004](#)). Por un lado, [Elias \(1977\)](#) sugirió tener en cuenta dos criterios para seleccionar el diámetro adecuado del capilar en viscosimetría. En primer lugar, el capilar debe minimizar la contribución de energía cinética a la viscosidad. Para esto, el tiempo medido para el solvente (t_0) debe ser mayor a 100 s. En segundo lugar, se deben evitar problemas de ensuciamiento. Para ello, este autor sugiere trabajar con diámetros de capilar mayores a 0,4 mm. Por otro lado, el fabricante del viscosímetro establece un rango de viscosidad cinemática para cada número de capilar. Por lo tanto, se hicieron determinaciones con un capilar Cannon-Fenske N° 100 ($DI = 0,63$ mm, $K = 0,01588$ mm² s⁻², $3 \leq v \leq 15$ cSt) ([Yamashita et al., 2021](#)). Con este capilar, se obtuvo $t_0 \approx 60$ s y el rango de v de las soluciones de alginato de sodio se encontraron entre 1 – 1,4 cSt. Por lo tanto, se seleccionó un capilar Cannon-Fenske N° 50 ($DI = 0,44$ mm, $K = 0,003985$ mm² s⁻², $0,8 \leq v \leq 32$ cSt).

4.3.1.4. Determinación de viscosidades

En la **Fig. 4.13**, se muestra el viscosímetro capilar usado para realizar las mediciones de viscosidad y su soporte. El viscosímetro se colocó en el soporte de manera que las marcas anulares de medida quedaran alineadas con los sensores de medición S'_1 y S'_2 del soporte. Ambos fueron sumergidos en un baño termostatzado a 25 °C (**Fig. 4.14**). El tubo de llenado fue conectado a la manguera de presión, mientras que el tubo capilar se dejó a presión atmosférica. Se esperaron 13 minutos después de sumergido el sistema en el baño, para permitir que alcance el equilibrio térmico ([Schott-Geräte, 2004](#)). Las determinaciones de t para cada solución de alginato de sodio fueron realizadas por cuadruplicado.

4.3.2. Determinación de las fracciones de monómeros que componen al alginato de sodio

Previo a la determinación de la composición del alginato de baja viscosidad de Kelco (AK) a través de ¹H RMN, la técnica fue puesta punto con una alginato de baja viscosidad de Sigma-Aldrich (AS) de relación F_M/F_G conocida.

4.3.2.1. Preparación de las muestras

Se prepararon soluciones de 5 % (w:v) de ambos alginatos. Para ello, se pesaron 0,03 g de cada alginato en tubos de vidrio de RMN (diámetro externo = 5 mm, **Fig. 4.15.a**) y luego se agregaron 600 mL de óxido de deuterio (D₂O). Las soluciones fueron sonicadas en baño de agua caliente hasta disolución completa. Se dejaron en heladera durante una noche.

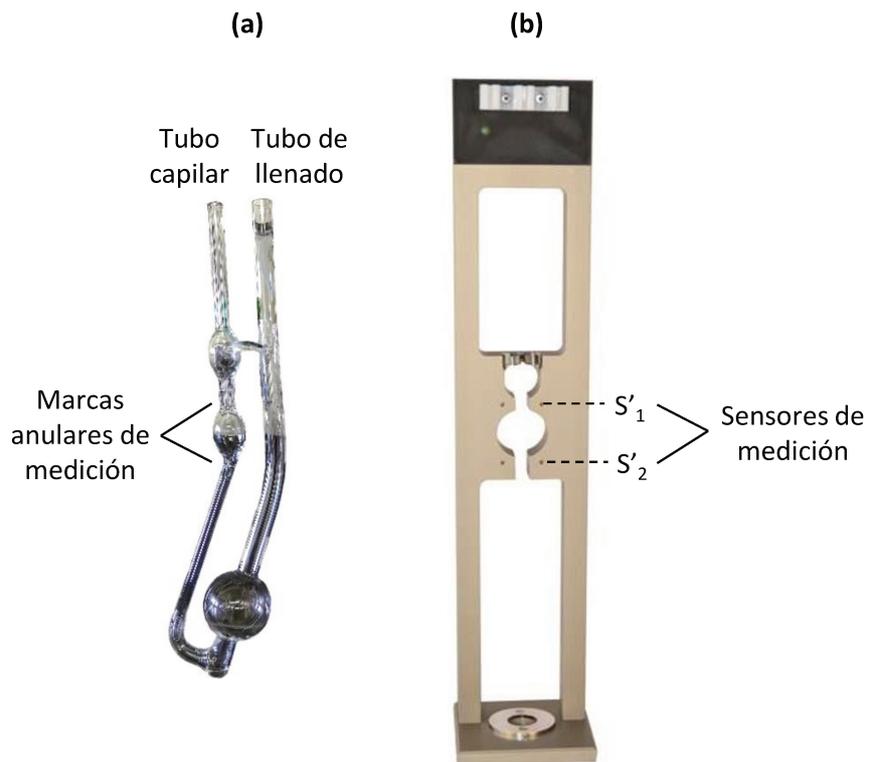


Figura 4.13. (a) Viscosímetro capilar Cannon-Fenske y (b) soporte usados en las determinaciones de viscosimetría.

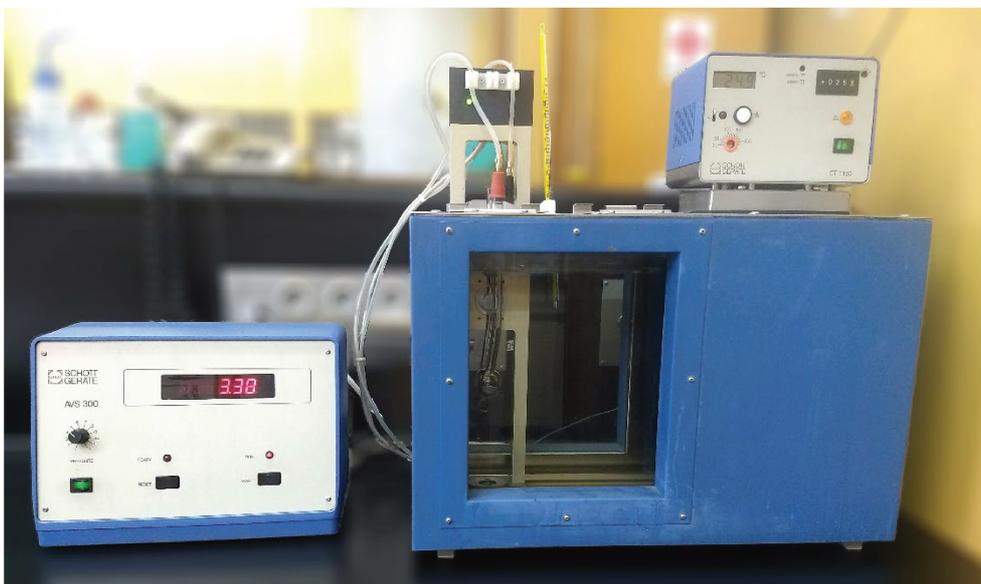


Figura 4.14. Equipo de viscosimetría usado en las experiencias.

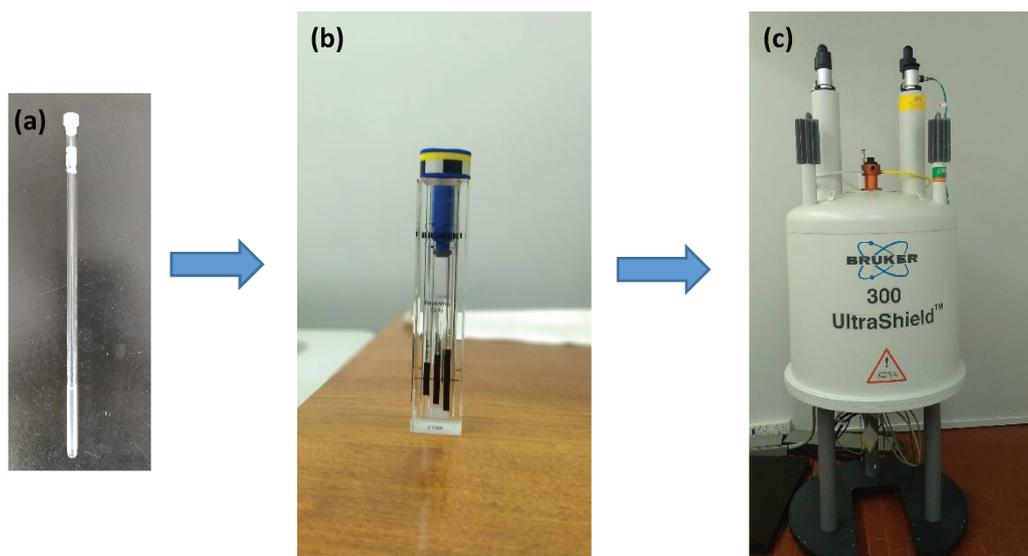


Figura 4.15. Elementos usados en las determinaciones de ^1H RMN. (a) Tubo porta muestra (b) Soporte de tubo. (c) Equipo de RMN.

4.3.2.2. Selección del programa de pulsos y parámetros del espectrofotómetro

En la **Fig. 4.15**, se muestra el equipo de RMN utilizado. Con la finalidad de poner a punto la técnica de determinación de la composición del alginato de sodio mediante un método de ^1H RMN, se seleccionaron programas con distintas secuencias de pulsos. Los programas seleccionados fueron *zg30*, *zgpr* y *ledbpgp2s1d*. Brevemente, el primero corresponde a un experimento estándar del catálogo de programas de Bruker BioSpin (Parella, 2006). Este programa consiste en un tiempo de retardo de reinicio (*recycling delay*), un pulso de radiofrecuencias de 30° y un tiempo de adquisición de datos durante el que se registra la señal. En la **Fig. 4.16.(a)**, se muestra un esquema de esta secuencia de pulsos, donde *d1*, *p1* y *AQ* representan el tiempo de retardo, el tiempo de duración del pulso y el tiempo de adquisición, respectivamente. Esta representación no está hecha a escala, ya que normalmente *d1* se encuentra en el orden de los segundos y *p1* en el orden de los microsegundos (10^{-6} s) (Loss y Kühn, 2005).

El segundo programa de pulsos involucra una pre-saturación durante el tiempo de retardo de reinicio con la finalidad de minimizar y suprimir la resonancia del solvente cuando en ^1H RMN se usan solventes protonados (Guéron et al., 1991; Zheng y Price, 2010; Ziegler, 2010). La saturación se define como el estado en que la población de núcleos con un estado de espín $m_I = -1/2$ es igual a la población de núcleos con un estado de espín $m_I = 1/2$ ($n_{m_I=-1/2} = n_{m_I=1/2}$). En esta condición, si la partícula es irradiada con un pulso de radiofrecuencias a la frecuencia de Larmor, la cantidad de energía absorbida por los núcleos con $m_I = 1/2$ será igual a la cantidad de energía emitida por los núcleos con $m_I = -1/2$. En consecuencia, no habrá un efecto neto de absorción de energía y no se

detectará señal en el espectro (Macomber, 1998). En general, el estado de saturación se puede lograr mediante la aplicación de un campo de radiofrecuencias débil a la frecuencia de Larmor del espín de interés durante un tiempo lo suficientemente largo. En particular, la pre-saturación consiste en aplicar una irradiación selectiva de onda continua de baja potencia durante un periodo de tiempo similar al tiempo de relajación longitudinal (T_1) del solvente. Se llama pre-saturación porque la saturación es generada previo a la aplicación del pulso (Guéron et al., 1991; Zheng y Price, 2010; Ziegler, 2010). En la **Fig. 4.16.(b)**, se muestra un esquema de este pulso de radiofrecuencias, donde $p19$ es el nivel de potencia de la presaturación.

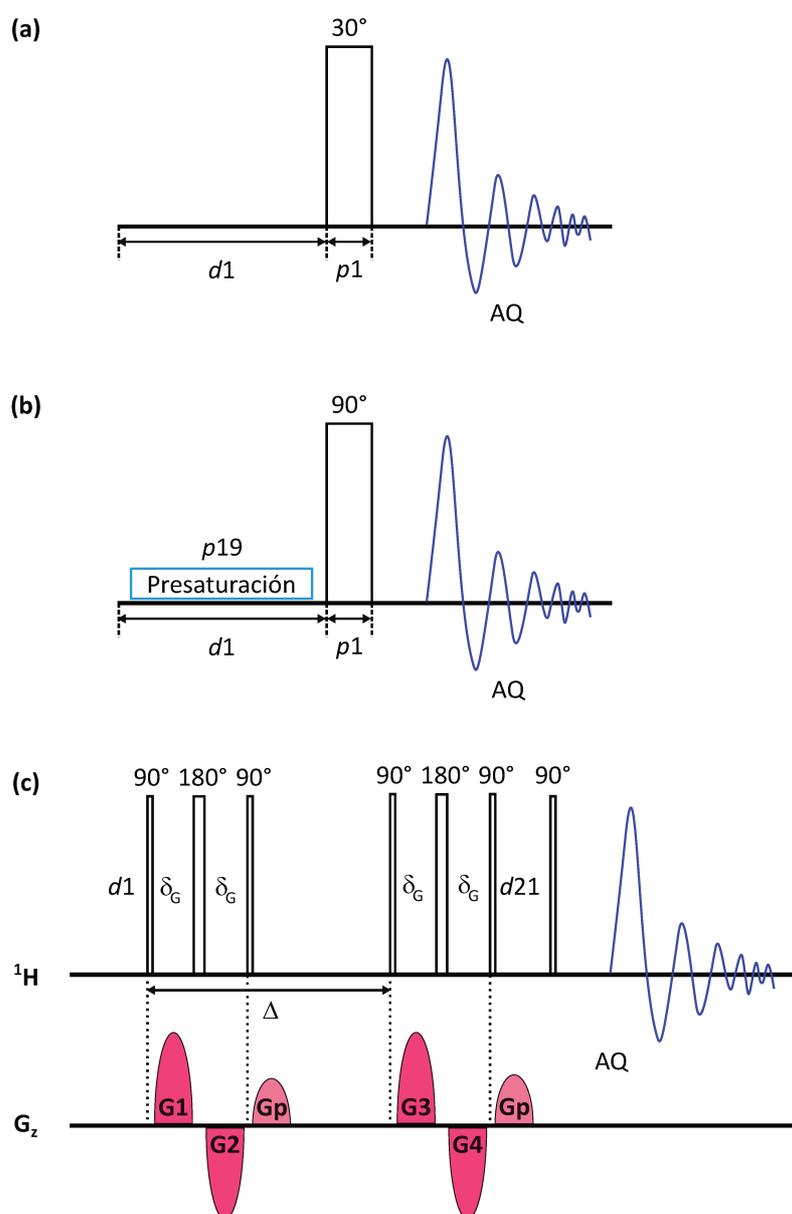


Figura 4.16. Esquemas de los programas de pulsos empleados en ^1H RMN. (a) *zg30*, (b) *zgpr* y (c) *ledbpgp2s1d* (Esturau Escofet, 2011; Parella, 2006).

El tercer programa de pulsos seleccionado corresponde a un experimento de difusión convencional usando gradientes de campos pulsados bipolares con tiempo longitudinal para desvanecer las corrientes parásitas (*eddy-current*) (Parella, 2006). Esta secuencia de pulsos consiste en aplicar un gradiente de campo pulsado que se suma al campo magnético principal B_0 y produce que las moléculas difundan dentro del tubo de la muestra. La diferencia de coeficientes de difusión de las moléculas en solución, permite separar las señales de los compuestos que componen la muestra (Kerssebaum, 2006). Sin embargo, la introducción del gradiente de campo pulsado induce corrientes parásitas en el material conductor de los alrededores que pueden persistir por algunos milisegundos después de que el gradiente se ha apagado. Estas corrientes pueden afectar al campo magnético y distorsionar el espectro resultante. Algunas formas de minimizar el efecto de estas corrientes consisten en (a) adicionar un tiempo de recuperación ($d21$) antes de la adquisición para que durante este tiempo las corrientes parásitas se desvanezcan y (b) usar dos gradientes pulsados de diferente polaridad separados por un pulso de radiofrecuencia de 180° para auto-compensar las corrientes parásitas (Esturau Escofet, 2011). Los parámetros básicos de este programa de pulsos son el tiempo de difusión (Δ), la fuerza del gradiente de campo pulsado (G) y la longitud del gradiente aplicado (δ_G). Por un lado, el parámetro Δ establece el tiempo entre los pulsos para permitir que los compuestos difundan. Por otro lado, se recomienda un valor entre 95 – 100 % para G (Kerssebaum, 2006). En la **Fig. 4.16.(c)**, se muestra un esquema de esta secuencia de pulsos. En el canal G_z se representan los pulsos de gradientes, donde G1-G2 y G3-G4 son los gradientes de pulsos bipolares y los G_p se denominan gradientes de purga. Los últimos tienen una fuerza constante pero diferentes entre sí (Esturau Escofet, 2011).

Además de los parámetros propios de la secuencia de pulsos *ledbpgp2s1d*, se debieron definir los siguientes parámetros comunes a los tres programas de pulsos seleccionados (BioSpin, 2014),

- Tamaño de datos del dominio de tiempo (TD), es el número de puntos a muestrear y digitalizar para formar la FID (intensidad vs. tiempo);
- Número de escaneos (NS), es la acumulación de número de barridos para mejorar un espectro. Un valor alto de NS disminuye la relación señal/ruido.
- Número de escaneos de prueba (DS), número de conjuntos de pulsos idénticos a los utilizados en la adquisición de datos que se transmiten antes de que se permita entrar en el receptor alguna señal emitida por la muestra (no se adquieren datos). Esto permite que la muestra alcance un estado de equilibrio.
- Anchura espectral o anchura de barrido (SW), es el ancho del rango de frecuencias a analizar. Cuanto menor es su valor, mayor resolución horizontal se puede lograr, aunque aumenta considerablemente el tiempo de adquisición de datos.

- Tiempo de adquisición (AQ), es el tiempo necesario para adquirir un escaneo. Este parámetro se define como $AQ = TD/(2 SWH)$, donde SWH es el valor de SW en Hz. El valor de AQ se ajusta automáticamente con los valores asignados a TD y SW .

4.4. Resultados y discusión

4.4.1. Determinación del peso molecular del alginato de sodio

En el **Tabla 4.3**, se muestran los valores de t , v y η_{sp} obtenidos para soluciones de distintas concentraciones de alginato de sodio en 2 experiencias independientes (E1 y E2). Por un lado, los valores de η_{sp} obtenidos se encuentran en un rango de 0,11 – 0,53. El valor hallado para la solución de concentración 0,025 % (m:v) fue menor que el recomendado en la literatura (**Sección 4.3.1.2**). En consecuencia, el valor de viscosidad de las soluciones de 0,025 no fue considerado para la estimación del peso molecular del polímero. Por otro lado, los valores de v se encuentran en un rango de 0,91 – 1,39 cSt y $t_0 > 100$ s. Por lo tanto, el diámetro del capilar utilizado cumple con las sugerencias de Schott-Geräte (2004) y Elias (1977) (**Sección 4.3.1.3**).

Tabla 4.3. Tiempo (t), viscosidad cinemática (v) y viscosidad específica (η_{sp}) determinados para soluciones de alginato de sodio en NaCl 0,1 M en un viscosímetro Canon-Fenske N° 50 a 25 °C.

Exp	c [% m:v]	t [s]	v [cSt]	η_{sp} [-]
E1	0,000	228,39 ± 0,18	0,91 ± 0,00	-
	0,025	253,29 ± 0,99	1,01 ± 0,00	0,11 ± 0,00
	0,050	280,62 ± 0,80	1,12 ± 0,00	0,23 ± 0,00
	0,075	312,76 ± 0,49	1,25 ± 0,00	0,37 ± 0,00
	0,100	349,63 ± 0,55	1,39 ± 0,00	0,53 ± 0,00
E2	0,000	228,68 ± 0,53	0,91 ± 0,00	-
	0,025	251,18 ± 0,38	1,00 ± 0,00	0,10 ± 0,00
	0,050	280,46 ± 0,38	1,12 ± 0,00	0,23 ± 0,00
	0,060	292,81 ± 0,50	1,17 ± 0,00	0,28 ± 0,00
	0,070	304,51 ± 0,29	1,21 ± 0,00	0,33 ± 0,00
	0,075	316,96 ± 1,07	1,26 ± 0,00	0,39 ± 0,00
	0,080	318,43 ± 0,26	1,27 ± 0,00	0,39 ± 0,00
	0,090	331,67 ± 0,10	1,32 ± 0,00	0,45 ± 0,00
	0,100	347,03 ± 0,24	1,38 ± 0,00	0,52 ± 0,00

En la **Fig 4.17**, se muestran los valores de η_{red} y η_{inh} en función de la concentración de las soluciones de alginato de sodio en NaCl correspondientes a E1 y E2. Los datos fueron ajustados con una función lineal con el fin de obtener los parámetros de las **Ecs. (4.9)-(4.10)**. La bondad del ajuste fue evaluada con el coeficiente de determinación (R^2) (Walpole et al., 2012). Los valores de $[\eta]$, R^2 y de los parámetros k obtenidos se muestran en la **Tabla 4.4**. Los subíndices H y K indican que el parámetro fue obtenido a partir del ajuste de los datos experimentales con la **Ec. (4.9)** y la **Ec. (4.10)**, respectivamente. El ajuste a los datos de E1 fue bueno (**Fig. 4.17.a**). Sin embargo, el ajuste a los datos de E2 resultó pobre (**Fig. 4.17.b**). Respecto a esto, Pamies et al. (2008) reportaron que aún a concentraciones bajas de polímero, la ecuación de Kraemer puede desviarse de la linealidad. Además, Kulicke y Clasen (2004) observaron que dicha ecuación es estrictamente válida para un valor de $k_H = 1/3$.

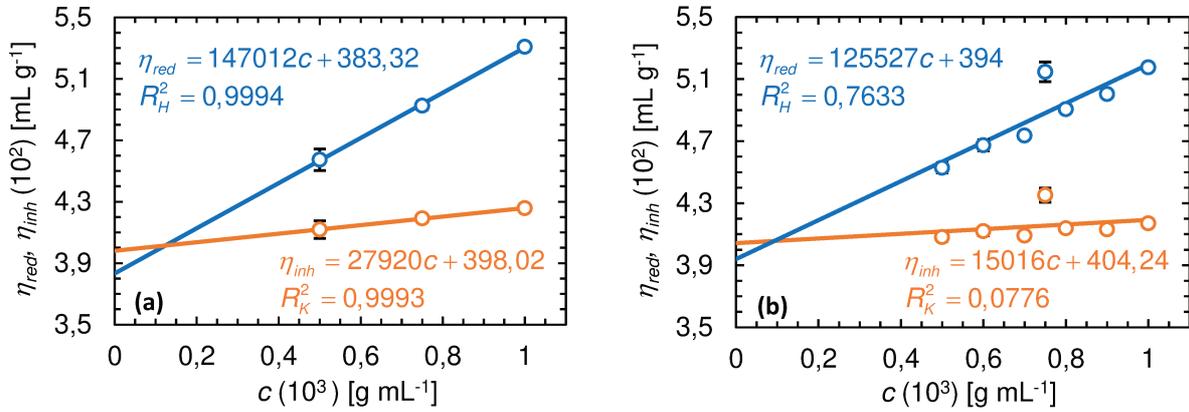


Figura 4.17. Ajuste con las **Ecs. (4.9)-(4.10)** a los datos experimentales de las experiencias (a) E1 y (b) E2. Los círculos representan a los datos experimentales, la línea es la función lineal y las barras de error son la desviación estándar. El color celeste corresponde a η_{red} y el naranja a η_{inh} .

Debido a la calidad pobre del ajuste de las **Ecs. (4.9)-(4.10)** a los datos de E2, se propuso estimar un valor de $[\eta]$ y k_H a través de la **Ec. (4.36)**. Esta es la forma más general de las ecuaciones de Huggins y de Kraemer (Elias, 1977; Ibrahim, 1965). En este caso, la bondad del ajuste fue evaluada mediante el error absoluto promedio porcentual ($EAPP$) (**Ec. 4.37**) (Montaño Moreno et al., 2013).

$$\eta_{red} = \frac{[\eta]}{1 - k_H[\eta]c} \quad (4.36)$$

$$EAPP = \frac{100}{J} \sum_{j=1}^J \left| 1 - \frac{\eta_{red,T,j}}{\eta_{red,E,j}} \right| \quad (4.37)$$

donde J es el número de datos experimentales y $\eta_{red,T,j}$ y $\eta_{red,E,j}$ son los j -ésimos valores teóricos y experimentales de viscosidad reducida $[\text{mL g}^{-1}]$, respectivamente.

Tabla 4.4. Valores de los parámetros de la **Ec. (4.9)** (k_H , $[\eta]_H$, R_H^2) y de la **Ec. (4.10)** (k_K , $[\eta]_K$, R_K^2) obtenidos del ajuste a los datos experimentales de E1 y E2.

Parámetro	Unidad	E1	E2
k_H	-	1,00	0,81
$[\eta]_H$	mL g ⁻¹	383,32	394,00
R_H^2	-	0,999	0,763
k_K	-	0,18	0,09
$[\eta]_K$	mL g ⁻¹	398,02	404,24
R_K^2	-	0,999	0,078
$k_H - k_K$	-	0,82	0,72

En la **Fig. 4.18**, se muestran los datos experimentales y las curvas teóricas obtenidas con la **Ec. (4.36)**. En la **Tabla 4.5**, se muestran los valores de los parámetros de esta ecuación obtenidos del ajuste a los datos experimentales de E1 y E2. Los valores de $EAPP$ obtenidos fueron menores a 10 %.

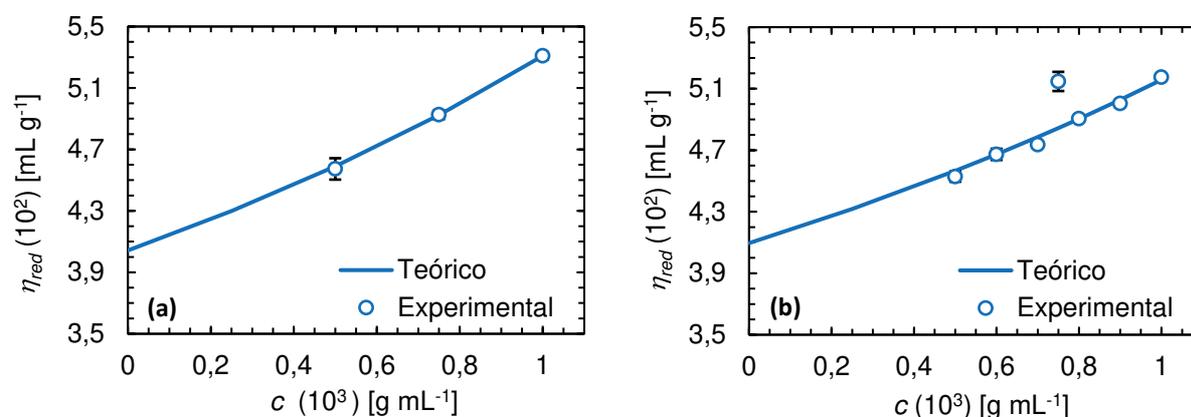


Figura 4.18. Valores de la viscosidad reducida (η_{red}) experimentales (círculos) y teóricos (línea) calculados con la **Ec. (4.36)** para las experiencias (a) E1 y (b) E2. Las barras de error corresponden a la desviación estándar.

Esto significa que el ajuste fue muy bueno y satisfactorio en ambas experiencias (Montaño Moreno et al., 2013). En cuanto a k_H , los valores obtenidos en E1 y E2 se encuentran dentro del orden de magnitud esperado para buenos solventes (Elias, 1977). Adicionalmente, varios autores reportaron valores de k_H y $[\eta]$ similares a los obtenidos para diferentes alginatos en soluciones de NaCl. Hermansson et al. (2016) hallaron valores de $0,5 \leq k_H \leq 0,55$ para alginato de sodio en soluciones de NaCl 0,005 – 0,2 M. Benabbas et al. (2020) obtuvieron valores de k_H de 0,80 y 1,11 y de $[\eta]$ de 77,692 y 40,587

mL g^{-1} para dos tipos de ácido algínico. [Fertah et al. \(2017\)](#) reportaron un valor de $[\eta] = 243,1$ mL g^{-1} para un alginato de sodio extraído de algas marrones marroquíes (*Laminaria digitata*). [da Costa et al. \(2017\)](#) reportaron valores de $[\eta] = 146$ mL g^{-1} y $k_H = 0,33$. [Sellimi et al. \(2015\)](#) reportaron $[\eta] = 283$ mL g^{-1} y $k_H = 1,16$ para un alginato de sodio obtenido de un alga marrón tunecina.

Tabla 4.5. Valores de los parámetros de la **Ec. (4.36)** obtenidos del ajuste a los datos experimentales de E1 y E2.

Parámetro	Unidad	E1	E2	Promedio
k_H	-	0,59	0,50	$0,55 \pm 0,06$
$[\eta]$	mL g^{-1}	404,27	409,60	$406,94 \pm 3,77$
$EAPP$	%	0,14	1,23	-

En base a lo anterior, debido a que el mejor ajuste a los datos experimentales se obtuvo con la **Ec. (4.36)**, el peso molecular del alginato de sodio en estudio fue estimado a partir de los parámetros obtenidos con esta ecuación y presentados en la **Tabla 4.5**. En la **Tabla 4.6**, se muestran los valores promedios de \bar{M}_w , \bar{M}_v y \bar{M}_n obtenidos con la **Ec. (4.12)** y los valores de a y k de la **Tabla 4.2**. El valor de \bar{M}_w obtenido se encuentra dentro del rango reportado por [King \(1994\)](#) para un alginato de sodio de baja viscosidad. Además, el orden de magnitud coincide con el peso molecular del alginato caracterizado por [Sperger et al. \(2011\)](#), cuya viscosidad se encuentra entre 20 – 70 cP en solución al 1% a 20 °C. Los valores de $[\eta]$ y \bar{M}_w informados por estos autores fue de 553 ± 15 mL g^{-1} y 263 kDa, respectivamente. [Martinsen et al. \(1991\)](#) caracterizaron alginato de sodio aislado de *Macrocystis pyrifera* de *Kelco Division of Merck*. Estos autores usaron NaCl 0,1 M a 25 °C como solvente y obtuvieron: $[\eta] = 548 \pm 3$ mL g^{-1} , $k_H = 0,421 \pm 0,001$, $\bar{M}_v = 198,1$ kDa, $\bar{M}_w = 205,3 \pm 5,3$ kDa y $\bar{M}_n = 93,9 \pm 12,9$ kDa.

Tabla 4.6. Valores del peso molecular medio en peso (\bar{M}_w), del peso molecular medio viscoso (\bar{M}_v) y del peso molecular medio en número (\bar{M}_n) del alginato de baja viscosidad de Kelco obtenidos por viscosimetría.

Estimador de M	Unidad	Valor
\bar{M}_w	kDa	192 ± 2
\bar{M}_v	kDa	144 ± 1
\bar{M}_n	kDa	49 ± 0

4.4.2. Determinación de las fracciones de monómeros que componen al alginato de sodio

4.4.2.1. Programa de pulsos y valores de los parámetros

La mejor resolución del espectro de AS a 25 °C se obtuvo con el programa de pulsos *ledbpgp2s1d* y los valores de los parámetros mostrados en la **Tabla 4.7 (Anexo A.17)**. El espectro obtenido se muestra en la **Fig. 4.19.(a)**. Se observan las señales características del alginato (**Sección 4.2.2.6**) y una señal en $\delta = 4,685$ ppm correspondiente al D₂O (**Vilén et al., 2011**). Por un lado, debajo de las

Tabla 4.7. Valores de los parámetros de ¹H RMN de la secuencia de pulsos *ledbpgp2s1d* empleados para determinar la composición del alginato.

Parámetros	Unidad	Valor
<i>TD</i>	-	32768
<i>NS</i>	-	256
<i>DS</i>	-	8
<i>SW</i>	ppm	26,698
<i>SWH</i>	Hz	80,129
<i>AQ</i>	s	2,045
Δ	s	0,1
<i>G</i>	%	98
δ_G	μ s	2500

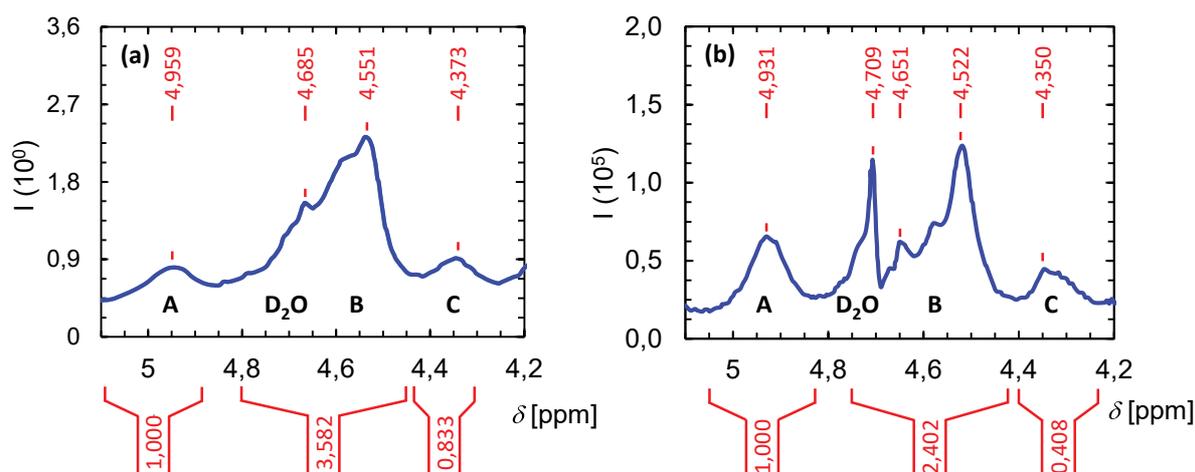


Figura 4.19. Espectros obtenidos por ¹H RMN para (a) el alginato de baja viscosidad de Sigma-Aldrich (AS) y (b) el alginato LV de Kelco (AK).

señales A y C se muestran los valores de sus intensidades integradas (I_A e I_C). Por otro lado, debajo de las señales del D₂O y B se muestra la suma de sus intensidades integradas. Esto se debe a que ambas señales se encuentran superpuestas y fue necesario hacer una de-convolución para determinar el valor de I_B . Para ello se usó el software TopSpin 4.1.3 (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Alemania). Los valores de I_B y de la intensidad integrada de la señal de D₂O obtenidos fueron de 1,819 y 1,763, respectivamente. Luego, partir de I_A , I_B e I_C y de las **Ecs. (4.29)-(4.34)** se obtuvieron los valores de las fracciones de M y de G, y de las distintas secuencias de monómeros mostradas en la **Tabla 4.8**. [Pinel \(2017\)](#) reportó un valor de F_G de 0,39 y uno de $0,417 \pm 0,04$ para el alginato de sodio de baja viscosidad de Sigma-Aldrich (ref: A1112). El primer valor corresponde al brindado por el fabricante y el segundo fue determinado experimentalmente por el autor. Por lo tanto, el valor de $F_G = 0,377$ obtenido en la presente Tesis para AS se encuentra dentro de un rango aceptable y se utilizaron las mismas condiciones para determinar las fracciones de monómeros de AK.

Tabla 4.8. Valores de los parámetros que caracterizan a la composición del alginato de baja viscosidad de Sigma-Aldrich (AS).

Parámetros	Valor
F_G	0,377
F_M	0,623
F_M/F_G	0,653
F_{GG}	0,314
F_{MG}	0,085
F_{MM}	0,538
ζ	0,362

4.4.2.2. Cálculo de las fracciones de monómeros del alginato

En la **Fig. 4.19.(b)**, se muestra el espectro obtenido para AK a 25 °C con la secuencia de pulsos *ledbpgp2s1d* y los valores de parámetros de la **Tabla 4.7**. De igual manera que en el espectro obtenido para AS, se pueden ver las señales características del alginato y la señal del D₂O ($\delta = 4,709$ ppm). Sin embargo, la última no se encuentra superpuesta con la señal B. En consecuencia, no fue necesario hacer una de-convolución. Debajo de las señales A, B y C se muestran los valores de sus intensidades integradas. Los valores de las fracciones de M y de G, y de las distintas secuencias de monómeros se muestran en la **Tabla 4.9**. Los resultados obtenidos indican que AK es rico en grupos M y que estos se distribuyen formando principalmente homopolímeros a lo largo de la cadena ($\zeta < 1$, $F_{MM} > F_{MG}$). [Martinsen et al. \(1989\)](#) caracterizaron un alginato de sodio aislado de *Macrocystis pyrifera* obtenido

de Kelco División de Merk (San Diego, USA). Estos autores, obtuvieron un peso molecular medio viscoso (M_v) de 198,1 kDa, $F_G = 0,43$, $F_M = 0,57$ y $F_M/F_G = 1,38$.

Tabla 4.9. Valores de los parámetros que caracterizan a la composición del alginato de LV de Kelco (AK).

Parámetros	Valor
F_G	0,356
F_M	0,644
F_M/F_G	1,809
F_{GG}	0,141
F_{MG}	0,215
F_{MM}	0,429
ζ	0,938

4.5. Conclusiones

Se caracterizó el alginato de sodio utilizado como matriz encapsulante en el sistema de encapsulación alimentario empleado para validar los modelos de los **Capítulos 2 y 3**. Para ello, se determinó su peso molecular medio en peso y la relación entre las fracciones de los monómeros que lo componen (grupos G y grupos M) mediante una técnica de viscosimetría y de resonancia magnética nuclear de protón (^1H RMN), respectivamente. La viscosimetría es una técnica de bajo costo y ampliamente usada para determinar pesos moleculares de biopolímeros. La ^1H RMN es el método de referencia en la determinación de la composición de alginatos. Ambas técnicas tienen la ventaja de ser fáciles de implementar. El valor del peso molecular medio en peso obtenido fue de 192 ± 2 kDa y el valor de la relación entre M y G fue de 1,809. Estos parámetros están íntimamente relacionados con las propiedades físicas de los geles de alginato y con su funcionalidad como material encapsulante.

4.6. Nomenclatura

a Constante [-]

A_2 Segundo coeficiente del virial [-]

AQ Tiempo de adquisición [s]

B_0 Campo magnético [T]

B_1 Campo magnético secundario [T]

B_e Campo magnético neto [T]

c Concentración de polímero [g mL⁻¹]

$d1$ Tiempo de retardo [s]

$d21$ Tiempo de recuperación [s]

DS Número de escaneos de prueba [-]

E Energía [J]

$EAPP$ Error absoluto promedio porcentual [%]

f Frecuencia [Hz]

F_G Fracción de grupos G en la cadena de alginato [-]

F_M Fracción de grupos M en la cadena de alginato [-]

F_{GG} Fracción de la secuencia GG en la cadena de alginato [-]

F_{GM} Fracción de la secuencia GM en la cadena de alginato [-]

F_{MG} Fracción de la secuencia MG en la cadena de alginato [-]

F_{MM} Fracción de la secuencia MM en la cadena de alginato [-]

G Fuerza del gradiente de campo pulsado [%]

g Aceleración de la gravedad [mm s⁻²]

H Altura hidrostática media del capilar [mm]

\hbar $h/(2\pi)$ [J s]

h Constante de Planck [J s]

h_{hid} Factor hidrodinámico [-]

I Número cuántico de momento angular [-]

I_A Intensidad integrada de la señal A del espectro de ¹H RMN del alginato [-]

I_B Intensidad integrada de la señal B del espectro de ¹H RMN del alginato [-]

I_C Intensidad integrada de la señal C del espectro de ^1RMN del alginato [-]

J Número de datos experimentales [-]

K Constante del capilar [$\text{mm}^2 \text{s}^{-2}$]

k Constante [g mL^{-1}]

k_B Constante de Boltzmann [J K^{-1}]

k'_H Constante [-]

k_H Constante [-]

k'_K Constante [-]

k_K Constante [-]

L Momento angular [J s]

l Longitud del capilar [mm]

M Peso molecular [kDa]

m Factor de corrección Hagenbach-Couette [-]

M_0 Magnetización macroscópica [-]

m_I Estados cuánticos de espín permitidos [-]

\bar{M}_n Peso molecular medio en número [kDa]

\bar{M}_v Peso molecular medio viscoso [kDa]

\bar{M}_w Peso molecular promedio en peso [kDa]

N Número de neutrones [-]

NS Número de escaneos [-]

P Número de pesos moleculares de las cadenas que componen al polímero [-]

$p1$ Tiempo de duración del pulso [s]

$p19$ Nivel de potencia de la presaturación [-]

Q Polidispersibilidad [-]

R Radio del capilar [mm]

R^2 Coeficiente de determinación [-]

SW Anchura espectral o anchura de barrido [ppm]

SWH Anchura espectral o anchura de barrido en [Hz]

T Temperatura [K]

t' Tiempo [s]

t Tiempo corregido con el término de corrección Hagenbach-Couette [s]

t_0 Tiempo para el solvente [s]

T_1 Tiempo de relajación longitudinal [s]

T_2 Constante de tiempo de relajación transversal [s]

t_p Tiempo de aplicación de B_1 [μ s]

TD Tamaño de datos del dominio de tiempo [-]

V Volumen de solución [mm³]

V_e Velocidad [mm s⁻¹]

$V_{e_{max}}$ Velocidad máxima [mm s⁻¹]

w Fracción másica [g g⁻¹]

w_L Frecuencia de Larmor [Hz]

Z Número atómico [-]

Símbolos griegos

γ Constante giromagnética [-]

ΔE Diferencia de energía [J]

Δ Tiempo de difusión [s]

δ Desplazamiento químico [ppm]

δ_G Longitud del gradiente aplicado [μ s]

ζ Parámetro [-]

$[\eta]$ Viscosidad intrínseca [mL g⁻¹]

η Viscosidad dinámica de la solución [cP]

η_0 Viscosidad dinámica del solvente [cP]

η_{inh} Viscosidad inherente [mL g⁻¹]

η_r Viscosidad relativa [-]

η_{red} Viscosidad reducida [mL g⁻¹]

η_{sp} Viscosidad específica [-]

λ Longitud de onda [m]

μ Momento magnético nuclear [-]

μ_z Momento magnético nuclear en la dirección z [-]

ν Viscosidad cinemática de la solución [cSt]

ρ Densidad de la solución [g mL⁻¹]

ρ_0 Densidad del solvente [g mL⁻¹]

σ Constante de apantallamiento [-]

τ Término de corrección Hagenbach-Couette [s]

φ Ángulo de rotación de M_0 [°]

Subíndices

E Valor experimental

H Parámetros de la **Ec. (4.9)**

i i -ésima cadena de polímero

j j -ésimo valor

K Parámetros de la **Ec. (4.10)**

m Muestra

r Compuesto de referencia

T Valor teórico

4.7. Bibliografía

- Benabbas, R., Sanchez-Ballester, N.M., Bataille, B., Leclercq, L., Sharkawi, T. y Soulairol, I. (2020). Structure-properties relationship in the evaluation of alginic acid functionality for tableting. *AAPS PharmSciTech*, 21(3):94. doi:10.1208/s12249-020-1633-3.
- BioSpin, B. (2014). Avance begginers guide. Tech. rep., Rheinstetten, Alemania.
- Chanda, M. (2013). *Introduction to polymer science and chemistry: A problem-solving approach*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, 2da ed.
- Clementi, F., Mancini, M. y Moresi, M. (1998). Rheology of alginate from *Azotobacter vinelandii* in aqueous dispersions. *Journal of Food Engineering*, 36(1):51–62. doi:10.1016/S0260-8774(98)00042-9.
- Cowie, J. y Arrighi, V. (2007). *Polymers: Chemistry and physics of modern materials*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Ratón, USA, 3ra ed.
- da Costa, M.P.M., Delpech, M.C., de Mello Ferreira, I.L., de Macedo Cruz, M.T., Castanharo, J.A. y Cruz, M.D. (2017). Evaluation of single-point equations to determine intrinsic viscosity of sodium alginate and chitosan with high deacetylation degree. *Polymer Testing*, 63:427–433. doi:10.1016/j.polymertesting.2017.09.003.
- Donnan, F.G. y Rose, R.C. (1950). Osmotic pressure, molecular weight, and viscosity of sodium alginate. *Canadian Journal of Research*, 28b(3):105–113. doi:10.1139/cjr50b-016.
- Elias, H.G. (1977). *Structure and properties, Macromolecules*, vol. 1. Springer Science & Business Media, New York, USA, 1era ed.
- Esturau Escofet, N. (2011). *Medidas de coeficiente de difusión por RMN. Metodología, aspectos experimentales y fundamentos*. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España.
- Fenández, G. (2014). *Determinación estructural*. Academia Minas Centro Universitario, Oviedo, España.
- Fertah, M., Belfkira, A., Dahmane, E.m., Taourirte, M. y Brouillette, F. (2017). Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*, 10:S3707–S3714. doi:10.1016/j.arabjc.2014.05.003.
- Grasdalen, H., Larsen, B. y Smidsrød, O. (1979). A p.m.r. study of the composition and sequence of uronate residues in alginates. *Carbohydrate Research*, 68(1):23–31. doi:10.1016/S0008-6215(00)84051-3.

- Guéron, M., Plateau, P. y Decorps, M. (1991). Solvent signal suppression in NMR. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 23(2):135–209. doi:10.1016/0079-6565(91)80007-O.
- Harris, R.K. (1986). *Nuclear magnetic resonance spectroscopy*. Longman Scientific & Technical, Harlow, UK, 2da ed.
- Hecht, H. y Srebnik, S. (2016). Structural characterization of sodium alginate and calcium alginate. *Biomacromolecules*, 17(6):2160–2167. doi:10.1021/acs.biomac.6b00378.
- Helmiyati y Aprilliza, M. (2017). Characterization and properties of sodium alginate from brown algae used as an ecofriendly superabsorbent. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 188:012019. doi:10.1088/1757-899X/188/1/012019.
- Hermansson, E., Schuster, E., Lindgren, L., Altskär, A. y Ström, A. (2016). Impact of solvent quality on the network strength and structure of alginate gels. *Carbohydrate Polymers*, 144:289–296. doi:10.1016/j.carbpol.2016.02.069.
- Ibrahim, F.W. (1965). Correct determination of Staudinger's index (intrinsic viscosity) and of Huggins' constant. *Journal of Polymer Science Part A: General Papers*, 3(2):469–478. doi:10.1002/pol.1965.100030206.
- Jensen, H.M., Larsen, F.H. y Engelsen, S.B. (2015). Characterization of alginates by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Vibrational Spectroscopy (IR, NIR, Raman) in combination with Chemometrics. En D.B. Stengel y S. Connan (Eds.), *Natural products from marine algae, methods in molecular biology*, vol. 1308. Springer New York, New York, USA, pp. 347–363. doi:10.1007/978-1-4939-2684-8_22.
- Kersebaum, R. (2006). DOSY and diffusion by NMR. Tech. rep., Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten, Alemania.
- King, K. (1994). Changes in the functional properties and molecular weight of sodium alginate following γ irradiation. *Food Hydrocolloids*, 8(2):83–96. doi:10.1016/S0268-005X(09)80035-0.
- Kulicke, W.M. y Clasen, C. (2004). *Viscosimetry of polymers and polyelectrolytes*. Springer Laboratory, Springer Science & Business Media, Berlin, Alemania. doi:10.1007/978-3-662-10796-6.
- Lambert, J.B. y Mazzola, E.P. (2004). *Nuclear magnetic resonance spectroscopy: An introduction to principles, applications, and experimental methods*. Pearson/Prentice Hall, New Jersey, USA.
- Laurella, S.L. (2017). *Resonancia magnética nuclear. Una herramienta para la elucidación de estructuras moleculares*. Editorial de la Universidad de La Plata, La Plata, Argentina.

- Levitt, M.H. (2008). *Spin dynamics. Basics of nuclear magnetic resonance*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 2da ed.
- Loss, S. y Kühn, T. (2005). Basic 1D and 2D experiments. Introduction to 1- and 2- dimensional NMR Spectroscopy. Tech. rep., Bruker Biospin AG, Fällanden, Suiza.
- Lu, W. y Mays, J. (2021). Dilute solution viscometry of polymers. En M.I. Malik, J. Mays y M.R. Shah (Eds.), *Molecular Characterization of Polymers*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 261–280. doi:10.1016/B978-0-12-819768-4.00008-7.
- López Serrano Ramos, F. y Mendizábal Mijares, E. (2015). *Introducción a la ciencia de los polímeros*. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.
- Macomber, R.S. (1998). *A complete introduction to modern NMR spectroscopy*. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.
- Martinsen, A., Skjåk-Braek, G. y Smidsrød, O. (1989). Alginate as immobilization material: I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. *Biotechnology and Bioengineering*, 33(1):79–89. doi:10.1002/bit.260330111.
- Martinsen, A., Skjåk-Braek, G., Smidsrød, O., Zanetti, F. y Paoletti, S. (1991). Comparison of different methods for determination of molecular weight and molecular weight distribution of alginates. *Carbohydrate Polymers*, 15(2):171–193. doi:10.1016/0144-8617(91)90031-7.
- Masuelli, M.A. y Illanes, C.O. (2014). Review of the characterization of sodium alginate by intrinsic viscosity measurements. Comparative analysis between conventional and single point methods. *International Journal of Bio Materials Science and Engineering*, 1(1):1–11.
- Meira, G. y Gugliotta, L. (2019). *Polímeros. Introducción a su caracterización y a la ingeniería de la polimerización*. Ediciones UNL, Santa Fe, Argentina.
- Montaño Moreno, J.J., Palmer Pol, A. y Sesé Abad, A. (2013). Using the R-MAPE index as a resistant measure of forecast accuracy. *Psicothema*, (25.4):500–506. doi:10.7334/psicothema2013.23.
- Oberlerchner, J., Rosenau, T. y Potthast, A. (2015). Overview of methods for the direct molar mass determination of cellulose. *Molecules*, 20(6):10313–10341. doi:10.3390/molecules200610313.
- Pamies, R., Hernández Cifre, J.G., López Martínez, M.d.C. y García de la Torre, J. (2008). Determination of intrinsic viscosities of macromolecules and nanoparticles. Comparison of single-point and dilution procedures. *Colloid and Polymer Science*, 286(11):1223–1231. doi:10.1007/s00396-008-1902-2.

- Parella, T. (2006). Pulse program catalogue: I. 1D & 2D NMR experiments. Tech. rep., Bruker BioSpin GmbH, Barcelona, España.
- Pasut, E., Toffanin, R., Voinovich, D., Pedersini, C., Murano, E. y Grassi, M. (2008). Mechanical and diffusive properties of homogeneous alginate gels in form of particles and cylinders. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 87A(3):808–818. doi:10.1002/jbm.a.31680.
- Pinel, A. (2017). *Transition liquide-solide dans des dispersions d'argiles contrôlée par un biopolymère. Application à la construction en terre*. Tesis doctoral, University of Lyon, Lyon, Francia.
- Podzimek, S. (2011). *Light scattering, size exclusion chromatography and asymmetric flow field flow fractionation: Powerful tools for the characterization of polymers, proteins and nanoparticles*. John Wiley & Sons, New Jersey, USA.
- Salomonsen, T., Jensen, H.M., Stenbæk, D. y Engelsen, S.B. (2008). Chemometric prediction of alginate monomer composition: A comparative spectroscopic study using IR, Raman, NIR and NMR. *Carbohydrate Polymers*, 72(4):730–739. doi:10.1016/j.carbpol.2007.10.022.
- Schott-Geräte (2004). Manual de instrucciones. Viscosímetro de rutina Cannon-Fenske. Tech. rep., Maguncia, Alemania.
- Sellimi, S., Younes, I., Ayed, H.B., Maalej, H., Montero, V., Rinaudo, M., Dahia, M., Mechichi, T., Hajji, M. y Nasri, M. (2015). Structural, physicochemical and antioxidant properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72:1358–1367. doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.10.016.
- Sperger, D.M., Fu, S., Block, L.H. y Munson, E.J. (2011). Analysis of composition, molecular weight, and water content variations in sodium alginate using solid-state NMR spectroscopy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 100(8):3441–3452. doi:10.1002/jps.22559.
- Trica, B., Delattre, C., Gros, F., Ursu, A.V., Dobre, Djelveh, G., Michaud, P. y Oancea, F. (2019). Extraction and characterization of alginate from an edible brown seaweed (*Cystoseira barbata*) harvested in the Romanian Black Sea. *Marine Drugs*, 17(7):405–419. doi:10.3390/md17070405.
- Vilén, E.M., Klinger, M. y Sandström, C. (2011). Application of diffusion-edited NMR spectroscopy for selective suppression of water signal in the determination of monomer composition in alginates: Application of diffusion-edited NMR spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 49(9):584–591. doi:10.1002/mrc.2789.
- Walpole, R.E., Myers, R.H., Myers, S.L. y Ye, K. (2012). *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. Pearson Educación, México, 9na ed.

- Wilke, J., Kryk, H., Hartmann, J. y Wagner, D. (2015). *Visco handbook. Theory and application of viscometry with glass capillary viscometers*. Tech. rep., SI Analytics, Maguncia, Alemania.
- Yamashita, C., Freitas Moraes, I.C., Ferreira, A.G., Zanini Branco, C.C. y Branco, I.G. (2021). Multi-response optimization of alginate bleaching technology extracted from brown seaweeds by an eco-friendly agent. *Carbohydrate Polymers*, 251:116992. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116992.
- Zheng, G. y Price, W.S. (2010). Solvent signal suppression in NMR. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 56(3):267–288. doi:10.1016/j.pnmrs.2010.01.001.
- Ziegler, P. (2010). *TopSpin 3.x. Advanced NMR methods user manual*. Tech. rep., Bruker Biospin Corporation, Billerica, USA.

CAPÍTULO 5

Determinación de parámetros.

Coefficientes relacionados con los fenómenos de transporte

CAPÍTULO 5

Determinación de parámetros. Coeficientes relacionados con los fenómenos de transporte

Resumen. En el presente capítulo, se determinaron parámetros relacionados con los fenómenos de hidratación y de depolimerización de un gel de alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas. El primer fenómeno fue caracterizado por el coeficiente de difusión efectivo de agua en el gel ($D_{w,0}$). Éste fue determinado mediante el empleo de una celda de difusión. El segundo fenómeno fue caracterizado por una constante de depolimerización (k_m), determinada a partir de la cinética de elución de calcio desde partículas de alginato de calcio hacia el medio de disolución. Se obtuvieron valores de $D_{w,0} = 2,56 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ y $k_m = 9,72 \times 10^{-9} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Estos parámetros y los parámetros determinados en el **Capítulo 4** fueron usados para complementar la validación del modelo presentado en el **Capítulo 3**.

5.1. Introducción

Los modelos matemáticos son herramientas teóricas que permiten interpretar y describir a los fenómenos físicos y a los procesos que están ocurriendo en los experimentos (Grassi et al., 2001). Debido a ello, en el **Capítulo 3** fue presentado y validado un modelo matemático para representar la liberación de un activo desde un sistema de encapsulación alimentario. Este modelo fue utilizado para describir y analizar el comportamiento de un sistema de encapsulación de astaxantina/alginato de calcio (activo/matriz encapsulate) en condiciones intestinales simuladas. La astaxantina es un compuesto pobremente soluble en soluciones acuosas y su liberación está fuertemente influenciada por las características de hidratación del gel y por el mecanismo de depolimerización del gel (Sriamornsak et al., 2007). En este sentido, resulta de importancia el estudio de ambos y la determinación experimental de parámetros asociados a ellos, tales como el coeficiente inicial de difusión de agua en la matriz encapsulante ($D_{w,0}$) y la constante de la cinética de depolimerización (k_m) definidos en la **Sección 3.2.2**.

Por un lado, desde el punto de vista macroscópico, la difusión es el resultado de los movimientos moleculares que ocurren en una mezcla de dos compuestos cuyas concentraciones relativas varían de un punto a otro (gradiente de concentración) y que tienden a disminuir cualquier desigualdad en la composición (Welty et al., 2015). El movimiento neto de las moléculas a través de una unidad de área

en una dada dirección es el flujo difusivo. Este flujo es proporcional al gradiente de concentración a través del coeficiente de difusión binario (D_{AB}) (ley de Fick). Este coeficiente caracteriza la difusión de un compuesto A en otro compuesto B (Truskey et al., 2004) y estimar su valor resulta de importancia, ya que permite la estimación del flujo difusivo de soluto (Varzakas y Tzia, 2015). Sin embargo, cuando el soluto difunde a través de sólidos porosos, resulta más conveniente la determinación de un coeficiente de difusión efectivo (D_{eff}). Esto se debe a que la transferencia del soluto ocurre a través de la solución ocluida en los poros del sólido y es influenciada por el volumen de solución ocluida, la fracción de volumen ocupada por los poros (porosidad) y la tortuosidad (factor que considera la desviación de la trayectoria real del soluto respecto a una trayectoria lineal) (Gekas, 1992; Varzakas y Tzia, 2015).

Existen numerosos métodos para estimar el valor de D_{eff} de un compuesto en matrices alimentarias o a través de membranas. En general, estos métodos se basan en dispositivos que generan un flujo del soluto de interés a través del sólido de geometría y en condiciones bien definidas. Luego, se mide la variación de masa (flujo promedio) o un perfil de concentración del soluto difundiendo. El valor de D_{eff} se obtiene a través de resolver la ecuación de Fick para las condiciones experimentales bajo las que se llevaron a cabo las mediciones y el posterior ajuste de los datos obtenidos experimentalmente (Floury et al., 2010).

Uno de estos métodos emplea una celda de difusión y fue utilizado para estimar el valor de D_{eff} para el cloruro de sodio (NaCl) en geles de agar al 3 % (Djelveh et al., 1989), para el hidróxido de sodio (NaOH) en la piel y en la pulpa de papa bajo diferentes condiciones de concentración y temperatura (Chavez et al., 1996) y para la sacarosa en frutillas (Zorrilla y Rubiolo, 1998). Dentro de las principales ventajas que presenta el uso de una celda de difusión se pueden mencionar su bajo costo, su versatilidad en el empleo de solutos y sólidos porosos, es un método no destructivo (Floury et al., 2010) y permite estimar rápidamente el valor de D_{eff} (Djelveh et al., 1989).

Por otro lado, los alginatos son polisacáridos aniónicos con un pKa de entre 3,3 – 4,4, dependiendo de la proporción de residuos del ácido manurónico (M) y del ácido gulurónico (G) que los componen (Sriamornsak et al., 2007). Estos compuestos tienen la capacidad de formar geles tridimensionales con cationes divalentes, como el calcio (Ca^{2+}). Los geles de alginato de calcio se forman a partir del entrecruzamiento iónico entre los Ca^{2+} y los grupos carboxílicos desprotonados de los residuos de M y de G que conforman a la cadena de alginato (Corstens et al., 2017). La estabilidad de estos geles es fuertemente dependiente de las condiciones de pH y de los iones presentes en el medio. En condiciones de $pH < pKa$ del alginato, los grupos carboxílicos se protonan y los iones calcio se disocian del gel. Como resultado, los protones de los grupos carboxílicos forman puentes de hidrógeno entre sí dando lugar a la formación de un gel ácido poco soluble. En condiciones en el que $pH > pKa$, los grupos carboxílicos del polímero están desprotonados, esto aumenta las interacciones repulsivas entre ellos y

resulta en el hinchamiento del gel. Además, ante la presencia de iones sodio (Na^+) en el medio, los Ca^{2+} que están formando el gel son desplazados de la red tridimensional produciendo la desintegración del gel (Corstens et al., 2017). Debido a esto, en condiciones intestinales humanas ($\text{pH} = 6 - 7,5$) los geles de alginato de calcio tienden a hincharse y hacerse más porosos, hasta desintegrarse (Hoad et al., 2009; Rayment et al., 2009). Adicionalmente, la cinética de dicho proceso de desintegración (depolymerización) puede ser estudiada a partir de la cinética de liberación de calcio al medio (Forster et al., 2010; Voo et al., 2016).

Dentro de las técnicas analíticas más empleadas para la determinación de calcio en los alimentos, se encuentran la titulación con permanganato de potasio (Siong et al., 1989), la titulación con etileno diaminatetraacetato de sodio (EDTA) (Demott, 1988; Lawani et al., 2014) y la espectroscopia de absorción atómica (EAA) (Demott, 1988; Julshamn et al., 1998; Siong et al., 1989). En todos los casos, antes de utilizar la técnica de determinación de calcio, las muestras sólidas deben ser digeridas usando una mezcla de ácido nítrico concentrado, ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno (Lawani et al., 2014). Sin embargo, los pasos posteriores en las técnicas de titulación tienden a ser más tediosos y propensos a errores debido a que involucran numerosas etapas (Siong et al., 1989). Por su parte, el método de EAA involucra un procedimiento sencillo en el que la muestra líquida o la muestra sólida digerida es pulverizada directamente en el espectrofotómetro, después de que el instrumento haya sido configurado apropiadamente (Siong et al., 1989). Además, la EAA fue utilizada para determinar la concentración de calcio en un amplio grupo de alimentos, tales como legumbres, cereales, carnes, nueces, semillas, frutas, vegetales (Siong et al., 1989), miel (Sergiel y Pohl, 2010), leche y productos lácteos (Noël et al., 2008).

El objetivo del presente capítulo fue estimar el valor de parámetros relacionados con los fenómenos de transporte asociados a la cinética de liberación de un activo encapsulado en una matriz de alginato de calcio. Por lo tanto, se estimó el coeficiente de difusión de agua en un gel de alginato de calcio utilizando una celda de difusión. Asimismo, se estimó el valor de la constante de depolymerización del gel de alginato de calcio a través de la determinación de la cinética de elución de calcio desde el gel hacia el medio de disolución.

5.2. Teoría

5.2.1. Determinación del coeficiente de difusión efectivo del agua en un gel de alginato de calcio

La molécula de agua es pequeña y puede ser transportada a través de sólidos mediante el mecanismo de difusión molecular. Esto significa que el flujo de agua ocurre debido a un gradiente de concentración y es caracterizado por un coeficiente de difusión molecular del agua (w) en la solución ocluida (B)

en los poros del sólido (D_{wB}). Sin embargo, dependiendo de la estructura física del sólido, también pueden tomar relevancia otros mecanismos de transporte (difusión superficial, difusión térmica, etc.). En este sentido, una simplificación ingenieril propone considerar que el transporte global del soluto a través del sólido ocurre por difusión molecular y el flujo efectivo del soluto es caracterizado por un coeficiente de difusión efectivo ($D_{w,eff}$) (Rao et al., 2005). Por lo tanto, resulta conveniente usar el valor de $D_{w,eff}$ para estimar el coeficiente inicial de difusión de agua en la matriz encapsulante ($D_{w,0}$) del modelo presentado en el **Capítulo 3**. Esto significa que $D_{w,0} = D_{w,eff}$ y la relación entre D_{wB} y $D_{w,0}$ está dada por (Floury et al., 2010; Gekas, 1992; Rao et al., 2005),

$$D_{w,0} = \frac{\varepsilon D_{wB}}{\tau} \quad (5.1)$$

donde ε es la porosidad [-] y τ es la tortuosidad [-]. Este último, es un factor de corrección que considera el recorrido tortuoso del soluto a través de los poros. En general, el valor de τ se encuentra entre 1,5 y 5. En este punto cabe hacer dos aclaraciones. Por un lado, el valor de $D_{w,0}$ en un medio poroso es siempre menor que el de D_{wB} debido a los efectos de la tortuosidad y a la superficie de los poros que obstaculiza el movimiento aleatorio de las moléculas (Varzakas y Tzia, 2015). Por otro lado, en el caso particular en estudio, se pretende determinar el coeficiente de difusión de agua en un gel de alginato de calcio inmerso en una solución acuosa (**Capítulo 2**), es decir que la solución ocluida en los poros del gel es una solución acuosa. Esto significa que el valor D_{wB} del agua en el gel de alginato de calcio se corresponde con su coeficiente de auto-difusión a la misma temperatura (D_w). Además, Considerando ambos puntos y la dificultad de estimar un valor de τ , la **Ec. (5.1)** se puede simplificar (Varzakas y Tzia, 2015),

$$D_{w,0} = K D_w \quad (5.2)$$

donde K es un factor menor a 1 que considera los efectos estructurales del sólido poroso en el proceso de difusión del agua.

5.2.1.1. Celda de difusión

La celda de difusión consiste de dos compartimentos (A y B) separados por una pared (**Fig. 5.1**). Esta pared cuenta con un espacio de sección circular que conecta a ambos compartimentos. Dicho espacio es ocupado por un disco del gel en estudio de espesor L , área transversal libre para la difusión S y diámetro d . En cada compartimento se coloca igual volumen de solución ($V = V_A = V_B$) de diferentes concentraciones del soluto de interés ($c_{A,0}, c_{B,0}$). Las soluciones contenidas en ambos compartimentos son mantenidas a una temperatura definida y continuamente agitadas. Considerando que $c_{A,0} > c_{B,0}$, se establece un flujo difusivo de soluto a través del gel desde el compartimento A hacia el B que se mantiene hasta que las soluciones alcancen el equilibrio. La evolución de la concentración de soluto en

la solución del compartimiento B es monitoreada a diferentes tiempos ($c_B(t) - c_{B,0}$). Esta información puede ser utilizada para estimar el coeficiente de difusión efectivo del soluto en el gel a través de la **Ec. (5.3)** (Djelveh et al., 1989). En el **Anexo A.18**, se muestra el procedimiento de obtención de esta expresión.

$$c_B(t) - c_{B,0} = \frac{SL}{V} \left[\frac{D_{eff}}{L^2} t - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp\left(-\frac{D_{eff}\pi^2 n^2 t}{L^2}\right) \right] k_p (c_{A,0} - c_{B,0}) \quad (5.3)$$

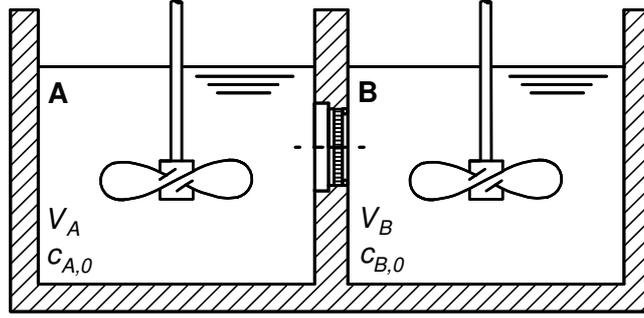


Figura 5.1. Esquema del corte transversal de una celda de difusión.

5.2.2. Determinación de la constante de depolimerización de un gel de alginato de calcio

En el **Capítulo 3**, se propuso que la cinética de depolimerización del alginato de calcio en condiciones intestinales puede ser representada por la expresión,

$$\frac{\partial M}{\partial t} = -k_m c_w M \quad (5.4)$$

donde M es el peso molecular del gel de alginato en [Da], k_m es la constante cinética de degradación de la matriz polimérica en [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$] y c_w es la concentración de agua en [mol m^{-3}]. Asimismo, asumiendo que la hidratación de la matriz es mucho más rápida que la depolimerización, c_w alcanza rápidamente el valor de la concentración de agua en el medio circundante ($c_{w,\infty}$). En base a ello, definiendo una constante $\kappa = k_m c_{w,\infty}$, la **Ec. (5.4)** puede reescribirse,

$$\frac{\partial M}{\partial t} = -\kappa M \quad (5.5)$$

Luego, considerando que la elución de calcio desde el gel hacia el medio circundante (medio de disolución) sigue una cinética de igual magnitud y de signo opuesto que la cinética de depolimerización del gel (Voo et al., 2016), la acumulación de calcio en el medio de disolución se puede expresar,

$$\frac{\partial \tilde{c}_{Ca}}{\partial t} = \kappa \tilde{c}_{Ca} \quad (5.6)$$

donde $\tilde{c}_{Ca} = c_{Ca}/c_{Ca,0}$. Aquí, c_{Ca} es la concentración de calcio en el medio de disolución [mg g_{ss}^{-1}] y $c_{Ca,0}$ es la concentración inicial de calcio en el gel [mg g_{ss}^{-1}].

Integrando y reordenando la **Ec. (5.6)**, la expresión para la cinética de elución de calcio hacia el medio circundante resulta,

$$\ln(\tilde{c}_{Ca}) = \kappa t + \ln(\tilde{c}_{Ca,0}) \quad (5.7)$$

En base a lo anterior, el valor de la constante κ puede estimarse experimentalmente colocando a un gel de alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas (solución buffer fosfato de pH 7,4, 37 °C) y cuantificando la concentración de calcio en el medio circundante a distintos tiempos. Luego, el valor de κ se obtiene de la pendiente de $\ln \tilde{c}_{Ca}$ vs. t .

5.2.2.1. Espectroscopía de absorción atómica

La concentración inicial de calcio en las partículas de alginato de calcio y la concentración de calcio en la solución del medio circundante a diferentes tiempos fueron determinadas con la técnica espectroscopia de absorción atómica (EAA). Esta técnica es ampliamente utilizada para determinar metales en una extensa variedad de muestras. Estas muestras pueden ser líquidas, sólidas o gaseosas, aunque deben ser convertidas en soluciones homogéneas antes de realizar el análisis. Es decir, las muestras sólidas deben ser digeridas, mientras que las muestras de soluciones acuosas pueden ser analizadas directamente (Settle, 1997).

Las principales ventajas de la EAA radica en que el equipamiento es relativamente sencillo y poco costoso, los límites de detección posibles suelen ser bajos y permite obtener valores de concentración del analito de interés en tiempos cortos. En contraste, esta técnica es destructiva, solo permite analizar un analito por vez, es susceptible a interferencias y los tiempos de preparación de las muestras suelen ser largos cuando éstas son sólidas (Settle, 1997).

En general, la EAA consiste en aspirar continuamente la solución de muestra dentro de una llama, o colocar un pequeño volumen de muestra dentro de un horno de grafito. De esta manera, el solvente y los componentes volátiles de la muestra son eliminados, mientras que el analito de interés es convertido en átomos libres en fase gas (estado basal). Luego, estos son irradiados con luz de una longitud de onda específica. Los átomos absorben esa luz y experimentan una transición a niveles de energía más elevados (estado excitado). La intensidad de esa transición está relacionada con la concentración

original de los átomos en el estado basal y se puede representar mediante (Settle, 1997),

$$\Theta = P/P_0 = \exp(-\gamma b) \quad (5.8)$$

$$A = -\log \Theta \quad (5.9)$$

$$A = \varepsilon_0 b c_{Ca} \quad (5.10)$$

donde Θ es la transmitancia [-], P es la potencia de la fuente de luz pasando a través de la muestra [W], P_0 es la potencia de la fuente de luz antes de pasar a través de la muestra [W], γ es el coeficiente de absorción atómica [m^{-1}], b es la longitud característica del contenedor de la muestra [m], A es la absorbancia [-] y ε_0 es la absorptividad [$\text{g}_{ss} \text{mg}^{-1} \text{m}^{-1}$]. En la práctica, en EAA se usa la absorbancia (A) y su relación con la concentración del analito de interés (c_{Ca}) dada por la ley de Beer-Lambert (**Ec. 5.10**). Es decir, los equipos de EAA miden la caída de la intensidad de la luz y la transforma en A . Luego, la concentración de átomos es determinada por la **Ec. (5.10)** (Settle, 1997).

Espectroscopía de absorción atómica de llama. El analito de interés puede ser convertido en átomos libres a través de diferentes tipos de atomizadores, entre ellos los más usados son los del tipo llama y los de horno de grafito. Por un lado, los límites de detección típicos de la espectroscopía de absorción atómica con llama se encuentran en el orden de $1 - 100 \mu\text{g L}^{-1}$. Por su parte, la espectroscopía de absorción atómica de horno de grafito ofrece límites de detección entre $20 - 200$ veces menores (Sperling, 2006). Debido a ello, y teniendo en consideración las muestras a analizar, las determinaciones de calcio en las partículas y en la solución del medio de disolución fueron realizadas con un espectrómetro de absorción atómica de llama. En la **Fig. 5.2**, se muestra un esquema de dicho equipo. En general, este cuenta con una fuente de radiación, una celda de atomización por llama, un monocromador, un sistema de introducción de la muestra y un sistema de detección y registrador (Settle, 1997).

La fuente de radiación más usada es la lámpara de cátodo hueco. A cada elemento a ser determinado le corresponde un tipo de lámpara, ya que su longitud de onda debe ser exactamente la misma que se requiere para excitar a los átomos en la llama. Brevemente, la lámpara de cátodo hueco está formado por una carcasa de vidrio relleno de un gas inerte y el cátodo hueco hecho del analito que se requiere determinar. Se aplica un voltaje entre el ánodo (positivo) y el cátodo (negativo). La descarga se almacena dentro del cátodo hueco. El cátodo comienza a emitir electrones que se aceleran hacia el ánodo y en el camino van ionizando átomos de gas inerte, que luego son atraídos hacia el cátodo. Cuando la ionización es suficientemente elevada, los iones de gas inerte altamente acelerados chocan contra el cátodo, haciendo que varios átomos de metal sean expulsados de la superficie del cátodo. Estos átomos son excitados por las colisiones con los iones de gas inerte. Luego, cuando los átomos

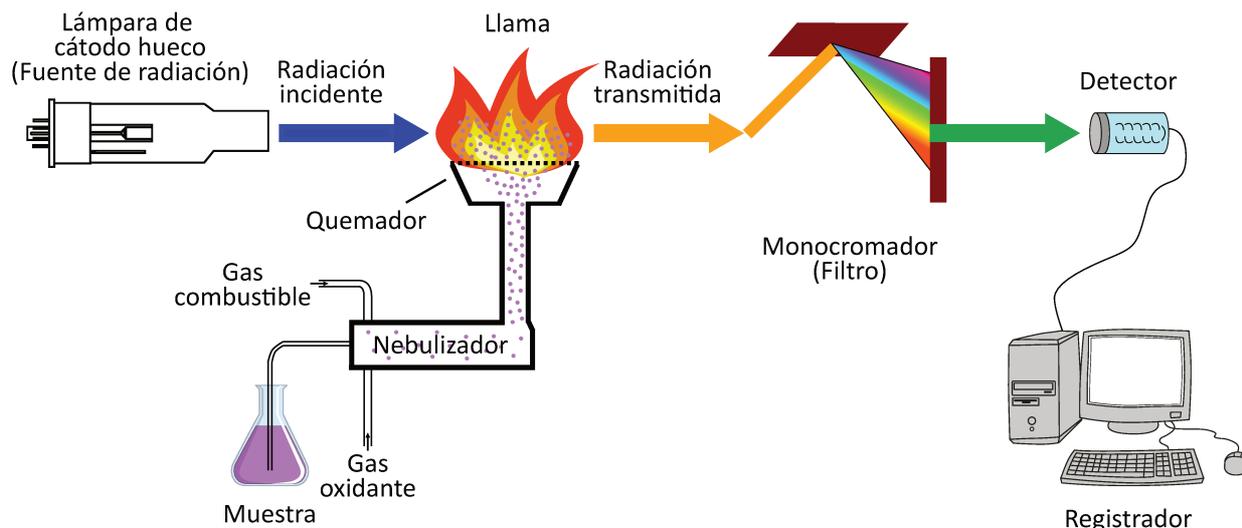


Figura 5.2. Esquema de un espectrómetro de absorción atómica de llama.

excitados liberan su energía, la radiación emitida es característica del material del que está hecho el cátodo y, por lo tanto, del analito de interés (Pomeranz y Meloan, 1994; Settle, 1997).

La función del atomizador con llama es convertir a los átomos combinados de la muestra en átomos en estado fundamental. Para ello es necesario suministrar a las muestras una cantidad de energía suficiente para disociar las moléculas, romper sus enlaces y llevar los átomos al estado fundamental (Gomis Yagües, 2008). La muestra es introducida en la llama como una fina neblina generada en el nebulizador. La llama es el medio de aporte de energía a la muestra y se genera a partir de un gas oxidante y un gas combustible. Las más usadas son las llamas de aire-acetileno y óxido nitroso-acetileno (Settle, 1997).

El monocromador es utilizado para aislar la longitud de onda de interés de otras longitudes de onda provenientes de la fuente de radiación y de la luz emitida por otros elementos en la llama (Settle, 1997).

El detector mide la intensidad de la radiación antes y después de la absorción producida por la muestra. A partir de estos valores, la radiación absorbida es calculada y posteriormente almacenada en el registrador. Los detectores más empleados son los tubos fotomultiplicadores (Gomis Yagües, 2008).

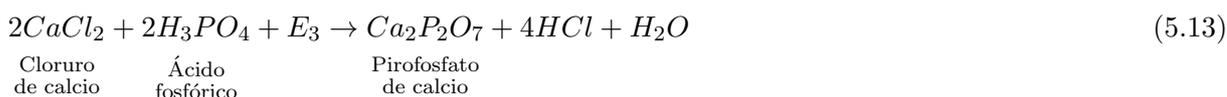
Interferencias. Una de las desventajas que presenta la EAA es la susceptibilidad a interferencias (Settle, 1997). Gomis Yagües (2008) define a las interferencias como la influencia que ejercen uno o más elementos presentes en la muestra sobre el elemento que se pretende analizar y pueden ser físicas, espectrales, químicas, por efecto de matriz, entre otras. Para evitar al máximo estas interferencias, es necesario optimizar la técnica eligiendo las condiciones más adecuadas para cada elemento

(Gomis Yagües, 2008).

En el caso particular del calcio, este metal puede ser determinado por absorción atómica con llama de óxido nitroso-acetileno prácticamente libre de interferencias. A excepción de una interferencia de ionización a 422,7 nm y una concentración característica de 0,09 mg L⁻¹. Esta interferencia puede eliminarse fácilmente por agregado de álcali (Welz, 1985). Con llama de aire-acetileno, aparecen interferencias en presencia de fosfato, sulfato, aluminio y silicón. Estas son interferencias químicas producidas debido a la formación de compuestos térmicamente estables que pueden eliminarse aumentando la temperatura de la llama (llama óxido nitroso-acetileno) o por el agregado de un agente de liberación (AL) (Perkin-Elmer, 1996). En la literatura, se reportaron varios AL, entre ellos el lantano (La), EDTA, estrancio (Sr), entre otros (Welz, 1985; Perkin-Elmer, 1996).

En el caso en estudio, debido a que el medio de disolución en el que se pretende determinar la concentración de calcio es una solución buffer fosfatos y a que se dispone de un equipo de EAA de llama aire-acetileno, particularmente interesan estrategias para eliminar la interferencia producida por grupos fosfatos sobre la determinación de calcio. Respecto a esto, en la literatura se recomienda el agregado de diferentes AL. Yofé y Finkelstein (1958) estudiaron la influencia del agregado de cloruro de lantano (LaCl₃) y Fe³⁺ sobre la determinación de calcio por espectrometría de llama aire-acetileno en presencia de iones fosfatos. Por un lado, observaron que la presencia de fosfato en el medio disminuye la intensidad de emisión de la muestra y esa disminución depende la concentración de calcio presente en la muestra. Además, reportaron que el agregado de una cantidad determinada de LaCl₃ y Fe³⁺ restaura la intensidad de la muestra a su valor original (soluciones sin fosfatos) (Tabla 5.1).

Por otro lado, Yofé y Finkelstein (1958) plantearon las reacciones químicas que podrían estar sucediendo en la llama en ausencia y en presencia del AL (Ecs. 5.11-5.15).



donde E_1 , E_2 , E_3 y E_4 son calores de reacción.

Las reacciones de las Ecs. (5.11)-(5.12) ocurren en ausencia de la interferencia de los aniones. Estas reacciones compiten con las reacciones de las Ecs. (5.13)-(5.14) en presencia de fosfatos.

La emisión residual del calcio en presencia de exceso de fosfato dependería de la temperatura de la llama, que determina el grado de disociación del $Ca_2P_2O_7$ (**Ec. 5.14**) y de la cantidad de CaO y Ca formados. Adicionalmente, [Yofé y Finkelstein \(1958\)](#) sugirieron que cuando se agrega lantano a la solución, podría ocurrir la siguiente reacción,



El $LaPO_4$ es más termoestable que el de calcio ($E_5 > E_3$). Además, en presencia de suficiente cantidad de lantano, la reacción de la **Ec. (5.13)** sería completamente reemplazada por la reacción de la **Ec. (5.15)** y todo el $CaCl_2$ en solución quedaría disponible para descomponerse en CaO o Ca (**Ecs. 5.11-5.12**). Una reacción similar a la **Ec. (5.15)** se produciría en presencia de iones Fe^{3+} .

Tabla 5.1. Concentraciones de agentes de liberación recomendadas para eliminar la interferencia de fosfatos en la determinación de calcio por espectrometría de absorción atómica con llama de aire-acetileno ([Yofé y Finkelstein, 1958](#)).

AL	Longitud de onda	Relación AL/Fosfato
LaCl ₃	622 – 554	3,5:1 a 4:1
	422,7	5:1
Fe ³⁺	554	16:1

En la literatura, se encontraron pocos trabajos de determinación de calcio en soluciones buffer fosfato por EAA de llama aire-acetileno. [Kikuchi et al. \(1999\)](#) y [Voo et al. \(2016\)](#) usaron un espectrómetro de absorción atómica con llama de óxido nitroso-acetileno (422,7 nm). [Gao y Jin \(2018\)](#) usaron un espectrómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente. En ninguno de ellos se reportaron tratamientos a las muestras previos a la determinación de calcio. Sin embargo, existen numerosos trabajos de determinación de calcio en leche y otras matrices alimentarias que utilizan el agregado de lantano como método para eliminar la interferencia producida por la presencia de grupos fosfato en solución ([López et al., 2017](#); [Miranda et al., 2016](#); [Murthy y Rhea, 1967](#)).

Curva de calibración. La curva de calibración en EAA representa la funcionalidad cuantitativa y matemática entre la absorbancia y la concentración del analito en estudio. En general, esta curva se obtiene determinando la absorbancia de una serie de soluciones estándares de distintas concentraciones del analito en estudio. Además, se prefieren curvas de calibración con una funcionalidad lineal. Para ello, se recomienda usar un mínimo de 5 soluciones de estándares con un contenido del analito

equidistante y lo más alejados entre sí como sea posible (Welz, 1985). La calidad del ajuste se suele medir a través del coeficiente de correlación al cuadrado (R^2). En general, un ajuste con un valor de $R^2 > 0,995$ es considerado bueno para la mayoría de los fines (Harris, 2016).

Precisión y veracidad del método. El objetivo principal de un método analítico es determinar el contenido de un analito en una muestra con una buena precisión y veracidad, es decir, con una exactitud alta. La precisión es la cercanía de los resultados obtenidos a partir de determinaciones independientes y en las mismas condiciones. La veracidad es un indicador de la cercanía entre el valor obtenido y el valor esperado. Ambos dependen fuertemente de la curva de calibración. Por un lado, la precisión es influenciada por el número de soluciones estándares empleadas, la distribución de las concentraciones de los estándares sobre el rango de trabajo y la amplitud del rango de trabajo. Por otro lado, si las soluciones empleadas para calibrar fueron preparadas y tratadas de igual manera que la muestra a testear, los resultados obtenidos pueden ser considerados correctos y el contenido determinado de analito correspondería al verdadero valor. Sin embargo, generalmente la composición de las soluciones estándares difieren de la composición de la muestra. Por lo tanto, deben implementarse estrategias que permitan detectar posibles interferencias y/o errores de medida que afecten a la veracidad de las determinaciones (Welz, 1985). Una técnica ampliamente utilizada, es la adición de un estándar del analito que se desea determinar en la muestra. Esta técnica, consiste en tomar dos alícuotas de muestra, a una de ellas se le añade una cantidad conocida del analito, y ambas se analizan en paralelo. Luego, se calcula el porcentaje de recuperación (Welz, 1985; Zumbado Fernández, 2000),

$$Recuperacion = \left(\frac{c_{Ca, mad} - c_{Ca, m}}{c_{Ca, ad}} \right) \times 100 \% \quad (5.16)$$

donde $c_{Ca, mad}$, $c_{Ca, m}$ y $c_{Ca, ad}$ son la concentración de analito en la muestra adicionada, la concentración del analito en la muestra sin adicionar y la concentración de analito adicionada, respectivamente. Si el porcentaje de recuperación se desvía considerablemente de 100, es probable que haya interferencias no-espectrales presentes (Welz, 1985). En general, los criterios para descartar la presencia de interferencias y errores de medida dependen del nivel del analito. Sin embargo, una especificación válida es considerar un porcentaje de recuperación de $100 \pm 2\%$ (Harris, 2016).

5.3. Materiales y métodos

Para las experiencias, se usó alginato de sodio de baja viscosidad (Kelko, Atlanta, USA), cloruro de calcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Anedra, Buenos Aires, Argentina), urea (Biopack, Buenos Aires, Argentina), agua ultrapura, kit de uremia (Wiener lab., Santa Fe, Argentina), aceite (AGD, Córdoba, Argentina), polisorbato 80, NaH_2PO_4 , Na_2PO_4 (Cicarelli Reagents S.A., Santa Fe, Argentina).

5.3.1. Determinación del coeficiente de difusión efectivo de agua en un gel de alginato de calcio

La determinación del coeficiente de difusión efectivo de agua a través de un gel de alginato de calcio ($D_{w,0}$) utilizando una celda de difusión supone una dificultad, ya que usualmente el agua es empleado como solvente y no como soluto. Sin embargo, se propusieron dos alternativas. En primer lugar se consideró emplear una solución de agua disuelto en un solvente seguro y que no provoque daños en el equipamiento utilizado. Luego, el valor de $D_{w,0}$ puede ser estimado utilizando una celda de difusión mediante la **Ec. (5.3)**. En segundo lugar, se propuso utilizar soluciones acuosas de un compuesto trazador de coeficiente de difusión en agua (D_{Tw}) conocido para estimar el valor del factor K que caracteriza los efectos estructurales del gel de alginato de calcio en el proceso de difusión y utilizar la **Ec. (5.2)** para estimar el valor de $D_{w,0}$. Para ello, se consideró que la **Ec. (5.2)** también es válida para el compuesto trazador, es decir que se cumple la siguiente relación,

$$K = \frac{D_{T,eff}}{D_{Tw}} \quad (5.17)$$

donde $D_{T,eff}$ es el coeficiente de difusión efectivo del compuesto trazador en un gel de alginato de calcio [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]. El valor de $D_{T,eff}$ se puede estimar empleando soluciones acuosas del compuesto trazador en una celda de difusión.

Ante las alternativas propuestas, se seleccionó la segunda opción por considerarse más segura y fácil de llevar a cabo.

5.3.1.1. Formación de los discos de gel de alginato de calcio

Los geles de alginato de calcio fueron preparados a partir de una solución de alginato de sodio al 2% (m:m) y una solución de CaCl_2 de 250 mM. Por un lado, la solución de alginato se preparó disolviendo 2 g de alginato de sodio en 100 g de agua ultrapura a 40 °C con agitación vigorosa. Luego de la disolución completa, la solución de alginato se almacenó en heladera durante toda la noche. Por otro lado, la solución de CaCl_2 se preparó con agua ultrapura a temperatura ambiente.

Los discos de alginato de calcio fueron obtenidos en un molde de 0,05 m de diámetro interno y 0,007 m de profundidad. En principio, sobre la base del molde se colocó tela absorbente y papel de filtro, de manera que quedara perfectamente cubierta. Luego, con una pipeta de Pasteur se puso solución de CaCl_2 hasta que la tela y el papel quedaran completamente embebidos. El exceso de solución fue retirado con papel absorbente. A continuación, se colocaron entre 5 – 7,5 mL de solución de alginato de sodio sobre el papel embebido y se dejó reposar durante 15 min. Luego, el molde fue sumergido durante 1 h en 60 mL de la solución de CaCl_2 contenido en un cristizador de 0,086 m de diámetro interno y 0,044 m de altura promedio. Por último, el molde conteniendo el alginato de calcio fue retirado de

la solución de CaCl_2 , el gel fue enjuagado con agua ultrapura y se cortó para que su diámetro final fuera de 0,032 m. El sistema usado para la obtención de los discos se muestra en la **Fig. 5.3**.

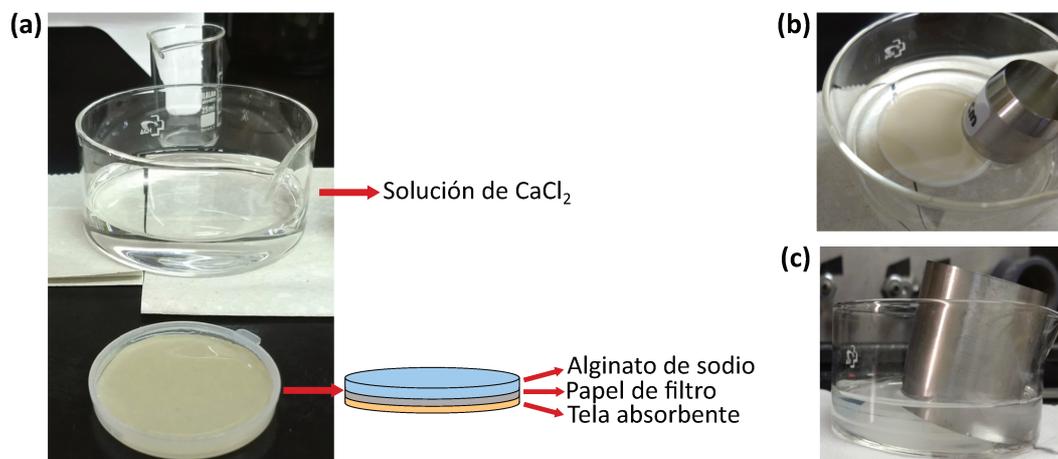


Figura 5.3. Sistema empleado para obtener los discos de alginato de calcio. (a) Cristalizador con solución de CaCl_2 y molde con tela absorbente y papel de filtro embebidos en CaCl_2 y alginato de sodio. Vista (b) superior y (c) transversal del molde sumergido en la solución de CaCl_2 .

5.3.1.2. Selección del compuesto trazador

Se seleccionó a la urea como compuesto trazador (H_4CON_2). La elección se basó en que este compuesto presenta baja toxicidad, alta solubilidad en agua (1510 g L^{-1} a 37°C), interacción despreciable con el alginato de calcio en las condiciones y tiempos experimentales y es ambientalmente seguro (House y House, 2017; Lee y Lahti, 1972; Mak y Trevan, 1988). Además, la urea presenta un momento dipolar en el mismo orden de magnitud que el agua. Esto es, el momento dipolar de una molécula de urea en agua es de 4,20 D (House y House, 2017) y el de una molécula de agua solvatada es de $2,9 \pm 0,6 \text{ D}$ (Kemp y Gordon, 2008). En la **Fig. 5.4**, se muestra una representación de una molécula de agua y de una molécula de urea.

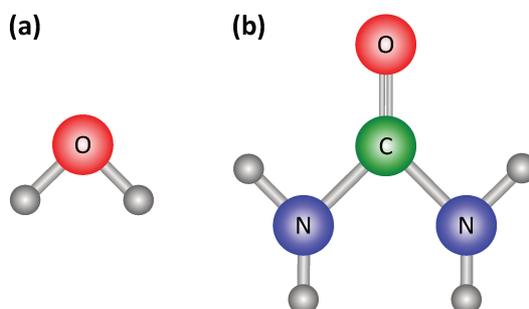


Figura 5.4. Representación de (a) una molécula de agua y de (b) una molécula de urea.

5.3.1.3. Condiciones experimentales

Las experiencias de difusión de urea a través del gel de alginato de calcio se realizaron a 37 °C y el pH de la solución de urea fue de 7. La temperatura fue seleccionada en base a las condiciones en que fueron llevadas a cabo las experiencias de liberación del sistema de encapsulación descrito en el **Capítulo 2**. Se observó que a pH 7, el alginato de calcio mantiene su estructura y no experimenta hinchamiento (**Anexo A.19**).

En cada compartimiento de la celda de difusión se colocó un volumen de $3,5 \times 10^{-4} \text{ m}^3$ (0,350 L) de soluciones acuosas de distintas concentraciones de urea. La concentración de la solución del compartimiento A fue de $c_{A,0} = 100 \text{ g L}^{-1}$. En el compartimiento B se puso agua ultrapura ($c_{B,0} = 0 \text{ g L}^{-1}$).

5.3.1.4. Armado de la celda de difusión

Se empleó la celda de difusión descrita por [Zorrilla y Rubiolo \(1994\)](#). La misma cuenta con dos compartimientos de $0,005 \text{ m}^2$ de sección y 0,10 m de altura. Las paredes externas tienen 0,005 m de espesor y la pared interna 0,01 m. El diámetro del orificio de la pared central es de 0,025 m (**Fig. 5.5.a**).

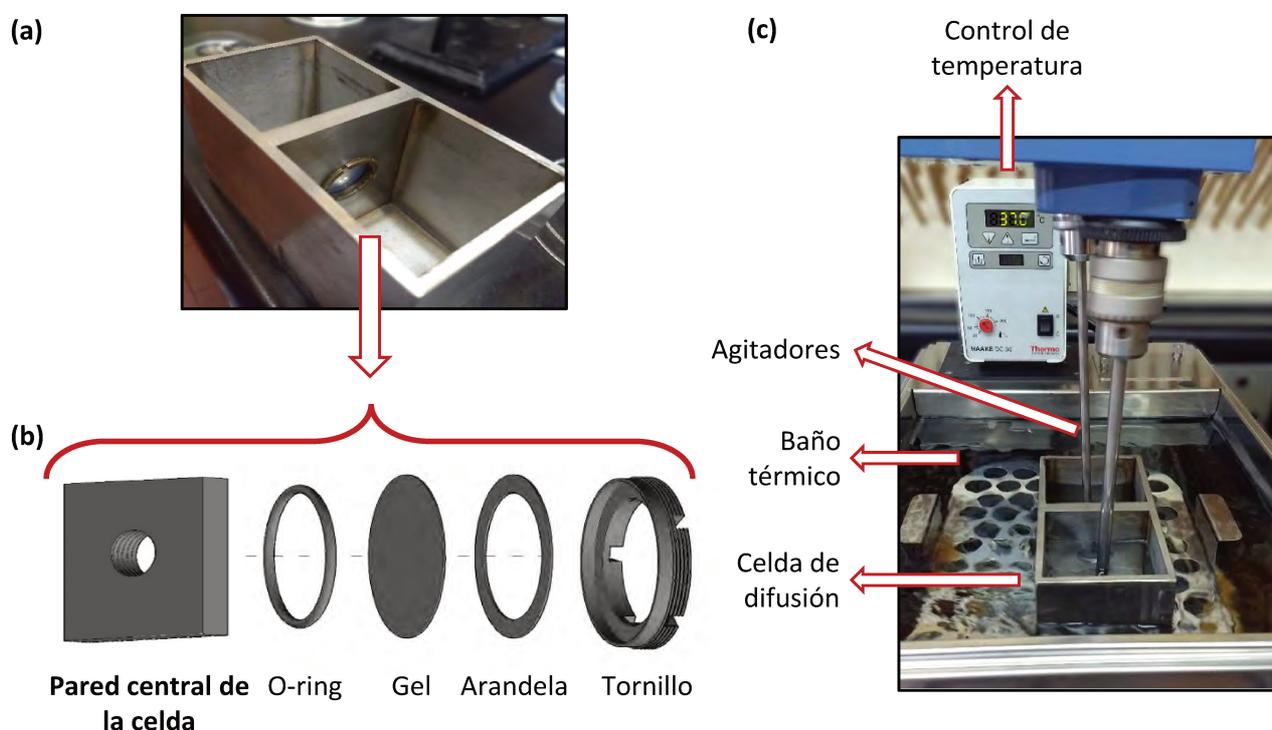


Figura 5.5. (a) Celda de difusión. (b) Sistema de ajuste del gel en el orificio de la pared central de la celda. (c) Sistema utilizado en las experiencias de difusión.

El gel de alginato de calcio fue colocado en el orificio de la pared central y asegurado mediante un sistema de ajuste que garantiza que solo haya difusión de un compartimiento a otro a través del gel. El sistema de ajuste consistió en un o-ring, una arandela y un tornillo de 0,025 m de diámetro interno. Cada elemento fue dispuesto en el orificio de la pared central de la forma en que se muestra en la **Fig. 5.5.(b)**.

Antes de iniciar la experiencia de difusión, tanto las soluciones como la celda de difusión fueron atemperadas a 37 °C en un baño de agua Thermo Haake w26 (Thermo Haake, Karlsruhe, Alemania). Luego, se colocó el gel en el orificio de la pared central de la celda de difusión y se puso un agitador IKA Labortechnik RW 20.n (IKA, Staufen, Alemania) en cada compartimiento de la celda. A continuación, se volcó la solución de urea en el compartimiento A y el agua en el compartimiento B y se encendieron los agitadores (170 – 200 rpm) (**Fig. 5.5.c**). Se tomaron muestras de 250 μL de la solución del compartimiento B a diferentes tiempos. Se determinaron el espesor inicial (L_0) y el espesor final (L_f) del gel con un micrómetro digital de platillos Schwyz (Schwyz, China).

5.3.1.5. Determinación de la concentración urea en el compartimiento B

La concentración de urea en la solución del compartimiento B fue determinada mediante un kit de uremia de Wiener lab. Este kit cuenta con una solución de ureasa, un reactivo A compuesto por fenol ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$) y nitroferrocianuro de sodio ($\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}$) y un reactivo B que consta de hipoclorito de sodio (NaClO) e hidróxido de sodio (NaOH). Las etapas del procedimiento experimental de determinación se muestran en la **Fig. 5.6**.

La técnica experimental propuesta por [Wiener lab. Group \(2021\)](#) es un método indirecto de determinación de urea que consta de dos etapas. La primera etapa consiste en la ruptura de los enlaces amino de la molécula de urea mediante el empleo de la enzima ureasa (**Fig. 5.7.a**). Los productos de esta reacción son ácido carbónico y amoníaco. La segunda etapa consiste en cuantificar el amoníaco liberado en la primera etapa (**Fig. 5.7.b**) ([Valdés Díez et al., 1997](#)). Para ello, se hace reaccionar al NH_3 con HClO y $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$ en medio alcalino (NaOH). Además, se incorpora $\text{Na}_2\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}$ para aumentar la sensibilidad y la velocidad de reacción. El producto de esta reacción es un cromóforo azul intenso (indofenol) que puede ser detectado por técnicas colorimétricas ([Patton y Crouch, 1977](#)).

Para cada tiempo de muestreo, la determinación de urea en la solución del compartimiento B se realizó por duplicado. Para la lectura de la concentración indofenol se usó un espectrofotómetro Cary 60 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) a una longitud de onda de 540 nm ([Wiener lab. Group, 2021](#)).

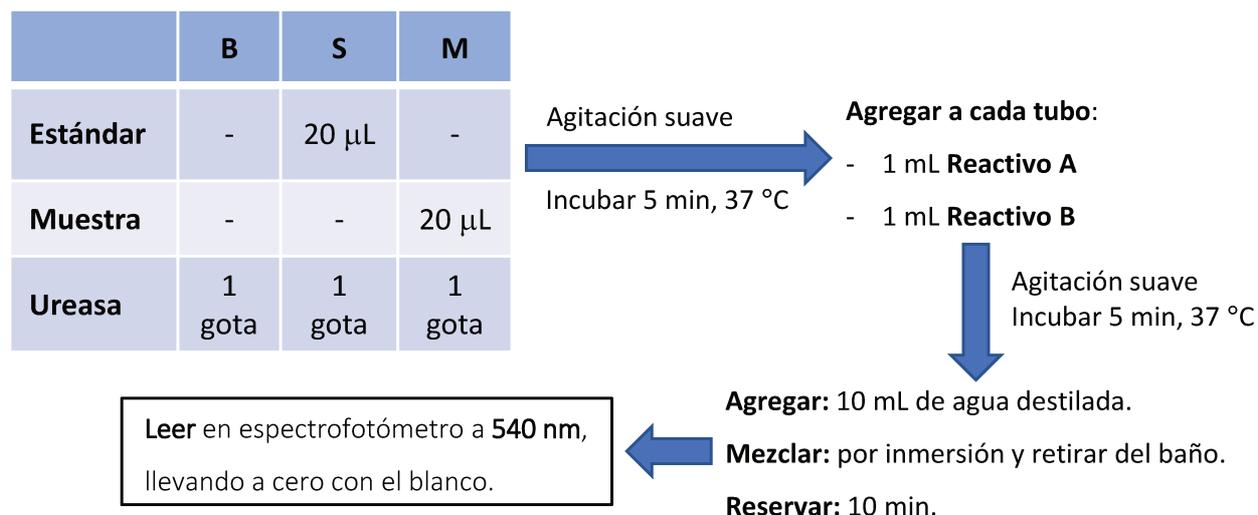


Figura 5.6. Procedimiento para la determinación de urea (Wiener lab. Group, 2021). En el cuadro, B, S y M corresponden a tubos conteniendo al blanco, al estándar y a la muestra en estudio, respectivamente.

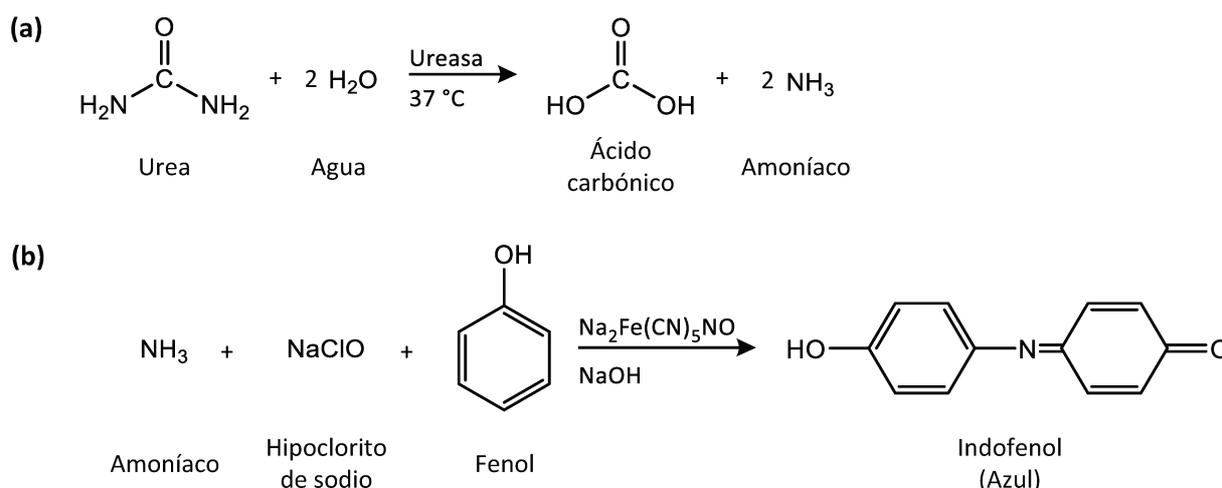


Figura 5.7. (a) Primera y (b) segunda etapa correspondientes a la reacción de la técnica de determinación de urea (Wiener lab. Group, 2021).

5.3.1.6. Ajuste de los datos experimentales

La **Ec. (5.3)** fue ajustada a los datos experimentales de c_B en función del tiempo. Para ellos se usó la función *nonlin_curvefit* del paquete *optim* del software GNU/Octave 5.2.0. Se utilizó un valor inicial de $D_{eff} = 1 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, que se encuentra dentro del orden de magnitud reportado en bibliografía para el coeficiente de difusión de urea en agua (Cussler, 2009; Geankoplis, 1999). El coeficiente de partición k_p fue asumido igual a 1. Esto se debe a que la interacción entre la urea y las cadenas del

gel de alginato de calcio es considerada despreciable durante el tiempo experimental (Djelveh et al., 1989; Merrill et al., 1993).

El código de implementación de la **Ec. (5.3)** se muestra en el **Anexo A.20**. Las simulaciones se llevaron a cabo en una computadora Intel Core i5 4670 de 1600 MHz con 8 GB de RAM. Cada simulación tardó aproximadamente 0,2 s en converger. La bondad del ajuste fue evaluada mediante el error absoluto promedio porcentual (*EAPP*) definido,

$$EAPP = \frac{100}{J} \sum_{j=1}^{\infty} \left| 1 - \frac{c_{B,T,j}}{c_{B,E,j}} \right| \quad (5.18)$$

donde J es el número de datos experimentales, y $c_{B,T,j}$ y $c_{B,E,j}$ son los j -ésimos valores teóricos y experimentales, respectivamente. Como se mencionó en la **Sección 2.3.3**, valores del $EAPP < 10\%$ sugieren que el ajuste es altamente preciso, valores entre $10 - 20\%$ son considerados buenos, valores entre $20 - 50\%$ son considerados aceptables y valores del $EAPP > 50\%$ son considerados ajustes imprecisos (Montaño Moreno et al., 2013).

5.3.2. Determinación del coeficiente de disolución de un gel de alginato de calcio

La determinación del coeficiente de depolimerización del alginato de calcio k_m fue realizada usando las partículas y en las condiciones intestinales simuladas descritas en el **Capítulo 2**. En principio se determinó la cinética de elución de Ca^{2+} desde las partículas y se obtuvo el valor de κ (**Ec. 5.7**). Luego, a partir de esta constante, se estimó el valor de k_m .

5.3.2.1. Obtención de las partículas de alginato de calcio

Las partículas usadas para la obtención de κ , fueron producidas con la metodología descrita en la **Sección 2.3.2**. La formulación de las mismas fue la mostrada en la **Tabla 2.3**. Sin embargo, para las experiencias de depolimerización, por simplicidad se encapsuló aceite de soja en lugar de astaxantina como oleorresina de aceite de soja.

5.3.2.2. Caracterización de las partículas de alginato

Antes de realizar los ensayos de depolimerización, se determinaron el radio (R) y la humedad (H) de las partículas. Por un lado, el radio inicial de la partícula fue determinado a partir del análisis de imagen de al menos 50 partículas por experiencia (Niizawa et al., 2019). Por otro lado, la humedad inicial de las partículas fue determinada por un método gravimétrico. Para ello, se pesaron alrededor de 0,6 g de partículas y se colocaron en una estufa ADP 310C (Yamato, Santa Clara, USA) a 80°C . A las 3 h, las partículas fueron retiradas del horno, enfriadas en un desecador, pesadas y puestas

nuevamente en estufa. Luego, este procedimiento fue repetido cada 1 h hasta peso constante (Kim y Lee, 1992; Lopes et al., 2017). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

5.3.2.3. Ensayos de depolimerización

Los ensayos de depolimerización de las partículas de alginato de calcio fueron realizadas en condiciones intestinales simuladas (solución buffer fosfato de 0,05 M, pH 7,4, 37 °C y 100 rpm) y siguiendo la metodología de liberación *in vitro* de astaxantina descritas en la **Sección 2.3.2.3**.

Las partículas fueron mantenidas en las condiciones intestinales simuladas durante distintos intervalos de tiempo (300, 600, 900, 1500, 2100, 3000, 4800, 7200 s). Las experiencias fueron llevadas a cabo en 2 corridas independientes (Ek1 y Ek2). Luego de transcurrido el tiempo especificado, cada muestra fue centrifugada a 5000 rpm durante 10 min en una centrífuga Capp CRC-658 (Capp, Odense, Dinamarca). La fase acuosa fue recolectada y filtrada en embudo con papel de filtro Whatman de 75 g m⁻² y tamaño típico de poro de entre 12-25 μm (Cytiva, Kent, Reino Unido). Esta fase, formada por el medio de disolución, fue analizada con el fin de determinar el calcio liberado desde las partículas al tiempo correspondiente.

5.3.2.4. Determinación de calcio por absorción atómica

Las determinaciones de concentración de calcio en las partículas y en el medio de disolución fueron realizadas en un equipo de absorción atómica de llama Perkin Elmer AAnalyst 200 (Perkin Elmer, Massachusetts, USA). Se usó una llama de aire-acetileno con una relación de caudales de 10:2 L min⁻¹. La lectura se realizó a una longitud de onda de 422,67 nm.

Preparación de las muestras. Por un lado, las partículas de alginato de calcio fueron digeridas en un horno microondas Milestone Ethos One (Milestone, Bérghamo, Italia). Para ello, se pesaron 0,20 g de partículas y se adicionaron 5 mL de HNO₃ concentrado bidestilado, 5 mL de H₂O ultrapura y 1 mL de H₂O₂ 30%. Luego, la muestra se sometió a una rampa de calentamiento de 10 min hasta 180 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 10 min. Posteriormente, la muestra digerida se dejó enfriar y se disolvió en 50 mL de H₂O ultrapura.

Por otro lado, las muestras del medio de disolución fueron diluidas en una proporción de 1:50 con agua destilada en un medio de óxido de lantano 0,1% (m:v).

Curva de calibración. La curva de calibración se realizó con estándares Certipure (Merk Centipure, Darmstadt, Alemania) de 0, 0,25, 0,50, 1,00, 2,00 y 3,00 mg L⁻¹.

Porcentaje de recuperación. El porcentaje de recuperación de calcio en las muestras del medio de disolución fue determinado según la metodología descrita en la **Sección 5.2.2.1**. Para el caso de las partículas de alginato de calcio, la solución de concentración conocida de calcio fue añadida antes de la digestión de las mismas.

5.3.3. Tratamiento estadístico de los duplicados

Debido a que la determinación de c_B y de c_{Ca} para cada tiempo de muestreo t_i se hizo por duplicado, se realizó un tratamiento estadístico de los datos para detectar posibles datos atípicos y/o datos influyentes. Para ello, se consideró que los valores que son duplicados de una determinación tienen una dependencia lineal entre sí, con pendiente igual a uno y ordenada al origen igual a cero (Reeuwijk, 1998). Es decir, que siguen el siguiente modelo poblacional,

$$\Gamma_{1,i} = \beta_{\Gamma 1}\Gamma_{2,i} + \beta_{\Gamma 0} + \varepsilon_{\Gamma i} \quad 1 \leq i \leq m_{\Gamma} \quad (5.19)$$

donde Γ puede tomar valores de c_B [g L^{-1}] y c_{Ca} [mg g_{ss}^{-1}] y $\Gamma_{1,i}$ y $\Gamma_{2,i}$ corresponden al duplicado 1 y al duplicado 2 de la variable Γ correspondiente al tiempo t_i [s], respectivamente, m_{Γ} es el número de observaciones que componen a la población correspondiente a Γ [-], $\beta_{\Gamma 1} = 1$ y $\beta_{\Gamma 0} = 0$ son la pendiente y la ordenada al origen correspondientes a la tendencia de los duplicados de la variable Γ , respectivamente, y $\varepsilon_{\Gamma i}$ es el error aleatorio asociado a Γ correspondiente al tiempo t_i . El término $\varepsilon_{\Gamma i}$ da cuenta de que la relación entre $\Gamma_{1,i}$ y $\Gamma_{2,i}$ no es exactamente lineal, sino que está expuesta a variaciones individuales (Szretter Noste, 2017).

En base a lo anterior, se utilizó un modelo de regresión lineal para ajustar a los datos experimentales bajo los supuestos de que los $\varepsilon_{\Gamma i}$ son independientes entre sí, tienen una distribución normal con esperanza en cero y varianza constante, desconocida e igual a σ_{Γ}^2 (supuesto de varianza homogénea u homocedasticidad). Entonces, los tres parámetros del modelo lineal a ser estimados son $\beta_{\Gamma 1}$, $\beta_{\Gamma 0}$ y σ_{Γ}^2 (Szretter Noste, 2017).

Adicionalmente, se definió al coeficiente de determinación R_{Γ}^2 como una medida de la proporción de la variabilidad explicada por el modelo ajustado. Una expresión para este coeficiente es (Walpole et al., 2012),

$$R_{\Gamma}^2 = 1 - \frac{SCE_{\Gamma}}{STCC_{\Gamma}} \quad (5.20)$$

donde SCE_{Γ} es la suma de los cuadrados del error y $STCC_{\Gamma}$ es la suma total de los cuadrados

corregida correspondientes a Γ . Estos, están dados por,

$$SCE_{\Gamma} = \sum_{i=1}^{M_{\Gamma}} \left(\Gamma_{1,i} - \tilde{\Gamma}_{1,i} \right)^2 \quad (5.21)$$

$$STCC_{\Gamma} = \sum_{i=1}^{M_{\Gamma}} \left(\Gamma_{1,i} - \bar{\Gamma}_1 \right)^2 \quad (5.22)$$

Aquí, M_{Γ} es el número de observaciones que componen la muestra ($M_{\Gamma} < m_{\Gamma}$), $\tilde{\Gamma}_{1,i}$ es el valor ajustado de $\Gamma_{1,i}$ y $\bar{\Gamma}_1 = \sum_{i=1}^{M_{\Gamma}} \Gamma_{1,i} / M_{\Gamma}$. Si el ajuste es perfecto, todos los residuos son cero, y así $R^2 = 1$. Pero si la SCE es solo un poco menor que la $STCC$, $R^2 \approx 0$.

En el **Anexo A.21**, se muestran las expresiones de los estimadores de los parámetros del modelo y las definiciones de otras variables de interés para el análisis estadístico de los duplicados.

El análisis estadístico fue realizado con RStudio 2021.09.2 (RStudio, PBC, Boston, USA).

5.4. Resultados y discusión

5.4.1. Determinación del coeficiente de difusión de agua en un gel de alginato de calcio

Se consideraron las determinaciones de 5 experiencias independientes realizadas en idénticas condiciones. En cada experiencia, se tomaron muestras a 12 tiempos distintos. La determinación de la concentración de urea de cada muestra se realizó por duplicado. En principio se realizó un análisis estadístico de los datos para detectar posibles datos atípicos en los duplicados. Luego, se obtuvo un valor de $D_{T,eff}$ para cada experiencia. A partir de ellos, se calculó un valor promedio de coeficiente de difusión de urea en alginato de calcio ($\bar{D}_{T,eff}$). Este coeficiente fue utilizado para estimar el K y luego el valor de $D_{w,0}$.

5.4.1.1. Determinación del coeficiente de difusión de urea en un gel de alginato de calcio

Tratamiento estadístico de los datos. En la **Sección 5.3.3**, se propuso que los valores que son duplicados de una determinación tienen una dependencia lineal entre sí, con pendiente igual a uno y ordenada al origen igual a cero. Debido a ello se obtuvo una función de la recta de regresión para c_{B1} en función de c_{B2} ,

$$c_{B1} = (0,99812 \pm 0,03823) c_{B2} + (0,004254 \pm 0,01102) \quad (5.23)$$

con un error cuadrado medio $s_{c_B}^2 = 0,00069$ (estimador de $\sigma_{c_B}^2$) y coeficiente de determinación $R_{c_B}^2 = 0,977$. Además, no se detectaron datos atípicos y los intervalos del 95 % de confianza de los estimadores de $\beta_{c_{B1}}$ y de $\beta_{c_{B0}}$ contienen al 1 y al 0, respectivamente. En consecuencia, se puede concluir que la recta de pendiente 1 y ordenada al origen 0 ajusta a c_{B1} en función de c_{B2} . En la **Fig. 5.8**, se muestra que los duplicados se distribuyen alrededor de la recta teórica.

El código de implementación utilizado para obtener la ecuación de la recta de regresión de los datos de la muestra y el análisis estadístico se muestran en el **Anexo A.21**.

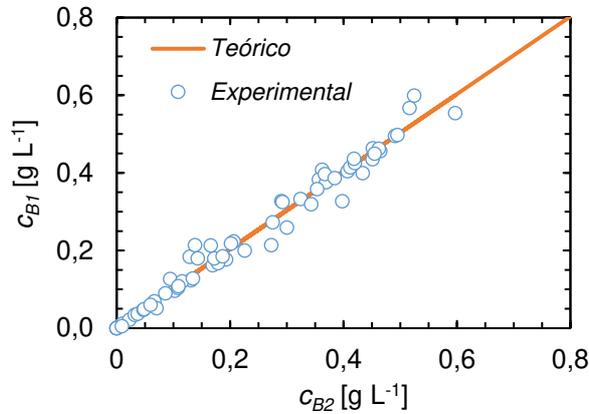


Figura 5.8. Tendencia que siguen los datos experimentales de los duplicados de la concentración de urea en el compartimiento B de la celda de difusión. (c_{B1} , c_{B2})

Espesor inicial y espesor final del gel de alginato. En la **Tabla 5.2**, se muestran los valores iniciales (L_0) y finales (L_f) de los geles de alginato de calcio usados en cada experiencia. En el **Anexo A.22**, se muestran todos los valores de L_0 y L_f .

Tabla 5.2. Espesores iniciales (L_0) y espesores finales (L_f) de los geles de alginato de calcio usados en las experiencias.

Experiencia	E1	E2	E3	E4	E5
L_0 (10^{-3}) [m]	$2,58 \pm 0,24$	$1,65 \pm 0,16$	$1,52 \pm 0,04$	$2,21 \pm 0,29$	$1,74 \pm 0,08$
L_f (10^{-3}) [m]	$3,16 \pm 0,22$	$2,39 \pm 0,22$	$1,96 \pm 0,11$	$2,83 \pm 0,16$	$2,13 \pm 0,03$

Obtención del coeficiente de difusión de urea en un gel de alginato de calcio. Luego de descartar la presencia de datos atípicos en los duplicados de cada muestra, se obtuvo un valor de concentración promedio para cada tiempo de muestreo con su respectiva desviación estándar. Estos valores son mostrados en el **Anexo A.23**. Luego, los valores promedio fueron utilizados para ajustar a la **Ec. (5.3)**. Allí, se consideró $c_{B,0} = 0 \text{ g L}^{-1}$, $S = 4,909 \times 10^{-4} \text{ m}^2$, $V = 3,50 \times 10^{-4} \text{ m}^3$, $k = 1$, $c_{A,0} = 100 \text{ g L}^{-1}$, $n = 50$ y $L = L_{0,k}$, donde $L_{0,k}$ es el espesor inicial del disco de alginato de calcio de la k -ésima experiencia [m]. En la **Fig. 5.9**, se muestran los perfiles experimentales y teóricos de c_B . En la **Tabla 5.3**, se muestran los valores de $D_{T,eff}$ y de $EAPP$ obtenidos en cada experiencia. En general, puede observarse que las curvas teóricas ajustan adecuadamente a los datos experimentales.

Además, los valores de $EAPP$ estuvieron entre 6,6 – 15,1, lo que indica que los ajustes son buenos (Montaño Moreno et al., 2013).

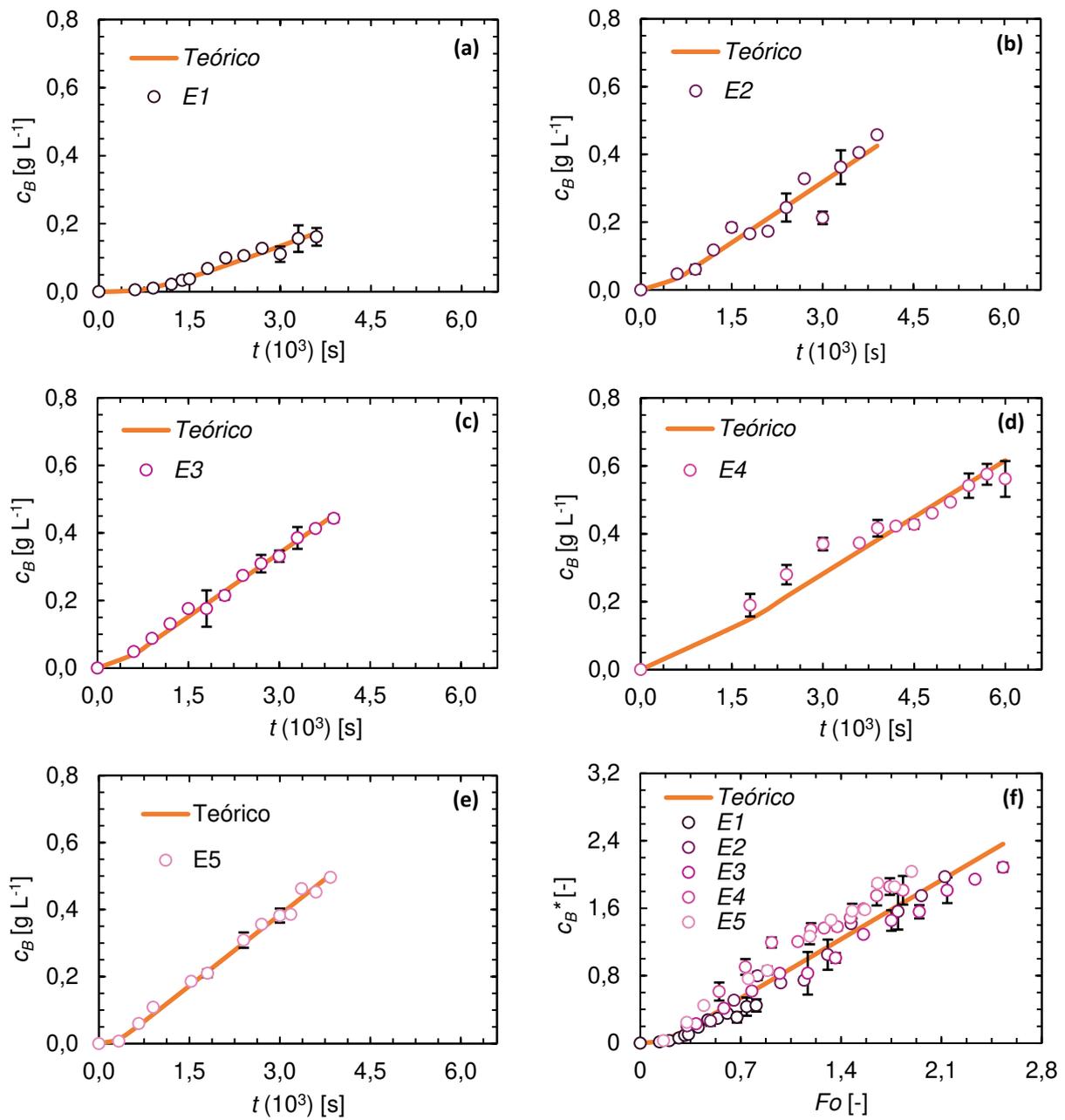


Figura 5.9. Valores experimentales y teóricos de la concentración de urea en el compartimiento B (c_B) obtenidos en la experiencia (a) E1, (b) E2, (c) E3, (d) E4 y (e) E5 y de (f) la concentración de urea adimensional en el compartimiento B (c_B^*) en todas las experiencias.

Tabla 5.3. Valores estimados en cada experiencia para el coeficiente de difusión efectivo de urea en un gel de alginato de calcio ($D_{T,eff}$).

Experiencia	E1	E2	E3	E4	E5
$D_{T,eff}(10^{-9})$ [$m^2 s^{-1}$]	1,189	1,399	1,354	1,753	1,757
$EAPP$ [%]	14,7	15,1	6,6	9,2	12,5

Adicionalmente, la **Ec. (5.3)** fue adimensionalizada,

$$c_B^* = Fo - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \exp \left[- (n\pi)^2 Fo \right] \quad (5.24)$$

donde c_B^* es la concentración adimensional de urea en el compartimiento B [-] y Fo es el número de Fourier [-] (Cussler, 2009) definidos por las **Ecs. (5.25)** y **(5.26)**, respectivamente.

$$c_B^* = \frac{V}{SLk_p} \left(\frac{c_B - c_{B,0}}{c_{A,0} - c_{B,0}} \right) \quad (5.25)$$

$$Fo = \frac{D_{T,eff}t}{L^2} \quad (5.26)$$

La **Ec. (5.24)** fue empleada para ajustar a los valores experimentales de c_B^* de todas las experiencias. Para ello, se usó un valor de $D_{T,eff} = \bar{D}_{T,eff} = 1,490(\pm 0,254) \times 10^{-9} m^2 s^{-1}$ obtenido de promediar los valores de $D_{T,eff}$ de las experiencias independientes. Por un lado, en la **Fig. 5.9.(f)** se muestran los perfiles experimentales y teóricos de c_B^* . Se observa que las concentraciones adimensionales obtenidas en cada experiencia independiente se distribuyen alrededor de una única curva teórica. Se obtuvo un valor de $EAPP = 23,4\%$ considerado aceptable. Por otro lado, Grunwald (1989) reportó un valor de $D_{T,eff}$ de $8,97 \times 10^{-10} m^2 s^{-1}$ en un gel de alginato de calcio (2% m:m) a 25 °C. Además, Kashima y Imai (2012) informaron valores de $D_{T,eff}$ entre $5 \times 10^{-9} m^2 s^{-1}$ y $7 \times 10^{-10} m^2 s^{-1}$. Estos, fueron obtenidos en geles de alginato (1% m:m) con diferentes composiciones monoméricas, con diferentes concentraciones de $CaCl_2$ y a 30 °C. Por lo tanto, el valor de $\bar{D}_{T,eff}$ obtenido se encuentra dentro del orden de magnitud de los valores de $D_{T,eff}$ reportados en la literatura.

5.4.1.2. Estimación del coeficiente de difusión de urea en agua (D_{Tw}) a 37 °C

En la literatura se encontraron valores de coeficiente de difusión de urea en agua (D_{Tw}) a distintas temperaturas. Geankoplis (1999) reportó un valor de D_{Tw} de $8,80 \times 10^{-10} m^2 s^{-1}$ a 5 °C. Por su parte, Cussler (2009) informó un valor de $1,38 \times 10^{-9} m^2 s^{-1}$ a 25 °C. Para obtener un valor D_{Tw} a 37 °C se utilizó la ecuación de Stokes-Einstein y de Wilke-Chang (Gainer, 1970),

$$\frac{D_{Tw}(T) \mu_w(T)}{T + 273,15} = C \quad (5.27)$$

donde C es una constante, $D_{Tw}(T)$ en $[\text{m}^2 \text{s}^{-1}]$ y $\mu_w(T)$ en $[\text{Pa s}]$ son el D_{Tw} y la viscosidad del agua a la temperatura T en $[\text{°C}]$. En la **Tabla 5.4**, se muestran los valores de D_{Tw} a 37 °C estimados a partir de la **Ec. (5.27)** y de $D_{Tw}(5 \text{ °C})$ y $D_{Tw}(25 \text{ °C})$. A partir de ellos se obtuvo un valor promedio de D_{Tw} a 37 °C igual a $\bar{D}_{Tw}(37 \text{ °C}) = 2,00 (\pm 0,20) \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

Tabla 5.4. Valores de coeficientes de difusión de urea en agua a diferentes temperaturas ($D_{Tw}(T)$) empleados para estimar $D_{Tw}(37 \text{ °C})$ a partir de la **Ec. (5.27)**.

T [°C]	$D_{Tw}(T)$	$D_{Tw}(37 \text{ °C})$ (10^{-9}) [$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$]	$\bar{D}_{Tw}(37 \text{ °C})$
5	0,88	2,15	2,00 ± 0,20
25	1,38	1,85	

5.4.1.3. Estimación del factor K

El valor del factor K que caracteriza los efectos estructurales del alginato de calcio en el proceso de difusión fue evaluado a través de la **Ec. (5.2)** con $D_{T,eff} = 1,490 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ y $D_{Tw} = 2,00 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. En consecuencia, el valor de K estimado es 0,745. Esto indica que la estructura del gel produce una disminución de alrededor del 26 % del coeficiente de difusión de urea en agua. En la literatura, [Geankoplis \(1999\)](#) reportó una disminución de 27 % del coeficiente de difusión de urea en agua al difundir a través de gelatina (2,9 % m:m). Por su parte, [Etapé et al. \(1992\)](#) informaron que el coeficiente de difusión de la glucosa en un gel de alginato de calcio (2 % m:m) fue 25 % menor respecto al coeficiente de difusión de glucosa en agua. Mientras que [Chai et al. \(2004\)](#) reportaron que dicha diferencia fue del 44 % en un gel de alginato de calcio (1 % m:m).

5.4.1.4. Estimación del coeficiente de difusión de agua en un gel de alginato de calcio

El coeficiente de difusión efectivo de agua en un gel de alginato de calcio a 37 °C fue estimado a partir de la **Ec. (5.2)**. Aquí, se tomó el valor de $K = 0,745$ evaluado previamente y $D_w(37 \text{ °C}) = 3,028 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ([Holz et al., 2000](#)). En consecuencia, se obtuvo $D_{w,0}(37 \text{ °C}) = 2,256 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

5.4.2. Determinación de la constante de depolimerización de un gel de alginato de calcio

Se consideraron las determinaciones de 2 experiencias independientes (Ek1 y Ek2) realizadas en idénticas condiciones. En cada experiencia, se tomaron muestras a 8 tiempos distintos. En primer lugar, se determinaron el radio y la humedad inicial de las partículas. Luego, se determinó la concentración inicial de calcio en las partículas y la concentración de calcio en el medio de liberación a cada tiempo

considerado. A continuación, se realizó un análisis estadístico de los duplicados y se obtuvo el perfil de la cinética de depolimerización de las partículas de alginato de calcio en las condiciones estudiadas. A partir de dicho perfil, se estimó el valor de κ y luego el de k_m .

5.4.3. Características de las partículas

En la **Tabla 5.5**, se muestran la moda del radio (R_m) y la humedad de las partículas de alginato de calcio (H) usadas en las experiencias de depolimerización. Por un lado, el radio de las partículas en ambas experiencias presentaron una distribución aproximadamente normal (**Anexo A.24**). Por otro lado, el valor de H fue determinado por triplicado en cada experiencias. El valor correspondiente a cada réplica se muestra en el **Anexo A.25**.

Tabla 5.5. Moda del radio (R_m) y humedad (H) de las partículas usadas en las experiencias de depolimerización

Parámetro	Unidad	Experiencia	
		Ek1	Ek2
R_m	(10^{-3}) m	$1,17 \pm 0,06$	$1,06 \pm 0,05$
H	mg g_{ss}^{-1}	$596,0 \pm 73,5$	$624,3 \pm 38,7$

5.4.4. Determinación de calcio por absorción atómica

5.4.4.1. Curva de calibración y porcentaje de recuperación

La curva de calibración obtenida en un rango de concentraciones entre 0 – 3 mg L⁻¹ tuvo una pendiente de 0,05429 L mg⁻¹ y $R^2 = 0,9974$.

El porcentaje de recuperación fue determinado a una concentración de 2 mg L⁻¹. Los valores obtenidos para las muestras de alginato de calcio digeridas y para las muestras del medio de disolución fueron de $56,38 \pm 0,63\%$ y de 100 %, respectivamente.

5.4.4.2. Concentración inicial de calcio de las partículas

La determinación de calcio en las partículas por EAA tuvo un porcentaje de recuperación relativamente bajo. Por este motivo, la concentración inicial de calcio ($c_{Ca,0}$) de la experiencia Ek1 fue verificada por espectroscopía de masa con plasma inductivo acoplado (ICP-MS). El valor de $c_{Ca,0}$ obtenido por EAA y corregido por el porcentaje de recuperación no tuvo una diferencia significativa respecto al valor obtenido por ICP-MS. Por lo tanto, los valores de $c_{Ca,0}$ en la experiencia Ek2 se

determinaron usando EAA. Los valores obtenidos en cada caso se muestran en el **Anexo A.26**. Finalmente, el valor inicial promedio de calcio en las partículas obtenido fue de $c_{Ca,0} = 5,67 \pm 0,45$ mg g_{ss}^{-1} . Este valor se encuentra en el orden de magnitud del valor teórico $c_{Ca,T} = 3,06$ mg g_{ss}^{-1} estimado en el **Anexo A.27**.

5.4.4.3. Concentración de calcio en el medio de disolución

La concentración de calcio en el medio de disolución para cada tiempo de las experiencias Ek1 y Ek2 son mostrados en el **Anexo A.28**. La **Tabla 5.6** muestra los valores de c_{Ca} promedio.

Tabla 5.6. Concentración promedio de calcio liberado (c_{Ca}) con sus respectivos desvíos estándar.

t [min]	t [s]	c_{Ca} [mg g_{ss}^{-1}]
5	300	$0,6067 \pm 0,4037$
10	600	$0,5328 \pm 0,0655$
15	900	$0,7055 \pm 0,0258$
25	1500	$1,2955 \pm 0,3381$
35	2100	$1,5745 \pm 0,1309$
50	3000	$1,6580 \pm 0,0593$
80	4800	$1,6415 \pm 0,0805$
120	7200	$1,7811 \pm 0,1685$

5.4.4.4. Tratamiento estadístico de los duplicados

La concentración de calcio en el medio de disolución fue determinada en dos experiencias independientes. En la **Sección 5.3.3**, se propuso que los duplicados de c_{Ca} tienen una dependencia lineal entre sí, con pendiente igual a 1 y ordenada al origen igual a cero. El análisis estadístico de los datos (**Anexo A.21**) mostró la presencia de un dato influyente que no fue considerado en los cálculos posteriores. La ecuación de la recta que mejor ajustó a la relación entre los duplicados es,

$$c_{Ca1} = (0,8593 \pm 0,2331) c_{Ca2} + (0,0599 \pm 0,3193) \quad (5.28)$$

con un error medio cuadrado $s_{c_{Ca}}^2 = 0,0310$ y coeficiente de determinación $R_{c_{Ca}}^2 = 0,9198$. Los intervalos del 95 % de confianza de los estimadores de $\beta_{c_{Ca}1}$ y de $\beta_{c_{Ca}0}$ contienen al 1 y al 0, respectivamente. Esto significa que la recta de pendiente 1 y ordenada al origen 0 ajusta a la relación entre c_{Ca1} y c_{Ca2} . En la **Fig. 5.10**, se observa la distribución de los datos experimentales a lo largo de la recta de la **Ec. (5.28)**.

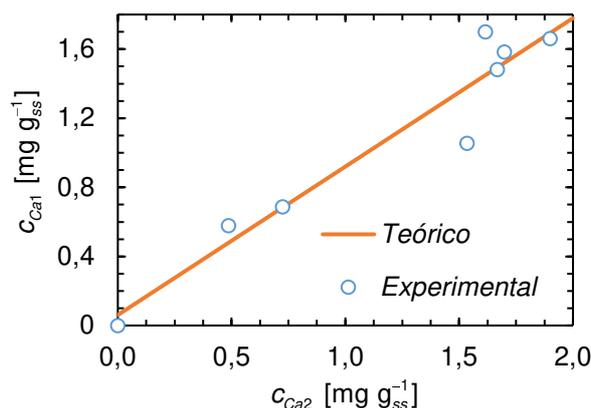


Figura 5.10. Tendencia que siguen los datos experimentales de los duplicados de la concentración de calcio en el medio de disolución (c_{Ca1} , c_{Ca2}).

5.4.5. Cinética de depolimerización

En la **Fig. 5.11**, se muestra la evolución temporal de la concentración adimensional de calcio en el medio de disolución (\tilde{c}_{Ca}) como consecuencia de la depolimerización de las partículas de alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas. Se observa que \tilde{c}_{Ca} muestra una evolución ascendente hasta $t \approx 2,4 \times 10^3$ s. Dicha evolución muestra una tendencia aproximadamente lineal con $t^{1/2}$ (**Fig. 5.11.b**). Luego, los valores de \tilde{c}_{Ca} se amesetan en aproximadamente 0,3. Sin embargo, para $t > 5,4 \times 10^3$ s, \tilde{c}_{Ca} vuelve a mostrar una evolución ascendente. Adicionalmente, el perfil de acumulación de calcio promedio obtenido, coincide con el perfil reportado por [Kikuchi et al. \(1999\)](#). Estos autores determinaron la cinética de liberación de calcio de partículas de alginato de calcio de $1,25 \times 10^{-3}$ m de radio. Las partículas fueron obtenidas a partir de una solución de alginato de sodio al 2% (m:m). El peso molecular promedio del alginato fue de 100 kDa y la relación entre sus monómeros M y G (F_M/F_G), de $1,3 \pm 0,3$. Además, usaron como medio de disolución una solución buffer fosfato salina de Dulbecco (PBS) a pH 7,4 y 37 °C. Esta solución contiene sales de fosfato (Na_2HPO_4 , KH_2PO_4), NaCl y KCl ([Hoshi et al., 2001](#)) y puede contener MgCl_2 y CaCl_2 ([Pehek et al., 2001](#); [Ryökkynen et al., 2006](#)). [Kikuchi et al. \(1999\)](#) asociaron la forma del perfil de liberación de calcio obtenido bajo estas condiciones con los fenómenos que estarían ocurriendo en el gel de alginato de calcio a nivel molecular. En principio, los autores tuvieron en cuenta que (a) el alginato es un polímero formando por bloques M, bloques G y bloques MG, (b) la estructura del alginato de calcio se puede representar por el modelo de *caja de huevos* (**Sección 2.3.1.2**), donde el calcio se une fuertemente a los bloques G e interactúa iónicamente (interacciones débiles) con el resto de los bloques y (c) asumieron que todos los residuos G presentes en el polímero están formando bloques G. A partir de allí, los autores explicaron que inicialmente los iones Na^+ presentes en el buffer fosfato penetraron en el gel, desplazando principalmente a los iones

Ca^{2+} unidos iónicamente a los bloques M. Debido a esto, la difusión sería el mecanismo predominante en la primera etapa de liberación de calcio. Por ello, el perfil de calcio liberado resulta proporcional a $t^{1/2}$ en esta etapa (**Fig. 5.11.b**). En la segunda etapa, el Na^+ comienza a intercambiarse con los Ca^{2+} que están formando la estructura de *caja de huevos*. Sin embargo, la estructura estaría estabilizada debido a que los bloques G estarían formando uniones auto-cooperativas fuertes con los Ca^{2+} . Esto resultaría en una disociación lenta de los Ca^{2+} unidos a los bloques G. Finalmente, en la tercera etapa, los Ca^{2+} unidos a los bloques G comienzan a difundir al medio provocando la desintegración del gel.

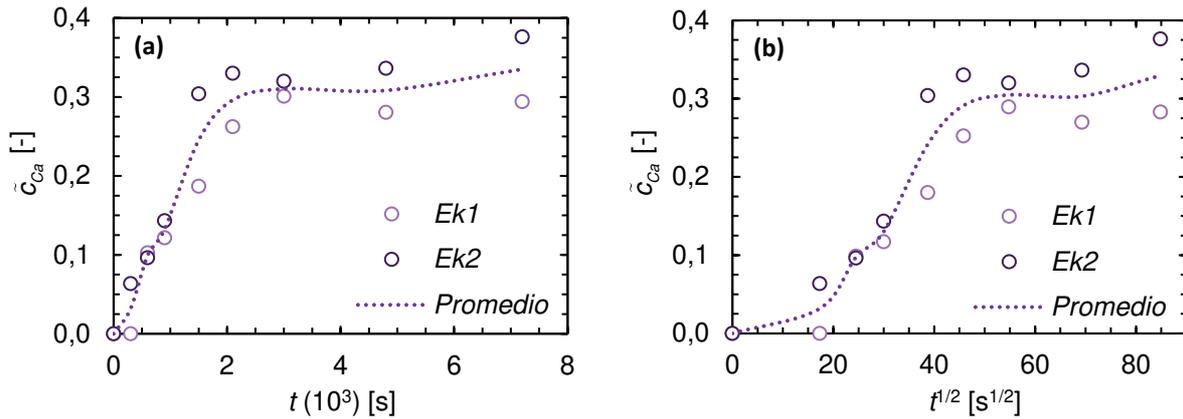


Figura 5.11. Concentración adimensional de calcio en el medio de disolución (c_{Ca}) en función de (a) t y (b) $t^{1/2}$ obtenidos en las experiencias Ek1 y Ek2.

5.4.6. Estimación del coeficiente de depolimerización

En primer instancia, se obtuvo el valor de la constante κ partir de la **Ec. (5.7)**. En la **Fig. 5.12**, se muestran las rectas de regresión obtenidas para cada experiencia y los datos experimentales usados para su cálculo. La calidad del ajuste fue evaluada con el coeficiente de determinación (R^2) (Walpole et al., 2012). En base a ello, se obtuvo un valor de κ de $5,407 (\pm 1,003) \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$. Este valor resulta mayor a $\kappa = 1,383 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ y $\kappa = 1,218 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, obtenidos con los datos experimentales reportados por Kikuchi et al. (1999) y Voo et al. (2015), respectivamente (**Anexo A.29**). Esto podría deberse a que el peso molecular medio en peso (\bar{M}_w) y el F_M/F_G del alginato usado en las experiencias de la presente Tesis tienen un valor de $192 \pm 2 \text{ kDa}$ y 1.81, respectivamente (**Capítulo 4**). Esto significa que el \bar{M}_w se encuentra dentro del mismo orden de magnitud que el de los alginatos usados por Kikuchi et al. (1999) ($\bar{M}_w = 100 \text{ kDa}$, $F_M/F_G = 1,3$) y Voo et al. (2015) ($\bar{M}_w = 264 \text{ kDa}$, $F_M/F_G = 0,6$), aunque el F_M/F_G es mayor. Ramos et al. (2018) informaron que alginatos de sodio de fracciones de grupos G mayores (menores valores de F_M/F_G) permiten obtener partículas de geles de alginato de calcio con menores áreas superficiales, menores volúmenes, más rígidos y menos porosos. Esto se debe

a que existen más zonas de interacción entre los grupos G y los iones Ca^{2+} . Como consecuencia, la permeabilidad de estos geles resulta menor, permitiendo un ingreso más lento del fluido circundante y una elución de los iones calcio más gradual.

Luego, considerando que la constante de depolimerización es $k_m = \kappa/c_{w,\infty}$ y que $c_{w,\infty} = 5,56 \times 10^4 \text{ mol m}^{-3}$ (**Tabla 3.3**), se obtiene un valor de k_m de la matriz de alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas de $9,72 \times 10^{-9} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

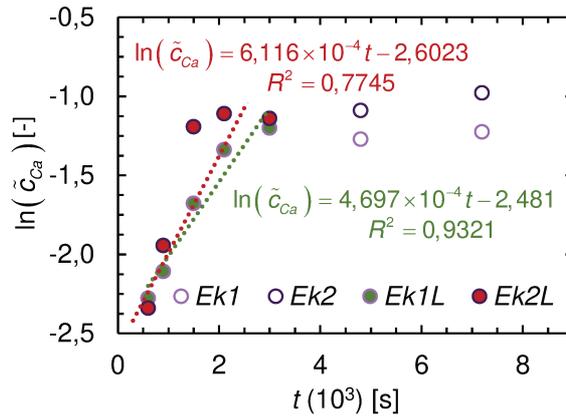


Figura 5.12. Linealización de los perfiles de la concentración adimensional de calcio (\tilde{c}_{Ca}) en el medio de disolución de las experiencias Ek1 y Ek2. Ek1L y Ek2L corresponden a los datos de los perfiles de Ek1 y Ek2, respectivamente, usados para hacer la regresión lineal.

5.5. Análisis complementario a la validación del modelo presentado en el Capítulo 3 a partir de los valores característicos conocidos del sistema en estudio

En la **Tabla 5.7**, se resumen los valores característicos conocidos del sistema en estudio. Los mismos fueron determinados experimentalmente en la presente Tesis, estimados y adoptados u obtenidos de la literatura para sistemas similares. Estos valores fueron usados para estimar algunos de los parámetros adimensionales definidos en la **Tabla 3.2** y algunos de los valores característicos desconocidos del sistema en estudio.

Los parámetros adimensionales estimados son mostrados y comparados con los valores obtenidos del ajuste (**Tabla 3.4**) en la **Tabla 5.8**. Por un lado, se observa que los valores de δ_M estimado y ajustado son menores a 1 y tienen aproximadamente el mismo orden de magnitud. Por otro lado, se estimó la relación ζ/δ_σ que representa el número de Deborah (De) (**Sección 3.4.2.2**). El valor de De estimado es menor respecto al ajustado. Sin embargo, ambos valores están relacionados con un comportamiento viscoelástico de la matriz encapsulante, ya que [Vrentas y Vrentas \(2013\)](#) informaron que valores de $De \approx 0,1 - 10$ corresponden a materiales con este tipo de comportamiento mecánico.

Tabla 5.7. Valores que caracterizan al sistema en estudio.

Parámetro	Unidades	Valor	Fuente
$D_{w,0}$	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	$2,256 \times 10^{-9}$	Medido
k_m	$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$	$9,72 \times 10^{-9}$	Medido
\bar{M}_w	Da	$1,92 \times 10^5$	Medido
R	m	$1,02 \times 10^{-3}$	Medido
$c_{s,0}$	mol m^{-3}	4,93	Medido
M_0	Da	$2,02 \times 10^5$	Estimado
A_c	m s^{-1}	$8,40 \times 10^{-5}$	Estimado
$c_{w,\infty}$	mol m^{-3}	$5,56 \times 10^4$	Adoptado
μ_0	Pa s	$2,00 \times 10^6$	Ahearne et al. (2005)
E_0	Pa	10^4	Ahearne et al. (2005) , Larsen et al. (2015)

Además, la diferencia entre ambos valores podría deberse a que el De estimado fue calculado a partir de valores de μ_0 y E_0 de geles de alginato de calcio obtenidos de la literatura (**Tabla 5.7**) y podrían diferir respecto a los valores correspondientes a los geles de alginato de calcio usados en esta Tesis. Esto se debe a que las propiedades mecánicas de los geles de polímeros naturales presentan una gran variabilidad y dependen tanto del origen del polímero y del método usado para su extracción, como del agente gelificante y de la técnica de obtención de los geles ([Mitchell, 1976](#)), de la composición y de la secuencia de los tipos de residuos que componen al polímero ([Stokke et al., 2000](#)).

Tabla 5.8. Valores de parámetros adimensionales estimados a partir de los valores que caracterizan al sistema en estudio mostrados en la **Tabla 5.7**.

Parámetro adimensional	Estimado	Ajustado
δ_M	0,25	0,090
De	0,44	13,000
Λ	37,87	0,797

Respecto a Λ , el valor estimado es mayor que el ajustado. Esto puede deberse a que el coeficiente de transferencia superficial de materia del agua (A_c) fue estimado a partir de una correlación entre los números de Sherwood (**Ec. 2.14**) y de Peclet (**Ec. 2.40**) desarrollada para una única esfera dentro de una corriente líquida ([Welty et al., 2015](#)). Además, el Pe fue calculado considerando que la velocidad

del medio de disolución adquiere la velocidad del agua del baño térmico usado en las experiencias de liberación (**Anexo A.10**).

Finalmente, en la **Tabla 5.9** se muestran los valores característicos del sistema en estudio que fueron estimados a partir de los valores de los parámetros adimensionales ajustados (**Tabla 3.4**) y de los valores característicos del sistema en estudio mostrados en la **Tabla 5.7**. Estos valores son específicos del sistema en estudio y dependen de los compuestos que conforman el sistema de encapsulación, del método de encapsulación, de las condiciones de liberación (pH, temperatura, agitación, etc.), entre otros. Debido a ello, en la literatura no se encontraron valores de estos parámetros para el sistema astaxantina/alginato de calcio en las condiciones de liberación descritas en el **Capítulo 2**. No obstante, [Koshari et al. \(2019\)](#) reportaron valores de k en el orden de $10^{-10} \text{ Da}^{-1} \text{ s}^{-1}$ para geles de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA). Además, [Rothstein et al. \(2009\)](#) informaron un $k_{dis} = 4,6 \times 10^{-2} \text{ mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ para la bupivacaina a pH 7,4 y temperatura ambiente. Este compuesto es un analgésico local de peso molecular y solubilidad igual a $288,43 \text{ g mol}^{-1}$ y $0,56 - 0,70 \text{ g L}^{-1}$ ([Park et al., 1998](#)). Por lo tanto, los valores de k y k_{dis} estimados para el sistema en estudio son comparables con los reportados en la literatura para sistemas similares.

Tabla 5.9. Valores característicos del sistema en estudio estimados a partir de los valores ajustados de los parámetros adimensionales (**Tabla 3.4**) y de los valores característicos conocidos del sistema (**Tabla 5.7**).

Parámetro	Unidades	Valor
k	$\text{Da}^{-1} \text{ s}^{-1}$	$5,36 \times 10^{-11}$
k_{dis}	$\text{mol m}^{-3} \text{ s}^{-1}$	$1,16 \times 10^{-3}$
$D_{A,0}$	$\text{m}^2 \text{ s}^{-1}$	$1,74 \times 10^{-14}$
$c_{A,ms}$	mol m^{-3}	3,53
h	m s^{-1}	$8,85 \times 10^{-8}$

5.6. Conclusiones

Se determinaron parámetros relacionados con los fenómenos de hidratación y de depolimerización de un gel de alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas. Se estimó el valor del coeficiente de difusión efectivo de agua en un disco de alginato de calcio ($D_{w,0}$) en $D_{w,0} = 2,256 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$. Se determinó la cinética de elución de calcio desde partículas de alginato de calcio hacia el medio de disolución. Este perfil fue usado para obtener la constante de depolimerización del alginato de calcio $k_m = 9,72 \times 10^{-9} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

Adicionalmente, los valores característicos conocidos del sistema en estudio (determinados, estimados y adoptados previamente en la presente Tesis) fueron usados para realizar un análisis complementario a la validación del modelo presentado en el **Capítulo 3**. Se estimaron los parámetros adimensionales característicos de la depolimerización (δ_M), del comportamiento mecánico de la matriz ($De = \zeta/\delta_\sigma$) y de la transferencia externa de agua (Λ). En general, los valores estimados y ajustados de δ_M y De representan a una cinética de depolimerización y a un comportamiento viscoelástico similares, respectivamente. El valor de Λ estimado fue mayor al ajustado. Además, se estimaron algunos valores característicos que son específicos del sistema en estudio (k , k_{dis} , $D_{A,0}$, $c_{A,ms}$ y h).

5.7. Nomenclatura

A Absorbancia [-]

A_c Coeficiente de transferencia superficial de materia del agua [m s^{-1}]

b Longitud característica del contenedor de la muestra [m]

$c_{A,0}$ Concentración inicial de soluto en el compartimiento A [g L^{-1}]

$c_{A,ms}$ Máxima concentración de activo disuelto en la solución del medio circundante [mol m^{-3}]

c_B^* Concentración adimensional de urea en el compartimiento B [-]

c_B Concentración de soluto en el compartimiento B [g L^{-1}]

$c_{B,0}$ Concentración inicial de soluto en el compartimiento B [g L^{-1}]

\tilde{c}_{Ca} Concentración adimensional de calcio [-]

c_{Ca} Concentración de calcio en el medio de disolución [mg g_{ss}^{-1}]

$c_{Ca,0}$ Concentración inicial de calcio en el gel [mg g_{ss}^{-1}]

c_s Concentración inicial de activo no disuelto [mol m^{-3}]

c_w Concentración de agua [mol m^{-3}]

$c_{w,\infty}$ Concentración de agua en el medio circundante [mol m^{-3}]

d Diámetro del gel [m]

$D_{A,0}$ Coeficiente inicial de difusión de activo [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

D_{eff} Coeficiente de difusión efectivo [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

D_{Tw} Coeficiente de difusión del compuesto trazador en agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{T,eff}$ Coeficiente de difusión efectivo del compuesto trazador en un gel de alginato de calcio [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

D_w Coeficiente de auto-difusión del agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,0}$ Coeficiente inicial de difusión de agua en la matriz encapsulante [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,B}$ Coeficiente de difusión molecular de agua en la solución ocluida B [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,eff}$ Coeficiente de difusión efectivo de agua en un gel [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

De Número de Deborah [-]

E_0 Módulo elástico inicial de la matriz polimérica [Pa]

$EAPP$ Error absoluto promedio porcentual [%]

F_G Fracción de residuos G en la cadena de alginato [-]

F_M Fracción de residuos M en la cadena de alginato [-]

Fo Número de Fourier [-]

H Humedad [mg g_{ss}^{-1}]

h Coeficiente de transferencia superficial de materia del activo disuelto [m s^{-1}]

J Número de datos experimentales [-]

K Constante [-]

k Constante cinética de consumo de agua [$\text{Da}^{-1} \text{s}^{-1}$]

k_m Constante de depolimerización del gel [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$]

k_p Coeficiente de partición entre el soluto en equilibrio en la superficie de la membrana y el soluto en el compartimiento A [-]

k_{dis} Constante cinética de disolución del activo no disuelto [$\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$]

L Espesor del gel [m]

L_0 Espesor inicial del gel [m]

L_f Espesor final del gel [m]

M Peso molecular del gel [Da]

M_0 Peso molecular inicial de la matriz polimérica [Da]

M_Γ Número de observaciones que componen a la muestra de Γ [-]

m_Γ Número de observaciones que componen a la población de Γ [-]

\bar{M}_w Peso molecular medio en peso [Da]

n n -ésimo término de la serie infinita [-]

P Potencia de la fuente de luz pasando a través de la muestra [W]

P_0 Potencia de la fuente de luz antes de pasar a través de la muestra [W]

R Radio de partícula [m]

R_Γ^2 Coeficiente de determinación de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [-]

R_m Moda del radio [m]

S Área libre para la difusión [m²]

s_Γ^2 Error cuadrado medio de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [g L⁻¹, mg g_{ss}⁻¹]

SCE_Γ Suma de los cuadrados del error de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [g² L⁻², mg² g_{ss}⁻²]

$STCC_\Gamma$ Suma total de los cuadrados del corregida de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [g² L⁻², mg² g_{ss}⁻²]

T Temperatura [°C]

t Tiempo [s]

V Volumen de solución [m³]

V_A Volumen de solución en el compartimiento A [m³]

V_B Volumen de solución en el compartimiento B [m³]

Símbolos griegos

β_1 Pendiente del modelo poblacional de la tendencia de los duplicados de Γ [-]

$\beta_{\Gamma 0}$ Ordenada al origen del modelo poblacional de la tendencia de los duplicados de Γ [g L⁻¹, mg g_{ss}⁻¹]

Γ Concentración (c_B, c_{Ca}) [g L⁻¹, mg g_{ss}⁻¹]

γ Coeficiente de absorción atómica [m⁻¹]

$\tilde{\Gamma}_1$ Valor ajustado de Γ [g L^{-1} , mg g_{ss}^{-1}]

Γ_1 Duplicado 1 de la determinación de Γ [g L^{-1} , mg g_{ss}^{-1}]

Γ_2 Duplicado 2 de la determinación de Γ [g L^{-1} , mg g_{ss}^{-1}]

δ_σ Parámetro característico de relajación (viscoso-total) (**Tabla 3.2**) [-]

δ_M Parámetro característico de depolimerización (**Tabla 3.2**) [-]

ε Porosidad [-]

ε_0 Absortividad [$\text{g}_{ss} \text{mg}^{-1} \text{m}^{-1}$]

ζ Parámetro característico de relajación (viscoso-elástico) (**Tabla 3.2**) [-]

Θ Transmitancia [-]

κ Constante [s^{-1}]

Λ Parámetro característico de difusión externa de agua (**Tabla 3.2**) [-]

μ_0 Módulo viscoso inicial de la matriz polimérica [Pa s]

μ_w Viscosidad del agua [Pa s]

σ_{Γ}^2 Varianza poblacional de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [g L^{-1} , mg g_{ss}^{-1}]

τ Tortuosidad [-]

Subíndices

E Valor experimental

i i -ésimo tiempo de muestreo

j j -ésimo dato

k k -ésima experiencia

T Valor teórico

5.8. Bibliografía

- Ahearne, M., Yang, Y., El Haj, A.J., Then, K.Y. y Liu, K.K. (2005). Characterizing the viscoelastic properties of thin hydrogel-based constructs for tissue engineering applications. *Journal of The Royal Society Interface*, 2(5):455–463. doi:10.1098/rsif.2005.0065.
- Chai, Y., Mei, L.H., Lin, D.Q. y Yao, S.J. (2004). Diffusion coefficients in intrahollow calcium alginate microcapsules. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 49(3):475–478. doi:10.1021/jc034132u.
- Chavez, M., Luna, J. y Garrote, R. (1996). Apparent diffusion coefficient determination of sodium hydroxide through potato skin and flesh under different temperatures and concentration conditions. *Journal of Food Engineering*, 30(3-4):377–388. doi:10.1016/S0260-8774(96)00031-3.
- Corstens, M.N., Berton-Carabin, C.C., Elichiry-Ortiz, P.T., Hol, K., Troost, F.J., Masclee, A.A. y Schroën, K. (2017). Emulsion-alginate beads designed to control in vitro intestinal lipolysis: Towards appetite control. *Journal of Functional Foods*, 34:319–328. doi:10.1016/j.jff.2017.05.003.
- Cussler, E.L. (2009). *Diffusion: Mass transfer in fluid systems*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 3ra ed. doi:10.1017/CBO9780511805134.
- Demott, B.J. (1988). Determination of calcium in cottage cheese by titration. *Journal of Food Protection*, 51(10):802–803. doi:10.4315/0362-028X-51.10.802.
- Djelveh, G., Gros, J.B. y Bories, B. (1989). An improvement of the cell diffusion method for the rapid determination of diffusion constants in gels or foods. *Journal of Food Science*, 54(1):166–169. doi:10.1111/j.1365-2621.1989.tb08593.x.
- Estapé, D., Gòdia, F. y Solà, C. (1992). Determination of glucose and ethanol effective diffusion coefficients in ca-alginate gel. *Enzyme and Microbial Technology*, 14(5):396–401. doi:10.1016/0141-0229(92)90009-D.
- Floury, J., Jeanson, S., Aly, S. y Lortal, S. (2010). Determination of the diffusion coefficients of small solutes in cheese: A review. *Dairy Science & Technology*, 90(5):477–508. doi:10.1051/dst/2010011.
- Forster, R.E.J., Thürmer, F., Wallrapp, C., Lloyd, A.W., Macfarlane, W., Phillips, G.J., Boutrand, J.P. y Lewis, A.L. (2010). Characterisation of physico-mechanical properties and degradation potential of calcium alginate beads for use in embolisation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(7):2243–2251. doi:10.1007/s10856-010-4080-y.
- Gainer, J.L. (1970). Concentration and temperature dependence of liquid diffusion coefficients. *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals*, 9(3):381–383. doi:10.1021/i160035a014.

- Gao, Y. y Jin, X. (2018). Characterizing the degradation behavior of calcium alginate fibers wound dressings fabricated by needle-punching process. *Journal of Applied Polymer Science*, 135(38):46670. doi:10.1002/app.46670.
- Geankoplis, C.J. (1999). *Procesos de transporte y operaciones unitarias*. Ciudad de México, México, 3ra ed.
- Gekas, V. (1992). *Transport phenomena of foods and biological materials*. Food engineering, CRC Press, Inc., Boca Raton, USA.
- Gomis Yagiües, V. (2008). *Tema 7. Espectroscopia de emisión y absorción atómica*. Repositorio Institucional de la Universidad de Alicante, Alicante, España.
- Grassi, M., Colombo, I. y Lapasin, R. (2001). Experimental determination of the theophylline diffusion coefficient in swollen sodium-alginate membranes. *Journal of Controlled Release*, 76(1-2):93–105. doi:10.1016/S0168-3659(01)00424-2.
- Grunwald, P. (1989). Determination of effective diffusion coefficients — an important parameters for the efficiency of immobilized biocatalysts. *Biochemical Education*, 17(2):99–102. doi:10.1016/0307-4412(89)90018-6.
- Harris, D.C. (2016). *Análisis químico cuantitativo*. Reverté S.A., Barcelona, España, 3ra ed.
- Hoad, C., Rayment, P., Cox, E., Wright, P., Butler, M., Spiller, R. y Gowland, P. (2009). Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 2: *In vivo* characterisation. *Food Hydrocolloids*, 23(3):833–839. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.04.013.
- Holz, M., Heil, S.R. y Sacco, A. (2000). Temperature-dependent self-diffusion coefficients of water and six selected molecular liquids for calibration in accurate ^1H NMR PFG measurements. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2(20):4740–4742. doi:10.1039/b005319h.
- Hoshi, T., Saiki, H., Kuwazawa, S., Tsuchiya, C., Chen, Q. y Anzai, J.i. (2001). Selective permeation of hydrogen peroxide through polyelectrolyte multilayer films and its use for amperometric biosensors. *Analytical Chemistry*, 73(21):5310–5315. doi:10.1021/ac010605t.
- House, K.A. y House, J. (2017). Thermodynamics of dissolution of urea in water, alcohols, and their mixtures. *Journal of Molecular Liquids*, 242:428–432. doi:10.1016/j.molliq.2017.07.020.
- Julshamn, K., Maage, A. y Wallin, H.C. (1998). Determination of magnesium and calcium in food by atomic absorption spectrometry after microwave digestion: NMKL collaborative study. *Journal of AOAC International*, 81(6):1202–1208.

- Kashima, K. y Imai, M. (2012). Impact factors to regulate mass transfer characteristics of stable alginate membrane performed superior sensitivity on various organic chemicals. *Procedia Engineering*, 42:964–977. doi:10.1016/j.proeng.2012.07.490.
- Kemp, D.D. y Gordon, M.S. (2008). An interpretation of the enhancement of the water dipole moment due to the presence of other water molecules. *The Journal of Physical Chemistry A*, 112(22):4885–4894. doi:10.1021/jp801921f.
- Kikuchi, A., Kawabuchi, M., Watanabe, A., Sugihara, M., Sakurai, Y. y Okano, T. (1999). Effect of Ca^{2+} -alginate gel dissolution on release of dextran with different molecular weights. *Journal of Controlled Release*, 58(1):21–28. doi:10.1016/S0168-3659(98)00141-2.
- Kim, C.K. y Lee, E.J. (1992). The controlled release of blue dextran from alginate beads. *International Journal of Pharmaceutics*, 79(1-3):11–19. doi:10.1016/0378-5173(92)90088-J.
- Koshari, S.H., Chang, D.P., Wang, N.B., Zarraga, I.E., Rajagopal, K., Lenhoff, A.M. y Wagner, N.J. (2019). Data-driven development of predictive models for sustained drug release. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 108(11):3582–3591. doi:10.1016/j.xphs.2019.06.027.
- Larsen, B.E., Bjørnstad, J., Pettersen, E.O., Tønnesen, H.H. y Melvik, J.E. (2015). Rheological characterization of an injectable alginate gel system. *BMC Biotechnology*, 15(1):29. doi:10.1186/s12896-015-0147-7.
- Lawani, S.A., Giwa, A.r., Bello, I.A. y Okwonkwo, E.O. (2014). Trimetric determination of calcium content of some staple foodstuffs in north-central Nigeria. *Food Science and Quality Management*, 28:50–57.
- Lee, F.M. y Lahti, L.E. (1972). Solubility of urea in water-alcohol mixtures. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 17(3):304–306. doi:10.1021/je60054a020.
- Lopes, S., Bueno, L., Aguiar Júnior, F.D. y Finkler, C. (2017). Preparation and characterization of alginate and gelatin microcapsules containing *Lactobacillus rhamnosus*. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(3):1601–1613. doi:10.1590/0001-3765201720170071.
- López, H., Oropeza, I. y Betancourt, C. (2017). Determinación de la concentración de calcio, magnesio y potasio en leche líquida de tres marcas comerciales, empleando la técnica de espectroscopia atómica. *Revista de Investigación*, 41:120 – 133.
- Mak, A. y Trevan, M. (1988). Urea as a nitrogen source for calcium-alginate immobilized *Chlorella*. *Enzyme and Microbial Technology*, 10(4):207–213. doi:10.1016/0141-0229(88)90068-3.

- Merrill, E., Dennison, K. y Sung, C. (1993). Partitioning and diffusion of solutes in hydrogels of poly(ethylene oxide). *Biomaterials*, 14(15):1117–1126. doi:10.1016/0142-9612(93)90154-T.
- Miranda, K., Vieira, A.L., Bechlin, M.A., Fortunato, F.M., Virgilio, A., Ferreira, E.C. y Gomes Neto, J.A. (2016). Determination of Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Se, and Zn in foodstuffs by Atomic Spectrometry after sample preparation using a low-cost Closed-Vessel Conductively Heated digestion system. *Food Analytical Methods*, 9(7):1887–1894. doi:10.1007/s12161-015-0371-8.
- Mitchell, J.R. (1976). Rheology of gels. *Journal of Texture Studies*, 7(3):313–339. doi:10.1111/j.1745-4603.1976.tb01140.x.
- Montaño Moreno, J.J., Palmer Pol, A. y Sesé Abad, A. (2013). Using the R-MAPE index as a resistant measure of forecast accuracy. *Psicothema*, (25.4):500–506. doi:10.7334/psicothema2013.23.
- Murthy, G. y Rhea, U. (1967). Determination of major cations in milk by Atomic Absorption Spectrophotometry. *Journal of Dairy Science*, 50(3):313–317. doi:10.3168/jds.S0022-0302(67)87416-2.
- Niizawa, I., Espinaco, B.Y., Zorrilla, S.E. y Sihufe, G.A. (2019). Natural astaxanthin encapsulation: Use of response surface methodology for the design of alginate beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121:601–608. doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.10.044.
- Noël, L., Carl, M., Vastel, C. y Guérin, T. (2008). Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium content in milk products by flame atomic absorption spectrometry (FAAS): A joint ISO/IDF collaborative study. *International Dairy Journal*, 18(9):899–904. doi:10.1016/j.idairyj.2008.01.003.
- Park, E.S., Maniar, M. y Shah, J.C. (1998). Biodegradable polyanhydride devices of cefazolin sodium, bupivacaine, and taxol for local drug delivery: Preparation, and kinetics and mechanism of in vitro release. *Journal of Controlled Release*, 52(1-2):179–189. doi:10.1016/S0168-3659(97)00223-X.
- Patton, C.J. y Crouch, S.R. (1977). Spectrophotometric and kinetics investigation of the Berthelot reaction for the determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 49(3):464–469. doi:10.1021/ac50011a034.
- Pehek, E., McFarlane, H., Maguschak, K., Price, B. y Pluto, C. (2001). M100,907, a selective 5-HT_{2A} antagonist, attenuates dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. *Brain Research*, 888(1):51–59. doi:10.1016/S0006-8993(00)03004-3.
- Perkin-Elmer (1996). *Analytical methods for atomic absorption spectroscopy*. The Perkin-Elmer Corporation.

- Pomeranz, Y. y Meloan, C. (1994). *Food analysis: Theory and practice*. Chapman & Hall, New York, USA, 3ra ed.
- Ramos, P.E., Silva, P., Alario, M.M., Pastrana, L.M., Teixeira, J.A., Cerqueira, M.A. y Vicente, A.A. (2018). Effect of alginate molecular weight and M/G ratio in beads properties foreseeing the protection of probiotics. *Food Hydrocolloids*, 77:8–16. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.08.031.
- Rao, M.A., Rizvi, S.S.H. y Datta, A.K. (Eds.) (2005). *Engineering properties of foods*. No. 142 en Food science and technology, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, 3ra ed.
- Rayment, P., Wright, P., Hoad, C., Ciampi, E., Haydock, D., Gowland, P. y Butler, M.F. (2009). Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: *In vitro* characterisation. *Food Hydrocolloids*, 23(3):816–822. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.04.011.
- Reeuwijk, L.P.v. (Ed.) (1998). *Guidelines for quality management in soil and plant laboratories*. No. 74 en FAO soils bulletin, Food and Agriculture Organization of the United Nations ; International Soil Reference and Information Centre, Roma, Italia.
- Rothstein, S.N., Federspiel, W.J. y Little, S.R. (2009). A unified mathematical model for the prediction of controlled release from surface and bulk eroding polymer matrices. *Biomaterials*, 30(8):1657–1664. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.002.
- Ryökkönen, A., Kukkonen, J.V. y Nieminen, P. (2006). Effects of dietary genistein on mouse reproduction, postnatal development and weight-regulation. *Animal Reproduction Science*, 93(3-4):337–348. doi:10.1016/j.anireprosci.2005.08.007.
- Sergiel, I. y Pohl, P. (2010). Determination of the total content of calcium and magnesium and their bioavailability in ripened bee honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(13):7497–7501. doi:10.1021/jf100844s.
- Settle, F.A. (Ed.) (1997). *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*. Prentice Hall PTR, Upper Saddle River, USA.
- Siong, T.E., Choo, K.S. y Shahid, S.M. (1989). Determination of calcium in foods by the atomic absorption spectrophotometric and titrimetric methods. *Pertanika*, 12(3):303–311.
- Sperling, M. (2006). Flame and graphite furnace atomic absorption spectrometry in environmental analysis. En R.A. Meyers (Ed.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK. doi:10.1002/9780470027318.a0805.

- Sriamornsak, P., Thirawong, N. y Korkerd, K. (2007). Swelling, erosion and release behavior of alginate-based matrix tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 66(3):435–450. doi:10.1016/j.ejpb.2006.12.003.
- Stokke, B.T., Draget, K.I., Smidsrød, O., Yuguchi, Y., Urakawa, H. y Kajiwara, K. (2000). Small-angle X-ray scattering and rheological characterization of alginate gels. 1. Ca-Alginate gels. *Macromolecules*, 33(5):1853–1863. doi:10.1021/ma991559q.
- Szretter Noste, M.E. (2017). Apunte de regresión lineal. Tech. rep., Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Truskey, G.A., Yuan, F. y Katz, D.F. (2004). *Transport phenomena in biological systems*. Pearson/Prentice Hall, Upper Saddle River, USA.
- Valdés Diez, L., González García, A.I., Rodríguez Párraga, M.E., Rodríguez Villar, O. y Sijó Yero, M. (1997). Variante del método de Berthelot. *Revista Cubana de Farmacia*, 31(2):96–101.
- Varzakas, T. y Tzia, C. (Eds.) (2015). *Handbook of food processing and engineering: Food engineering fundamentals, Contemporary Food Engineering*, vol. 1. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.
- Voo, W.P., Lee, B.B., Idris, A., Islam, A., Tey, B.T. y Chan, E.S. (2015). Production of ultra-high concentration calcium alginate beads with prolonged dissolution profile. *RSC Advances*, 5(46):36687–36695. doi:10.1039/C5RA03862F.
- Voo, W.P., Ooi, C.W., Islam, A., Tey, B.T. y Chan, E.S. (2016). Calcium alginate hydrogel beads with high stiffness and extended dissolution behaviour. *European Polymer Journal*, 75:343–353. doi:10.1016/j.eurpolymj.2015.12.029.
- Vrentas, J.S. y Vrentas, C.M. (2013). *Diffusion and mass transfer*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.
- Walpole, R.E., Myers, R.H., Myers, S.L. y Ye, K. (2012). *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. Pearson Educación, México, 9na ed.
- Welty, J.R., Rorrer, G.L. y Foster, D.G. (2015). *Fundamentals of momentum, heat, and mass transfer*. John Wiley & Sons, Hoboken, USA, 6ta ed.
- Welz, B. (1985). *Atomic absorption spectrometry*. Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2da ed.

- Wiener lab. Group (2021). Uremia. Para la determinación de urea en suero, plasma y orina. https://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/uremia_sp.pdf. (Accedido el 05.03.2020).
- Yofé, J. y Finkelstein, R. (1958). Elimination of anionic interference in flame photometric determination of calcium in the presence of phosphate and sulphate. *Analytica Chimica Acta*, 19:166–173. doi:10.1016/S0003-2670(00)88135-0.
- Zorrilla, S.E. y Rubiolo, A.C. (1994). A model for using the diffusion cell in the determination of multicomponent diffusion coefficients in gels or foods. *Chemical Engineering Science*, 49(13):2123–2128. doi:10.1016/0009-2509(94)E0006-C.
- Zorrilla, S.E. y Rubiolo, A.C. (1998). Determinación del coeficiente de difusión de sacarosa en frutilla usando el método de la celda de difusión para alimentos semirrígidos. En *Actas del VII Congreso Latinoamericano de Transferencia de Calor y Materia*, vol. Tomo II. pp. 320–324.
- Zumbado Fernández, H. (2000). *Análisis químico de los alimentos: Métodos clásicos*. Editorial Universitaria, La Habana, Cuba, 1era ed.

CAPÍTULO 6

Análisis de sensibilidad del modelo propuesto
para describir el proceso de liberación de
activos alimentarios encapsulados

CAPÍTULO 6

Análisis de sensibilidad del modelo propuesto para describir el proceso de liberación de activos alimentarios encapsulados

Resumen. En el presente capítulo, se estudió el comportamiento de un sistema de encapsulación mediante un análisis de sensibilidad del modelo matemático presentado en el **Capítulo 3**. Las variables de entrada del análisis fueron los parámetros adimensionales característicos de cada fenómeno: hinchamiento ($\Gamma_w, \delta_\sigma, \zeta$), erosión (δ_w), depolimerización de la matriz (δ_M), disolución (δ_s), solubilidad (θ) y difusión del compuesto activo (γ_A, α_A) y la transferencia externa de materia de agua (Λ). Las variables de salida seleccionadas para estudiar el efecto de las variables de entrada sobre el comportamiento del sistema fueron la fracción de activo liberado promedio en el volumen (Φ_A), la fracción de agua absorbida promedio en el volumen (Φ_w), la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz promedio en el volumen (Φ_σ) y la fracción de polímero remanente promedio en el volumen (Φ_M). En general, el análisis predijo que δ_s fue el parámetro que más afectó a la cinética de liberación del activo, seguido por Λ, δ_w y θ . El resto de los parámetros (α_A , el comportamiento elástico de la matriz y δ_M) tuvieron un impacto pequeño sobre la cinética de liberación, mientras que γ_A y el comportamiento viscoso de la matriz tuvieron un efecto marginal.

6.1. Introducción

Habiendo entendido la contribución de cada fenómeno en el caso en estudio, mediante el análisis de sensibilidad se analizan otras cinéticas de liberación que podrían resultar de interés o que podrían usarse para lograr un objetivo determinado. Además, el análisis de sensibilidad resulta una etapa muy importante en el desarrollo de un modelo matemático para representar un determinado proceso y para su optimización (Datta, 2016; Rabeler y Feyissa, 2019). Este análisis se puede definir como el proceso para evaluar la contribución de los parámetros de entrada sobre el comportamiento de un modelo en estudio (Mateus y Franz, 2015). Es decir, permite valorar la influencia de las variables de entrada en las predicciones del modelo y comprobar cuáles son los parámetros que más influyen sobre las variables de salida (Sánchez de Óleo, 2016). En consecuencia, resulta útil para identificar cuáles son los parámetros que deberían obtenerse en forma más precisa y cuáles pueden ser estimados sin afectar considerablemente los resultados. Por ejemplo, un parámetro de entrada puede tener una gran incertidumbre asociada a su valor, pero un efecto pequeño sobre las variables de salida. En

contraste, un parámetro de entrada puede tener una pequeña incertidumbre asociada a su valor e influir considerablemente en las variables de salida del modelo. Por lo tanto, un análisis de sensibilidad permite decidir en qué parámetros centrar los esfuerzos para reducir la incertidumbre asociada a su valor, optimizar los recursos y generar un criterio adecuado en la búsqueda de información (Escobar Sierra y Pérez Mesa, 2009; Tilden y Seinfeld, 1982). Adicionalmente, otros objetivos que se pueden perseguir con este análisis son: (a) comprobar que la salida del modelo se comporta como se esperaba cuando una variable de entrada varía, (b) detectar los efectos de interacción entre los parámetros y (c) determinar una posible simplificación del modelo (Sánchez de Óleo, 2016).

En la literatura, se encuentra una amplia variedad de métodos para implementar un análisis de sensibilidad. En general, los métodos se clasifican en locales y globales. Los primeros requieren la definición de un valor nominal o de referencia de los parámetros del modelo. Luego, consideran pequeños cambios alrededor de dichos valores para estudiar su efecto en las variables de salida. Los modelos locales proveen información detallada que solo es válida dentro de un rango estrecho alrededor del valor nominal de los parámetros. En contraste, los modelos globales tienen en cuenta cambios en el valor de los parámetros del modelo en un amplio rango. El efecto de dichos cambios en las variables de salida suele ser cuantificado mediante medidas estadísticas, como la varianza. Estos métodos permiten obtener información estadística que es válida en un amplio rango de valores de los parámetros del modelo. Sin embargo, la desventaja de este tipo de análisis es la pérdida de información detallada del comportamiento del modelo. En consecuencia, el tipo de método seleccionado depende principalmente del objetivo del análisis de sensibilidad y de la información que se desea obtener (ten Broeke, 2017).

Los métodos locales de análisis de sensibilidad son empleados generalmente para (a) comprender el sistema en estudio resaltando los aspectos más relevantes, (b) eliminar datos que no son significativos, (c) determinar el efecto de las variaciones de los parámetros sobre el comportamiento del sistema y (d) priorizar la determinación más exacta de los parámetros que introducen más incertidumbre en la salida del modelo (Cacuci et al., 2003). Debido a ello, en el presente capítulo se presenta un análisis de sensibilidad basado en un método local denominado método de perturbación de parámetros. En este método, inicialmente se define un conjunto de valores de referencia de los parámetros del modelo. Luego, se introduce un determinado cambio en uno de los parámetros y se computa el efecto que dicho cambio ocasionó en las variables de salida. Cuanto mayor es el efecto, mayor es la sensibilidad del modelo a ese parámetro. Para jerarquizar la sensibilidad del modelo a todos los parámetros, se repite el procedimiento para cada uno de ellos (Chapra, 2008; ten Broeke, 2017).

El objetivo del presente capítulo fue estudiar el comportamiento de un sistema de encapsulación a través de un análisis de sensibilidad aplicado al modelo presentado y validado en el **Capítulo 3**. Este modelo considera que el sistema se encuentra inmerso en una solución acuosa y que las principales

especies que conforman el sistema son agua (ocluida), activo (disuelto y no disuelto) y la matriz encapsulante. Además, se definieron parámetros adimensionales que caracterizan a los fenómenos de transporte incluidos en el modelo: difusión, disolución del activo y erosión e hinchamiento de la matriz. Estos parámetros fueron utilizados en el análisis de sensibilidad para evaluar y jerarquizar el efecto de cada mecanismo sobre el comportamiento de sistema de encapsulación.

6.2. Teoría

En el presente capítulo se realizó un análisis de sensibilidad del modelo adimensional para describir la cinética de liberación de activos encapsulados presentado y validado en el **Capítulo 3**. El modelo fue desarrollado considerando el sistema en estudio descrito en la **Sección 3.2.1**. Brevemente, el sistema en estudio consistió en una esfera de radio R inmersa en una solución acuosa. Las principales especies que conforman el sistema son: una matriz polimérica encapsulante (matriz), agua ocluida y un activo (disuelto y no disuelto). Se consideró que el agua del medio circundante puede difundir dentro del sistema provocando la erosión e hinchamiento de la matriz y la disolución del activo no disuelto.

El desarrollo del modelo fue presentado en la **Sección 3.2.2**. Fundamentalmente, consistió en plantear, adimensionalizar y escalar los balances de materia para cada una de las especies que conforman el sistema. Se incluyeron ecuaciones constitutivas para describir el comportamiento viscoelástico de la matriz y la variación de los coeficientes de transporte que caracterizan a cada mecanismo. Para su resolución se consideró que los fenómenos de transporte ocurren principalmente en la dirección radial r y que la difusión del activo no disuelto y la variación del volumen del sistema son despreciables. El modelo adimensional está conformado por las **Ecs. (3.19)-(3.35)**. Las variables adimensionales fueron definidas en la **Tabla 3.1** y los parámetros adimensionales en la **Tabla 3.2**.

6.3. Materiales y métodos

6.3.1. Variables de entrada

Las variables de entrada del modelo en estudio son los parámetros adimensionales que se listan en la **Tabla 3.2**. Estos parámetros fueron obtenidos durante el proceso de adimensionalización y escalado (**Sección 3.2.3**) y están definidos en base a valores característicos del sistema. Cada uno de los parámetros adimensionales es una relación de tiempos característicos (t_c) de los mecanismos considerados en el modelo.

6.3.2. Variables de salida

Las variables de salida fueron seleccionadas convenientemente para estudiar los efectos principales de las variables de entrada sobre el comportamiento del modelo. Estas variables son la fracción de activo liberado promedio en el volumen (Φ_L), la fracción de agua absorbida promedio en el volumen (Φ_w), la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz promedio en el volumen (Φ_σ) y la fracción de polímero remanente promedio en el volumen (Φ_M), definidas en las **Ecs. (3.36)-(3.39)**.

6.3.3. Análisis de sensibilidad

El análisis de sensibilidad se realizó a través de un método de perturbación de parámetros (Chapra, 2008; ten Broeke, 2017). El objetivo principal fue determinar el impacto sobre las variables de salida que tienen ciertas perturbaciones en las variables de entrada (parámetros adimensionales característicos) del modelo. Estas perturbaciones ocurren alrededor de valores nominales de las variables de entrada (Iooss y Saltelli, 2017). En consecuencia, el análisis involucra la selección adecuada de estos valores nominales (condición de referencia). Además, los parámetros adimensionales fueron agrupados según su definición con la finalidad de facilitar el estudio de su impacto sobre las variables de salida.

El efecto relativo de cada parámetro estudiado sobre el perfil de Φ_L fue evaluado a través del error integral relativo de la condición perturbada P respecto a la condición de referencia CR (EIR_P),

$$EIR_P = \frac{EIA_P}{A_{CR}} \times 100 = \frac{\int_0^t \sqrt{(\Phi_{L,P} - \Phi_{L,CR})^2} dt}{\int_0^t \Phi_{L,CR} dt} \times 100 \quad (6.1)$$

donde EIA_P es el error integral absoluto para la condición perturbada P [s] y A_{CR} es el área bajo el perfil del $\Phi_{L,CR}$ [s], $\Phi_{L,CR}$ [-] y $\Phi_{L,P}$ [-] son el perfil de Φ_L en CR y P , respectivamente. El EIA_P es la distancia entre los perfiles $\Phi_{L,CR}$ y $\Phi_{L,P}$. Los valores de EIA_P y A_{CR} fueron estimados por la regla de los trapecios (Marton et al., 2008).

Los valores característicos del sistema fueron establecidos según la **Tabla 3.3**. Además, k_A y k_w fueron considerados iguales a 10 (Rothstein et al., 2009).

6.3.3.1. Condición de referencia

La condición de referencia (CR) se definió fijando a todos los parámetros adimensionales iguales a uno (**Tabla 6.1**). La selección de esta condición se debió a que cada término de las ecuaciones que conforman el modelo (**Ecs. 3.19-3.35**) tiene un orden de magnitud igual a uno como resultado del proceso de adimensionalización y escalado (Bejan, 2013).

6.3.3.2. Condiciones perturbadas

Los parámetros estudiados fueron agrupados según los fenómenos involucrados en sus definiciones (**Tabla 3.2**). Es decir, tensiones ($\Gamma_w, \delta_\sigma, \zeta$), erosión (δ_w, δ_M), disolución y difusión del activo ($\delta_s, \gamma_A, \theta, \alpha_A$) y transferencia de materia externa de agua (Λ).

Se definieron 19 condiciones de simulación con la finalidad de estudiar el efecto relativo de las variables operativas sobre los principales fenómenos de transporte. En cada condición se varió un solo parámetro adimensional respecto a la CR . Los parámetros fueron variados con valores entre 0,1 y 100 (**Tabla 6.1** y **Tabla 6.2**). Un parámetro adimensional con un valor menor a 1 indica una condición en donde el tiempo característico del fenómeno relacionado es menor respecto al correspondiente en la CR y viceversa.

Parámetros relacionados con las tensiones. El efecto de las condiciones operativas sobre las tensiones desarrolladas en la matriz encapsulante y sobre el perfil de liberación del activo fue analizado a través de los parámetros relacionados con las tensiones: Γ_w, δ_σ y ζ (**Tabla 3.2**). Estos parámetros pueden vincularse a través del número adimensional de Deborah (De) (Vrentas y Vrentas, 2013),

$$De = \frac{\mu_0/E_0}{R^2/D_{w,0}} = \frac{t_c \text{ relajación (viscoso-elástico)}}{t_c \text{ difusión de agua}} \quad (6.2)$$

Debido a que estos parámetros se encuentran íntimamente relacionados, para ser consistentes con la física del sistema en estudio no pueden variar en forma independiente, sino que deben ser analizados en conjunto. En consecuencia, los comportamientos reológicos límites de la matriz encapsulante fueron estudiados.

Por un lado, se consideró una matriz puramente elástica, es decir que su estructura no cambia durante el proceso de difusión de agua (Caccavo et al., 2015; Vrentas y Vrentas, 2013). Luego, las **Ecs. (6.3)-(6.5)** fueron usadas para adoptar el valor de los parámetros del modelo y definir las condiciones de simulación $EL1, EL2$ y $EL3$ (**Tabla 6.1**).

$$t_c \text{ difusión de agua} \gg t_c \text{ tensiones} \implies \Gamma_w \gg 1 \quad (6.3)$$

$$t_c \text{ relajación (viscoso-elástico)} \gg t_c \text{ difusión de agua} \implies De \gg 1 \quad (6.4)$$

$$t_c \text{ relajación (viscoso-elástico)} \gg t_c \text{ relajación (viscoso-total)} \implies \zeta \gg 1 \quad (6.5)$$

Por otro lado, se consideró una matriz puramente viscosa, es decir que la matriz encapsulante se relaja instantáneamente (Caccavo et al., 2015; Vrentas y Vrentas, 2013). Luego, las **Ecs. (6.6)-(6.8)** fueron usadas para adoptar el valor de los parámetros del modelo y definir las condiciones de simulación

V1 y V2 (**Tabla 6.1**).

$$t_c \text{ difusión de agua} \ll t_c \text{ tensiones} \implies \Gamma_w \ll 1 \quad (6.6)$$

$$t_c \text{ relajación (viscoso-elástico)} \ll t_c \text{ difusión de agua} \implies De \ll 1 \quad (6.7)$$

$$t_c \text{ relajación (viscoso-elástico)} \ll t_c \text{ relajación (viscoso-total)} \implies \zeta \ll 1 \quad (6.8)$$

Tabla 6.1. Condición de referencia (*CR*) y condiciones perturbadas para estudiar el efecto de las tensiones (*EL*, *V*).

Condición	Parámetros										
	Γ_w	δ_w	De	δ_σ	ζ	δ_M	δ_s	γ_A	θ	Λ	α_A
CR	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
EL1	10	1	10	1	10	1	1	1	1	1	1
EL2	10	1	100	0,1	10	1	1	1	1	1	1
EL3	10	1	10	10	100	1	1	1	1	1	1
V1	0,1	1	0,1	1	0,1	1	1	1	1	1	1
V2	0,1	1	0,01	10	0,1	1	1	1	1	1	1

Parámetros relacionados con la erosión de la matriz encapsulante, la disolución y difusión del activo encapsulado y la difusión externa de agua. De similar manera a la sección previa, los efectos de la erosión sobre las variables analizadas fueron estudiados variando los parámetros δ_w y δ_M (condiciones *ER*). Los efectos de la disolución y la difusión del activo fueron estudiados mediante los parámetros δ_s , γ_A , θ y α_A (condiciones *DD*). Por último, la transferencia de materia externa de agua fue analizada variando Λ (condiciones *TE*). El valor de los parámetros para cada condición perturbada son presentados en la **Tabla 6.2**.

6.3.4. Resolución numérica

La resolución numérica se llevó a cabo en forma similar a la etapa de validación del modelo (**Sección 3.3.3**). Es decir, el sistema de **Ecs. (3.19)-(3.35)** fue discretizado a través de un método implícito y resuelto iterativamente por un método de Gauss-Seidel con un error de convergencia de 10^{-5} . El paso de tiempo seleccionado fue de 0,1 s. El dominio radial fue dividido en $P = 20$ segmentos. El modelo fue implementado en GNU/Octave 4.4 (**Anexo A.14**). Las simulaciones fueron llevadas a cabo en el clúster Pirayú (Pirayú, 2021). Cada simulación tardó aproximadamente 9 h en converger.

Tabla 6.2. Condiciones perturbadas para estudiar el efecto de la erosión de la matriz encapsulante (*ER*), de la disolución y difusión del activo (*DD*) y de la transferencia de materia externa de agua (*TE*).

Condición	Parámetros										
	Γ_w	δ_w	De	δ_σ	ζ	δ_M	δ_s	γ_A	θ	Λ	α_A
<i>ER1</i>	1	0,1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>ER2</i>	1	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>ER3</i>	1	1	1	1	1	0,1	1	1	1	1	1
<i>ER4</i>	1	1	1	1	1	10	1	1	1	1	1
<i>DD1</i>	1	1	1	1	1	1	0,1	1	1	1	1
<i>DD2</i>	1	1	1	1	1	1	10	1	1	1	1
<i>DD3</i>	1	1	1	1	1	1	1	0,1	1	1	1
<i>DD4</i>	1	1	1	1	1	1	1	10	1	1	1
<i>DD5</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	0,1	1	1
<i>DD6</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1	1
<i>DD7</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,1
<i>DD8</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10
<i>TE1</i>	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0,1	1
<i>TE2</i>	0	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1

6.4. Resultados y discusión

6.4.1. Condición de referencia

La **Fig. 6.1** muestra los perfiles de Φ_L , Φ_w , Φ_σ y Φ_M obtenidos para la condición *CR*. Se puede observar que todas las curvas presentan una forma sigmoidea. Inicialmente, para $\tilde{t}^{1/2} < 0,30$, Φ_L es prácticamente cero. Esto se debe a que la velocidad de hidratación inicial de la matriz es lenta, por lo tanto la concentración de agua disponible para disolver al activo no disuelto es limitada. Como consecuencia, el activo no puede difundir hacia el medio. Experimentalmente, esta situación puede relacionarse con el bloqueo de los poros superficiales debido a la hidratación e hinchamiento de la matriz. La forma no lineal convexa inicial del perfil de Φ_L podría estar asociada a un efecto superficial (Reynolds et al., 1998). Asimismo, la baja concentración de agua presente en el sistema durante este periodo, limita a la depolimerización de la matriz ($\Phi_M \approx 1$). Luego, durante el periodo comprendido entre $0,3 < \tilde{t}^{1/2} < 1,5$, ocurren las principales variaciones en los perfiles de las variables analizadas.

Por un lado, Φ_L aumenta en forma aproximadamente lineal con $\tilde{t}^{1/2}$, mientras que Φ_M disminuye con una tendencia similar. La velocidad de liberación del activo muestra un comportamiento inverso a la velocidad de erosión de la matriz. Experimentalmente, durante esta etapa la liberación del activo presenta una fuerte dependencia con el fenómeno de erosión (You et al., 2016). Por otro lado, la cinética de hidratación presenta dos fases durante este periodo. Al principio, en $0,30 < \tilde{t}^{1/2} < 0,60$, Φ_w aumenta linealmente con $\tilde{t}^{1/2}$ mientras que Φ_σ disminuye en forma similar. Luego, en $0,60 < \tilde{t}^{1/2} < 1,5$, las velocidades de hidratación e hinchamiento se hacen más lentas. En $\tilde{t}^{1/2} \approx 1$, Φ_σ se hace cero y en $\tilde{t}^{1/2} \approx 1,25$ alcanza su valor mínimo (máximo hinchamiento) (Chiarappa et al., 2018). Finalmente, cuando $\tilde{t}^{1/2} > 1,5$, la velocidad de aumento de Φ_L se hace más lenta y su perfil tiende progresivamente a 1, mientras el perfil de Φ_M tiende asintóticamente a 0. En el caso de Φ_w , su perfil se aproxima a 1 con una dependencia lineal con $\tilde{t}^{1/2}$, mientras que Φ_σ se aproxima a 0.

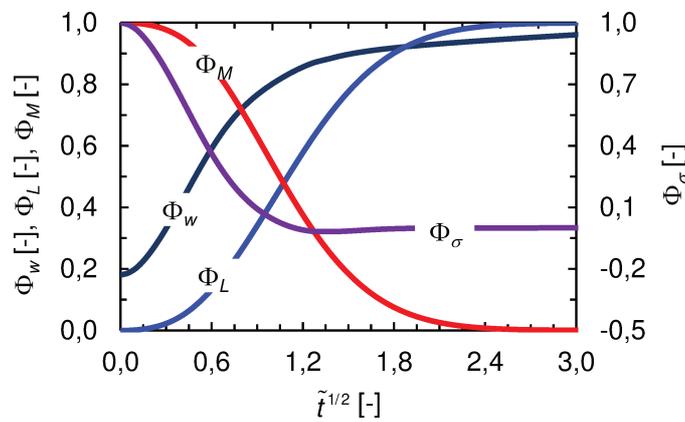


Figura 6.1. Perfiles de la fracción de activo liberado (Φ_L), la fracción de agua absorbida (Φ_w), la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz (Φ_σ) y de la fracción de polímero remanente (Φ_M) para la condición de referencia (CR) definida en la **Tabla 6.1**.

6.4.2. Parámetros relacionados con las tensiones

6.4.2.1. Matriz elástica

La **Fig. 6.2** muestra los perfiles de Φ_L , Φ_w , Φ_σ y Φ_M para las condiciones CR , $EL1$, $EL2$ y $EL3$ presentadas en la **Tabla 6.1**. En estas condiciones perturbadas, los parámetros adimensionales relacionados con el comportamiento reológico de la matriz fueron variados.

En primer lugar, se observa que cuando la matriz tiene un comportamiento elástico, la velocidad de variación de Φ_σ es menor respecto a la correspondiente a CR , además Φ_σ no muestra cambios de signo en el tiempo de simulación (**Fig. 6.2.c**). Estas diferencias se ven reflejadas en los perfiles de Φ_L , Φ_w y Φ_M (**Figs. 6.2.a, b y d**). En general, los perfiles de Φ_w y Φ_L de las condiciones EL muestran

valores menores comparados con CR . En el caso de Φ_M , los perfiles correspondientes a las condiciones EL muestran valores mayores respecto a CR , pero todos los perfiles alcanzan el mismo valor límite.

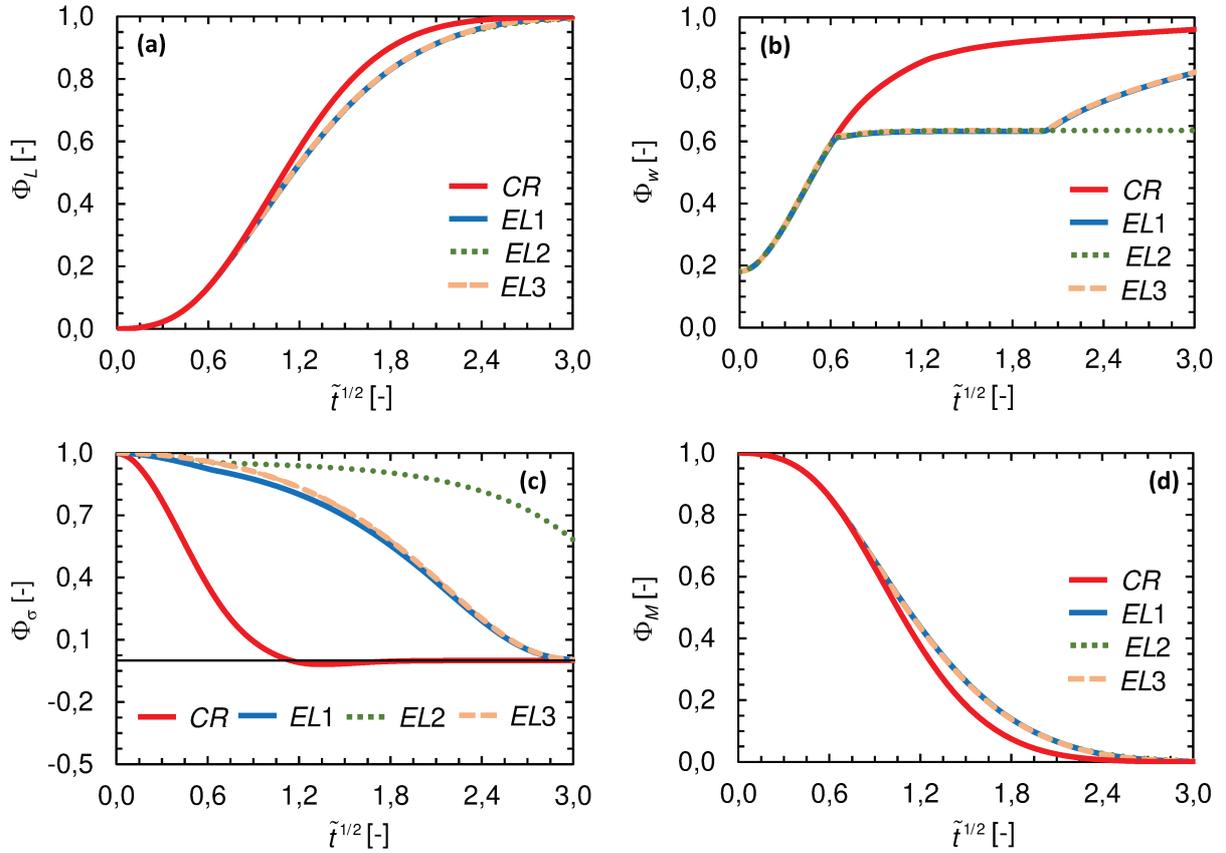


Figura 6.2. Perfiles de (a) la fracción de activo liberado (Φ_L), (b) la fracción de agua absorbida (Φ_w), (c) la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz (Φ_σ) y de (d) la fracción de polímero remanente (Φ_M) para las condiciones CR , $EL1$, $EL2$ y $EL3$ definidas en la **Tabla 6.1**.

En particular, los perfiles de Φ_w de las condiciones consideradas están superpuestos hasta $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,6$. Luego, los perfiles de Φ_w de las condiciones EL permanecen en un valor constante $\Phi_w \approx 0,6$. Este comportamiento puede ser explicado porque la absorción inicial de agua causa reacomodamientos estructurales y la reorientación de las cadenas poliméricas en la matriz elástica que pueden provocar la exclusión de agua. Como se mencionó en la **Sección 3.4.2.2**, esta exclusión parcial de agua depende del valor de De (De Kee et al., 2005; Fan et al., 2009; Weitsman, 2012). Como consecuencia de la menor disponibilidad de agua en las condiciones EL respecto a CR , la velocidad de erosión y la velocidad de disolución del activo son menores que las correspondientes a CR .

En segundo lugar, el efecto de De sobre los perfiles de Φ_L , Φ_w , Φ_σ y Φ_M fue analizado mediante las condiciones $EL1$ ($De = 10$) y $EL2$ ($De = 100$) (**Tabla 6.1**). El perfil de Φ_σ para $EL1$ tiene valores menores y disminuye más rápido que el perfil de $EL2$ (**Fig. 6.2.c**). Esto se puede explicar

a partir de la definición de De (**Ec. 6.2**). Un valor de De mayor significa que la relación entre los tiempos característicos de relajación de la matriz y de difusión de agua es mayor. Consecuentemente, el comportamiento elástico de la matriz y el desarrollo de tensiones que se opone a la entrada de agua serán mayores. En cuanto a los perfiles de Φ_w de las condiciones $EL1$ y $EL2$ (**Fig. 6.2.b**), están superpuestos hasta $\tilde{t}^{1/2} \approx 2$. A partir de allí, el perfil de $EL1$ comienza a aumentar aproximándose a 1. Por su parte, el perfil de $EL2$ se mantiene en un valor constante igual a 0,6 hasta $\tilde{t}^{1/2} = 3$. Como se mencionó previamente, mayores valores de De están asociados a una mayor exclusión de agua y se requieren tiempos más largos para que ocurra la segunda etapa de absorción de agua. Las **Figs. 6.2.(a)** y **(d)** muestran que el efecto de De sobre los perfiles de Φ_L y Φ_M no es apreciable.

En tercer lugar, el efecto de ζ sobre los perfiles de Φ_L , Φ_w , Φ_σ y Φ_M fue analizado por medio de las condiciones $EL1$ ($\zeta = 10$) y $EL3$ ($\zeta = 100$) (**Tabla 6.1**). En $EL3$ el valor de ζ es 10 veces mayor que en $EL1$, sin embargo se observa una ligera diferencia entre los perfiles de Φ_σ que no se vio reflejada en los perfiles de Φ_L , Φ_w y Φ_M (**Fig. 6.2**).

Las formas características observadas en los perfiles de Φ_w en las condiciones $EL1$ y $EL2$ (**Fig. 6.2.b**) pueden ser explicadas mediante el análisis de las componentes Fickiana y no-Fickiana del flujo de agua (**Fig. 6.3**). El análisis es válido tanto en la superficie de la partícula como en su interior, debido a que se observó un comportamiento semejante en ambos dominios. Cuando $\tilde{t}^{1/2} < 0,60$, los flujos netos para las condiciones CR , $EL1$ y $EL2$ son similares. Inicialmente, el gradiente de concentración de agua es máximo, esto resulta en un flujo Fickiano máximo. En simultáneo, aparece un flujo no-Fickiano opuesto y creciente generado a partir del gradiente de tensiones. Este flujo produce una leve disminución del flujo neto. En la medida en que el agua ingresa a la partícula, contribuye en la depolimerización de la matriz. Por lo tanto, los parámetros de la ecuación de Maxwell disminuyen (**Ecs. 3.2, 3.15 y 3.14**). Esto afecta al gradiente de tensiones produciendo un máximo valor (absoluto) sobre el flujo no-Fickiano en $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,30$. Luego, el flujo no-Fickiano se hace menos negativo, es decir que reduce la oposición al flujo Fickiano, y el flujo neto aumenta. En $0,6 < \tilde{t}^{1/2} < 2$, son observados diferentes comportamientos de los flujos entre las condiciones analizadas. En CR , el agua absorbida alivia las tensiones en la matriz. Como consecuencia, se genera un flujo no-Fickiano positivo que contribuye a la entrada de agua. Este flujo alcanza un valor máximo y después tiende a cero debido a la depolimerización de la matriz (**Fig. 6.3.a**). En las condiciones $EL1$ y $EL2$, las componentes no Fickianas de los flujos de agua no alcanzan valores positivos después del máximo (**Figs. 6.3.b-c**), es decir que no mantienen el efecto de alivio de las tensiones durante tanto tiempo como en CR y vuelven a oponerse a los flujos Fickianos. Esto se debe a que las matrices son más elásticas y reaccionan más rápido a los cambios. En este momento, los flujos no-Fickianos son menores que los flujos Fickianos y estos últimos pueden recuperarse y aumentar a medida que el agua se consume. Durante este periodo,

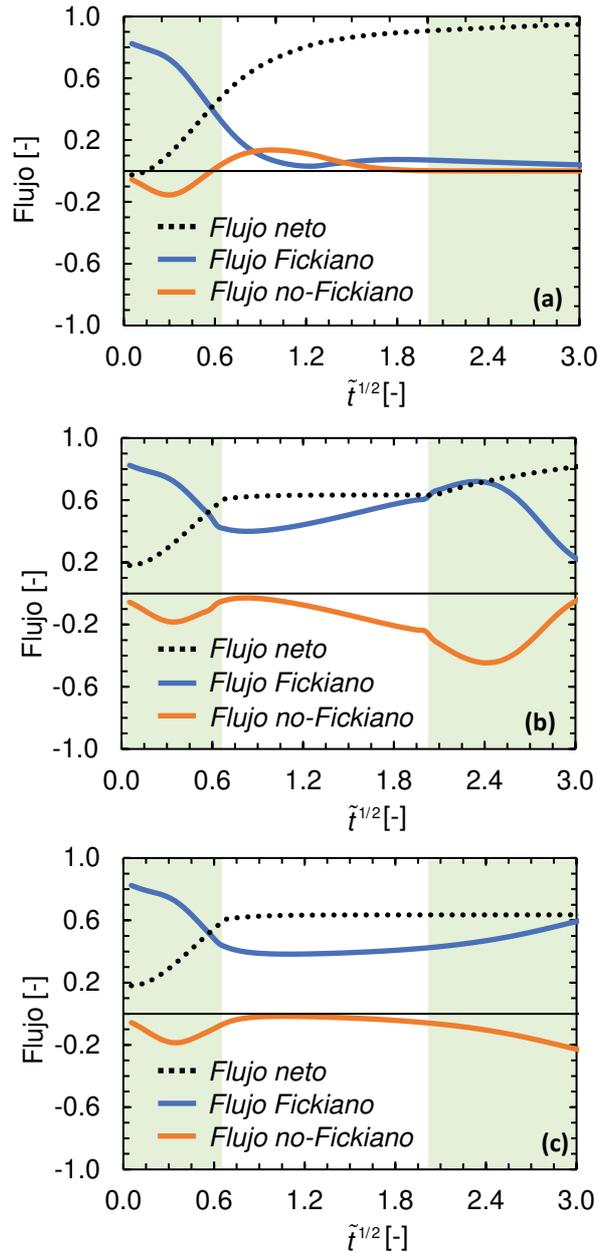


Figura 6.3. Perfiles del flujo Fickiano, del flujo no-Fickiano y el flujo neto para las condiciones (a) *CR*, (b) *EL1* y (c) *EL2* definidas en la **Tabla 6.1**.

los perfiles de los flujos Fickianos y no-Fickianos son especulares, por lo tanto se cancelan y los flujos netos resultan en una meseta. Particularmente, en la condición *EL1*, el flujo no-Fickiano dura más y es más pronunciado (mayor hinchamiento). Esto es porque la matriz de la condición *EL2* es más elástica que la correspondiente a la de *EL1* y reacciona más rápido a los cambios. Finalmente, en $\tilde{t}^{1/2} > 2$, el flujo Fickiano se vuelve lo suficientemente grande como para oponerse al efecto del flujo no-Fickiano. El efecto neto es que la difusión de agua comienza a aumentar otra vez. En el caso de la condición *EL2*, el aumento del flujo Fickiano no es lo suficientemente grande (el flujo no-Fickiano

se opone en forma más controlada) y se mantiene la meseta hasta el final del tiempo de simulación ($\tilde{t}^{1/2} = 3$) (**Fig. 6.3**).

6.4.2.2. Matriz viscosa

La **Fig. 6.4** muestra los perfiles de Φ_L , Φ_w , Φ_σ y Φ_M obtenidos para las condiciones V presentadas en la **Tabla 6.1**. En $V1$ se estableció un valor de De mayor que en $V2$, es decir que la matriz de la primera condición fue considerada menos viscosa que la matriz de la segunda.

En primer lugar, se observa que si la matriz tiene un comportamiento viscoso, Φ_σ disminuye más rápido que en CR . En segundo lugar, en $\tilde{t}^{1/2} < 0,21$, el perfil de Φ_σ de $V1$ disminuye más lento que el correspondiente a la condición $V2$. Luego, en $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,32$, Φ_σ de $V1$ toma valores negativos,

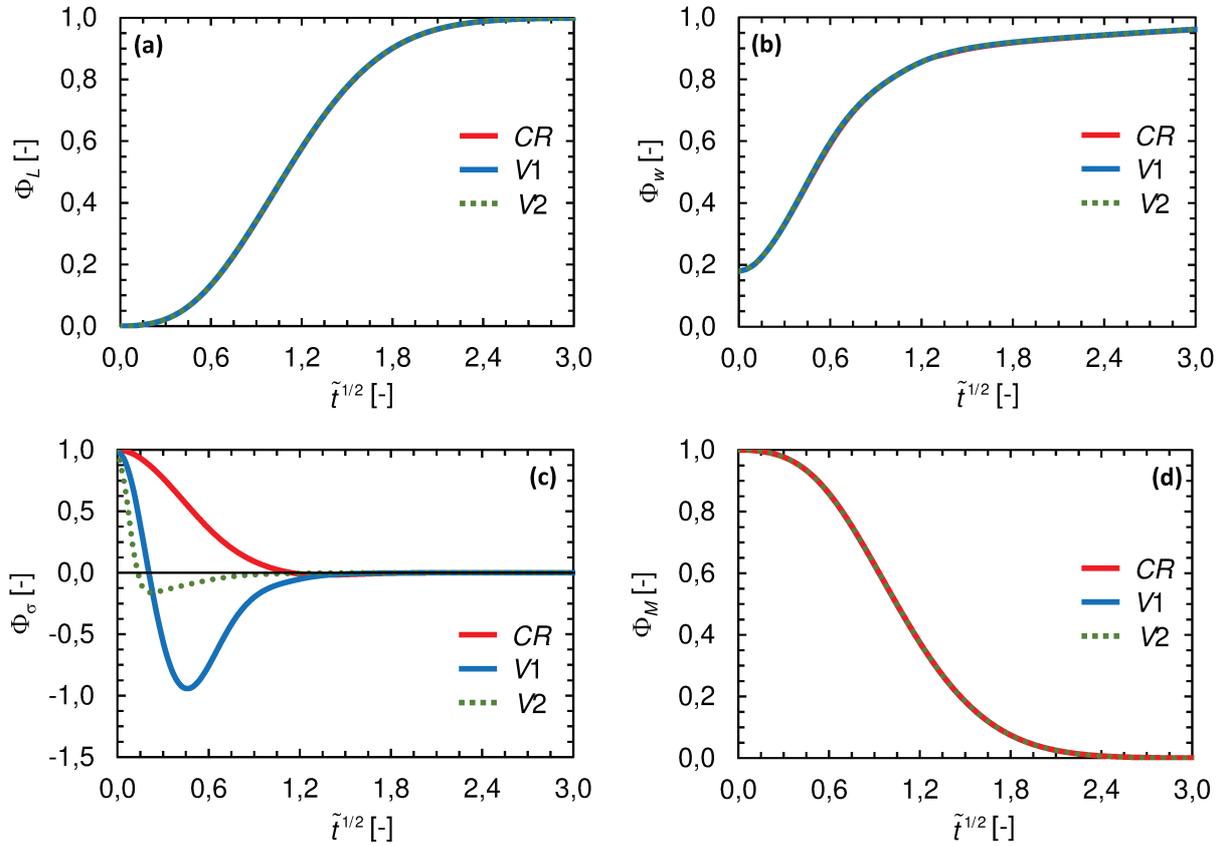


Figura 6.4. Perfiles de (a) la fracción de activo liberado (Φ_L), (b) la fracción de agua absorbida (Φ_w), (c) la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz (Φ_σ) y de (d) la fracción de polímero remanente (Φ_M) para las condiciones CR , $V1$ y $V2$ definidas en la **Tabla 6.1**.

alcanza un valor mínimo de $\Phi_\sigma \approx -1$ en $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,5$ y vuela a aumentar tendiendo lentamente a cero. En cuanto al perfil de Φ_σ de $V2$, toma valores negativos en $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,21$, alcanza un valor mínimo de menor valor absoluto y en un tiempo más corto que $V1$ ($\Phi_\sigma \approx -0,15$ en $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,37$) y luego aumenta

tendiendo a cero (**Fig. 6.4.c**). Este comportamiento coincide con lo reportado en la literatura. Como se mencionó en la **Sección 3.4.2.2**, Chiarappa et al. (2018) informaron que cuanto mayor es el valor absoluto del mínimo de las tensiones en la matriz, mayor es su hinchamiento, es decir que la matriz es menos viscosa. Por su parte, Grassi et al. (2007) notaron que cuanto mayor es el comportamiento viscoso de la matriz, el hinchamiento máximo (mínimo de las tensiones en la matriz) ocurre antes y tiende más rápido a cero debido a los menores tiempos de relajación. Finalmente, estos cambios en los perfiles de Φ_σ respecto a CR no se vieron reflejados en los perfiles de Φ_L , Φ_w y Φ_M (**Fig. 6.4.a, b y d**).

6.4.3. Parámetros relacionados con la erosión

La **Fig. 6.5** muestra los perfiles de Φ_L , Φ_w , Φ_σ y Φ_M obtenidos para las condiciones ER presentadas en la **Tabla 6.2**. Por un lado, el efecto de la erosión puede ser analizado a través de las condiciones $ER1$ ($\delta_w = 0,1$) y $ER2$ ($\delta_w = 10$). El parámetro δ_w relaciona la velocidad de difusión de agua en la matriz y la velocidad de consumo de agua debido a la depolimerización de la la matriz (**Tabla 3.2**).

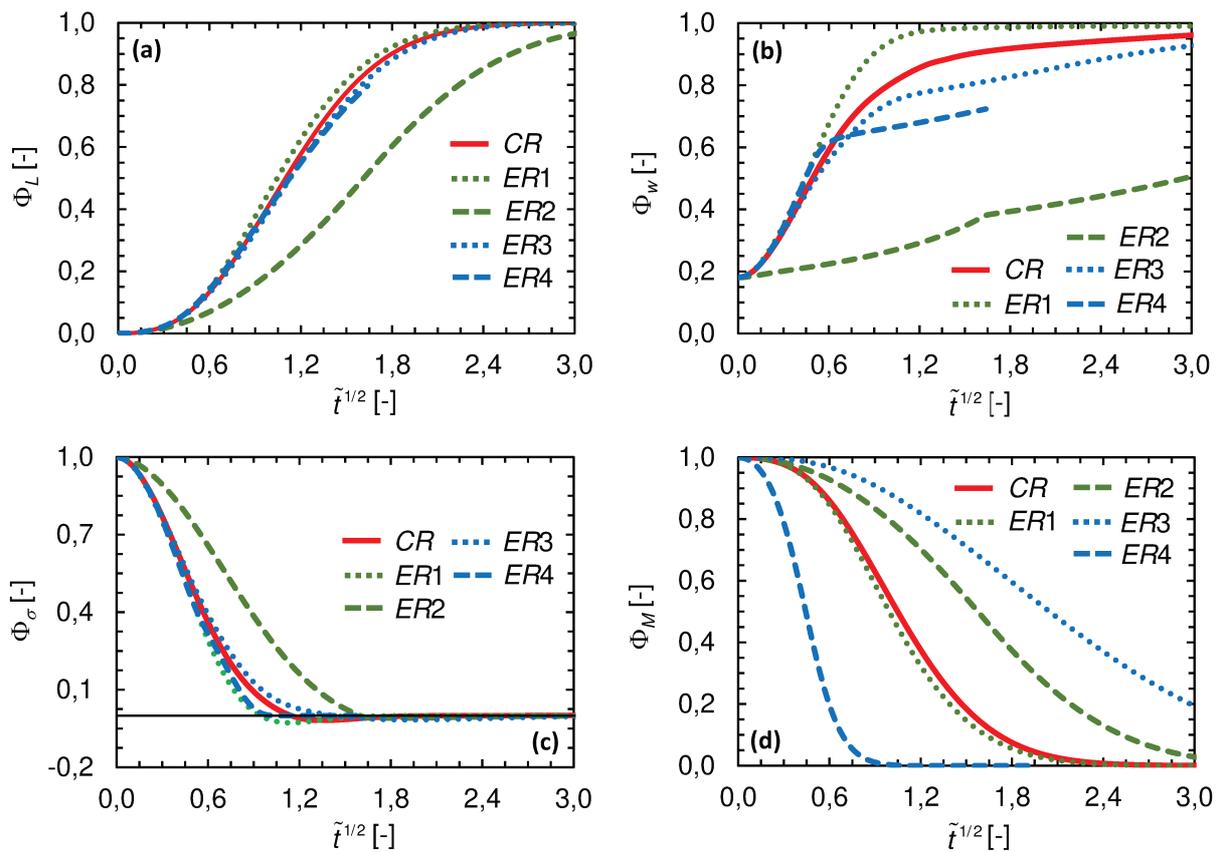


Figura 6.5. Perfiles de (a) la fracción de activo liberado (Φ_L), (b) la fracción de agua absorbida (Φ_w), (c) la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz (Φ_σ) y de (d) la fracción de polímero remanente (Φ_M) para las condiciones CR , $ER1$, $ER2$, $ER3$ y $ER4$ definidas en la **Tabla 6.2**.

Por lo tanto, δ_w afecta directamente a la cantidad de agua disponible dentro del sistema (**Ec. 3.19**). Cuando $\delta_w = 0,1$, el perfil de Φ_w presenta una forma sigmoidea similar a *CR*, pero con un incremento más rápido. Esto es, en $\tilde{t}^{1/2} = 1,30$ Φ_w de *ER1* alcanza un valor de 0,98, mientras que en *CR* es de 0,87 (**Fig. 6.5.b**). Esto podría deberse a que en *ER1* la velocidad de consumo de agua es menor que en *CR*, por lo tanto la concentración de agua disponible dentro del sistema es mayor. Esta mayor disponibilidad de agua tiene un ligero efecto sobre los perfiles de Φ_L , Φ_σ y Φ_M (**Figs. 6.5.a, c y d**). Cuando $\delta_w = 10$, el perfil de Φ_w tiene una forma diferente respecto al obtenido en *CR* (**Fig. 6.5.b**). Inicialmente, Φ_w disminuye respecto a *CR* porque el consumo de agua es más rápido que la difusión de agua dentro de la matriz ($\delta_w > 1$). Este comportamiento puede ser explicado a partir de la evolución temporal de los perfiles de la concentración de agua como una función de la posición radial (**Fig. 6.6**). Se observa que durante los primeros pasos de tiempo, la concentración aumenta en las regiones próximas a la superficie del dominio. Sin embargo, su valor disminuye hacia el interior, haciéndose menor a su valor inicial. Esto podría deberse a que el agua que entra al sistema está siendo consumida por la depolimerización de las cadenas poliméricas presentes en la superficie del dominio. Esto reduciría la difusión de agua dentro de la matriz. En este periodo, la cinética de liberación de activo y de erosión de la matriz son lentas (**Figs. 6.5.a-d**) porque ambos procesos requieren una concentración mínima de agua para ser iniciados (Fu y Kao, 2010; Paarakh et al., 2018). En $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,40$, Φ_w comienza a aumentar linealmente con $\tilde{t}^{1/2}$. En la **Fig. 6.6**, se observa que en este punto gran parte del dominio tiene una concentración de agua mayor a la inicial y para los $\tilde{t}^{1/2}$ siguientes, los perfiles de \tilde{c}_w tienen valores más grandes que el inicial. Como consecuencia, los perfiles de Φ_L y Φ_M comienza a variar en forma más pronunciada (**Figs. 6.5.a-d**). En $\tilde{t}^{1/2} \approx 1,5$, la velocidad de aumento de Φ_w se hace más lenta, alcanzando el 50% de hidratación máxima a $\tilde{t}^{1/2} = 3$ (**Fig. 6.5.b**). Este cambio en la pendiente de Φ_w no tiene un efecto visible sobre los perfiles de Φ_L , Φ_σ y Φ_M (**Figs. 6.5.a, c y d**).

Por otro lado, el efecto de la depolimerización puede ser analizado por medio de las condiciones *ER3* ($\delta_M = 0,1$) y *ER4* ($\delta_M = 10$) (**Tabla 6.2**). Cuando $\delta_M = 0,1$, el perfil de Φ_M muestra una disminución más lenta que en *CR*, quedando un 20% de polímero remanente a $\tilde{t}^{1/2} = 3$ (**Fig. 6.5.d**). El perfil de Φ_w también varía más lentamente respecto al de *CR* y tiene valores menores. Sin embargo, ambos perfiles alcanzan un nivel de hidratación similar en $\tilde{t}^{1/2} = 3$. Adicionalmente, en el perfil de la cinética de hidratación de la condición *ER3* se distinguen dos regiones lineales, una de mayor pendiente entre $0 < \tilde{t}^{1/2} < 1$ y otra en $\tilde{t}^{1/2} > 1$ (**Fig. 6.5.b**). Estos efectos sobre Φ_M y Φ_w , causan una disminución en el perfil de Φ_L respecto a *CR* (**Fig. 6.5.a**) debido a que la concentración de agua disponible para la disolución, la concentración de activo no disuelto y el coeficiente de difusión del activo son menores que para *CR* (Zhang et al., 2003). Cuando $\delta_M = 10$, Φ_M disminuye más rápido que en *CR* y en $\tilde{t}^{1/2} = 1$ prácticamente no hay polímero remanente (**Fig. 6.5.d**). Respecto al perfil de Φ_w , presenta

dos zonas lineales (**Fig. 6.5.b**). Inicialmente, Φ_w es prácticamente igual al correspondiente a CR . Este comportamiento está asociado a la baja depolimerización de la matriz ($\tilde{t}^{1/2} < 0,4$). Luego, para $0,40 < \tilde{t}^{1/2} < 0,69$, Φ_w aumenta más rápido que en CR . Esto se debe a que durante este periodo se produce la máxima velocidad de depolimerización. Finalmente, para $\tilde{t}^{1/2} > 0,69$, la velocidad en que aumenta Φ_w se hace gradualmente más lenta hasta que se alcanza la disolución completa del polímero. Este comportamiento está en concordancia con lo encontrado en la literatura (Zhang et al., 2003). En cuanto a Φ_L , el perfil de $ER4$ difiere levemente respecto al perfil de CR antes de alcanzar la depolimerización total de la matriz (**Fig. 6.5.a**).

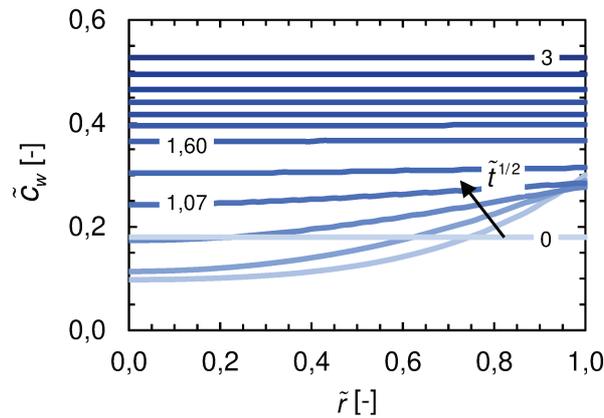


Figura 6.6. Evolución temporal de los perfiles de la concentración adimensional de agua (\tilde{c}_w) en función de la posición radial correspondiente a la condición $ER2$. Se muestran los perfiles desde $\tilde{t}^{1/2} = 0$ hasta $\tilde{t}^{1/2} = 3$ con un $\Delta\tilde{t}^{1/2} = 0,27$.

6.4.4. Parámetros relacionados con la disolución y difusión del activo

El parámetro δ_s caracteriza a la cinética de disolución del activo, θ a su solubilidad y γ_A y α_A caracterizan a la difusión interna y externa del activo, respectivamente. Como se observa en la **Fig. 6.7**, estos parámetros solo afectaron notablemente al perfil de Φ_L . El efecto de δ_s sobre el perfil de Φ_L fue analizado a través de las condiciones $DD1$ ($\delta_s = 0,1$) y $DD2$ ($\delta_s = 10$). Cuando $\delta_s = 0,1$, la concentración de activo disuelto disponible para difundir hacia el medio es menor que en CR . En consecuencia, los valores del perfil de Φ_L de $DD1$ son menores que los de CR durante todo el tiempo de simulación (**Fig. 6.7.a**). Además, Φ_L tiene valores cercanos a cero hasta $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,5$, luego aumenta lentamente con una relación aproximadamente lineal con $\tilde{t}^{1/2}$. En $\tilde{t}^{1/2} = 3$, alrededor del 45% del activo permanece encapsulado. Cuando $\delta_s = 10$, la cinética de liberación del activo es más rápida que en CR (**Fig. 6.7.a**). Esto se debe a que todo el activo encapsulado, inicialmente no disuelto, se disuelve muy rápido y queda disponible para su liberación (Paarakh et al., 2018). En $\tilde{t}^{1/2} = 1$,

prácticamente todo el activo encapsulado ya no está contenido en la matriz.

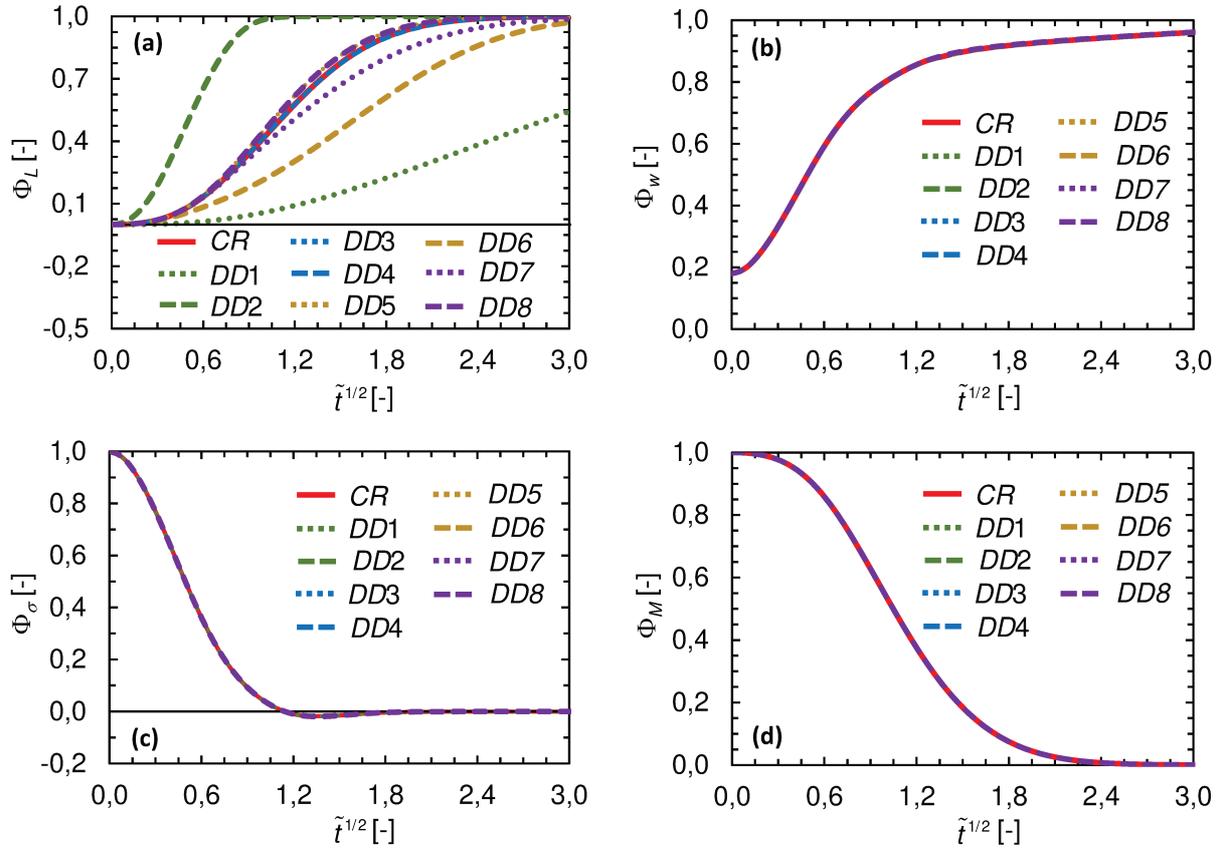


Figura 6.7. Perfiles de (a) la fracción de activo liberado (Φ_L), (b) la fracción de agua absorbida (Φ_w), (c) la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz (Φ_σ) y de (d) la fracción de polímero remanente (Φ_M) para las condiciones CR , $DD1$, $DD2$, $DD3$, $DD4$, $DD5$, $DD6$, $DD7$ y $DD8$ definidas en la **Tabla 6.2**.

El efecto de γ_A sobre el perfil de Φ_L fue analizado mediante las condiciones $DD3$ ($\gamma_A = 0,1$) y $DD4$ ($\gamma_A = 10$). Los perfil de Φ_L obtenidos en ambas condiciones y en CR se encuentran superpuestos. Esto significa que no hay diferencias observables entre estos perfiles.

El efecto de θ sobre los perfiles de Φ_L fue analizado a través de las condiciones $DD5$ ($\theta = 0,1$) y $DD6$ ($\theta = 0,10$). Cuando $\theta = 0,1$, el perfil de Φ_L aumenta ligeramente más rápido que el perfil de CR . Esto se debe a que el t_c de disolución del activo es menor que el t_c de disolución máxima del activo (**Tabla 3.2**). En otras palabras, la concentración del activo encapsulado es menor que su solubilidad en la matriz. En oposición, cuando $\theta = 10$, el activo es escasamente soluble en la matriz y el perfil de Φ_L para esta condición aumenta más lentamente que para CR (McClements, 2015; Paarakh et al., 2018; Školáková et al., 2019).

El efecto de la relación entre la resistencia interna a la difusión de agua y la resistencia externa a la

difusión de activo (α_A) fue estudiado por medio de las condiciones *DD7* ($\alpha_A = 0,1$) y *DD8* ($\alpha_A = 10$). Cuando $\alpha_A = 0,1$, la cinética de liberación de activo es menor que el correspondiente a *CR*. Lo opuesto es observado para las simulaciones en que $\alpha_A = 10$ (**Fig. 6.7.a**). Sin embargo, el efecto de $\alpha_A = 0,1$ sobre el perfil de Φ_L es más pronunciado comparado con el efecto de $\alpha_A = 10$. [Harland et al. \(1988\)](#) y [Zhang et al. \(2003\)](#) reportaron que la resistencia externa a la difusión del activo depende de la velocidad de agitación del medio y de la solubilidad del activo. En efecto, un aumento de la velocidad de agitación y/o en la solubilidad del activo podría provocar una disminución de la resistencia externa de difusión del activo (mayores valores de α_A).

6.4.5. Parámetros relacionados con la transferencia externa de agua

La **Fig. 6.8** muestra los perfiles de Φ_L , Φ_w , Φ_σ y Φ_M para las condiciones *TE* presentadas en la **Tabla 6.2**. Las simulaciones hechas para las condiciones *TE1* ($\Lambda = 0,1$) y *TE2* ($\Lambda = 10$) permiten analizar el efecto de Λ sobre el sistema en estudio. En ambas condiciones, las simulaciones fueron llevadas a cabo considerando $\Gamma_w = 0$ (**Tabla 6.2**). Cuando $\Lambda = 0,1$, la resistencia interna a la difusión de agua es menor que la resistencia externa (**Tabla 3.2**). El perfil de Φ_w para la condición *TE1* es menor que el correspondiente a *CR*. Esto resulta consistente si se tiene en cuenta que el caso límite de esta situación ($\Lambda \rightarrow 0$) es la condición de borde aislado, es decir que la superficie de la partícula es impermeable al agua. Inicialmente, el perfil Φ_w presenta una forma ligeramente convexa hasta $\tilde{t}^{1/2} = 1,70$. Luego, Φ_w permanece prácticamente constante hasta $\tilde{t}^{1/2} = 3$ (**Fig. 6.8.b**). Este comportamiento resulta en una menor cantidad de agua disponible dentro del sistema para la disolución y difusión del activo y el proceso de depolimerización de la matriz respecto a *CR* (**Figs. 6.8.a y d**). Cuando $\Lambda = 10$, la cinética de absorción de agua es mayor que para *CR*, alcanzado la máxima hidratación de la matriz a $\tilde{t}^{1/2} \approx 0,75$ (**Fig. 6.8.b**). Este efecto causa un aumento en la cinética de liberación del activo y en la cinética de depolimerización en relación con los respectivos perfiles de *CR* (**Figs. 6.8.a y d**). Efectos similares fueron reportados por [Reynolds et al. \(1998\)](#). Estos autores estudiaron el efecto de la agitación sobre la depolimerización de matrices de hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y reportaron que la velocidad de erosión del polímero fue mucho más lenta en condiciones estáticas ($\Lambda \ll 1$) comparado con condiciones agitadas ($\Lambda \gg 1$). Este comportamiento podría deberse a la reducción en el espesor de la capa acuosa de difusión debido a la agitación, resultando en una disminución de la resistencia externa a la difusión de agua. Además, los autores notaron que un aumento en la velocidad de agitación del medio produjo que los perfiles de Φ_L de teofilina encapsulada alcanzara más rápido la linealidad. Sin embargo, el efecto de $\Lambda = 0,1$ sobre los perfiles de Φ_L de *CR* fue mayor que el efecto producido por $\Lambda = 10$ (**Fig. 6.8.a**).

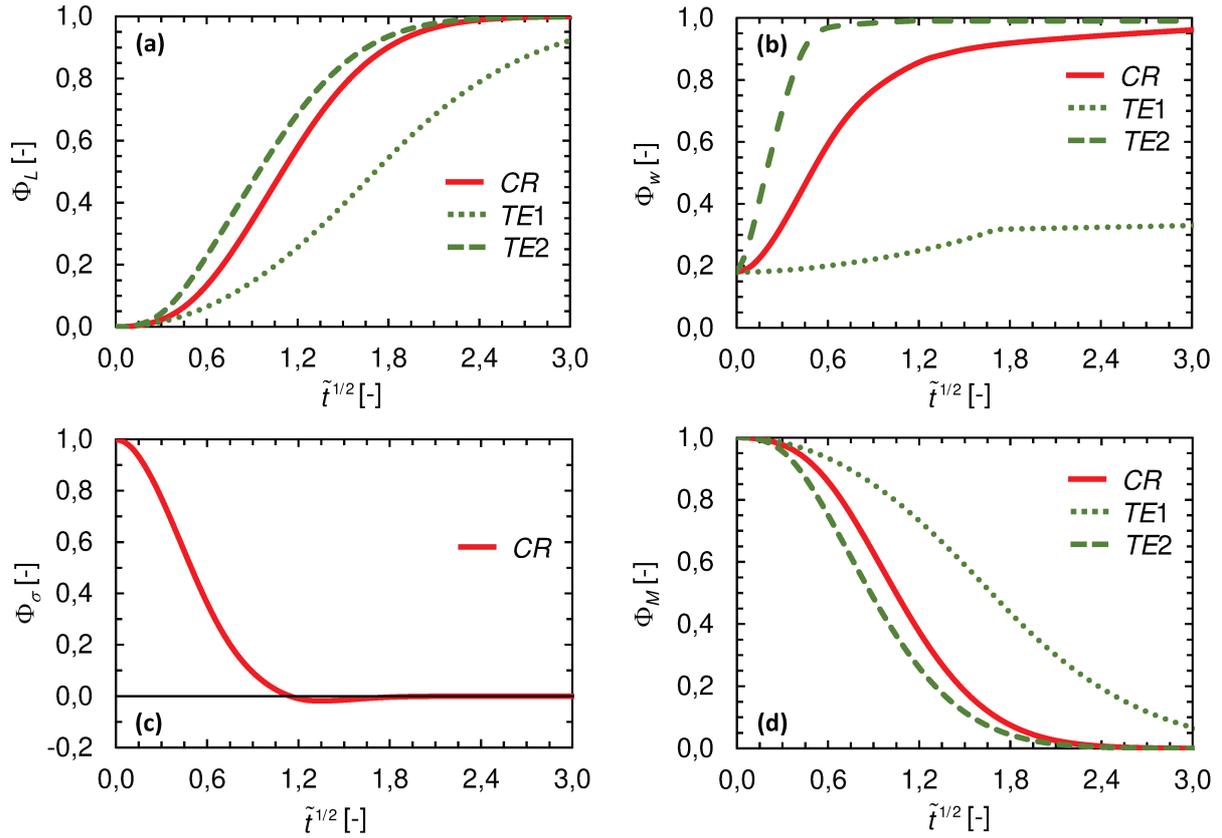


Figura 6.8. Perfiles de (a) la fracción de activo liberado (Φ_L), (b) la fracción de agua absorbida (Φ_w), (c) la fracción de tensiones desarrolladas en la matriz (Φ_σ) y de (d) la fracción de polímero remanente (Φ_M) para las condiciones CR , $TE1$ y $TE2$ definidas en la **Tabla 6.2**.

6.4.6. Importancia relativa de los efectos

Los valores de EIR_P obtenidos para cada condición perturbada son mostrados en la **Tabla 6.3**. La importancia relativa de los efectos sobre el perfil de Φ_L para cada parámetro estudiado se estableció considerando el valor máximo de EIR_P obtenido para cada parámetro ($EIR_{P,max}$). De acuerdo con esto, δ_s fue el parámetro adimensional que más afectó al perfil de Φ_L , mientras que Λ , δ_w y θ tuvieron un efecto intermedio. Los parámetros α_A , el comportamiento elástico de la matriz y δ_M tienen un efecto pequeño sobre el perfil de Φ_L , mientras que γ_A y el comportamiento viscoso de la matriz tuvieron un efecto marginal.

Tabla 6.3. Valores de EIR para cada condición perturbada.

Efecto analizado sobre Φ_L	Parámetro adimensional	Condición perturbada	EIR_P [%]	$EIR_{P,max}$ [%]
Comportamiento elástico de la matriz	$\Gamma_w, \delta_\sigma, \zeta$	$EL1$	4,63	
		$EL2$	4,45	4,77
		$EL3$	4,77	
Comportamiento viscoso de la matriz	$\Gamma_w, \delta_\sigma, \zeta$	$V1$	0,13	0,13
		$V2$	0,13	
Erosión	δ_w	$ER1$	2,60	26,12
		$ER2$	26,12	
	δ_M	$ER3$	2,27	3,72
		$ER4$	3,72	
Disolución y difusión del activo	δ_s	$DD1$	66,56	66,56
		$DD2$	30,45	
	γ_A	$DD3$	0,34	0,34
		$DD4$	0,30	
	θ	$DD5$	2,30	23,21
		$DD6$	23,21	
	α_A	$DD7$	6,90	6,90
		$DD8$	2,17	
Transferencia externa de agua	Λ	$TE1$	29,77	29,71
		$TE2$	6,71	

6.5. Conclusiones

La liberación de compuestos activos alimentarios desde matrices viscoelásticas fue estudiada a través del modelo matemático mecanístico presentado en el **Capítulo 3**. Este modelo tiene en cuenta a los mecanismos de difusión, erosión, disolución del activo y el comportamiento mecánico de la matriz. Se definieron parámetros adimensionales, cada uno característico de los fenómenos considerados. Estos parámetros fueron usados para evaluar el efecto de cada fenómeno sobre el sistema de encapsulación. En general, la cinética de liberación del activo fue afectada en mayor medida por la disolución del activo no disuelto, seguido por la transferencia externa de agua, la erosión y la solubilidad del activo. La difusión externa de activo, el comportamiento elástico de la matriz y la depolimerización de la matriz tuvieron un efecto intermedio sobre la cinética de liberación, mientras que el efecto de la difusión del

activo y el comportamiento viscoso de la matriz tuvieron un efecto marginal.

Finalmente, los resultados del análisis expuestos en este capítulo muestran que el modelo presentado posee una gran versatilidad y puede ser utilizado para predecir y optimizar la cinética de liberación de un amplio rango de sistemas de encapsulación. Además, de poder determinar los parámetros críticos del sistema en estudio permite realizar un mínimo número de experimentos para caracterizar con precisión al sistema, mientras que los parámetros menos críticos pueden ser estimados sin introducir errores significativos en las predicciones. En consecuencia, esto permite reducir costos y tiempo en la determinación experimental de parámetros.

6.6. Nomenclatura

A Área bajo el perfil de Φ_L [s]

$D_{w,0}$ Coeficiente inicial de difusión de agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

De Número de Deborah [-]

E_0 Módulo elástico inicial de la matriz polimérica [Pa]

EIA Error integral absoluto [s]

EIR Error integral relativo [%]

$EIR_{P,max}$ Error integral relativo máximo para el parámetro estudiado en la P -ésima condición [%]

P Número de segmentos en que se divide el dominio radial [-]

R Radio del dominio [m]

\tilde{r} Posición radial adimensional (**Tabla 3.1**) [-]

r Posición radial [m]

\tilde{t} Tiempo adimensional (**Tabla 3.1**) [-]

t Tiempo [s]

t_c Tiempo característico [s]

Símbolos griegos

α_A Parámetro característico de difusión externa de activo (**Tabla 3.2**) [-]

δ_σ Parámetro característico de relajación (viscoso-total) (**Tabla 3.2**) [-]

δ_M Parámetro característico de depolimerización (**Tabla 3.2**) [-]

δ_s Parámetro característico de disolución del activo (**Tabla 3.2**) [-]

δ_w Parámetro característico de erosión (**Tabla 3.2**) [-]

γ_A Parámetro característico de difusión del activo (**Tabla 3.2**) [-]

Γ_w Parámetro característico de tensiones (**Tabla 3.2**) [-]

ζ Parámetro característico de relajación (viscoso-elástico) (**Tabla 3.2**) [-]

θ Parámetro característico de máxima disolución del activo (**Tabla 3.2**) [-]

Λ Parámetro característico de difusión externa de agua (**Tabla 3.2**) [-]

μ_0 Módulo viscoso inicial de la matriz polimérica [Pa s]

Φ_σ Fracción de tensiones desarrolladas en la matriz promedio en el volumen [-]

Φ_L Fracción de activo liberado promedio en el volumen [-]

Φ_M Fracción de polímero remanente promedio en el volumen [-]

Φ_w Fracción de agua absorbida promedio en el volumen [-]

Subíndices

CR Condición de referencia

P P -ésima condición perturbada

6.7. Bibliografía

Bejan, A. (2013). *Convection heat transfer*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, USA, 4ta ed. doi:10.1002/9781118671627.

Caccavo, D., Cascone, S., Lamberti, G. y Barba, A.A. (2015). Modeling the drug release from hydrogel-based matrices. *Molecular Pharmaceutics*, 12(2):474–483. doi:10.1021/mp500563n.

Cacuci, D.G., Ionescu-Bujor, M. y Navon, I.M. (2003). *Sensitivity and uncertainty analysis*. Chapman & Hall/CRC Press, Boca Raton, USA.

Chapra, S.C. (2008). *Surface water-quality modeling*. Waveland Press, Long Grove, USA, 2da ed.

- Chiarappa, G., Abrami, M., Farra, R., Dapas, B., Grassi, G. y Grassi, M. (2018). Drug delivery from polymeric matrices. En D. Manca (Ed.), *Quantitative Systems Pharmacology Models and Model-Based Systems with Applications, Computer Aided Chemical Engineering*, vol. 42. Elsevier, Amsterdam, Netherlands, pp. 325–356. doi:10.1016/B978-0-444-63964-6.00011-8.
- Datta, A. (2016). Toward computer-aided food engineering: Mechanistic frameworks for evolution of product, quality and safety during processing. *Journal of Food Engineering*, 176:9–27. doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.10.010.
- De Kee, D., Liu, Q. y Hinestroza, J. (2005). Viscoelastic (non-Fickian) diffusion. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 83(6):913–929. doi:10.1002/cjce.5450830601.
- Escobar Sierra, C. y Pérez Mesa, J. (2009). Aplicación del análisis de sensibilidad de un modelo hidrodinámico en la determinación de la relevancia de procesos físicos y forzamientos externos en las corrientes del embalse Punchiná (Antioquia). *REVISTA Universidad EAFIT*, 45(156):73–89.
- Fan, X., Lee, S. y Han, Q. (2009). Experimental investigations and model study of moisture behaviors in polymeric materials. *Microelectronics Reliability*, 49(8):861–871. doi:10.1016/j.microrel.2009.03.006.
- Fu, Y. y Kao, W.J. (2010). Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7(4):429–444. doi:10.1517/17425241003602259.
- Grassi, M., Grassi, G., Lapasin, R. y Colombo, I. (2007). *Understanding drug release and absorption mechanisms: A physical and mathematical approach*. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Harland, R.S., Dubernet, C., Benoît, J.P. y Peppas, N.A. (1988). A model of dissolution-controlled, diffusional drug release from non-swellable polymeric microspheres. *Journal of Controlled Release*, 7(3):207–215. doi:10.1016/0168-3659(88)90053-3.
- Iooss, B. y Saltelli, A. (2017). Introduction to sensitivity analysis. En R. Ghanem, D. Higdon y H. Owhadi (Eds.), *Handbook of Uncertainty Quantification*. Springer International Publishing, Cham, Suiza, 1era ed., pp. 1103–1122. doi:10.1007/978-3-319-12385-1_31.
- Marton, C., Elkamel, A. y Duever, T. (2008). An order-specific clustering algorithm for the determination of representative demand curves. *Computers & Chemical Engineering*, 32(6):1365–1372. doi:10.1016/j.compchemeng.2007.06.010.
- Mateus, M. y Franz, G. (2015). Sensitivity analysis in a complex marine ecological model. *Water*, 7(12):2060–2081. doi:10.3390/w7052060.

- McClements, D.J. (2015). Encapsulation, protection, and release of hydrophilic active components: Potential and limitations of colloidal delivery systems. *Advances in Colloid and Interface Science*, 219:27–53. doi:10.1016/j.cis.2015.02.002.
- Paarakh, M.P., Jose, P.A., Setty, C.M. y Christopher, G.V.P. (2018). Release kinetics-concepts and applications. *International Journal of Pharmacy Research & Technology*, 8(1):12–20. doi:10.31838/ijprt/08.01.02.
- Pirayú (2021). Centro de Cómputos del CIMEC. Equipamiento en Pirayu. <https://cimec.org.ar/c3/pirayu/equipos.php>. (Accedido el 27.08.2021).
- Rabeler, F. y Feyissa, A.H. (2019). Modelling of food processes under uncertainty: Mechanistic 3D model of chicken meat roasting. *Journal of Food Engineering*, 262:49–59. doi:10.1016/j.jfoodeng.2019.05.006.
- Reynolds, T.D., Gehrke, S.H., Ajaz S., H. y Shenouda, L.S. (1998). Polymer erosion and drug release characterization of hydroxypropyl methylcellulose matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 87(9):1115–1123. doi:10.1021/js980004q.
- Rothstein, S.N., Federspiel, W.J. y Little, S.R. (2009). A unified mathematical model for the prediction of controlled release from surface and bulk eroding polymer matrices. *Biomaterials*, 30(8):1657–1664. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.12.002.
- Sánchez de Óleo, C. (2016). *Estimación de parámetros en modelos de transporte de agua y nitrógeno en el suelo*. Tesis doctoral, Universitat Politècnica de València, Valencia, España.
- Školáková, T., Slámová, M., Školáková, A., Kadeřábková, A., Patera, J. y Zámstný, P. (2019). Investigation of dissolution mechanism and release kinetics of poorly water-soluble tadalafil from amorphous solid dispersions prepared by various methods. *Pharmaceutics*, 11(8):383–407. doi:10.3390/pharmaceutics11080383.
- ten Broeke, G. (2017). *Sensitivity analysis methodologies for analysing emergence using agent-based models*. Tesis doctoral, Wageningen University, Wageningen, Netherlands. doi:10.18174/423172.
- Tilden, J.W. y Seinfeld, J.H. (1982). Sensitivity analysis of a mathematical model for photochemical air pollution. *Atmospheric Environment*, 16(6):1357–1364. doi:10.1016/0004-6981(82)90056-7.
- Vrentas, J.S. y Vrentas, C.M. (2013). *Diffusion and mass transfer*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.

Weitsman, Y.J. (2012). *Fluid effects in polymers and polymeric composites*. Mechanical Engineering Series, Springer US, New York, USA. doi:10.1007/978-1-4614-1059-1.

You, S., Yang, Z. y Wang, C.H. (2016). Toward understanding drug release from biodegradable polymer microspheres of different erosion kinetics modes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 105(6):1934–1946. doi:10.1016/j.xphs.2016.04.002.

Zhang, M., Yang, Z., Chow, L. y Wang, C. (2003). Simulation of drug release from biodegradable polymeric microspheres with bulk and surface erosions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 92(10):2040–2056. doi:10.1002/jps.10463.

CAPÍTULO 7

Conclusiones

CAPÍTULO 7

Conclusiones

7.1. Conclusiones particulares más relevantes del trabajo

Se estudiaron los fenómenos de transferencia de materia asociados a la liberación de compuestos activos encapsulados de interés para la industria alimentaria.

Para ello, se seleccionaron modelos matemáticos desarrollados para describir la cinética de liberación de fármacos y se usaron para describir la cinética de liberación *in vitro* de un activo alimentario encapsulado. Estos modelos consideran que la difusión es el mecanismo predominante en el proceso de liberación y que ocurre en simultáneo con la erosión, la disolución o el hinchamiento. Se tomó como sistema de encapsulación modelo a la astaxantina (activo) encapsulada en una matriz de alginato de calcio (matriz). En general, se obtuvieron ajustes aceptables de los datos experimentales. Sin embargo, aún cuando los modelos seleccionados no fueron suficientes para describir completamente los aspectos más importantes de la física del sistema, se identificaron potenciales formas de describir los fenómenos de transferencia estudiados.

Se presentó y validó un modelo matemático mecanístico para predecir la cinética de liberación de un activo encapsulado en una matriz viscoelástica. El sistema en estudio consistió en un activo encapsulado uniformemente distribuido en la matriz (no disuelto) y en el agua ocluida (disuelto). Se consideró que la matriz puede hincharse y erosionarse después de interactuar con el agua del medio circundante. Se obtuvieron parámetros adimensionales característicos relacionados con cada mecanismo considerado. La validación del modelo se realizó con datos experimentales de liberación *in vitro* de astaxantina encapsulada en una matriz de alginato de calcio.

La validación del modelo matemático presentado fue complementada con la determinación experimental de los valores necesarios para caracterizar a la matriz del sistema de encapsulación alimentario tomado como modelo y a los fenómenos de transporte considerados en el proceso de liberación del activo.

Se determinaron valores que caracterizan al alginato de sodio usado para constituir la matriz encapsulante y valores relacionados con los fenómenos de hidratación y de depolimerización de un gel de alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas.

Los valores determinados experimentalmente fueron usados para estimar algunos parámetros característicos de los mecanismos involucrados y algunos valores específicos del sistema astaxantina/alginato de calcio en las condiciones de liberación estudiadas.

Finalmente, se realizó un análisis de sensibilidad para estudiar el comportamiento de un sistema de

encapsulación. Para ello, los parámetros adimensionales característicos del modelo presentado fueron usados para evaluar y jerarquizar el efecto de cada mecanismo involucrado sobre el comportamiento del sistema de encapsulación.

Los resultados mostraron que el modelo presentado posee una gran versatilidad y puede ser utilizado para predecir y optimizar la cinética de liberación de un amplio rango de sistemas de encapsulación. Además, la determinación de los parámetros críticos del sistema en estudio permite minimizar la cantidad de experimentos para caracterizar con precisión al sistema, mientras que los parámetros menos críticos pueden ser estimados sin introducir errores significativos en las predicciones.

7.2. Conclusiones finales

En la presente Tesis, se estudiaron los fenómenos de transferencia de materia asociados con la cinética de liberación de componentes activos encapsulados de interés para la industria alimentaria mediante modelos con base mecanística.

Para ello, se caracterizaron por separado los fenómenos de transferencia que usualmente aparecen en este tipo de sistemas mediante modelos sencillos desarrollados para predecir la liberación controlada de fármacos y se usaron para describir la cinética de liberación *in vitro* de un activo alimentario encapsulado.

Luego, se presentó y validó un modelo matemático mecanístico relativamente sencillo para predecir la cinética de liberación en condiciones gastrointestinales de un activo alimentario encapsulado considerando simultáneamente varios fenómenos de transferencia (difusión molecular, disolución del activo, evolución de tensiones y erosión de la matriz encapsulante). La descripción matemática fue completada mediante la determinación experimental de algunos valores característicos del sistema de encapsulación y de los fenómenos de transferencia involucrados durante el proceso de liberación del activo. Cabe aclarar que sería conveniente caracterizar el comportamiento mecánico del sistema mediante estudios complementarios. Finalmente, se estudió y caracterizó el comportamiento de un sistema de encapsulación a través de un análisis de sensibilidad de los parámetros característicos asociados a los fenómenos involucrados.

Así, el modelo presentado constituye una herramienta de análisis, diseño y optimización del comportamiento de los sistemas de encapsulación alimentarios de geometrías regulares. La definición de parámetros adimensionales característicos permite estudiar el efecto relativo de los principales fenómenos de transferencia involucrados en el proceso de liberación de un activo encapsulado. En consecuencia, solo se requiere un orden de magnitud de los valores que caracterizan al sistema. Esto permite reducir el tiempo y los costos asociados a las determinaciones experimentales de dichos valores.

Anexos

A.1. Solución de la ecuación de difusión de Fick para una esfera utilizada en el modelo He et al. (2005) (Ec. 2.1)

La cinética de difusión de un soluto a través de una esfera puede ser representada por la segunda ley de Fick. Se consideró que la concentración inicial de soluto $c_{A,1}$ se encuentra distribuida en forma homogénea en la esfera, que su coeficiente de difusión D_A es constante, que en la superficie se cumple una condición de contorno de concentración prescrita y que el soluto difunde principalmente en la dirección radial r . En base a ello, la segunda ley de Fick en coordenadas esféricas resulta (Ritger y Peppas, 1987),

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = D_A \left(\frac{\partial^2 c_A}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial c_A}{\partial r} \right) \quad 0 \leq r < R \quad t > 0 \quad (\text{A.1.1})$$

$$c_A = c_{A,1} \quad 0 \leq r \leq R \quad t = 0 \quad (\text{A.1.2})$$

$$\frac{\partial c_A}{\partial r} = 0 \quad r = 0 \quad t > 0 \quad (\text{A.1.3})$$

$$c_A = c_{A,2} \quad r = R \quad t > 0 \quad (\text{A.1.4})$$

donde c_A es la concentración del soluto [mol m^{-3}] y t es el tiempo [s]. Crank (1975) obtuvo la solución analítica para el sistema de Ecs. (A.1.1)-(A.1.4),

$$\frac{c_A - c_{A,1}}{c_{A,2} - c_{A,1}} = 1 + \frac{2R}{\pi r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \sin\left(\frac{n\pi r}{R}\right) \exp\left(-\frac{D_A n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad 0 < r \leq R \quad t > 0 \quad (\text{A.1.5})$$

$$\frac{c_A - c_{A,1}}{c_{A,2} - c_{A,1}} = 1 + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \exp\left(-\frac{D_A n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad r = 0 \quad t > 0 \quad (\text{A.1.6})$$

Adicionalmente, Crank (1975) presentó la expresión para la fracción de soluto saliendo de la esfera (Ec. A.1.7) y su aproximación para tiempos cortos (Ecs. A.1.8-A.1.9).

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{D_A n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad (\text{A.1.7})$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 6\sqrt{\frac{D_A t}{R^2}} \left[\pi^{-1/2} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} \text{ierfc}\left(\frac{nR}{\sqrt{D_A t}}\right) \right] - 3\frac{D_A t}{R^2} \quad (\text{A.1.8})$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} \approx 6\sqrt{\frac{D_A t}{\pi R^2}} - 3\frac{D_A t}{R^2} \quad (\text{A.1.9})$$

La aproximación para tiempos cortos es válida para la liberación del 60% inicial del total de soluto ($M_t/M_\infty \leq 0,6$) (Ritger y Peppas, 1987). La Ec. (A.1.9) fue utilizada por He et al. (2005) para describir la liberación del fármaco debido al fenómeno de difusión (Ec. 2.1).

A.1.1. Nomenclatura

c_A Concentración de soluto [mol m^{-3}]

$c_{A,1}$ Concentración inicial de soluto [mol m^{-3}]

$c_{A,2}$ Concentración de soluto en $r = R$ [mol m^{-3}]

D_A Coeficiente de difusión [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

M_∞ Cantidad de tiempo liberado a tiempo infinito [mol m^{-3}]

M_t Cantidad de tiempo liberado a tiempo t [mol m^{-3}]

n n -ésimo término de la serie infinita [-]

R Radio del dominio [m]

r Posición radial [m]

t Tiempo [s]

A.1.2. Bibliografía

Crank, J. (1975). *The mathematics of diffusion*. Clarendon Press, Oxford, UK, 2da ed.

He, J., Zhong, C. y Mi, J. (2005). Modeling of drug release from bioerodible polymer matrices. *Drug Delivery*, 12(5):251–259. doi:10.1080/10717540500176043.

Ritger, P.L. y Peppas, N.A. (1987). A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*, 5(1):23–36. doi:10.1016/0168-3659(87)90034-4.

A.2. Código de implementación del modelo de He et al. (2005) (Sección 2.3.3)

Programa escrito en GNU/Octave 6.2.0 para ajustar el modelo propuesto por He et al. (2005) (Ec. 2.1) a los datos experimentales de un sistema de encapsulación alimentario.

```
1 %-----
2 % Implementacion del modelo de He et al. (2005)
3 %-----
4 % Autora: Jesica D. Orona
5 % Fecha: Agosto 2021
6 %-----
7 % Sistema en coordenadas esfericas.
8
9 % Mecanismos considerados:
10 %     difusion del activo,
11 %     escision de la cadena polimerica de la matriz (erosion).
12
13 % Componentes del sistema:
14 %     MATRIZ: porosa y no hinchable.
15 %     ACTIVO: dispersado molecularmente en la matriz.
16 %-----
17 % Definicion de variables y parametros
18
19 % D0 = Coeficiente de difusion inicial [m^2/s]
20 % Dt = Coeficiente de difusion a tiempo t [m^2/s]
21 % FE = Factor de erosion [-]
22 % kE = Coeficiente de aceleracion [1/s]
23 % ks = Constante de velocidad de escision de la cadena polimerica [1/s]
24 % PhiL = Fraccion de activo liberado [-]
25 % R = Radio de la esfera [m]
26 % t = Tiempo [s]
27 % TMx = Tiempo a la velocidad de maxima erosion de la matriz [s]
28 %-----
29
30 function PhiL_He=he2005(a)
31
32 % Datos experimentales
33 load time.txt
34 load activo_L.txt
35
36 t = time;
37 PhiL_exp = activo_L;
38 R = 1.019e-3;
```

```
39
40 % Parametros del modelo
41 D0 = a(1);
42 ks = a(2);
43 FE = a(3);
44 kE = a(4);
45 TMx = a(5);
46
47 % Coeficiente de difusion
48 Dt=D0.*exp(ks.*t);
49
50 % Modelo de He et al. (2005)
51 T1 = 6.*sqrt((Dt.*t)./(pi.*(R.^2)));
52 T2 = -3.*(Dt.*t)./(R.^2);
53 T3 = FE.*(exp(kE.*t-kE.*TMx)./(1+exp(kE.*t-kE.*TMx)));
54 PhiL_He=T1+T2+T3;
55
56 % Error
57 nn = size(t);
58 np = nn(1)-1;
59 PhiL_error = PhiL_exp(2:np+1);
60 PhiLHarland_error = PhiL_Harland(2:np+1);
61
62 e = abs((PhiL_error-PhiLHarland_error)./PhiL_error);
63 error = (real(sum(e))./np).*100;
```

A.2.1. Bibliografía

He, J., Zhong, C. y Mi, J. (2005). Modeling of drug release from bioerodible polymer matrices. *Drug Delivery*, 12(5):251–259. doi:10.1080/10717540500176043.

A.3. Código de implementación del modelo de Harland et al. (1988) con condición de contorno de sumidero perfecto (CSP) (Sección 2.3.3)

Programa escrito en GNU/Octave 6.2.0 para ajustar el modelo propuesto por Harland et al. (1988) con condición de contorno de sumidero perfecto (Ec. 2.8) a los datos experimentales de un sistema de encapsulación alimentario.

```
1 %-----
2 % Implementacion del modelo de Harland et al. (1998)
3 %-----
4 % Autora: Jesica D. Orona
5 % Fecha: Agosto 2021
6 %-----
7 % Sistema en coordenadas esfericas.
8 % Condicion de contorno en la superficie: sumidero perfecto
9
10 % Mecanismos considerados:
11 %     disolucion del activo,
12 %     difusion del activo.
13
14 % Componentes del sistema:
15 %     MATRIZ: porosa y no hinchable.
16 %     ACTIVO: solido cristalino hidrosoluble dispersado molecular
17 %           % o macroscopicamente en la matriz polimerica.
18 %-----
19 % Definicion de variables y parametros
20
21 % D = Coeficiente de difusion [m^2/s]
22 % Di = Numero de disolucion/difusion [-]
23 % k = Constante de disolucion del activo [1/s]
24 % PhiL = Fraccion de activo liberado [-]
25 % R = Radio de particula [m]
26 % t = Tiempo [s]
27 % tao = Tiempo adimensional [-]
28 % n = n-esimo termino de la sumatoria [-]
29 %-----
30
31 function PhiL_Harland=harland1998sum(a)
32
33 % Datos experimentales
34 load time.txt
35 load activo_L.txt
```

```
36
37 t = time;
38 PhiL_exp = activo_L;
39
40 R = 1.019e-3;
41
42 % Parametros del modelo
43 k = a(1);
44 D = a(2);
45
46 % Numero adimensionales
47 Di = k.*(R^2)./D;
48 tao= D.*t/(R^2);
49
50 % Modelo de Harland et al. (1998) (Sumidero perfecto)
51 s =0;
52
53 for n=1:50
54     an=(Di+ (n*pi)^2);
55     bn=(n*pi)^2;
56     s= s+ (an.*Di.*tao+ bn.*(1-exp(-an*tao)))/(an^2);
57 end
58
59 PhiL_Harland = 6.*s;
60
61 % Error
62 nn = size(t);
63 np = nn(1)-1;
64 PhiL_error = PhiL_exp(2:np+1);
65 PhiLHarland_error = PhiL_Harland(2:np+1);
66
67 e = abs((PhiL_error-PhiLHarland_error)./PhiL_error);
68 error = (real(sum(e))./np).*100;
```

A.3.1. Bibliografía

Harland, R.S., Dubernet, C., Benoît, J.P. y Peppas, N.A. (1988). A model of dissolution-controlled, diffusional drug release from non-swellable polymeric microspheres. *Journal of Controlled Release*, 7(3):207–215. doi:10.1016/0168-3659(88)90053-3.

A.4. Código de implementación del modelo de Harland et al. (1988) con condición de contorno de resistencia convectiva externa finita (CRF) (Sección 2.3.3)

Programa escrito en GNU/Octave 6.2.0 para ajustar el modelo propuesto por Harland et al. (1988) con condición de contorno de resistencia convectiva externa finita a la transferencia de materia (Ec. 2.9) a los datos experimentales de un sistema de encapsulación alimentario. Las raíces de la Ec. (2.13) fueron reportadas por Hahn y Özişik (2012).

```

1 %-----
2 % Implementacion del modelo de Harland et al. (1998)
3 %-----
4 % Autora: Jessica D. Orona
5 % Fecha: Agosto 2021
6 %-----
7 % Sistema en coordenadas esfericas.
8 % Condicion de contorno en la superficie: resistencia externa a la
9 % transferencia de materia finita
10
11 % Mecanismos considerados:
12 %     disolucion del activo,
13 %     difusion del activo.
14
15 % Componentes del sistema:
16 %     MATRIZ: porosa y no hinchable.
17 %     ACTIVO: solido cristalino hidrosoluble dispersado molecular
18 %     % o macroscopicamente en la matriz polimerica.
19 %-----
20 % Definicion de variables y parametros
21
22 % alpha = obtenidos a partir las raices de la ecuacion transcendental:
23 %     beta*cot(beta) = -c
24 %     beta = alpha.*R
25 %     c = Sh-1
26 % D = Coeficiente de difusion [m^2/s]
27 % Di = Numero de disolucion/difusion [-]
28 % h = Coeficiente de transferencia superficial de materia [m/s]
29 % k = Constante de disolucion del activo [1/s]
30 % PhiL = Fraccion de activo liberado [-]
31 % R = Radio de particula [m]
32 % t = Tiempo [s]
33 % tao = Tiempo adimensional [-]
34 % n = n-esimo termino de la sumatoria [-]

```

```
35 %-----  
36  
37 function PhiL_Harland=harland1998sup(a)  
38  
39 %Datos experimentales  
40 load time.txt  
41 load activo_L.txt  
42  
43 t = time;  
44 PhiL_exp = activo_L;  
45  
46 R = 1.019e-3;  
47  
48 % Parametros del modelo  
49 k = a(1);  
50 D = a(2);  
51 h = a(3);  
52  
53 % Numero adimensionales  
54 Di = k.*(R^2)./D;  
55 tao= D.*t/(R^2);  
56 Sh = h.*R./D;  
57  
58 %-----  
59 % Raices de la ecuacion trascendental: beta*cot(beta) = -c  
60  
61 % Datos obtenidos de Hahn y Ozisik (2012)  
62 load raices.txt  
63 ct = raices (:,1);  
64 b1 = raices (:,2);  
65 b2 = raices (:,3);  
66 b3 = raices (:,4);  
67 b4 = raices (:,5);  
68 b5 = raices (:,6);  
69 b6 = raices (:,7);  
70  
71 nn = size(ct);  
72 nt = nn(1);  
73  
74 % Polinomios de interpolacion de las raices  
75 p1 = polyfit(ct, b1, nt);  
76 p2 = polyfit(ct, b2, nt);
```

```
77 p3 = polyfit(ct, b3, nt);
78 p4 = polyfit(ct, b4, nt);
79 p5 = polyfit(ct, b5, nt);
80 p6 = polyfit(ct, b6, nt);
81 %-----
82 % Calculo de c
83 c = Sh-1;
84
85 % Calculo de alpha
86 beta = [polyval(p1,c) polyval(p2,c) polyval(p3,c) polyval(p4,c) polyval(p5,c) polyval
          (p6,c)];
87 alpha = beta./R;
88
89 % Modelo de Harland et al. (1998) (Resistencia superficial finita)
90 s = 0;
91
92 for n=1:6
93     bn = (alpha(n).*R)^2;
94     an = Di+bn;
95     num = an.*Di.*tao-bn.*(exp(-an.*tao)-1);
96     den = (an.^2).*(bn+Sh.*(Sh-1));
97     s= s+ num./den;
98 end
99
100 PhiL_Harland = 6.*(Sh.^2).*s;
101
102 % Error
103 nn = size(t);
104 np = nn(1)-1;
105 PhiL_error = PhiL_exp(2:np+1);
106 PhiLHarland_error = PhiL_Harland(2:np+1);
107
108 e = abs((PhiL_error-PhiLHarland_error)./PhiL_error);
109 error = (real(sum(e))./np).*100;
```

A.4.1. Bibliografía

Hahn, D.W. y Özışık, M.N. (2012). *Heat conduction*. Wiley, Hoboken, USA, 3ra ed.

Harland, R.S., Dubernet, C., Benoît, J.P. y Peppas, N.A. (1988). A model of dissolution-controlled, diffusional drug release from non-swellable polymeric microspheres. *Journal of Controlled Release*, 7(3):207–215. doi:10.1016/0168-3659(88)90053-3.

A.5. Código de implementación del modelo de Wu y Brazel (2008) (Sección 2.3.3)

Programa escrito en GNU/Octave 6.2.0 para ajustar el modelo propuesto por [Wu y Brazel \(2008\)](#) a los datos experimentales de un sistema de encapsulación alimentario.

```

1 %-----
2 % Implementacion del modelo de Wu y Brazel (2008)
3 %-----
4 % Autora: Jessica D. Orona
5 % Fecha: Agosto 2021
6 %-----
7 % Metodo de discretizacion y resolucion: metodo explicito.
8 %-----
9 % Sistema en coordenadas esfericas.
10 % Condicion de contorno en la superficie:
11 %     Agua: resistencia externa a la transferencia de materia despreciable
12 %     Activo: sumidero perfecto
13
14 % Mecanismos considerados:
15 %     difusion,
16 %     hinchamiento.
17
18 % Componentes del sistema:
19 %     agua y activo
20 %-----
21 % Definicion de variables y parametros
22
23 % AL_exp = Fraccion de activo liberado experimental [-]
24 % b1 = Constante [m^3/mol]
25 % b2 = Constante [m^3/mol]
26 % b3 = Constante [m^3/mol]
27 % cA(i,1) = Concentracion de activo en el punto ri para el tiempo viejo
28 % cA(i,2) = Concentracion de activo en el punto ri para el tiempo nuevo
29 % cw(i,1) = Concentracion de agua en el punto ri para el tiempo viejo
30 % cw(i,2) = Concentracion de agua en el punto ri para el tiempo nuevo
31 % cA0 = Concentracion inicial de activo [mol/m^3]
32 % cw0 = Concentracion inicial de agua [mol/m^3]
33 % cweq = Concentracion de agua en el polimero hinchado en el equilibrio [mol/m^3]
34 % cwL = Concentracion de agua critica de transicion vitrea [mol/m^3]
35 % DAw = Coeficiente de difusion del activo en agua [m^2/s]
36 % dr0 = Espesor inicial del paso en la direccion r [m]
37 % dr = Espesor del paso en la direccion r durante el hinchamiento [m]
38 % dt = Paso en el tiempo [s]

```

```
39 % dtprint = Paso en el tiempo en el que se imprimen las concentraciones [s]
40 % Dw = Coeficiente de auto-difusion del agua [m^2/s]
41 % Dwm = Coeficiente de difusion total de agua [m^2/s]
42 % Dws = Coeficiente de difusion de agua en la matriz seca [m^2/s]
43 % leq = Constante de relajacion del polimero hinchado en el equiibrio [-]
44 % n = Numero de segmentos en que se divide el radio del dominio[-]
45 % np = Numero de puntos donde se calculan las variables [-]
46 % ntp = Numero de tiempos de impresion [-]
47 % pv = Factor de probabilidad de la expansion local de volumen [-]
48 % pw = Factor de probabilidad de la absorcion de agua [1/s]
49 % R = Radio del dominio durante el hinchamiento [m]
50 % R0 = Radio inicial del dominio [m]
51 % ri = Vector posicion
52 % rhow = Densidad del agua [mol/m^3]
53 % tstop = Tiempo final [s]
54 % V = Volumen del dominio durante el hinchamiento [m^3]
55 % V0 = Volumen inicial del dominio [m^3]
56
57 %-----
58
59 clear all
60
61 % Datos
62 rhow = 5.56e^4;
63 cA0 = 5.02;
64 cw0 = 1e^4;
65 cweq = 5.48e^4;
66 Dw = 2.9e-9;
67
68 % Espacial
69 R0 = 1.02e-3;
70 n = 200;
71 np = n+1;
72 dr0 = R0/n;
73 V0 = (4/3).*pi.*(R0^3);
74
75 % Temporal
76 tstop = 14400;
77 dt = 6e-4;
78 dtprint=[0 300 600 900 1800 3600 7200 10800 14400];
79 sdt = size(dtprint);
80 ntp = sdt(2);
```

```
81
82 % Datos experimentales
83 AL_exp = [0 .0453 .095 .186 .354 .475 .674 .826 .924];
84
85 % Parametros
86 load Param.txt
87 leq = Param(1);
88 cwL = Param(2).*c1eq;
89 b1 = Param(3);
90 b2 = Param(4);
91 b3 = Param(5);
92 DAw = Param(6);
93 Dws = Param(7).*D11;
94
95
96 % Inicio de variables
97 cw(1:np,1:2) = cw0;
98 cA(1:np,1:2) = cA0;
99 R = R0;
100 V = V0;
101 dr = dr0;
102 i = 1:np;
103 ri = (i-1).*dr0;
104
105 tm = 0;
106 j = 1;
107 tprint = 0;
108
109
110 % Calculos principales
111 while tm <= tstop;
112
113     % Coeficientes y constantes
114     lambda = leq.*exp(b2.*(-cw(1:np,1)+cweq));
115     Df(1:np)= Dws; % de agua en la matriz seca
116
117     i = 1:np;
118     if cw(i,1) >= cwL
119         Dr(i) = Dw.*exp(-b1.*(1-cw(i,1)))-(Df(i))';
120         pv(i) = 1;
121         DA(i) = DAw.*exp(-b3.*(1-cw(i,1)));
122     else
```

```
123     Dr(i) = 0;
124     pv(i) = 0;
125     Dv(i) = 0;
126     endif
127
128     Dwm = Df + Dr;
129     pw = exp((-lambda+leq).*(Dwm(1:np))'.*(V0^2)./((V.*R0).^2));
130     D = Df + (pw)'.*Dr;
131
132
133
134     % Condiciones de estabilidad
135     % Agua - Nodo central
136     dtmax = (dr.^2).*rhow./(6.*D(1).*(rhow-cw(1,1)));
137
138     if dt > dtmax
139         dt = 0.9*dtmax;
140     else
141         dt = dt;
142     endif
143
144     % Agua - Nodos interiores
145     dtmax = max((dr.^2).*rhow./(2.*(D(2:n))'.*(rhow-cw(2:np-1,1))));
146
147     if dt > dtmax
148         dt = 0.9*dtmax;
149     else
150         dt = dt;
151     endif
152
153     % Activo - Nodo central
154     dtmax = ((dr.^2)./(6.*DA(1))).*(1-pv(1).*(cw(1,2)-cw(1,1))./(rhow-cw(1,1)));
155
156     if dt > dtmax
157         dt = 0.9*dtmax;
158     else
159         dt = dt;
160     endif
161
162     % Activo - Nodos interiores
163     dtmax = max(((dr.^2)./(2.*DA(2:n))'.*(1-(pv(2:n))'.*(cv(2:n,2)-cv(2:n,1)))./(
rhow-cw(2:n,1))));
```

```

164
165     if dt > dtmax
166         dt = 0.9*dtmax;
167     else
168         dt = dt;
169     endif
170
171     tm = tm + dt;
172     tprint = tprint + dt;
173
174     % Nodo central
175     % Agua
176     B1 = 6.*D(1).*dt./(dr.^2);
177     B2 = (rhow-cw(1,1))./rhow;
178
179     cw(1,2) = B1.*B2.*cw(2)+cw(1,1).*(1-B1.*B2);
180
181     % Activo
182     B3 = 6.*dt.*DA(1)./(dr.^2);
183
184     cA(1,2) = B3.*cA(2,1)+cA(1,1).*(1-B3-(pv(1).*(cw(1,2)-cw(1,1)))./(rhow-cw(1,1)))
;
185
186     % Nodos interiores
187     % Agua
188     B4 = (rhow-cw(2:n,1)).*dt./(rhow.*(dr.^2));
189     B5 = (((2:n)-2).*D(2:n)./((2:n)-1))';
190     B6 = ((1/4).*(Df((2:n)+1)-Df((2:n)-1)))';
191     B7 = ((pw(2:n))'./4).*(Dr((2:n)+1)-Dr((2:n)-1))';
192     B8 = (((2:n).*D(2:n)./((2:n)-1)))';
193
194     cw(2:n,2) = B4.*cw((2:n)-1,1).*(B5-B6-B7)+...
195                 + cw((2:n),1).*(1-2.*((D(2:n)))'.*B4)+...
196                 + B4.*cw((2:n)+1,1).*(B8+B6+B7);
197
198     % Activo
199     B9 = dt./(dr.^2);
200     B10 = (((2:n)-2).*DA(2:n)./((2:n)-1))';
201     B11 = ((1/4).*(DA((2:n)+1)-DA((2:n)-1)))';
202     B12 = ((2:n).*DA(2:n)./((2:n)-1))';
203     B13 = (pv(2:n))'.*(cw(2:n,2)-cw(2:n,1))./(rhow-cw(2:n,1));
204

```

```

205     cA(2:n,2) = B9.*cA((2:n)-1,1).*(B10-B11)+...
206               cA(2:n,1).*(1-2.*(DA(2:n))'.*B9-B13)+...
207               B9.*cA((2:n)+1,1).*(B12+B11);
208
209     % Nodo superficial
210     % Agua
211     cw(np,2) = cweq;
212
213     % Activo
214     cA(np,2) = 0;
215
216     % Expansion de volumen
217     pf = find(pv);           % Devuelve los indices de los valores no nulos
218     npf_a = size(pf);
219     npf = npf_a(2);
220
221     if npf == 0             % Todo el sistema esta en estado vitreo, no hay expansion
222         Rg = R0;
223         R = R0;
224
225     elseif npf == np       % Todo el sistema esta en estado gomoso
226         Rg = 0;
227         h = (R-Rg)/n;
228         k = 1:np;
229         rg = Rg+(k-1).*h;
230         f = (cw(k,2)).*((rg(k)).^2)';
231         I = (h./2).*(f(1)+2.*sum(f(2:n))+f(np));
232
233         R = ((R0.^3).*(1-(cwL./rhow))+(3./rhow).*I).^1/3;
234
235     else
236         Rg = ri(np-npf);   % Radio del sistema en estado vitreo
237
238         h = (R-Rg)/n;
239         k = 1:np;
240         rg = Rg+(k-1).*h;
241         f = (cw(k,2)).*((rg(k)).^2)';
242         I = (h./2).*(f(1)+2.*sum(f(2:n))+f(np));
243
244         R = (R0.^3+(3./rhow).*I-(cwL./rhow).*((R0.^3)-(Rg.^3))).^1/3;
245     endif
246

```

```
247
248     % Actualizacion de variables
249     dr = R./n;
250     i = 1:np;
251     ri = ((i-1).*dr)';
252     V = (4/3).*pi.*(R.^3);
253
254     cw(1:np,1) = cw(1:np,2);
255     cA(1:np,1) = cA(1:np,2);
256
257     % Chequear si es tiempo de impresion
258     if j <= ntp
259     if tprint >= dtprint(j)
260         time(j) = tm;
261         Ccw(:,j) = cw(:,2);
262         CcA(:,j) = cA(:,2);
263         CR(j) = R;
264         Cri(:,j) = ri(:);
265         Cdr(:,j) = dr;
266         Cpv(:,j) = pv(:);
267
268         j=j+1;;
269
270     end
271     end
272
273 end
274
275 % Fraccion de activo liberado
276 jL = 1:ntp;
277 k = 1:np;
278 hL = Cdr;
279
280 fL(k,jL) = CcA(k,jL).*(Cri(k,jL).^2);
281 IL = (hL(jL)./2).*(fL(1,jL)+2.*sum(fL(2:n,jL))+fL(np,jL));
282 PL = (3./(((CR(jL)).^3).*(cA0))).*IL;
283 AL = (1-PL)';
284 save fraccionM.dat AL
285
286 % Fraccion de agua absorbida
287 ff = (Ccw(k,jL)).*(Cri(k,jL).^2);
288 II = (hL(jL)./2).*(ff(1,jL)+2.*sum(ff(2:n,jL))+ff(np,jL));
```

```
289 L = ((3./((CR(jL).^3)*cweq)).*II)';
290 save agua.dat L
291
292 save tiempos.dat dtprint
293 CRadios = CR';
294 save radios.dat CRadios
295
296 % Error
297 nn = size(dtprint);
298 nne = nn(2)-1;
299 PhiL_error = (AL_exp(2:nne+1))';
300 AL_error = AL(2:nne+1);
301
302 e = abs((PhiL_error-AL_error)./PhiL_error);
303 error = (real(sum(e))./nne).*100;
304
305 save errorM.dat error
306 save P.dat Param
```

A.5.1. Bibliografía

Wu, L. y Brazel, C.S. (2008). Mathematical model to predict drug release, including the early-time burst effect, from swellable homogeneous hydrogels. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(5):1518–1526. doi:10.1021/ie071139m.

A.6. Resolución numérica del modelo de Wu y Brazel (2008) (Sección 2.3.3)

El modelo de Wu y Brazel (2008) dado por las Ecs. (2.15)-(2.29) fue resuelto numéricamente. Para ello, el radio del dominio R_t a tiempo t fue discretizado en P segmentos (Fig. A.6.1) y el tiempo fue dividido en N nodos temporales. Por un lado, las derivadas espaciales fueron aproximadas por un método de diferencias finitas centradas considerando el paso Δr variable. Por otro lado, para las derivadas respecto del tiempo se usó un método de diferencias finitas adelantadas considerando el paso temporal Δt constante. El modelo fue resuelto por un método explícito.

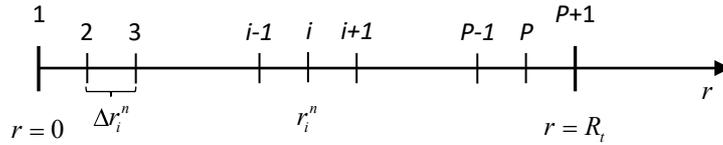


Figura A.6.1. Discretización espacial del dominio.

A.6.1. Agua

Nodo central ($i = 1$). Para el agua, en $r = 0$ es válida la expresión,

$$\frac{\rho_w}{(\rho_w - c_w)} \frac{\partial c_w}{\partial t} = 3D \frac{\partial^2 c_w}{\partial r^2} \Big|_{r=0} \quad (\text{A.6.1})$$

donde ρ_w es la densidad del agua [mol m^{-3}], c_w es la concentración de agua en el dominio y $D = D_{w,m}^f + p_w D_{w,m}^r$. Aquí, p_w es un factor de probabilidad de la absorción de agua [-], $D_{w,m}^f$ y $D_{w,m}^r$ son los coeficientes de difusión de agua en la matriz relacionados con el flujo Fickiano y no-Fickiano [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], respectivamente. Luego, considerando la condición de contorno dada por la Ec. (2.32), discretizando y reordenando la Ec. (A.6.1), la expresión para la concentración de agua en el nodo central resulta,

$$c_{w,1}^{n+1} = c_{w,1}^n \left[1 - \frac{6\Delta t D_1^n (\rho_w - c_{w,1}^n)}{\rho (\Delta r_1^n)^2} \right] + c_{w,2}^n \frac{6\Delta t D_1^n (\rho_w - c_{w,1}^n)}{\rho_w (\Delta r_1^n)^2} \quad (\text{A.6.2})$$

Nodos interiores ($i = 2 : P$). Reordenando la Ec. (2.15), la ecuación para la concentración de agua en los nodos interiores resulta,

$$\frac{\rho_w}{(\rho_w - c_w)} \frac{\partial c_w}{\partial t} = \frac{\partial c_w}{\partial r} \left(\frac{2}{r} D + \frac{\partial D_{w,m}^f}{\partial r} + p_w \frac{\partial D_{w,m}^r}{\partial r} \right) + \frac{\partial^2 c_w}{\partial r^2} D \quad (\text{A.6.3})$$

Discretizando la Ec. (A.6.3), la expresión para evaluar la concentración de agua en los nodos

interiores del dominio resulta,

$$\begin{aligned}
 c_{w,i}^{n+1} = & c_{w,i-1}^n \frac{\Delta t}{\rho_w} (\rho_w - c_{w,i}^n) \left\{ \frac{1}{(\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n)^2} \left(\frac{-2D_i^n}{r_i^n} (\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n) - \Delta D_i^n \right) \right. \\
 & \left. + \left[\frac{2D_i^n}{(\Delta r_i^n)^2 + (\Delta r_{i-1}^n)^2} \right] \left[1 + \left(\frac{\Delta r_i^n - \Delta r_{i-1}^n}{\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n} \right) \right] \right\} \\
 & + c_{w,i}^n \left\{ 1 - \frac{(\rho_w - c_{w,i}^n)}{\rho_w} \frac{4D_i^n \Delta t}{[(\Delta r_i^n)^2 + (\Delta r_{i-1}^n)^2]} \right\} \\
 & + c_{w,i+1}^n \frac{\Delta t}{\rho_w} (\rho_w - c_{w,i}^n) \left\{ \frac{1}{(\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n)^2} \left(\frac{2D_i^n}{r_i^n} (\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n) + \Delta D_i^n \right) + \right. \\
 & \left. + \left[\frac{2D_i^n}{(\Delta r_i^n)^2 + (\Delta r_{i-1}^n)^2} \right] \left[1 - \left(\frac{\Delta r_i^n - \Delta r_{i-1}^n}{\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n} \right) \right] \right\}
 \end{aligned} \tag{A.6.4}$$

donde $\Delta D_i^n = (D_{w,m,i+1}^{f,n} - D_{w,m,i-1}^{f,n}) + p_{w,i}^n (D_{w,m,i+1}^{r,n} - D_{w,m,i-1}^{r,n})$.

Nodo superficial ($i = P + 1$). Por la **Ec. (2.33)**, la concentración de agua en el nodo superficial es,

$$c_{w,P+1}^{n+1} = c_w^{eq} \tag{A.6.5}$$

donde c_w^{eq} es la concentración de agua en el equilibrio [mol m^{-3}].

A.6.2. Activo

Nodo central ($i = 1$). Para el activo, en $r = 0$ es válida la expresión,

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = 3D_{A,m} \frac{\partial^2 c_A}{\partial r^2} \Big|_{r=0} - p_v \frac{c_A}{(\rho_w - c_w)} \frac{\partial c_w}{\partial t} \Big|_{r=0} \tag{A.6.6}$$

donde c_A es la concentración de activo [mol m^{-3}], $D_{A,m}$ es el coeficiente de difusión de activo en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$], y p_v es la probabilidad de la expansión del volumen [-]. Luego, considerando la condición de contorno dada por la **Ec. (2.32)**, discretizando y reordenando la **Ec. (A.6.6)**, la expresión para la concentración de agua en el nodo central resulta,

$$c_{A,1}^{n+1} = c_{A,1}^n \left[1 - \frac{6D_{A,m,1}^n \Delta t}{(\Delta r_1^n)^2} - \frac{p_{v,1}^n}{(\rho_w - c_{w,1}^n)} (c_{w,1}^{n+1} - c_{w,1}^n) \right] + c_{A,2}^n \frac{6D_{A,m,1}^n \Delta t}{(\Delta r_1^n)^2} \tag{A.6.7}$$

Nodos interiores ($i = 2 : P$). Reordenando la **Ec. (2.16)**, la ecuación para la concentración de activo en los nodos interiores resulta,

$$\frac{\partial c_A}{\partial t} = \frac{\partial c_A}{\partial r} \left(\frac{2}{r} D_{A,m} + \frac{\partial D_{A,m}}{\partial r} \right) + D_{A,m} \frac{\partial^2 c_A}{\partial r^2} - p_v \frac{c_A}{(\rho_w - c_w)} \frac{\partial c_w}{\partial t} \tag{A.6.8}$$

Discretizando la **Ec. (A.6.8)**, la expresión para evaluar la concentración de activo en los nodos interiores resulta,

$$\begin{aligned}
c_{A,i}^{n+1} = & c_{A,i-1}^n \Delta t \left\{ \frac{1}{(\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n)^2} \left[\frac{-2D_{A,m,i}^n}{r_i^n} (\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n) - \Delta D_{A,i}^n \right] \right. \\
& \left. + \left[\frac{2D_{A,m,i}^n}{(\Delta r_i^n)^2 + (\Delta r_{i-1}^n)^2} \right] \left[1 + \left(\frac{\Delta r_i^n - \Delta r_{i-1}^n}{\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n} \right) \right] \right\} \\
& + c_{A,i}^n \left[1 - \frac{4D_{A,m,i}^n \Delta t}{(\Delta r_i^n)^2 + (\Delta r_{i-1}^n)^2} - \frac{p_{v,i}^n}{(\rho_w - c_{w,i}^n)} (c_{w,i}^{n+1} - c_{w,i}^n) \right] \\
& + c_{A,i+1}^n \Delta t \left\{ \frac{1}{(\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n)^2} \left[\frac{2D_{A,m,i}^n}{r_i^n} (\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n) + \Delta D_{A,i}^n \right] \right. \\
& \left. + \left[\frac{2D_{A,m,i}^n}{(\Delta r_i^n)^2 + (\Delta r_{i-1}^n)^2} \right] \left[1 - \left(\frac{\Delta r_i^n - \Delta r_{i-1}^n}{\Delta r_i^n + \Delta r_{i-1}^n} \right) \right] \right\} \tag{A.6.9}
\end{aligned}$$

donde $\Delta D_{A,i}^n = D_{A,m,i+1}^n - D_{A,m,i-1}^n$.

Nodo superficial ($i = P + 1$). Por la **Ec. (2.34)**, la concentración de activo en el nodo superficial es,

$$c_{A,P+1}^{n+1} = 0 \tag{A.6.10}$$

A.6.3. Nomenclatura

c_A Concentración de activo [mol m^{-3}]

c_w Concentración de agua [mol m^{-3}]

c_w^{eq} Concentración de agua en el equilibrio [mol m^{-3}]

$D_{A,m}$ Coeficiente de difusión de activo en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,m}^f$ Coeficiente de difusión de agua en la matriz relacionado con el flujo Fickiano [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,m}^r$ Coeficiente de difusión de agua en la matriz relacionado con el flujo no-Fickiano [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

P Números de segmentos en que se divide el radio del dominio [-]

p_v Probabilidad de la expansión del volumen [-]

p_w Factor de probabilidad de la absorción de agua [-]

r Posición radial [m]

R_t Radio del dominio a tiempo t [m]

t Tiempo [s]

Símbolos griegos

Δr Paso en la dirección radial [m]

Δt Paso de tiempo [s]

ρ_w Densidad del agua [mol m⁻³]

Subíndices

i i -ésimo nodo espacial

n n -ésimo nodo temporal

A.6.4. Bibliografía

Wu, L. y Brazel, C.S. (2008). Mathematical model to predict drug release, including the early-time burst effect, from swellable homogeneous hydrogels. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(5):1518–1526. doi:10.1021/ie071139m.

A.7. Test de independencia de malla para la implementación del modelo de Wu y Brazel (2008) (Sección 2.3.3)

El test de independencia de malla para el modelo de Wu y Brazel (2008) fue realizado considerando la fracción de agua absorbida promedio en el volumen (Φ_w) y la fracción de activo liberado promedio en el volumen (Φ_L). El número de segmentos P en que se dividió el radio R_t del dominio fue variado entre 100 y 200 (Fig. A.7.2). Los perfiles de las variables analizadas variaron menos de 1% para $P = 150$. Por lo tanto, las simulaciones fueron realizadas tomando un $P = 200$.

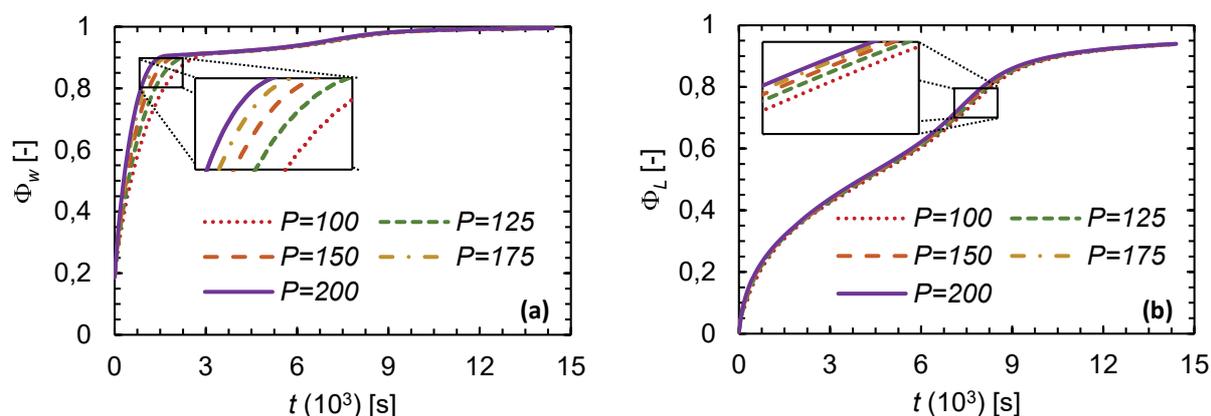


Figura A.7.2. Test de independencia de malla para el modelo de Wu y Brazel (2008) usando los perfiles de (a) la fracción de agua absorbida (Φ_w) y (b) la fracción de activo liberado (Φ_L) para distintos valores de P .

A.7.1. Nomenclatura

P Número de segmentos en que se divide radio del dominio [-]

R_w Radio del domino a tiempo t [m]

Símbolos griegos

Φ_L Fracción de activo liberado promedio en el volumen [-]

Φ_w Fracción de agua absorbida promedio en el volumen [-]

A.7.2. Bibliografía

Wu, L. y Brazel, C.S. (2008). Mathematical model to predict drug release, including the early-time burst effect, from swellable homogeneous hydrogels. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 47(5):1518–1526. doi:10.1021/ie071139m.

A.8. Datos experimentales de la fracción liberada de astaxantina desde una matriz de alginato (Tabla 2.4)

En la **Tabla A.8.1**, se muestran los valores experimentales de la fracción de astaxantina liberada ($\Phi_{L,E}$) a distintos tiempos (t) desde un sistema de encapsulación astaxantina/alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas ($\text{pH} = 7,4$, $T = 37\text{ }^\circ\text{C}$ y agitación de 100 rpm).

Tabla A.8.1. Datos experimentales de la fracción de astaxantina liberada ($\Phi_{L,E}$) a distintos tiempos en 5 corridas independientes realizadas por duplicado.

t [min]	t [s]	$\Phi_{L,E}$ [-]				
		Exp1	Exp2	Exp3	Exp4	Exp5
5	300	$0,051 \pm 0,011$	$0,083 \pm 0,049$	$0,027 \pm 0,003$	$0,027 \pm 0,003$	$0,039 \pm 0,005$
10	600	$0,088 \pm 0,003$	$0,112 \pm 0,003$	$0,100 \pm 0,017$	$0,100 \pm 0,022$	$0,076 \pm 0,000$
15	900	$0,170 \pm 0,016$	$0,220 \pm 0,014$	$0,194 \pm 0,014$	$0,194 \pm 0,003$	$0,150 \pm 0,001$
30	1800	$0,343 \pm 0,001$	$0,359 \pm 0,003$	$0,336 \pm 0,032$	$0,336 \pm 0,035$	$0,396 \pm 0,021$
60	3600	$0,457 \pm 0,039$	$0,527 \pm 0,041$	$0,435 \pm 0,017$	$0,435 \pm 0,021$	$0,520 \pm 0,030$
120	7200	$0,680 \pm 0,010$	$0,675 \pm 0,091$	$0,660 \pm 0,058$	$0,660 \pm 0,012$	$0,694 \pm 0,085$
180	10800	$0,799 \pm 0,023$	$0,951 \pm 0,002$	$0,780 \pm 0,002$	$0,780 \pm 0,001$	$0,818 \pm 0,018$
240	14400		$1,000 \pm 0,035$	$0,906 \pm 0,024$	$0,906 \pm 0,026$	$0,885 \pm 0,025$

A.9. Determinación del tamaño de partícula (Tabla 2.5)

En la **Tabla A.9.1**, se muestran los valores de los estimadores del radio de partícula obtenidos en 5 experiencias independientes. Se evaluó la moda del radio (R_m), el radio promedio (R_p) y el el radio correspondiente al momento medio de área superficial ($R_{3,2}$) de la distribución de partículas obtenida en cada experiencia (**Fig. A.9.1**). Estos valores se obtuvieron a partir de la técnica descrita en la **Sección 2.3.3.1**. A partir de ellos se obtuvo un valor promedio de cada estimador (**Tabla 2.5**). El valor promedio de R_m fue utilizado para validar los modelos propuestos en el **Capítulo 2** y en el **Capítulo 3**.

Tabla A.9.1. Valores obtenidos en 5 experiencias independientes para los estimadores del radio de partícula (R) propuestos.

Estimador de R (10^{-3}) [m]	Exp1	Exp2	Exp3	Exp4	Exp5
R_m	1,03	1,00	1,00	0,97	1,08
R_p	1,02	1,02	1,02	1,00	1,07
$R_{3,2}$	1,02	1,03	1,02	1,01	1,07
SD^*	0,05	0,04	0,04	0,06	0,05

* Desvío estándar.

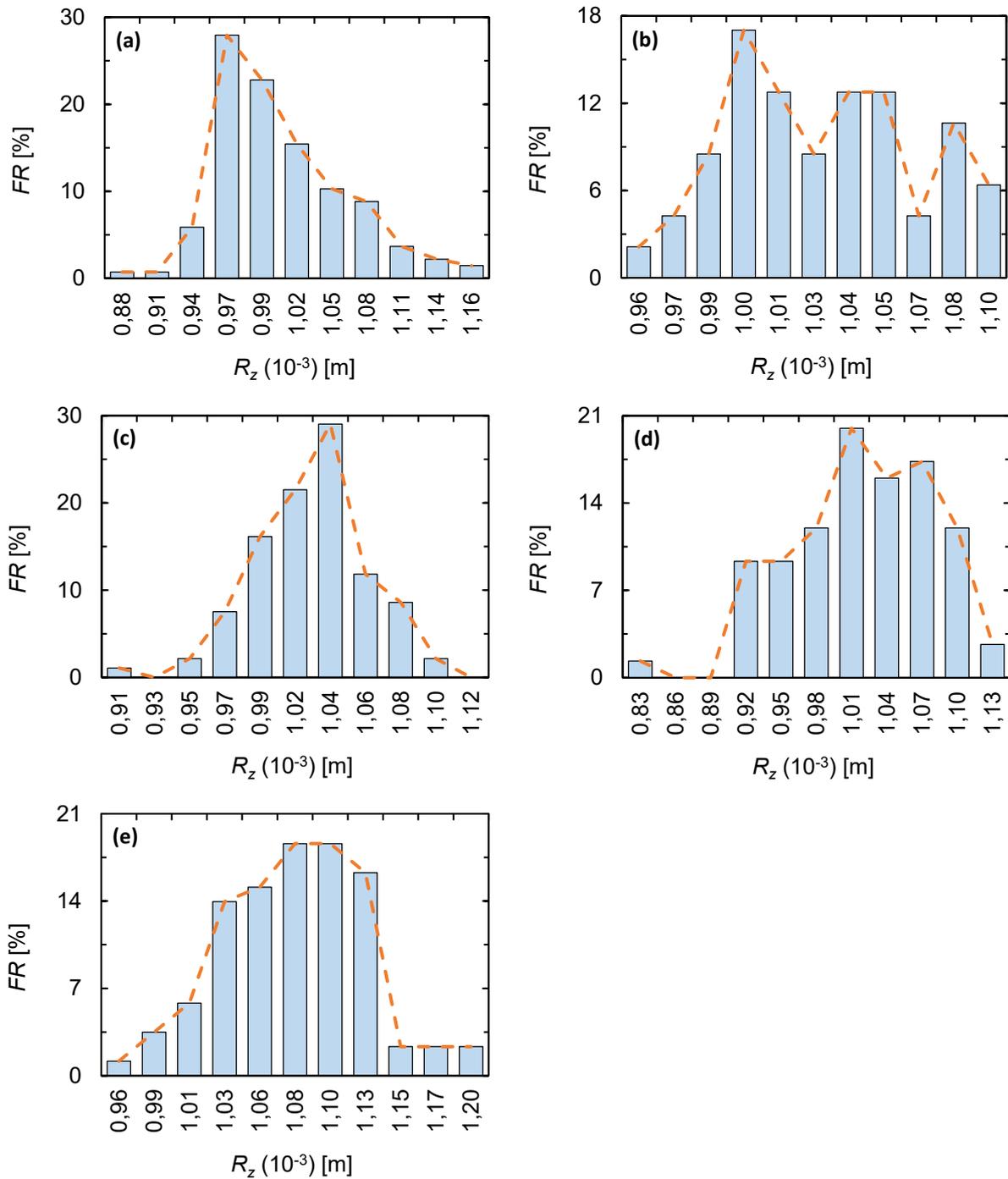


Figura A.9.1. Distribución de la frecuencia relativa (FR) del radio de partícula (R_z) para las experiencias (a) Exp1, (b) Exp2, (c) Exp3, (d) Exp4 y (e) Exp5.

A.10. Estimación del coeficiente de transferencia superficial de materia (Sección 2.4.2.2)

Para estimar el coeficiente de transferencia superficial de materia (h) fue necesario determinar un valor experimental de la velocidad del fluido circundante (medio de disolución, v_∞).

En la **Fig. A.10.1**, se muestra el baño térmico utilizado en las experiencias de liberación de astaxantina. El matraz conteniendo el medio de disolución y las partículas fue sumergido en el baño. El equipo fue configurado con una velocidad de agitación de 100 rpm. La agitación es generada por un movimiento lineal en la dirección de la flecha de la **Fig. A.10.1**. Se consideró que el medio de disolución adquiere la velocidad del agua del baño. Entonces, la velocidad lineal del fluido circundante de las partículas se estimó con la siguiente expresión,

$$v_\infty = \frac{Q\delta}{t} \quad (\text{A.10.1})$$

donde Q es el número de desplazamientos en el baño [-], δ es la distancia de desplazamiento [m] y t es el tiempo [s]. En la **Tabla A.10.1**, se muestran los valores de v_∞ obtenidos en 5 corridas independientes. Además, para cada valor de v_∞ se calcularon los correspondientes valores de Pe (**Ec. 2.40**), Sh (**Ec. 2.38**) y h . Se usó un $\delta = 0,02$ m, $t = 30$ s, $d = 2,038 (\pm 0,100) \times 10^{-3}$ m (moda del diámetro de partícula, **Tabla 2.5**) y $D_A = 2,03 (\pm 0,01) \times 10^{-10}$ m² s⁻¹ (Karki et al., 2016).

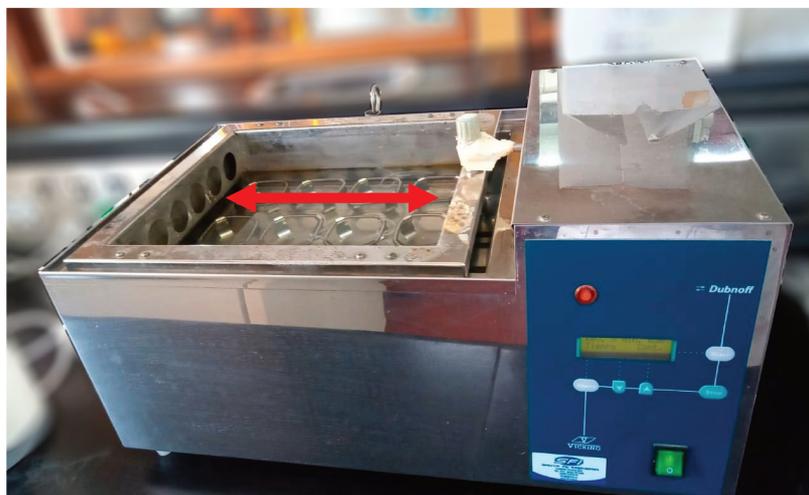


Figura A.10.1. Baño térmico usado para generar las condiciones de liberación. La flecha roja indica la dirección de desplazamiento de la agitación.

Tabla A.10.1. Valores estimados de la velocidad del medio de disolución (v_∞) y valores calculados del coeficiente de transferencia superficial de materia (h).

Q	v_∞ (10^{-2})	Pe (10^5)	Sh	h (10^{-6})
[-]	[m s^{-1}]	[-]	[-]	[m s^{-1}]
54	3,6	3,6	71,9	7,2
54	3,6	3,6	71,9	7,2
55	3,7	3,7	72,4	7,2
55	3,7	3,7	72,4	7,2
55	3,7	3,7	72,4	7,2

A.10.1. Nomenclatura

d Diámetro de partícula [m]

D_A Coeficiente de difusión del activo en la matriz y el medio de disolución [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

h Coeficiente de transferencia superficial de materia [m s^{-1}]

Pe Número de Peclet [-]

Q Número de desplazamientos del baño [-]

Sh Número de Sherwood [-]

t Tiempo [s]

v_∞ Velocidad del medio de disolución [m s^{-1}]

Símbolos griegos

δ Distancia de desplazamiento [m]

A.10.2. Bibliografía

Karki, K.J., Samanta, S. y Roccatano, D. (2016). Molecular properties of astaxanthin in water/ethanol solutions from computer simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(35):9322–9328. doi:10.1021/acs.jpcc.6b06055.

A.11. Cálculo del coeficiente de transferencia de materia superficial teórico para el modelo de Harland et al. (1998) (Sección 2.4.2.4)

Se estimó un valor teórico del coeficiente de transferencia de materia (h) a partir de las **Ecs. (2.38)-(2.40)** con valores de diámetro de partícula, velocidad del medio de disolución y coeficiente de difusión del activo iguales a $d = 2,04 (\pm 0,10) \times 10^{-3}$ m (**Tabla 2.5**), $v_{\infty} = 3,6 (\pm 0,0) \times 10^{-2}$ m s⁻¹ (**Sección 2.4.2.2**) y $D_A = 8,51 \times 10^{-12}$ m² s⁻¹ (**Tabla 2.7**), respectivamente. Entonces, el Pe es (**Ec. 2.40**),

$$Pe = \frac{(3,6 \times 10^{-2} \text{ m s}^{-1}) (2,04 \times 10^{-3} \text{ m})}{8,51 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}} \implies Pe = 8,63 \times 10^6 \quad (\text{A.11.1})$$

Debido a que $Pe > 10000$, el Sh se calcula con la **Ec. (2.39)**,

$$Sh = 1,01 (8,63 \times 10^6)^{1/3} \implies Sh = 207 \quad (\text{A.11.2})$$

A partir de la definición de Sh (**Ec. 2.14**) se obtiene el valor teórico de h ,

$$h = \frac{207 (8,51 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1})}{1,02 \times 10^{-3} \text{ m}} \implies h = 1,73 \times 10^{-6} \text{ m s}^{-1} \quad (\text{A.11.3})$$

A.11.1. Nomenclatura

d Diámetro de partícula [m]

D_A Coeficiente de difusión del activo en la matriz y el medio de disolución [m² s⁻¹]

h Coeficiente de transferencia superficial de materia [m s⁻¹]

Pe Número de Peclet [-]

Sh Número de Sherwood [-]

v_{∞} Velocidad del medio de disolución [m s⁻¹]

A.11.2. Bibliografía

Harland, R.S., Dubernet, C., Benoît, J.P. y Peppas, N.A. (1988). A model of dissolution-controlled, diffusional drug release from non-swellable polymeric microspheres. *Journal of Controlled Release*, 7(3):207–215. doi:10.1016/0168-3659(88)90053-3.

Øyaas, J., Storrø, I., Svendsen, H. y Levine, D.W. (1995). The effective diffusion coefficient and the distribution constant for small molecules in calcium-alginate gel beads. *Biotechnology and Bioengineering*, 47(4):492–500. doi:10.1002/bit.260470411.

A.12. Obtención de la expresión para el coeficiente de difusión viscoelástico (Sección 3.2.2.1)

Con el objetivo de encontrar una función que represente la variación del coeficiente de difusión viscoelástico (D_v) durante el proceso de liberación del activo, se asume que la presencia de un gradiente de tensiones ($\nabla\sigma$) provoca la existencia de un campo de velocidad (\underline{v}). Por lo tanto, el flujo no-Fickiano de agua (\underline{J}_{NF}) puede ser interpretado como un campo convectivo de la forma (Ferreira et al., 2015),

$$\underline{J}_{NF} = \underline{v} c_w \quad (\text{A.12.1})$$

Considerando que el agua circula con flujo laminar a través de poros cilíndricos uniformes de radio inicial R_0 , v puede ser representado por la ecuación de Hagen-Poiseuille (Ostadfar, 2016),

$$\underline{v} = -\frac{R_0}{8\mu_v} \nabla p \quad (\text{A.12.2})$$

donde p es la caída de presión [Pa] y μ_v es la viscosidad de una solución polímero-solvente caracterizado por la concentración local de agua [Pa s].

Además, de la **Ec. (3.1)** resulta,

$$\underline{J}_{NF} = -D_v \nabla \sigma \quad (\text{A.12.3})$$

Por lo tanto, reemplazando con **Ec. (A.12.2)** en la **Ec. (A.12.1)** e igualando con la **(A.12.3)** resulta,

$$-\frac{R_0}{8\mu_v} \nabla p c_w = D_v \nabla \sigma \quad (\text{A.12.4})$$

Luego, considerando que $p = \sigma$ (Ferreira et al., 2015) y reordenando,

$$D_v = \frac{R_0^2}{8\mu_v} c_w \quad (\text{A.12.5})$$

Por otro lado, se define la concentración de solvente en la matriz encapsulante C_w [kg m^{-3}] como,

$$C_w = \frac{m_w}{V_0 + V_w} = \frac{\rho_w V_w}{V_0 + V_w} \quad (\text{A.12.6})$$

donde m_w [kg], V_w [m^3] y ρ_w [kg m^{-3}] son la masa, el volumen y la densidad del solvente, respectivamente, y V_0 es el volumen de la matriz encapsulante seca ($C_w = 0$) [m^3]. Luego, considerando que $V_0 = \Delta r_0 S$, donde S es una sección virtual transversal al campo de flujo convectivo cuando $R = R_0$, y despejando V_w resulta,

$$S_v = \frac{V_w}{\Delta r_0} = \frac{C_w}{\rho_w - C_w} \quad (\text{A.12.7})$$

Aquí, S_v queda definida como una sección virtual transversal al campo de flujo convectivo. Luego, $S_v = \pi R$ y $S = \pi R_0$,

$$R^2 = \frac{C_w}{\rho_w - C_w} R_0^2 \quad (\text{A.12.8})$$

Finalmente, pasando C_w y ρ_p a $[\text{mol m}^{-3}]$ y reemplazando en la **Ec. (A.12.5)**, resulta la **Ec. (A.12.9)** (**Ec. 3.13**). Esta expresión describe la variación de D_v en función de la concentración de agua ocluida en el sistema.

$$D_v = \frac{R_0^2}{8\mu_v} \frac{c_w^2}{(c_{w,p} - c_w)} \quad (\text{A.12.9})$$

A.12.1. Nomenclatura

C_w Concentración de solvente en la matriz $[\text{kg m}^{-3}]$

c_w Concentración de agua $[\text{mol m}^{-3}]$

$c_{w,p}$ Densidad del solvente puro sobre su peso molecular $[\text{mol m}^{-3}]$

D_v Coeficiente de difusión viscoelástico $[\text{mol Pa}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}]$

m_w Masa del solvente $[\text{kg}]$

p Presión $[\text{Pa}]$

R_0 Radio inicial de poro $[\text{m}]$

S Sección virtual al campo de flujo convectivo cuando $R = R_0$ $[\text{m}^2]$

S_v Sección virtual al campo de flujo convectivo $[\text{m}^2]$

v Velocidad $[\text{m s}^{-1}]$

V_0 Volumen de la matriz seca $[\text{m}^3]$

V_w Volumen del solvente $[\text{m}^3]$

Símbolos griegos

μ_v Viscosidad de una solución polímero solvente $[\text{Pa s}]$

ρ_w Densidad del solvente $[\text{kg m}^{-3}]$

σ Tensión $[\text{Pa}]$

A.12.2. Bibliografía

Ferreira, J., Grassi, M., Gudiño, E. y de Oliveira, P. (2015). A new look to non-Fickian diffusion. *Applied Mathematical Modelling*, 39(1):194–204. doi:10.1016/j.apm.2014.05.030.

Ostadfar, A. (2016). Fluid mechanics and biofluids principles. En *Biofluid Mechanics: Principles and Applications*. Elsevier Academic Press, San Diego, USA, pp. 1–60. doi:10.1016/B978-0-12-802408-9.00001-6.

A.13. Procedimiento de adimensionalización y escalado (Sección 3.2.3)

En general, el proceso de adimensionalización y escalado consistió en reemplazar a las variables del sistema de **Ecs. (3.6)-(3.18)** por las correspondientes variables adimensionales definidas en la **Tabla 3.1**.

A.13.1. Agua

Desarrollando la **Ec. (3.6)**,

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_w}{\partial t} = & \frac{1}{r^2} \left(2r D_w \frac{\partial c_w}{\partial r} + r^2 \frac{\partial D_w}{\partial r} \frac{\partial c_w}{\partial r} + r^2 D_w \frac{\partial^2 c_w}{\partial r^2} \right) \\ & + \frac{1}{r^2} \left(2r D_v \frac{\partial \sigma}{\partial r} + r^2 \frac{\partial D_v}{\partial r} \frac{\partial \sigma}{\partial r} + r^2 D_v \frac{\partial^2 \sigma}{\partial r^2} \right) - k c_w M \end{aligned} \quad (\text{A.13.1})$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_w}{\partial t} = & \left(\frac{2}{r} D_w \frac{\partial c_w}{\partial r} + \frac{\partial D_w}{\partial r} \frac{\partial c_w}{\partial r} + D_w \frac{\partial^2 c_w}{\partial r^2} \right) \\ & + \left(\frac{2}{r} D_v \frac{\partial \sigma}{\partial r} + \frac{\partial D_v}{\partial r} \frac{\partial \sigma}{\partial r} + D_v \frac{\partial^2 \sigma}{\partial r^2} \right) - k c_w M \end{aligned} \quad (\text{A.13.2})$$

Derivando la **Ec. (3.11)**,

$$\frac{\partial D_w}{\partial r} = \frac{-D_w,0 k_w}{M_0} \exp\left(k_w \frac{M_0 - M}{M_0}\right) \frac{\partial M}{\partial r} \quad (\text{A.13.3})$$

$$\frac{\partial D_w}{\partial r} = \frac{-k_w}{M_0} D_w \frac{\partial M}{\partial r} \quad (\text{A.13.4})$$

Derivando la **Ec. (3.13)**,

$$\frac{\partial D_v}{\partial r} = \frac{R_v^2}{8\mu_v} \frac{\partial}{\partial c_w} \left(\frac{c_w^2}{c_{w,p} - c_w} \right) \frac{\partial c_w}{\partial r} \quad (\text{A.13.5})$$

$$\frac{\partial D_v}{\partial r} = \frac{R_v^2}{8\mu_v} \left[\frac{2c_w(c_{w,p} - c_w) + c_w^2}{(c_{w,p} - c_w)^2} \right] \frac{\partial c_w}{\partial r} \quad (\text{A.13.6})$$

$$\frac{\partial D_v}{\partial r} = \frac{R_v^2}{8\mu_v} \left[\frac{c_w(2c_{w,p} - c_w)}{(c_{w,p} - c_w)^2} \right] \frac{\partial c_w}{\partial r} \quad (\text{A.13.7})$$

Reemplazando con las **Ecs. (A.13.4)** y **(A.13.7)** en la **Ec. (A.13.2)**,

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_w}{\partial t} = & \left(\frac{2}{r} D_w \frac{\partial c_w}{\partial r} - \frac{k_w}{M_0} D_w \frac{\partial M}{\partial r} \frac{\partial c_w}{\partial r} + D_w \frac{\partial^2 c_w}{\partial r^2} \right) \\ & + \left[\frac{2}{r} \frac{R_v^2}{8\mu_v} \frac{c_w^2}{(c_{w,p} - c_w)} \frac{\partial \sigma}{\partial r} + \frac{R_v^2}{8\mu_v} \frac{c_w(2c_{w,p} - c_w)}{(c_{w,p} - c_w)^2} \frac{\partial c_w}{\partial r} \frac{\partial \sigma}{\partial r} + \frac{R_v^2}{8\mu_v} \frac{c_w^2}{(c_{w,p} - c_w)} \frac{\partial^2 \sigma}{\partial r^2} \right] \\ & - k c_w M \end{aligned} \quad (\text{A.13.8})$$

Reordenando la **Ec. (A.13.8)**,

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_w}{\partial t} = & D_w \left[\frac{\partial c_w}{\partial r} \left(\frac{2}{r} - \frac{k_w}{M_0} \frac{\partial M}{\partial r} \right) + \frac{\partial^2 c_w}{\partial r^2} \right] \\ & + \frac{R_v^2}{8\mu_v} \frac{c_w}{(c_{w,p} - c_w)} \left\{ \frac{\partial \sigma}{\partial r} \left[\frac{2}{r} c_w + \frac{(2c_{w,p} - c_w)}{(c_{w,p} - c_w)} \frac{\partial c_w}{\partial r} \right] + c_w \frac{\partial^2 \sigma}{\partial r^2} \right\} \\ & - k c_w M \end{aligned} \quad (\text{A.13.9})$$

Reemplazando con las variables adimensionales de la **Tabla 3.1** en la **Ec. (A.13.9)** y considerando $c_{w,p} = c_{w,\infty}$,

$$\begin{aligned} \frac{\partial(\tilde{c}_w c_{w,\infty})}{\partial(\tilde{t} R^2 / D_{w,0})} = & (\tilde{D}_w D_{w,0}) \left\{ \frac{\partial(\tilde{c}_w c_{w,\infty})}{\partial(\tilde{r} R)} \left[\frac{2}{(\tilde{r} R)} - \frac{k_w}{M_0} \frac{\partial(\tilde{M} M_0)}{\partial(\tilde{r} R)} \right] + \frac{\partial^2(\tilde{c}_w c_{w,\infty})}{\partial(\tilde{r} R)^2} \right\} \\ & + \frac{R_v^2}{8\mu_v} \frac{(\tilde{c}_w c_{w,\infty})}{(c_{w,\infty} - (\tilde{c}_w c_{w,\infty}))} \left\{ \frac{\partial(\tilde{\sigma} \sigma_0)}{\partial(\tilde{r} R)} \left[\frac{2}{(\tilde{r} R)} (\tilde{c}_w c_{w,\infty}) \right. \right. \\ & \left. \left. + \frac{(2c_{w,\infty} - (\tilde{c}_w c_{w,\infty}))}{(c_{w,\infty} - (\tilde{c}_w c_{w,\infty}))} \frac{\partial(\tilde{c}_w c_{w,\infty})}{\partial(\tilde{r} R)} \right] + (\tilde{c}_w c_{w,\infty}) \frac{\partial^2(\tilde{\sigma} \sigma_0)}{\partial(\tilde{r} R)^2} \right\} \\ & - k(\tilde{c}_w c_{w,\infty})(\tilde{M} M_0) \end{aligned} \quad (\text{A.13.10})$$

Reordenando la **Ec. (A.13.10)**,

$$\begin{aligned} \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{t}} = & \tilde{D}_w \left[\frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} \left(\frac{2}{\tilde{r}} - k_w \frac{\partial \tilde{M}}{\partial \tilde{r}} \right) + \frac{\partial^2 \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}^2} \right] \\ & + \left(\frac{R_v^2 \sigma_0}{8\mu_v D_{w,0}} \right) \frac{\tilde{c}_w}{(1 - \tilde{c}_w)} \left\{ \frac{\partial \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}} \left[\frac{2}{\tilde{r}} \tilde{c}_w + \left(\frac{2 - \tilde{c}_w}{1 - \tilde{c}_w} \right) \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} \right] + \tilde{c}_w \frac{\partial^2 \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}^2} \right\} \\ & - \left(\frac{k R^2 M_0}{D_{w,0}} \right) \tilde{c}_w \tilde{M} \end{aligned} \quad (\text{A.13.11})$$

La forma adimensional del balance de materia para el agua queda,

$$\begin{aligned} \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{t}} = & \tilde{D}_w \left[\frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} \left(\frac{2}{\tilde{r}} - k_w \frac{\partial \tilde{M}}{\partial \tilde{r}} \right) + \frac{\partial^2 \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}^2} \right] \\ & + \Gamma_w \frac{\tilde{c}_w}{(1 - \tilde{c}_w)} \left\{ \frac{\partial \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}} \left[\frac{2}{\tilde{r}} \tilde{c}_w + \left(\frac{2 - \tilde{c}_w}{1 - \tilde{c}_w} \right) \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} \right] + \tilde{c}_w \frac{\partial^2 \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}^2} \right\} \\ & - \delta_w \tilde{c}_w \tilde{M} \end{aligned} \quad (\text{A.13.12})$$

donde los parámetros adimensionales Γ_w y δ_M se definen,

$$\Gamma_w = \frac{R^2 / D_{w,0}}{8R^2 \mu_v / (R_v^2 \sigma_0)} = \frac{t_c \text{ difusión de agua}}{t_c \text{ tensión}} \quad (\text{A.13.13})$$

$$\delta_w = \frac{R^2 / D_{w,0}}{1 / (k M_0)} = \frac{t_c \text{ difusión de agua}}{t_c \text{ erosión}} \quad (\text{A.13.14})$$

A.13.2. Tensiones en la matriz

Reordenando y reemplazando con las variables adimensionales de la **Tabla 3.1** en la **Ec. (3.7)**,

$$\frac{\partial(\tilde{c}_w c_{w,\infty})}{\partial(\tilde{t}R^2/D_{w,0})} = -\frac{1}{k_1(\tilde{E}E_0)} \frac{\partial(\tilde{\sigma}\sigma_0)}{\partial(\tilde{t}R^2/D_{w,0})} - \frac{1}{k_1(\tilde{\mu}\mu_0)} (\tilde{\sigma}\sigma_0) \quad (\text{A.13.15})$$

$$\left(\frac{c_{w,\infty}D_{w,0}}{R^2}\right) \frac{\partial\tilde{c}_w}{\partial\tilde{t}} = -\left(\frac{\sigma_0 D_{w,0}}{k_1 E_0 R^2}\right) \frac{1}{\tilde{E}} \frac{\partial\tilde{\sigma}}{\partial\tilde{t}} - \left(\frac{\sigma_0}{k_1 \mu_0}\right) \frac{\tilde{\sigma}}{\tilde{\mu}} \quad (\text{A.13.16})$$

La ecuación adimensional para describir a las tensiones en la matriz resulta,

$$\frac{\partial\tilde{c}_w}{\partial\tilde{t}} = \zeta \frac{1}{\tilde{E}} \frac{\partial\tilde{\sigma}}{\partial\tilde{t}} - \delta_\sigma \frac{\tilde{\sigma}}{\tilde{\mu}} \quad (\text{A.13.17})$$

donde los parámetros adimensionales ζ y δ_σ se definen,

$$\zeta = \frac{\mu_0/E_0}{\mu_0 k_1 c_{w,\infty}/\sigma_0} = \frac{t_c \text{ relajación (viscoso-elástico)}}{t_c \text{ relajación (viscoso-total)}} \quad (\text{A.13.18})$$

$$\delta_\sigma = \frac{R^2/D_{w,0}}{k_1 c_{w,\infty} \mu_0/\sigma_0} = \frac{t_c \text{ difusión de agua}}{t_c \text{ relajación (viscoso-total)}} \quad (\text{A.13.19})$$

A.13.3. Matriz polimérica

Reemplazando las variables dimensionales de la **Ec. (3.8)** con sus correspondientes formas adimensionales (**Tabla 3.1**),

$$\frac{\partial(\tilde{M}M_0)}{\partial(\tilde{t}R^2/D_{w,0})} = -k_m(\tilde{c}_w c_{w,\infty})(\tilde{M}M_0) \quad (\text{A.13.20})$$

Reordenando, el balance de materia adimensional para la matriz polimérica resulta,

$$\left(\frac{M_0 D_{w,0}}{R^2}\right) \frac{\partial\tilde{M}}{\partial\tilde{t}} = -\left(k_m c_{w,\infty} M_0\right) \tilde{c}_w \tilde{M} \quad (\text{A.13.21})$$

$$\frac{\partial\tilde{M}}{\partial\tilde{t}} = -\delta_M \tilde{c}_w \tilde{M} \quad (\text{A.13.22})$$

donde δ_M se define,

$$\delta_M = \frac{R^2/D_{w,0}}{1/(k_m c_{w,\infty})} = \frac{t_c \text{ difusión de agua}}{t_c \text{ depolimerización}} \quad (\text{A.13.23})$$

A.13.4. Activo no disuelto

Reemplazando con las variables adimensionales de la **Tabla 3.1** en la **Ec. (3.9)**,

$$\frac{\partial(\tilde{c}_s c_{s,0})}{\partial(\tilde{t}R^2/D_{w,0})} = -k_{dis} \begin{pmatrix} \tilde{c}_s c_{s,0} \\ c_{s,0} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} c_{A,ms} - c_A c_{A,ms} \\ c_{A,ms} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \tilde{c}_w c_{w,\infty} \\ c_{w,\infty} \end{pmatrix} \quad (\text{A.13.24})$$

$$\left(\frac{c_{s,0} D_{w,0}}{R^2}\right) \frac{\partial\tilde{c}_s}{\partial\tilde{t}} = -k_{dis} \tilde{c}_s (1 - \tilde{c}_A) \tilde{c}_w \quad (\text{A.13.25})$$

El balance de materia adimensional para el activo no disuelto resulta,

$$\frac{\partial \tilde{c}_s}{\partial \tilde{t}} = -\delta_s \tilde{c}_s (1 - \tilde{c}_A) \tilde{c}_w \quad (\text{A.13.26})$$

donde δ_s se define,

$$\delta_s = \frac{R^2/D_{w,0}}{c_{s,0}/k_{dis}} = \frac{t_c \text{ difusión de agua}}{t_c \text{ disolución del activo}} \quad (\text{A.13.27})$$

A.13.5. Activo disuelto

Reemplazando por las variables adimensionales de la **Tabla 3.1** en la **Ec. (3.10)**,

$$\frac{\partial(\tilde{c}_A c_{A,ms})}{\partial(\tilde{t} R^2/D_{w,0})} = \frac{1}{(\tilde{r} R)^2} \frac{\partial}{\partial(\tilde{r} R)} \left[(\tilde{r} R)^2 (\tilde{D}_A D_{A,0}) \frac{\partial(\tilde{c}_A c_{A,ms})}{\partial(\tilde{r} R)} \right] - \frac{\partial(\tilde{c}_s c_{s,0})}{\partial(\tilde{t} R^2/D_{w,0})} \quad (\text{A.13.28})$$

$$\left(\frac{c_{A,ms} D_{w,0}}{R^2} \right) \frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{t}} = \left(\frac{D_{A,0} c_{A,ms}}{R^2} \right) \frac{1}{\tilde{r}^2} \frac{\partial}{\partial \tilde{r}} \left(\tilde{r}^2 \tilde{D}_A \frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} \right) - \left(\frac{c_{s,0} D_{w,0}}{R^2} \right) \frac{\partial \tilde{c}_s}{\partial \tilde{t}} \quad (\text{A.13.29})$$

El balance adimensional de materia para el activo disuelto resulta,

$$\frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{t}} = \gamma_A \frac{1}{\tilde{r}^2} \frac{\partial}{\partial \tilde{r}} \left(\tilde{r}^2 \tilde{D}_A \frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} \right) - \theta \frac{\partial \tilde{c}_s}{\partial \tilde{t}} \quad (\text{A.13.30})$$

donde los parámetros adimensionales γ_A y θ se definen,

$$\gamma_A = \frac{R^2/D_{w,0}}{R^2/D_{A,0}} = \frac{t_c \text{ difusión de agua}}{t_c \text{ difusión de activo}} \quad (\text{A.13.31})$$

$$\theta = \frac{1/(k_{dis} c_{A,ms})}{1/(k_{dis} c_{s,0})} = \frac{t_c \text{ disolución del activo}}{t_c \text{ de máx. disolución}} \quad (\text{A.13.32})$$

A.13.6. Condiciones de contorno

A.13.6.1. En el centro del dominio

Para el agua:

Reemplazando las variables del primer miembro de la **Ec. (3.16)** por sus formas adimensionales (**Tabla 3.1**),

$$\frac{\partial(\tilde{c}_w c_{w,\infty})}{\partial(\tilde{r} R)} = 0 \quad (\text{A.13.33})$$

La condición de contorno adimensional para el agua en el centro del sistema queda,

$$\frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} = 0 \quad (\text{A.13.34})$$

Para el activo disuelto:

Reemplazando las variables del segundo miembro **Ec. (3.16)** por sus formas adimensionales (**Tabla 3.1**),

$$\frac{\partial(\tilde{c}_A c_{A,ms})}{\partial(\tilde{r}R)} = 0 \quad (\text{A.13.35})$$

La condición de contorno adimensional para el activo en el centro del sistema resulta,

$$\frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} = 0 \quad (\text{A.13.36})$$

A.13.6.2. En la superficie del dominio

Para el agua:

Reemplazando en la **Ec. (3.17)** con **Ec. (3.13)**,

$$-D_w \frac{\partial c_w}{\partial r} - \frac{c_w^2}{(c_{w,p} - c_w)} \frac{R_v^2}{8\mu_v} \frac{\partial \sigma}{\partial r} = A_c(c_w - c_{w,\infty}) \quad (\text{A.13.37})$$

Reemplazando las variables de la ecuación anterior por sus formas adimensionales (**Tabla 3.1**),

$$-(\tilde{D}_w D_{w,0}) \frac{\partial(\tilde{c}_w c_{w,\infty})}{\partial(\tilde{r}R)} - \frac{R_v^2}{8\mu_v} \frac{(\tilde{c}_w c_{w,\infty})^2}{[c_{w,\infty} - (\tilde{c}_w c_{w,\infty})]} \frac{\partial(\tilde{\sigma} \sigma_0)}{\partial(\tilde{r}R)} = A_c(\tilde{c}_w c_{w,\infty} - c_{w,\infty}) \quad (\text{A.13.38})$$

Reordenando, la condición de contorno adimensional en el nodo superficial resulta,

$$-\left(\frac{D_{w,0} c_{w,\infty}}{R}\right) \tilde{D}_w \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} - \left(\frac{R_v^2 c_{w,\infty} \sigma_0}{8\mu_v R}\right) \frac{\tilde{c}_w^2}{(1 - \tilde{c}_w)} \frac{\partial \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}} = A_c c_{w,\infty} (\tilde{c}_w - 1) \quad (\text{A.13.39})$$

$$\tilde{D}_w \frac{\partial \tilde{c}_w}{\partial \tilde{r}} + \Gamma_w \frac{\tilde{c}_w^2}{(1 - \tilde{c}_w)} \frac{\partial \tilde{\sigma}}{\partial \tilde{r}} + \Lambda \tilde{c}_w = \Lambda \quad (\text{A.13.40})$$

donde Γ_w está dado por la **Ec. (A.13.13)** y Λ se define,

$$\Lambda = \frac{R^2/D_{w,0}}{R/A_c} = \frac{t_c \text{ difusión de agua}}{t_c \text{ difusión externa de agua}} \quad (\text{A.13.41})$$

Para el activo disuelto:

Reemplazando con las variables adimensionales de la **Tabla 3.1** en la **Ec. (3.18)**,

$$(\tilde{D}_A D_{A,0}) \frac{\partial(\tilde{c}_A c_{A,ms})}{\partial(\tilde{r}R)} = h(\tilde{c}_{A,\infty} c_{A,ms} - \tilde{c}_A c_{A,ms}) \quad (\text{A.13.42})$$

donde $\tilde{c}_{A,\infty} = c_{A,\infty}/c_{A,ms}$. Reordenando y dividiendo miembro a miembro por $D_{w,0}/R^2$,

$$\left(\frac{R^2}{D_{w,0} c_{w,\infty}} \frac{D_{A,0} c_{A,ms}}{R}\right) \tilde{D}_A \frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} = \frac{R^2}{D_{w,0} c_{w,\infty}} h c_{A,ms} (\tilde{c}_{A,\infty} - \tilde{c}_A) \quad (\text{A.13.43})$$

$$\left(\frac{D_{A,0} R c_{A,ms}}{D_{w,0} c_{w,\infty}}\right) \tilde{D}_A \frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} = \left(\frac{R^2 h c_{A,ms}}{D_{w,0} c_{w,\infty}}\right) (\tilde{c}_{A,\infty} - \tilde{c}_A) \quad (\text{A.13.44})$$

$$(\text{A.13.45})$$

El balance de materia adimensional para el activo disuelto en la superficie del sistema resulta,

$$\gamma_A \tilde{D}_A \frac{\partial \tilde{c}_A}{\partial \tilde{r}} = \alpha_A (\tilde{c}_{A,\infty} - \tilde{c}_A) \quad (\text{A.13.46})$$

donde el parámetro adimensional γ_A está dado por la **Ec. (A.13.31)** y α_A se define,

$$\alpha_A = \frac{R^2/D_{w,0}}{R/h} = \frac{t_c \text{ difusión de agua}}{t_c \text{ difusión de activo externa}} \quad (\text{A.13.47})$$

A.13.7. Nomenclatura

A_c Coeficiente de transferencia superficial de materia del agua [m s^{-1}]

\tilde{c}_A Concentración adimensional de activo disuelto (**Tabla 3.1**) [-]

c_A Concentración de activo disuelto [mol m^{-3}]

$c_{A,0}$ Concentración inicial de activo [mol m^{-3}]

$c_{A,\infty}$ Concentración activo en el medio circundante [mol m^{-3}]

$c_{A,ms}$ Máxima concentración de activo disuelto en la solución del medio circundante [mol m^{-3}]

\tilde{c}_s Concentración adimensional de activo no disuelto (**Tabla 3.1**) [-]

c_s Concentración de activo no disuelto [mol m^{-3}]

$c_{s,0}$ Concentración inicial de activo no disuelto [mol m^{-3}]

\tilde{c}_w Concentración adimensional de agua ocluida (**Tabla 3.1**) [-]

c_w Concentración de agua ocluida [mol m^{-3}]

$c_{w,0}$ Concentración inicial de agua ocluida [mol m^{-3}]

$c_{w,\infty}$ Concentración de agua en la solución del medio circundante [mol m^{-3}]

$c_{w,p}$ Densidad de agua sobre su peso molecular [mol m^{-3}]

\tilde{D}_A Coeficiente de difusión adimensional de activo (**Tabla 3.1**) [-]

D_A Coeficiente de difusión del activo disuelto [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{A,0}$ Coeficiente inicial de difusión de activo [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

D_v Coeficiente de difusión viscoelástico [$\text{mol Pa}^{-1} \text{m}^{-1} \text{s}^{-1}$]

\tilde{D}_w Coeficiente de difusión adimensional del agua en la matriz (**Tabla 3.1**) [-]

D_w Coeficiente de difusión de agua en la matriz [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

$D_{w,0}$ Coeficiente inicial de difusión de agua [$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$]

\tilde{E} Módulo elástico adimensional de la matriz (**Tabla 3.1**) [-]

E Módulo elástico de la matriz polimérica [Pa]

E_0 Módulo elástico inicial de la matriz polimérica [Pa]

h Coeficiente de transferencia superficial de materia del activo disuelto [m s^{-1}]

k Constante cinética de consumo de agua [$\text{Da}^{-1} \text{s}^{-1}$]

k_1 Constante [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$]

k_{dis} Constante cinética de disolución del activo no disuelto [$\text{mol m}^{-3} \text{s}^{-1}$]

k_m Constante cinética de degradación de la matriz polimérica [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$]

k_w Constante [-]

\tilde{M} Peso molecular adimensional de la matriz polimérica (**Tabla 3.1**) [-]

M Peso molecular de la matriz polimérica [Da]

M_0 Peso molecular inicial de la matriz polimérica [Da]

R Radio del dominio [m]

\tilde{r} Posición radial adimensional (**Tabla 3.1**) [-]

r Posición radial [m]

R_v Radio del sistema de encapsulación seco [m]

\tilde{t} Tiempo adimensional (**Tabla 3.1**) [-]

t Tiempo [s]

t_c Tiempo característico [s]

Símbolos griegos

α_A Parámetro característico de difusión externa de activo (**Tabla 3.2**) [-]

γ_A Parámetro característico de difusión del activo (**Tabla 3.2**) [-]

- Γ_w Parámetro característico de tensiones (**Tabla 3.2**) [-]
- δ_σ Parámetro característico relajación (viscoso-total) (**Tabla 3.2**) [-]
- δ_M Parámetro característico la depolimerización (**Tabla 3.2**) [-]
- δ_s Parámetro característico de disolución del activo (**Tabla 3.2**) [-]
- δ_w Parámetro característico de la erosión (**Tabla 3.2**) [-]
- ζ Parámetro característico relajación (viscoso-elástico) (**Tabla 3.2**) [-]
- θ Parámetro característico de la máxima disolución del activo (**Tabla 3.2**) [-]
- Λ Parámetro característico de difusión externa de agua (**Tabla 3.2**) [-]
- $\tilde{\mu}$ Módulo viscoso adimensional de la matriz (**Tabla 3.1**) [-]
- μ Módulo viscoso de la matriz polimérica [Pa s]
- μ_0 Módulo viscoso inicial de la matriz polimérica [Pa s]
- μ_v Viscosidad de una solución polímero-solvente caracterizado por una concentración de agua igual a c_w [Pa s]
- ρ_p Densidad de la partícula [g m⁻³]
- $\tilde{\sigma}$ Tensión adimensional de la matriz (**Tabla 3.1**) [-]
- σ Tensión de la matriz [Pa]
- σ_0 Tensión inicial de la matriz [Pa]

A.14. Código de la implementación del modelo propuesto el Capítulo 3 (Sección 3.3.3)

Programa escrito en GNU/Octave 4.4. para implementar la resolución numérica planteada en la Sección 3.3.3.

```

1 %-----
2 % Liberacion controlada de un ingrediente activo encapsulado en una matriz
3           % polimerica degradable e hinchable
4 %-----
5 % Autora: Jessica D. Orona
6 % Fecha: Agosto 2021
7 %-----
8 % Metodo de discretizacion: metodo implicito.
9 % Metodo de resolucio:n: metodo de Gauss-Seidel
10 %-----
11 % Sistema en coordenadas esfericas
12 % AGUA: entrada por difusion, consumo por hidrolisis de polimero y efecto
13       % viscoelastico
14 % POLIMERO: hidrolisis
15 % EFECTO VISCOESLASTICO: modelo de Maxwell-Deformacion proporcional a la
16       % concentracion de agua en el sistema
17 % ACTIVO SOLIDO: disolucion
18 % ACTIVO DISUELTO: salida por difusion y produccion por disolucion del
19       % activo solido
20 %-----
21 % Definicion de variables
22
23 % caa(z,1) = Concentracion adimensional de activo disuelto en la matriz en
24       % el punto rz para el tiempo viejo
25 % caa(z,2) = Concentracion adimensional de activo disuelto en la matriz en
26       % el punto rz para el tiempo nuevo
27 % csa(z,1) = Concentracion adimensional de activo no disuelto en la matriz
28       % en el punto rz para el tiempo viejo
29 % csa(z,2) = Concentracion adimensional de activo solido en la matriz en el
30       % punto rz para el tiempo nuevo
31 % cwa(z,1) = Concentracion adimensional de agua en la matriz en el punto rz
32       % para el tiempo viejo
33 % cwa(z,2) = Concentracion adimensional de agua en la matriz en el punto rz
34       % para el tiempo nuevo
35 % DAa(z) = Coeficiente de difusion adimensional del activo en el punto rz
36 % DWa(z) = Coeficiente de difusion adimensional del agua en el punto rz
37 % Ea(z) = Modulo elastico adimensional en el punto rz

```

```
38 % Ma(z,1) = Peso molecular adimensional del polimero de la matriz en el punto
39     % rz para el tiempo viejo
40 % Ma(z,2) = Peso molecular adimensional del polimero de la matriz en el punto
41     % rz para el tiempo nuevo
42 % mua(z) = Modulo viscoso adimensional en el punto rz
43 % ra(z) = Vector posicion adimensional
44 % siga(z,1) = Tension adimensional debido a la deformacion ejercida por las
45     % moleculas de agua para el tiempo viejo
46 % siga(z,2) = Tension adimensional debido a la deformacion ejercida por las
47     % moleculas de agua para el tiempo nuevo
48 %-----
49 % Definicion de parametros
50
51 % aE = Constante [-]
52 % bV = Constante [-]
53 % ca0 = Concentracion inicial de activo disuelto en la matriz [mol/m^3]
54 % cainf = Concentracion del activo disuelto en la solucion del medio
55     % circundante [mol/m^3]
56 % camx = Maxima concentracion de activo disuelto en la solucion del medio
57     % circundante [mol/m^3].
58 % cs0 = Concentracion inicial de activo no disuelto en la matriz [mol/m^3]
59 % cw0 = Concentracion inicial de agua en la matriz [mol/m^3]
60 % cwout = Concentracion de agua en la solucion del medio circundante [mol/m^3]
61 % dr = Espesor del paso en la direccion r [m]
62 % dra = Espesor del paso adimensional en la direccion r [-]
63 % dt = Paso en el tiempo [s]
64 % dta = Paso en el tiempo adimensional [-]
65 % dtprint = Paso en el tiempo en el que se imprimen las concentraciones [s]
66 % DW0 = Coeficiente de difusion inicial de agua en la matriz polimerica [m^2/s]
67 % ka = Constante [-]
68 % kw = Constante [-]
69 % M0 = peso molecular inicial de la matriz polimerica [Da]
70 % p = Numero de segmentos en que se divide el radio del dominio [-]
71 % np = Numero de puntos donde se calculan las variables [-]
72 % PhiL = Fraccion de activo liberada promediada en el volumen [-]
73 % PhiM = Fraccion de polimero remanente promediada en el volumen [-]
74 % PhiSig = Fraccion de tensiones desarrolladas promediada en el volumen [-]
75 % PhiW = Fraccion agua absorbida promediada en el volumen [-]
76 % R = Radio de la esfera [m]
77 % sig0 = Tension inicial de la matriz [Pa]
78 % tstop = Tiempo final [s]
79 %-----
```

```
80 tic
81 clear all
82
83 %% Valor de parametros
84 load Param1.dat % Archivo que contiene el valor de los parametros adimensionales
85
86 % Agua
87 cwout = 5.56e4;
88 cw0 = 1e4;
89 DW0 = 2.9e-9;
90
91 % Matriz polimerica
92 MO = 50000;
93
94 % Activo
95 cs0 = 5.02;
96 ca0 = 0;
97 camx = 5.56e-2;
98 cainf = 0;
99
100 % Tensiones en la matriz
101 sig0 = 5e-2;
102 aE = .2; %----- Potencia de E
103 bV = .7; %----- Potencia de mu
104
105 % Espacial
106 p = 20;
107 R = 1.02;
108 dr = R/p;
109 dra = 1/p;
110 np = p+1;
111
112 %% Temporal
113 dt = .1;
114 tstop = 14400;
115 z = .5; %----- Para graficar t^0.5
116 c = 1; %----- Para generar 120 puntos
117 dtprint = (((1:tstop^(z/c))*c).^(1/z));
118 sdt = size(dtprint);
119 ntpr = sdt(2); %----- Numero de tiempos de impresion
120 itmax = 1000; %----- Numero de iteraciones maximo
121 epcon = 1e-5; %----- Error de convergencia
```

```
122
123 % Datos experimentales
124 te = dtprint;
125 fraccion = [0.077, 0.173, 0.214, 0.389, 0.562, 0.726, 0.858, 0.985];
126
127 % Valores de referencia
128 caref = camx;
129 csref = cs0;
130 cwref = cwout;
131 Mref = M0;
132 sigref = sig0;
133
134 % Parametros adimensionales
135 gammaW = Param1(1);
136 deltaW = Param1(2);
137 deltaSIG = Param1(4);
138 zeta = Param1(5);
139 deltaM = Param1(3);
140 deltaS = Param1(6);
141 gammaA = Param1(7);
142 theta = Param1(8);
143 lambda = Param1(9);
144 alphaA = Param1(10);
145 cainf = Param1(11);
146 kw = Param1(12);
147 ka = Param1(13);
148
149 % Paso de tiempo adimensional
150 dta = DWref.*dt./(R.^2);
151
152 % Inicio de variables
153 tm = 0;           %----- Inicio del tiempo
154 tprint = 0;      %----- Inicio del tiempo de impresion
155 j = 1;          %----- Contador de impresion
156
157 ra(1:np) = ((1:np)-1)*dra;
158 cwa(1:np,1:2) = cw0./cwref;
159 Ma(1:np,1:2) = M0/Mref;
160 caa(1:np,1:2) = ca0./caref;
161 csa(1:np,1:2) = cs0./csref;
162 siga(1:np,1:2) = sig0./sigref;
163
```

```
164 % Calculos principales
165 while tm<=tstop
166     tm = tm+dt;
167     tprint = tprint+dt;
168     ta = DWref.*tm./(R.^2);
169
170 % Coeficientes
171     Ea = ((Ma(1:np,1)).^aE);
172     mua = ((Ma(1:np,1)).^bV);
173     DAa = exp(ka.*(1-Ma(1:np,1)));
174     DWa = exp(kw.*(1-Ma(1:np,1)));
175
176
177 % Matriz polimerica
178     Ma(1:np,2) = Ma(1:np,1).*(1-deltaM.*cwa(1:np,1).*dta);
179
180
181 % Activo no disuelto
182     csa(1:np,2) = csa(1:np,1).*(1-deltaS.*(1-caa(1:np,1)).*cwa(1:np,1).*dta);
183
184 % Resolucion por Gauss-Seidel para cwa,caa y siga en simultaneo
185     iter=0;
186     while iter <= itmax
187         iter = iter+1;
188         epmax = 0;
189
190 % NODO CENTRAL
191 % Agua
192         cwaold = cwa(1,1);
193         C1 = (dra.^2).*(1-deltaW.*Ma(1,1).*dta);
194         C2 = 6*gammaW.*dta.*((cwa(1,1)).^2)./(1-(cwa(1,1)));
195         C3 = 6.*DWa(1).*dta;
196         C4 = (dra.^2)+C3;
197
198         if abs(((1-cwa(1,1))))*100 <= 1
199             cwa(1,2) = cwa(1,1);
200         else
201             cwa(1,2) = (cwa(1,1).*C1+C2.*(siga(2,2)-siga(1,2))+C3.*cwa(2,2))./C4;
202         end
203
204         ep = abs((cwa(1,2)-cwaold)./cwa(1,2));
205         if ep >= epmax
```

```

206         epmax = ep;
207         imax = 1;
208     end
209
210     % Activo disuelto
211     caaold = caa(1,1);
212     C5 = theta.*deltaS.*dta.*(dra.^2);
213     C6 = 6.*gammaA.*DAa(1).*dta;
214     C7 = dra.^2+C6;
215
216     caa(1,2) = (caa(1,1).*(dra.^2)...
217         +C5.*(1-caa(1,1)).*csa(1,1).*cwa(1,1)+caa(2,2).*C6)./C7;
218
219     ep = abs((caa(1,2)-caaold)./caa(1,2));
220     if ep >= epmax
221         epmax = ep;
222         imax = 1;
223     end
224
225     % Tensiones en la matriz
226     sigaold = siga(1,1);
227     C8 = zeta./Ea(1);
228     C9 = deltaSIG.*dta./mua(1);
229
230     siga(1,2) = (siga(1,1).*(C8-C9)+cwa(1,1)-cwa(1,2))./C8;
231
232     ep = abs((siga(1,2)-sigaold)./siga(1,2));
233     if ep >= epmax
234         epmax = ep;
235         imax = 1;
236     end
237
238     % NODOS INTERIORES
239     % Agua
240     cwaold=cwa(2:p,1);
241     C10 = (Dwa(2:p).*dta);
242     C11 = (((2:p)-2)./((2:p)-1))';
243     C12 = (kw/4).*(Ma((2:p)+1,2)-Ma((2:p)-1,2));
244     C13 = ((2:p)./((2:p)-1))';
245     C14 = gammaW.*dta.*(cwa(2:p,1))./(1-(cwa(2:p,1)));
246     C14bis = (1/4).*(2-cwa(2:p,1)).*(cwa((2:p)+1,2)...
247         -cwa((2:p)-1,2))./(1-cwa(2:p,1));

```

```

248     C15 = (1-deltaW.*Ma(2:p,1).*dta).*(dra.^2);
249     C16 = dra.^2+2.*C10;
250
251     if abs(((1-cwa(2:p,1))))*100 <= 1
252         cwa(2:p,2) = cwa(2:p,1);
253     else
254         cwa(2:p,2) = (C10.*(cwa((2:p)-1,2).*(C11+C12)...
255             +cwa((2:p)+1,2).*(C13-C12))...
256             +C14.*(siga((2:p)-1,2).*(C11.*cwa(2:p,1)-C14bis)...
257             -2.*siga(2:p,2).*cwa(2:p,1)...
258             +siga((2:p)+1,2).*(C13.*cwa(2:p,1)+C14bis))...
259             +cwa(2:p,1).*C15)./C16;
260     end
261
262     ep = abs((cwa(2:p,2)-cwaold)./cwa(2:p,2));
263     if ep >= epmax
264         epmax = ep;
265         imax = 2:p;
266     end
267
268     % Activo disuelto
269     caaold = caa(2:p,1);
270     C17 = (gammaA.*DAa(2:p).*dta);
271     C18 = (ka/4).*(Ma((2:p)+1,2)-Ma((2:p)-1,2));
272     C19 = dra.^2+2.*C17;
273
274     caa(2:p,2) = (caa(2:p,1).*(dra.^2)+...
275         C5.*(1-caa(2:p,1)).*csa(2:p,1).*cwa(2:p,1)+...
276         C17.*(caa((2:p)-1,2).*(C11+C18)+caa((2:p)+1,2).*(C13-C18)))/C19;
277
278     ep = abs((caa(2:p,2)-caaold)./caa(2:p,2));
279     if ep >= epmax
280         epmax = ep;
281         imax = 2:p;
282     end
283
284     % Tensiones en la matriz
285     sigaold = siga(2:p,1);
286     C20 = zeta./Ea(2:p);
287     C21 = deltaSIG.*dta./mua(2:p);
288
289     siga(2:p,2) = (siga(2:p,1).*(C20-C21)+cwa(2:p,1)-cwa(2:p,2))./C20;

```

```
290
291     ep = abs((sigma(2:p,2)-sigmaold)./sigma(2:p,2));
292     if ep>= epmax
293         epmax=ep;
294         imax=2:p;
295     end
296
297     % NODOS SUPERFICIALES
298     % Agua
299     cwaold = cwa(np,1);
300     C22 = lambda.*2.*dra;
301     C23 = gammaW.*((cwa(np,1)).^2)./(1-cwa(np,1));
302     C24 = 3.*DWa(np)+C22;
303
304     if abs(((1-cwa(np,1))))*100 <= 1
305         cwa(np,2) = cwa(np,1);
306     else
307         cwa(np,2) = (C22...
308             -C23.*(3.*sigma(np,2)-4.*sigma(np-1,2)+sigma(np-2,2))...
309             +DWa(np).*(4.*cwa(np-1,2)-cwa(np-2,2)))./C24;
310     end
311
312     ep = abs((cwa(np,2)-cwaold)./cwa(np,2));
313     if ep >= epmax
314         epmax = ep;
315         imax = np;
316     end
317
318     % Activo disuelto
319     caaold = caa(np,1);
320     C25 = 2.*dra.*alphaA;
321     C26 = gammaA.*DAa(np);
322     C27 = 3.*C26+C25;
323
324     caa(np,2) = (C25.*cainf+C26.*(4.*caa(np-1,2)-caa(np-2,2)))./C27;
325
326     ep = abs((caa(np,2)-caaold)./caa(np,2));
327     if ep >= epmax
328         epmax = ep;
329         imax = np;
330     end
331
```

```
332     % Tensiones en la matriz
333     sigaold = siga(np,1);
334     C28 = zeta./Ea(np);
335     C29 = deltaSIG.*dta./mua(np);
336
337     siga(np,2) = (siga(np,1).*(C28-C29)+cwa(np,1)-cwa(np,2))./C28;
338
339     ep = abs((siga(np,2)-sigaold)./siga(np,2));
340     if ep >= epmax
341         epmax = ep;
342         imax = np;
343     end
344
345     if epmax <= epcon
346         break
347     end
348
349 end
350
351 % Actualizacion de las variables
352 % Adimensionales
353 cwa(1:np,1) = cwa(1:np,2);
354 caa(1:np,1) = caa(1:np,2);
355 csa(1:np,1) = csa(1:np,2);
356 Ma(1:np,1) = Ma(1:np,2);
357 siga(1:np,1) = siga(1:np,2);
358
359 % Dimensionales
360 cs(1:np) = csa(1:np,2).*csref;
361 cw(1:np) = cwa(1:np,2).*cwref;
362 ca(1:np) = caa(1:np,2).*caref;
363 sig(1:np) = siga(1:np,2).*sigref;
364 M(1:np) = Ma(1:np,2).*Mref;
365
366
367 if j<=ntpr                                % Chequea si es tiempo de impresion
368     if tprint >= dtprint(j) % Imprime en los valores de tiempo=dtprint
369         Ccw(:,j) = cw(:);
370         Cca(:,j) = ca(:);
371         Ccs(:,j) = cs(:);
372         Csig(:,j) = sig(:);
373         time(j) = tm;
```

```
374         j = j+1;
375     end
376 end
377 end
378
379 % Impresion de tiempos
380 save dtprint.dat time % Tiempos de impresion
381 tout=toc;
382 save tiempo.dat tout % Tiempo de simulacion
383
384 % Fracciones promedios en el volumen
385 % Fraccion de activo liberado
386 a = 0;
387 q = R;
388 h = (q-a)./n;
389 j = 1:ntpr;
390 k = 1:n+1;
391 r = a+(k-1).*h;
392 f = (Ccs(k,j)+Cca(k,j)).*(r(k).^2)';
393 I = (h./2).*(f(1,j)+2.*sum(f(2:n,j))+f(n+1,j));
394 P = (3./((R).^3).*(cs0+ca0)).*I;
395 PhiL = (1-P)';
396 save fraccionCUR.dat PhiL
397 save perfilCA.dat Cca
398 save perfilCS.dat Ccs
399
400 % Fraccion de agua absorbida
401 ff = (Ccw(k,j)).*(r(k).^2)';
402 II = (h./2).*(ff(1,j)+2.*sum(ff(2:n,j))+ff(n+1,j));
403 PhiW = (3./((R).^3)*cwout)).*II';
404 save aguaCUR.dat PhiW
405 save perfilCw.dat Ccw
406
407 % Fraccion de polimero remanente
408 fM = (CM(k,j)).*(r(k).^2)';
409 IM = (h./2).*(fM(1,j)+2.*sum(fM(2:n,j))+fM(n+1,j));
410 PhiM = (3./((R).^3)*M0)).*IM';
411 save polCUR.dat PhiM
412 save perfilM.dat CM
413
414 %%Fraccion de tensiones desarrolladas
415 fsig = (Csig(k,j)).*(r(k).^2)';
```

```
416 Isig = (h./2).*(fsig(1,j)+2.*sum(fsig(2:n,j))+fsig(n+1,j));
417 PhiSig = (3./((R.^3).*sig0)).*Isig';
418 save tensionCUR.dat PhiSig
419 save perfilSIG.dat Csig
```

A.15. Determinación del contenido inicial de agua en las partículas (Sección 3.4.2.1)

En la **Tabla A.15.1**, se muestran los valores del contenido inicial de agua en las partículas, los cuales fueron obtenidos según la técnica descrita en la **Sección 3.3.2.1**. A partir de estos valores se obtuvo un valor promedio de concentración inicial de agua ($c_{w,0}$) utilizado en la etapa de validación del modelo y mostrado en la **Tabla 3.3**.

Tabla A.15.1. Valores de humedad (H) y contenido inicial de agua ($c_{w,0}$) en las partículas obtenidos en 5 experiencias independientes.

Exp	H [mol m ⁻³]	$c_{w,0}$ (10^4) [mol m ⁻³]
E1	56,5	1,2
E2	58,3	1,2
E3	43,2	0,9
E4	46,6	1,0
E5	45,0	0,9

A.16. Determinación del contenido inicial de activo encapsulado (Sección 3.4.2.1)

En la **Tabla A.16.1**, se muestran los valores de concentración inicial de astaxantina en las partículas de alginato de calcio, los cuales fueron obtenidos según la técnica descrita en la **Sección 3.3.2.1**. A partir de estos valores se obtuvo un valor promedio de concentración inicial de activo ($c_{s,0}$) utilizado en la etapa de validación del modelo y mostrado en la **Tabla 3.3**.

Tabla A.16.1. Valores de concentración de astaxantina en las partículas secas (w), peso de partículas secas (W) y contenido inicial de astaxantina ($c_{s,0}$) obtenidos en 5 experiencias independientes.

Exp	w [$\mu\text{g g}_{ss}^{-1}$]	W [g_{ss}]	$c_{s,0}$ [mol m^{-3}]
E1	53,62	$0,259 \pm 0,016$	5,24
E2	55,77	$0,242 \pm 0,015$	5,10
E3	40,17	$0,329 \pm 0,016$	5,00
E4	42,02	$0,305 \pm 0,015$	4,84
E5	41,46	$0,314 \pm 0,016$	4,93

A.17. Programas de pulsos de ^1H RMN (Sección 4.4.2.1)

A.17.1. Condiciones para la puesta a punto de la técnica

Con la finalidad de poner a punto la técnica para la determinación de la composición del alginato de sodio mediante un método de ^1H RMN, se seleccionaron programas con distintas secuencias de pulsos. Los programas seleccionados fueron *zg30*, *zgpr* y *ledbpgp2s1d* detallados en la **Sección 4.3.2.2**. En la **Tabla A.17.1**, se muestran los valores de los parámetros seleccionados para cada condición estudiada. Por un lado, los parámetros comunes a todos los programas de pulsos empleados son el tamaño de **Tabla A.17.1**. Valores de los parámetros de los programas de pulsos seleccionados para poner a punto la técnica de determinación de la composición del alginato de sodio mediante una técnica de ^1H RMN.

Condición	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7
Programa de pulsos	<i>zg30</i>	<i>zgpr</i>	<i>ledbpgp2s1d</i>				
<i>TD</i> [-]	65536	32768	32768	32768	32768	32768	32768
<i>NS</i> [-]	16	8	128	128	256	128	256
<i>DS</i> [-]	2	2	8	8	8	8	8
<i>SW</i> [ppm]	20,618	12,131	26,698	26,698	26,698	7,991	2,000
<i>SWH</i> [Hz]	6188,119	3640,777	8012,820	8012,820	8012,820	2400,768	600,240
<i>AQ</i> [s]	5,295	4,500	2,045	2,045	2,045	6,825	27,296
Δ [s]	-	-	0,05	0,05	0,10	0,15	0,15
<i>G</i> [%]	-	-	98	95	98	98	98
δ_G [μs]	-	-	1300	1300	2500	2500	2500

datos del dominio de tiempo (*TD*), el número de escaneos (*NS*), el número de escaneos de prueba (*DS*), la anchura espectral en ppm (*SW*) y en Hz (*SWH*) y el tiempo de adquisición (*AQ*). Por otro lado, los parámetros propios del programa de pulsos *ledbpgp2s1d* son el tiempo de difusión (Δ), la fuerza del gradiente de campo pulsado (*G*) y la longitud del gradiente aplicado (δ_G). Las condiciones C1 y C2 corresponden a los programas de pulsos *zg30* y *zgpr*, respectivamente. Los valores de los parámetros corresponden a los pre-establecidos por el software del espectrofotómetro TopSpin 4.1.3 (Bruker BioSpin, Rheinstetten, Alemania). En cuanto a las condiciones C3 a C7, fueron realizadas con el programa de pulsos *ledbpgp2s1d*. En C3 los parámetros fueron los pre-establecidos por el software y en C4 se fijaron los valores reportados por Vilén et al. (2011). Luego, los parámetros de C4 se variaron (C5, C6 y C7) hasta hallar empíricamente los valores que permitieron obtener la mejor resolución del espectro para el alginato a 25 °C.

A.17.2. Selección del programa de pulsos

En la **Fig. A.17.1**, se muestran los espectros obtenidos para cada condición. En el espectro correspondiente a C1 (**Fig. A.17.1.a**) se observa un único pico en 4,69 ppm, correspondiente al protón del D₂O (Vilén et al., 2011). Debido a la elevada intensidad de este pico, el espectro pierde resolución y no permite ver las señales de otros protones presentes en la muestra (Guéron et al., 1991; Mo y Raftery, 2008). En el espectro de C2 (**Fig. A.17.1.b**) se visualiza una atenuación del pico del D₂O. Debido a esto, se distinguen otros picos en la región de interés. Las **Figs. A.17.1.(c)-(g)** son los espectros obtenidos con el programa de pulsos *ledbpgp2s1d* en las distintas condiciones. En el espectro de C3 (**Fig. A.17.1.c**) se distinguen las señales características del alginato (**Fig. 4.12**). Sin embargo, se observa una señal a 4,69 ppm que puede estar asociada a la presencia de D₂O sin difundir, al H anomérico de M o al H5 de G (Sección 4.2.2.6). La **Fig. A.17.1.(d)** muestra el espectro obtenido con los parámetros reportados por Vilén et al. (2011) (C4). Se observa una señal intensa en 4,687 que correspondería al protón del D₂O. Es decir, el D₂O no difundió antes que el alginato y sus señales no se separaron. Esto puede deberse a dos razones principales que involucran a la viscosidad de la muestra. Vilén et al. (2011) realizaron las determinaciones en equipos de 400 y 600 MHz y recomendaron trabajar a una temperatura de 70 °C y una concentración de 0,5 % (m:v). En las determinaciones realizadas en la presente Tesis, la temperatura de trabajo fue de 25 °C y la concentración de la muestra fue de 5 % (m:v). Esta concentración fue seleccionada con la finalidad de aumentar la resolución de los espectros, ya que el equipo utilizado fue de 300 MHz. En la C5, se aumentó el valor de *NS* y de Δ respecto a C3. En el espectro obtenido para C5 (**Fig. A.17.1.e**) se observan los picos característicos del alginato. En la C6 se disminuyó el valor de *NS* y se aumentó el valor de Δ respecto a C5. Sin embargo, los espectros obtenidos en ambas condiciones son similares. La principal diferencia entre C5 y C6 fue el tiempo que duró cada corrida. En el primer caso fue menos de 1 h, mientras que en el segundo caso fue mayor a 2 h. Con la finalidad de aumentar la resolución del espectro, en la C7 se aumentó el valor de *NS* y se disminuyó el de *SW* respecto a C6 (BioSpin, 2014). Sin embargo, en la **Fig. A.17.1.(g)** se observa que el espectro obtenido en C7 perdió resolución horizontal respecto a C5 y C6. Además, la señal en 4,69 ppm aparece más intensa.

Se concluye que el programa de pulsos *ledbpgp2s1d* con los valores de parámetros de C5 es el más apropiado para caracterizar la composición del alginato de sodio.

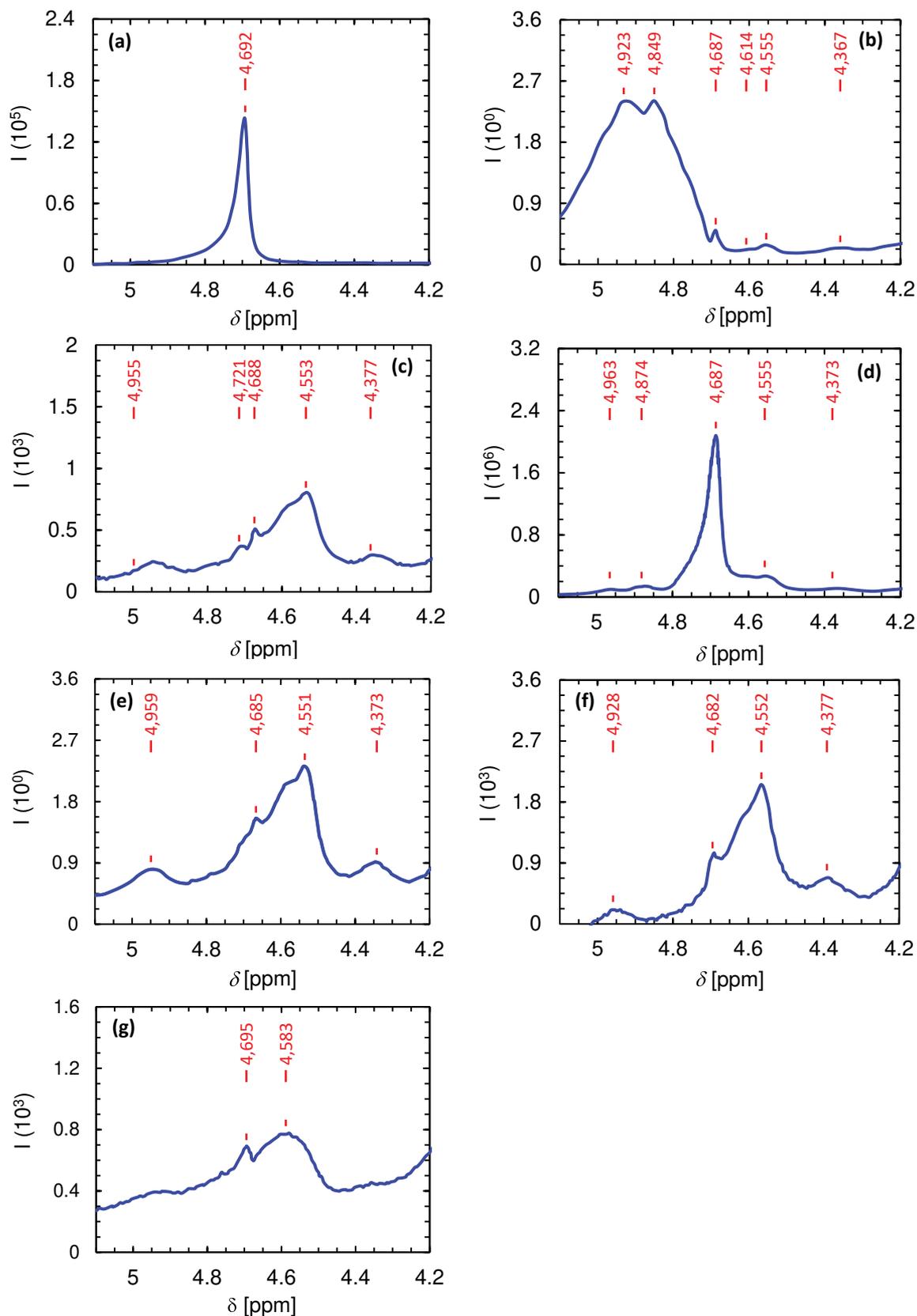


Figura A.17.1. Espectros obtenidos para el alginato de baja viscosidad Sigma-Aldrich (AS) a 25 °C con los valores de parámetros de las condiciones (a) C1, (b) C2, (c) C3, (d) C4, (e) C5, (f) C6 y (g) C7.

A.17.3. Nomenclatura

AQ Tiempo de adquisición [s]

G Fuerza del gradiente de campo pulsado [%]

NS Número de escaneos [-]

SW Anchura espectral [ppm]

SWH Anchura espectral [Hz]

T_D Tamaño de datos del dominio de tiempo [-]

Símbolos griegos

Δ Tiempo de difusión [s]

δ_G Longitud del gradiente aplicado [μs]

A.17.4. Bibliografía

BioSpin, B. (2014). Avance begginers guide. Tech. rep., Rheinstetten, Alemania.

Guéron, M., Plateau, P. y Decorps, M. (1991). Solvent signal suppression in NMR. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 23(2):135–209. doi:10.1016/0079-6565(91)80007-O.

Mo, H. y Raftery, D. (2008). Pre-SAT180, a simple and effective method for residual water suppression. *Journal of Magnetic Resonance*, 190(1):1–6. doi:10.1016/j.jmr.2007.09.016.

Vilén, E.M., Klinger, M. y Sandström, C. (2011). Application of diffusion-edited NMR spectroscopy for selective suppression of water signal in the determination of monomer composition in alginates: Application of diffusion-edited NMR spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 49(9):584–591. doi:10.1002/mrc.2789.

A.18. Obtención de la expresión para la concentración de soluto en el compartimiento B (Ec. 5.3)

Una celda de difusión consta de dos compartimientos (A y B) de iguales dimensiones y conectados a través de un sólido permeable de espesor L , altura d y sección transversal S . Para la determinación del coeficiente de difusión efectivo (D_{eff}) de un soluto en el sólido, en ambos compartimientos se coloca un volumen V ($V = V_A = V_B$) de soluciones del soluto de concentraciones iniciales $c_{A,0}$ y $c_{B,0}$, respectivamente (**Fig. A.18.1**). Luego, se mide el valor de $c_B - c_{B,0}$ a distintos tiempos t . Debido a esto, se busca una expresión para la evolución temporal de $c_B(t) - c_{B,0}$ que permita estimar el valor de D_{eff} .

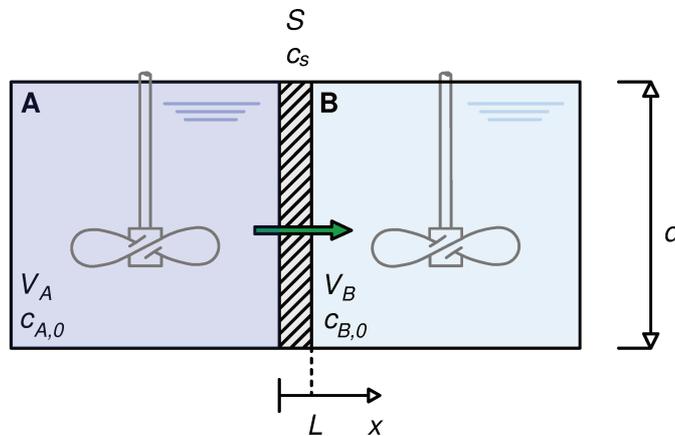


Figura A.18.1. Esquema de una celda de difusión.

En principio, se consideró que (a) no hay reacción química, (b) $c_{A,0} > c_{B,0}$, por lo tanto hay un flujo difusivo de soluto desde el compartimiento A hacia el compartimiento B, (c) el flujo convectivo de soluto es despreciable, (d) $d \gg L$, por lo tanto el sólido permeable se considera una lámina infinita de espesor L , (e) las soluciones de ambos compartimientos tienen una agitación perfecta y que (e) las dimensiones del sólido y el valor de D_{eff} se mantienen constantes durante el tiempo que dura la experiencia. En base a esto, se plantearon las ecuaciones de balance de materia para el soluto en el sólido (**Ec. A.18.1**), la condición inicial (**Ec. A.18.2**) y las condiciones de contorno adecuadas (**Ec. A.18.3-A.18.3**) (Djelveh et al., 1989).

Balance de materia para el activo en el sólido permeable

$$\frac{\partial c_s}{\partial t} = D_{eff} \frac{\partial^2 c_s}{\partial x^2} \quad t > 0 \quad 0 < x < L \quad (\text{A.18.1})$$

Condición inicial y condiciones de contorno

$$c_s = c_{s,0} \quad t = 0 \quad 0 \leq x \leq L \quad (\text{A.18.2})$$

$$c_s = kc_{A,0} \quad t > 0 \quad x = 0 \quad (\text{A.18.3})$$

$$-SD_{eff} \frac{\partial c_s}{\partial x} = V \frac{\partial c_B}{\partial t} \quad t > 0 \quad x = L \quad (\text{A.18.4})$$

donde c_s es la concentración del soluto en el sólido [g L^{-1}], t es el tiempo [s], x es la dirección del proceso de difusión [m], $c_{s,0}$ es la concentración inicial de soluto en el sólido [g L^{-1}], k es el coeficiente de partición entre el soluto en equilibrio en la superficie del sólido y el soluto en el compartimiento A [-] y $c_{A,0}$ es la concentración inicial de soluto en el compartimiento A en [g L^{-1}].

La solución analítica del sistema de **Ecs. (A.18.1)-(A.18.4)** está dada por la expresión (Djelveh et al., 1989),

$$\frac{c_s - c_{s,0}}{kc_{A,0} - c_{s,0}} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{2(\alpha_n^2 + a^2)}{\alpha_n(\alpha_n^2 + a^2 + a)} \sin\left(\frac{\alpha_n x}{L}\right) \exp\left(\frac{-D_{eff}\alpha_n^2 t}{L^2}\right) \quad (\text{A.18.5})$$

donde α_n es la n raíz no positiva de,

$$\alpha_n \tan \alpha_n = a \quad (\text{A.18.6})$$

Para arribar a una expresión matemática para la evolución temporal de $c_B(t) - c_{B,0}$, se despejó $c_B - c_{B,0}$ de la **Ec. (A.18.4)** considerando que c_B es independiente de la posición (agitación perfecta),

$$\frac{dc_B(t)}{dt} = -\frac{SD_{eff}}{V} \frac{\partial c_s}{\partial x} \Big|_{x=L} \quad (\text{A.18.7})$$

$$c_B(t) - c_{B,0} = \frac{S}{V} \int_0^t -D_{eff} \frac{\partial c_s}{\partial x} dt' \quad (\text{A.18.8})$$

Derivando la **Ec. (A.18.5)** respecto a x y evaluándola en $x = L$ se llega a la siguiente expresión,

$$\frac{\partial c_s}{\partial x} \Big|_{x=L} = (kc_{A,0} - c_{s,0}) \left[1 - \frac{2}{L} \sum_{n=2}^{\infty} \left(\frac{\alpha_n^2 + a^2}{\alpha_n^2 + a^2 + a} \right) \cos \alpha_n \exp\left(\frac{-D_{eff}\alpha_n^2 t}{L^2}\right) \right] \quad (\text{A.18.9})$$

Integrando la **Ec. (A.18.9)**,

$$\int_0^t \frac{\partial c_s}{\partial x} \Big|_{x=L} dt' = (kc_{A,0} - c_{s,0}) \left\{ t + \frac{2L}{D_{eff}} \sum_{n=2}^{\infty} \left(\frac{\alpha_n^2 + a^2}{\alpha_n^2 + a^2 + a} \right) \frac{\cos \alpha_n}{\alpha_n^2} \left[\exp\left(\frac{-D_{eff}\alpha_n^2 t}{L^2}\right) - 1 \right] \right\} \quad (\text{A.18.10})$$

Reemplazando con la **Ec. (A.18.10)** en la **Ec. (A.18.8)** y reordenando,

$$c_B(t) - c_{B,0} = \frac{SL}{V} \sum_{n=0}^{\infty} \left[A_n - A_n \exp\left(\frac{-D_{eff}\alpha_n^2 t}{L^2}\right) \right] k(c_{A,0} - c_{B,0}) \quad (\text{A.18.11})$$

donde A_n está dado por,

$$A_n = \frac{2(\alpha_n^2 + a^2) \cos \alpha_n}{\alpha_n^2 (\alpha_n^2 + a^2 + a)} \quad (\text{A.18.12})$$

Cuando $a = 0$, $\alpha_n^2 = n\pi$ y la **Ec. (A.18.12)** queda,

$$c_B(t) - c_{B,0} = \frac{SL}{V} \left[\frac{D_{eff}}{L^2} t - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp\left(-\frac{D_{eff} \pi^2 n^2 t}{L^2}\right) \right] k (c_{A,0} - c_{B,0}) \quad (\text{A.18.13})$$

A.18.1. Nomenclatura

$c_{A,0}$ Concentración inicial de soluto en el compartimiento A [g L⁻¹]

c_B Concentración de soluto en el compartimiento B [g L⁻¹]

$c_{B,0}$ Concentración inicial de soluto en el compartimiento B [g L⁻¹]

c_s Concentración de soluto en el sólido [g L⁻¹]

$c_{s,0}$ Concentración inicial de soluto en el sólido [g L⁻¹]

d Altura del sólido [m]

D_{eff} Coeficiente de difusión efectivo [m² s⁻¹]

k Coeficiente de partición [-]

L espesor del sólido [m]

S Sección transversal del sólido [m²]

t Tiempo [s]

V_A Volumen de solución en el compartimiento A [m³]

V_B Volumen de solución en el compartimiento B [m³]

x Dirección del proceso de difusión [m]

A.18.2. Bibliografía

Djelveh, G., Gros, J.B. y Bories, B. (1989). An improvement of the cell diffusion method for the rapid determination of diffusion constants in gels or foods. *Journal of Food Science*, 54(1):166–169. doi:10.1111/j.1365-2621.1989.tb08593.x.

A.19. Evaluación del comportamiento del alginato del calcio frente al pH (Sección 5.3.1.3)

Con el objeto de evaluar el comportamiento del alginato de calcio frente al pH, se colocaron 250 mg de partículas de alginato de calcio en 4 erlenmeyers. A cada elermenyer se le agregó 10 mL de la solución con el pH que se pretendía estudiar (5, 5,5, 6 y 7). El sistema fue incubado durante 1 h en baño termostatzado a 37 °C. Las partículas fueron preparadas según la metodología descrita en la **Sección 2.3.2**. El diámetro inicial de las partículas fue de $0,214 \pm 0,009$ cm.

Pasado el tiempo de incubación, las partículas fueron filtradas y pesadas. La variación en el peso de las mismas fue de 2,22, 1,82, 1,59 y 0,95 respecto al peso inicial para pH 5, 5,5, 6 y 7, respectivamente. Es decir, que a medida que disminuyó el pH del medio, las partículas absorbieron mayor proporción de agua. Esto está en corcondancia con **Fig. A.19.1**, donde se puede observar que a medida que disminuye el pH de la solución, las partículas tendieron a estar más transparentes (mayor proporción de agua). Además, se puede notar que en ningún caso hubo desarrollo de turbidez en el medio. Esto significa que las partículas mantuvieron su estructura durante el tiempo de observación y en las condiciones en estudio.

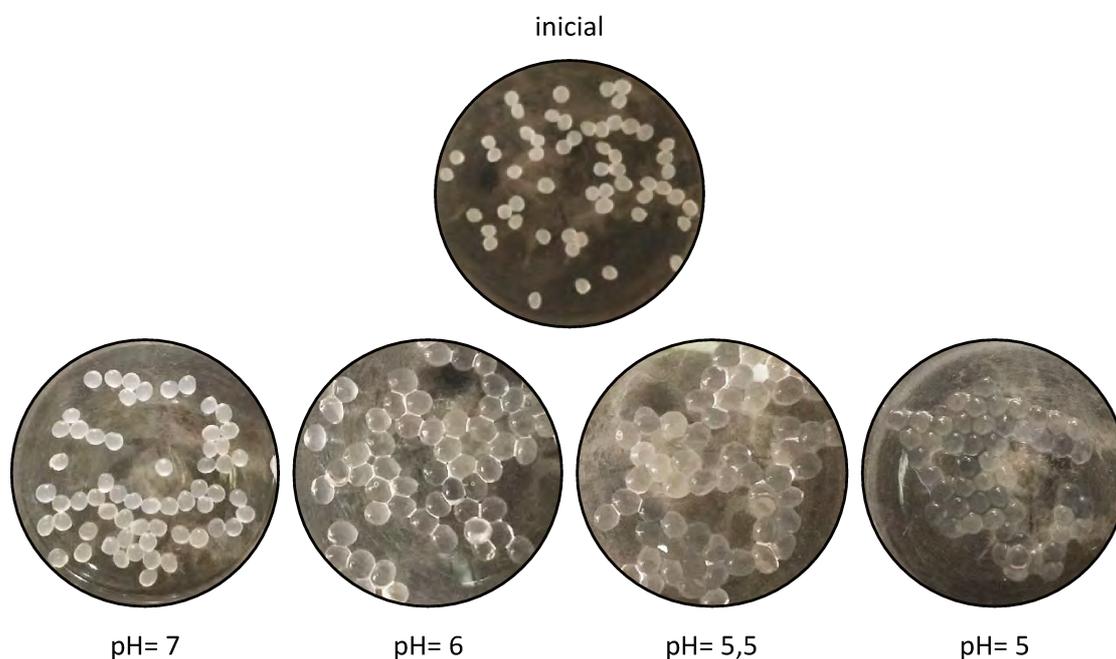


Figura A.19.1. Comportamiento de partículas de alginato de calcio frente al pH.

A.20. Código para la determinación del coeficiente de difusión efectivo de urea en un gel de alginato de calcio (Sección 5.3.1.6)

Programa escrito en GNU/Octave 5.2.0. para implementar la resolución numérica planteada en la Sección 5.3.1.6.

```
1 %-----
2 % Implementacion de la Ec. (5.3) para la determinacion del coeficiente
3 % de difusion efectivo de urea en un gel de alginato de calcio
4 %-----
5 % Autora: Jesica D. Orona
6 % Fecha: Septiembre 2020
7 %-----
8 % Definicion de variables y parametros
9
10 % cA0 = Concentracion inicial de urea en el compartimento A [g/L]
11 % cB = la concentracion de urea en el compartimiento B [g/L]
12 % cB0 = Concentracion inicial de urea en el compartimento B [g/L]
13 % D = Coeficiente de difusion efectivo [m^2/s]
14 % k = coeficiente de particion [-]
15 % L = espesor del gel [m]
16 % n = n-esimo termino de la sumatoria [-]
17 % Sup = Superficie de difusion [m^2]
18 % Tiempo = tiempo [s]
19 % Vb = Volumen de solucion en el compartimiento B [m^3]
20 %-----
21
22 function cB = AjusteDeff(a)
23
24 % Datos experimentales
25 load time.txt
26 load cb.txt
27
28 t_matriz = size(time);
29 nt = t_matriz(1);
30 Tiempo = time;
31 cB_exp = cb;
32
33 Sup = 4.909e-4;
34 Vb = 3.5e-4;
35 L = 1.516e-3;
36 cA0 = 100;
37 cB0 = 0;
```

```
38
39 % Parametros de la ecuacion
40 D = a(1);
41 k = 1;
42
43 % Ecuacion (6.4)
44 C1 = (Sup.*L)./Vb;
45 C2 = D./(L^2);
46
47 s = 0;
48 for n = 1:50
49     s = s+((-1)^n)./(n^2).*exp(-D.*Tiempo.*(pi.*n/L).^2);
50 endfor
51
52 cB = cB0+C1.*(C2.*Tiempo-(1/6)-(2./(pi^2)).*s).*k.*(cA0-cB0);
53
54 ee = abs((cad-cB_exp)./cB_exp);
55 error = sum(ee)./nt;
```

A.21. Tratamiento estadístico de los duplicados (Sección 5.3.3)

Se realizó un análisis estadístico de los duplicados de $\Gamma = c_B, c_{Ca}$ con la finalidad de detectar posibles datos atípicos y/o datos influyentes. Aquí, c_B es la concentración de urea en el compartimiento B de la celda de difusión [g L^{-1}] y c_{Ca} es la concentración de calcio en el medio de disolución de las experiencias de depolimerización [mg g_{ss}^{-1}] (**Capítulo 5**). Para ello se propuso que el duplicado 1 de Γ (Γ_1) sigue una tendencia lineal respecto al duplicado 2 (Γ_2). La expresión del modelo poblacional considerado fue planteado en la **Ec. (5.19)**. Considerando que se cumplen los supuestos planteados en la **Sección 5.3.3**, la expresión de una recta de regresión ajustada a un determinado conjunto de datos experimentales de M_Γ observaciones es (Walpole et al., 2012),

$$\tilde{\Gamma}_{1,i} = b_{\Gamma_1}\Gamma_{2,i} + b_{\Gamma_0} + e_{\Gamma i} \quad 1 \leq i \leq M_\Gamma \quad (\text{A.21.1})$$

donde b_{Γ_1} y b_{Γ_0} son los estimadores para β_{Γ_1} y β_{Γ_0} , respectivamente, $\tilde{\Gamma}_{1,i}$ es el valor ajustado de $\Gamma_{1,i}$ y $e_{\Gamma i}$ es el residuo del ajuste lineal de los duplicados de la variable Γ correspondiente al tiempo t_i .

A continuación, se muestran las expresiones de los estimadores de los parámetros del modelo de regresión poblacional, se definen variables de interés en el análisis estadístico y se muestra la metodología empleada para obtener a los estimadores del modelo utilizando RStudio.

Estimación de los parámetros del modelo. Los valores de b_{Γ_1} y de b_{Γ_0} del modelo lineal propuesto (**Ec. A.21.1**), pueden obtenerse a partir de expresiones derivadas del método de mínimos cuadrados (Walpole et al., 2012),

$$b_{\Gamma_1} = \frac{\sum_{i=1}^{M_\Gamma} (\Gamma_{2,i} - \bar{\Gamma}_2) (\Gamma_{1,i} - \bar{\Gamma}_1)}{\sum_{i=1}^{M_\Gamma} (\Gamma_{2,i} - \bar{\Gamma}_2)^2} \quad (\text{A.21.2})$$

$$b_{\Gamma_0} = \bar{\Gamma}_1 - b_{\Gamma_1}\bar{\Gamma}_2 \quad (\text{A.21.3})$$

donde $\Gamma_{1,i}$ y $\Gamma_{2,i}$ son el duplicado 1 y el duplicado 2 de la variable Γ al tiempo t_i , respectivamente, y $\bar{\Gamma}_1 = \sum_{i=1}^{M_\Gamma} \Gamma_{1,i}/M_\Gamma$ y $\bar{\Gamma}_2 = \sum_{i=1}^{M_\Gamma} \Gamma_{2,i}/M_\Gamma$.

En cuanto al estimador de la varianza poblacional (σ_Γ^2), Walpole et al. (2012) definieron el error cuadrado medio s_Γ^2 ,

$$s_\Gamma^2 = \frac{\sum_{i=1}^{M_\Gamma} (\Gamma_{1,i} - \tilde{\Gamma}_{1,i})^2}{M_\Gamma - 2} \quad (\text{A.21.4})$$

Adicionalmente, Walpole et al. (2012) propusieron que los intervalos de confianza del 100 $(1 - \alpha)$ %

de b_{Γ_0} y b_{Γ_1} pueden obtenerse a partir de,

$$b_{\Gamma_0} - t_{\alpha/2} \frac{s_{\Gamma}}{\sqrt{MS_{xx\Gamma}}} \sqrt{\sum_{i=1}^{M_{\Gamma}} \Gamma_{2,i}^2} < b_{\Gamma_0} < b_{\Gamma_0} + t_{\alpha/2} \frac{s_{\Gamma}}{\sqrt{MS_{xx\Gamma}}} \sqrt{\sum_{i=1}^{M_{\Gamma}} \Gamma_{2,i}^2} \quad (\text{A.21.5})$$

$$b_{\Gamma_1} - t_{\alpha/2} \frac{s_{\Gamma}}{\sqrt{S_{xx\Gamma}}} < b_{\Gamma_1} < b_{\Gamma_1} + t_{\alpha/2} \frac{s_{\Gamma}}{\sqrt{S_{xx\Gamma}}} \quad (\text{A.21.6})$$

donde α es el nivel de significancia, $t_{\alpha/2}$ es un valor de la distribución t con $(M_{\Gamma} - 2)$ grados de libertad y $S_{xx\Gamma} = \sum_{i=1}^{m_{\Gamma}} (\Gamma_{2,i} - \bar{\Gamma}_2)^2$. En general, se considera un valor de $\alpha = 0,05$.

Datos atípicos y datos influyentes. Los datos atípicos son observaciones inconsistentes con el resto de las observaciones. Estos datos presentan residuos con valores absolutos inusualmente grandes. En cuanto a las observaciones influyentes, son aquellas que cuando son omitidas cambian el modelo obtenido del ajuste. Las observaciones influyentes tienen residuos moderados o grandes, pero no son necesariamente datos atípicos. De igual forma, los datos atípicos pueden o no ser influyentes (Dunn y Smyth, 2018).

Definiciones de valores utilizados para el análisis estadístico. En este punto, se definen el residuo (e_{Γ_i}), el residuo estandarizado ($r_{e_{\Gamma,i}}$), el residuo estudentizado ($r_{s_{\Gamma,i}}$), el leverage (h_{Γ_i}) y la distancia de Cook ($D_{c_{\Gamma,i}}$) de la i -ésima observación. Estos valores son normalmente utilizados para analizar el comportamiento de los datos de la muestra y la bondad del ajuste del modelo propuesto (Dunn y Smyth, 2018).

$$e_{\Gamma_i} = \Gamma_{1,i} - \tilde{\Gamma}_{1,i} \quad (\text{A.21.7})$$

$$r_{e_{\Gamma,i}} = \frac{e_{\Gamma_i}}{s_{\Gamma} \sqrt{1 - h_{\Gamma_i}}} \quad (\text{A.21.8})$$

$$r_{s_{\Gamma,i}} = \frac{e_{\Gamma_i(i)}}{s_{\Gamma(i)} \sqrt{1 - h_{\Gamma_i}}} \quad (\text{A.21.9})$$

$$h_{\Gamma_i} = \frac{1}{M_{\Gamma}} + \frac{(\Gamma_{2,i} - \bar{\Gamma}_2)^2}{S_{xx\Gamma}} \quad (\text{A.21.10})$$

$$D_{c_{\Gamma,i}} = \frac{(r_{e_{\Gamma,i}})^2}{p_{\Gamma}} \left(\frac{h_{\Gamma_i}}{1 - h_{\Gamma_i}} \right) \quad (\text{A.21.11})$$

donde $e_{\Gamma_i(i)}$ y $s_{\Gamma(i)}$ son el residuo y un estimador de la desviación estándar del error obtenidos sin considerar la i -ésima observación, respectivamente, y p_{Γ} es el número de parámetros de la regresión ($p_{\Gamma} = 1 +$ número de variables exploratorias).

En primer lugar, los e_{Γ_i} se definen como la diferencia entre el valor verdadero y el valor ajustado de la variable predictora. Si los M_{Γ} residuos tienen un valor grande, entonces el ajuste del modelo no es bueno. Es decir, que residuos pequeños son indicadores de un ajuste adecuado (Walpole et al., 2012).

En segundo lugar, los $r_{e\Gamma,i}$ son definidos con el fin de obtener residuos con una varianza igual a 1. Debido a esto, resulta conveniente realizar gráficos exploratorio de los residuos considerando a los valores de $r_{e\Gamma,i}$ en lugar de los $e_{\Gamma i}$. Sin embargo, el cálculo de los $r_{e\Gamma,i}$ solo es válido cuando el supuesto de homodasticidad fue verificado. Esto se debe a que la estandarización solo puede corregir la variación natural no constante de los residuos cuando los errores tienen una varianza constante (Faraway, 2014). Los $r_{e\Gamma,i}$ siguen una distribución t con $M_{\Gamma} - p_{\Gamma}$ grados de libertad (Dunn y Smyth, 2018).

En tercer lugar, los $r_{s\Gamma,i}$ son calculados de forma similar a los $r_{e\Gamma,i}$. La diferencia radica en que los valores de $e_{\Gamma i}$ y s_{Γ} son obtenidos a partir de los datos de la regresión sin considerar a la i -ésima observación. Esto hace que los valores de $r_{s\Gamma,i}$ no tengan una correlación con los valores ajustados o las combinaciones lineales de los predictores. Los $r_{s\Gamma,i}$ presentan una varianza igual a 1 y una distribución t con $M_{\Gamma} - p_{\Gamma} - 2$ grados de libertad (Fox y Weisberg, 2019).

En cuarto lugar, el valor de $h_{\Gamma i}$ es una medida de la distancia de la i -ésima observación respecto al centro del espacio predictor. Los casos en que esta distancia es relativamente grande, corresponden a observaciones que tienen potencialmente gran influencia en la estimación de los parámetros del modelo (Fox y Weisberg, 2019). Es decir, que un valor de $h_{\Gamma i}$ pequeño indica que muchas observaciones están contribuyendo para estimar el i -ésimo valor ajustado. En contraparte, un valor de $h_{\Gamma i}$ grande indica que el i -ésimo valor ajustado podría estar determinado completamente por la observación i ($\tilde{\Gamma}_{1,i} = \Gamma_{1,i}$) (observación influyente). El rango de valores que puede tomar $h_{\Gamma i}$ está comprendido entre $1/M_{\Gamma}$ y 1 y su valor medio \bar{h}_{Γ} es igual a p_{Γ}/M_{Γ} (Dunn y Smyth, 2018). Como regla general, Faraway (2014) propuso analizar con atención a las observaciones con $h_{\Gamma i} > 2\bar{h}_{\Gamma}$. Por su parte, Dunn y Smyth (2018) establecieron que un valor de $h_{\Gamma i}$ puede ser considerado elevado cuando $h_{\Gamma i} > 3\bar{h}_{\Gamma}$.

Por último, el valor $D_{c\Gamma,i}$ es una medida de la influencia de la observación i sobre la estimación de los parámetros del modelo. Esto se debe a que su valor es una combinación de los efectos de los residuos y del leverage (Faraway, 2014). Esto está en concordancia con Dunn y Smyth (2018), que definieron a las observaciones influyentes como aquellas que presentan valores de residuo y un leverage grandes. Como regla general, una observación con un $D_{c\Gamma,i} > 1$ es potencialmente influyente (Dunn y Smyth, 2018).

A.21.1. Análisis estadístico de los duplicados de c_B

En principio, se obtuvieron valores de los estimadores de los parámetros del modelo poblacional a través de la función lm de RStudio (Dunn y Smyth, 2018). Estos parámetros son la pendiente b_{c_B1} [-], la ordenada al origen b_{c_B0} [$g\ L^{-1}$] y el error cuadrado medio $s_{c_B}^2$ [$g^2\ L^{-2}$]. A continuación, se realizó un análisis exploratorio de la tendencia de los duplicados a partir del gráfico de c_{B1} vs. c_{B2}

(Fig. A.21.1). Allí se puede observar que $c_{B,1}$ muestra un comportamiento aproximadamente lineal respecto a $c_{B,2}$. Además, pareciera que la variación es aproximadamente constante para todas las observaciones (supuesto de homocedasticidad) (Dunn y Smyth, 2018).

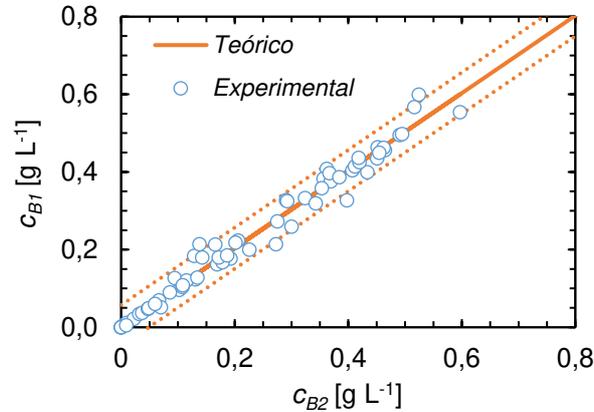


Figura A.21.1. Gráfico de los datos experimentales y de la función de regresión teórica de los duplicados de la concentración de urea en el compartimiento B de la celda de difusión (c_{B1} , c_{B2}). Las líneas de puntos muestran el intervalo del 95 % de confianza de la recta teórica.

Posteriormente, los residuos $e_{c_{Bi}}$ [g L^{-1}], los residuos estandarizados $r_{c_{Bi}}$ [-], los residuos estandarizados $r_{sc_{Bi}}$ [-], los leverage $h_{c_{Bi}}$ [-] y la distancia de Cook $D_{cc_{Bi}}$ [-] fueron analizados en forma exploratoria. Para ello, se utilizó la función *plot*. Esto, permitió verificar los supuestos del modelo de regresión lineal expuestos en la **Sección 5.3.3**. La salida de esta función son cuatro gráficos (**Fig. A.21.2**). Las **Figs. A.21.2.(a)** y **(c)** muestran la tendencia de los residuos y del valor absoluto de la raíz cuadrada de los residuos estandarizados respecto a la variable respuesta obtenida del ajuste, respectivamente. En ambos gráficos se puede ver que los residuos se distribuyen en forma aleatoria alrededor de cero. Esto demuestra que la muestra presenta una variabilidad constante alrededor de cero y que el modelo ajusta de forma adecuada a los datos experimentales (Dunn y Smyth, 2018). Las determinaciones 24, 32 y 52 son las que presentan los mayores valores de residuos. La **Fig. A.21.2.(b)** muestra los residuos estandarizados en función de los cuantiles de una distribución normal estándar (*Q-Q plot*). Si en este gráfico los residuos se presentan a lo largo de la recta $x = y$, entonces se podría inferir que los residuos se distribuyen de manera aproximadamente normal. De lo contrario, se debería considerar una transformación de la variable respuesta en su regresión. En este caso en particular, se observa que los residuos tienden a desviarse de la recta $x = y$, especialmente en los extremos (determinaciones 24, 32 y 52). Sin embargo, se consideró que la desviación no es considerable y no se realizó ninguna transformación de la variable respuesta. Esto se debe a que el modelo de regresión lineal es bastante robusto a las desviaciones de la normalidad (Faraway, 2014). En la **Fig. A.21.2.(d)**, se muestran los residuos estandarizados en función del leverage. El leverage promedio es $\bar{h}_{c_B} = 0,0308$.

Las determinaciones que más se desvían del \bar{h}_{c_B} son la 51 ($2,78\bar{h}_{c_B}$) y 52 ($1,97\bar{h}_{c_B}$). Además, estas determinaciones presentan valores de r_{sc_B} relativamente grandes. Por lo tanto, se les debe prestar especial atención, ya que podrían ser datos atípicos y/o datos influyentes (Dunn y Smyth, 2018).

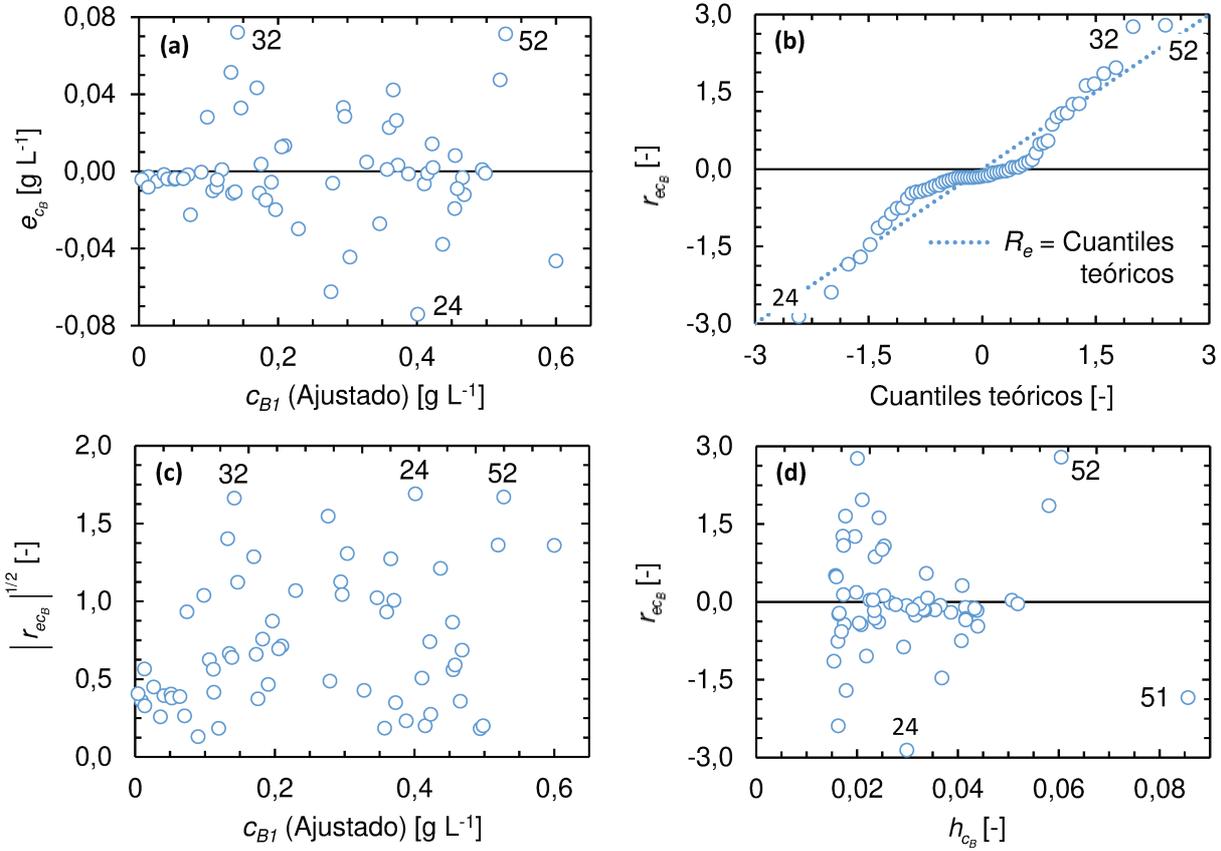


Figura A.21.2. Salida de la función *plot* de RStudio. Los gráficos muestran (a) los residuos (e_{c_B}) vs. los valores de c_{B1} obtenidos del ajuste, (b) los residuos estandarizados (r_{ec_B}) vs. los cuantiles teóricos de una curva normal estándar (*Q-Q plot*), (c) $|r_{ec_B}|^{1/2}$ vs. los valores de c_{B1} obtenidos del ajuste y (d) r_{ec_B} vs. el leverage (h_{c_B}).

En la **Fig.A.21.3**, se muestran los gráficos obtenidos con la función *influenceIndexPlot* de la librería *car*. Éstos muestran los valores de h_{c_B} , r_{sc_B} y D_{cc_B} de cada determinación.

Para evaluar la posibilidad de que haya datos atípicos, se usó la función *outliertest* del paquete *car*. Esta función obtiene el valor de los residuos estudentizados de las determinaciones de la muestra y calcula su *p - valor* y su *p - valor* de Bonferroni. Donde el *p - valor* es la probabilidad de que $r_{sc_B,i}$ sea igual o mayor que el $100(1-\alpha)\%$ de los residuos estudentizados de la muestra (Walpole et al., 2012). En cuanto al *p - valor* de Bonferroni se define,

$$(p - valor)_B = \frac{p - valor}{M_{c_B}} \tag{A.21.12}$$

donde M_{c_B} es el número de observaciones que componen a la muestra. En consecuencia, el $(p - valor)_B$

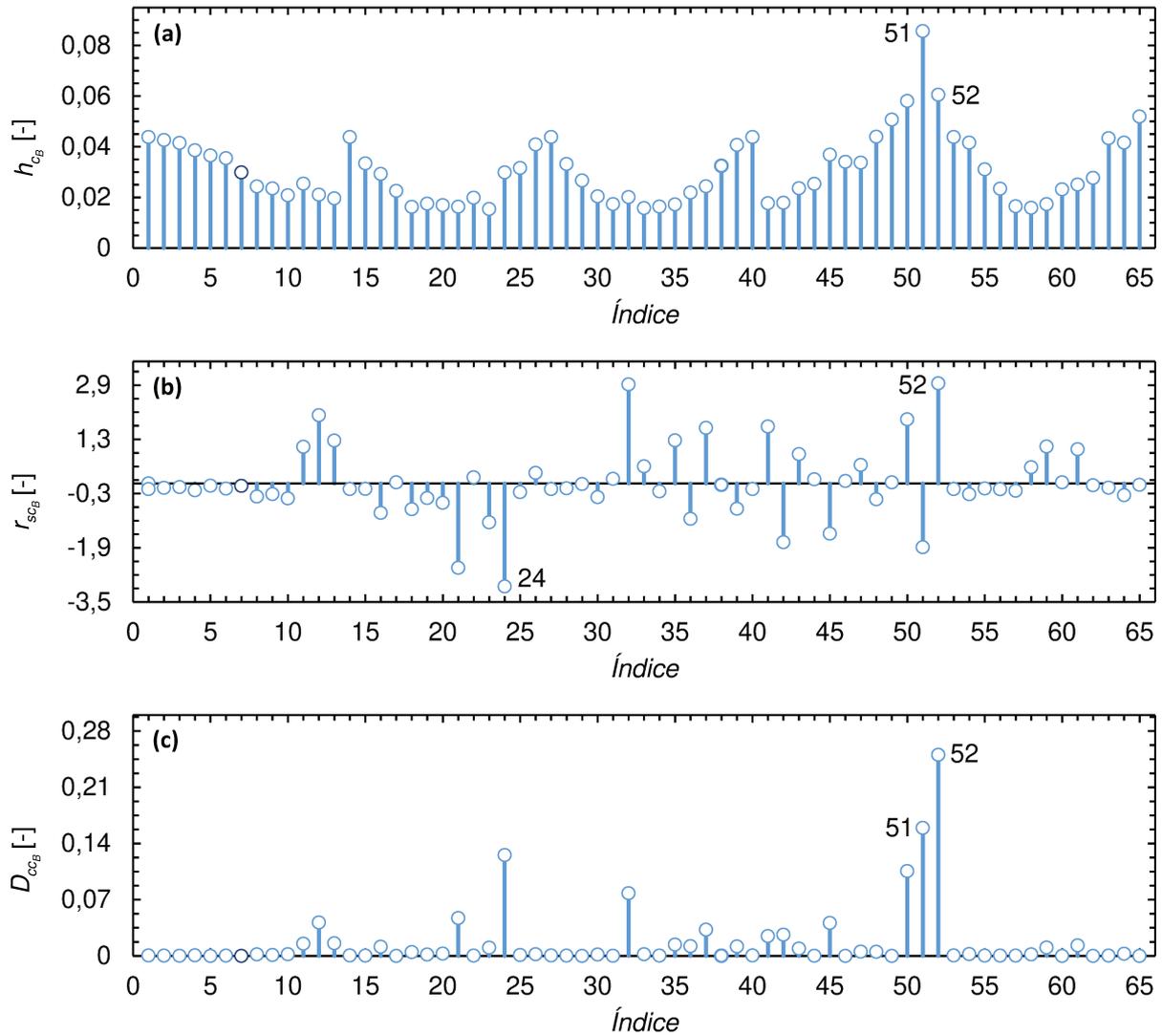


Figura A.21.3. Salida de la función *influenceIndexPlot* de RStudio. Gráfico (a) del leverage (h_{c_B}), (b) de los residuos estudentizados (r_{sc_B}) y (c) de la distancia de Cook (D_{cc_B}) para cada determinación.

es más conservador que el p -valor y reduce la posibilidad de descartar un valor que no es atípico erróneamente (Faraway, 2014). A continuación se muestra la salida de la función *outlierstest*,

```
# Modelo de regresion propuesto
modelo_rl = lm(cB_1 ~ cB_2)

# Test de datos atipicos
library(car)
outlierTest(modelo_rl)

## No Studentized residuals with Bonferroni p < 0.05
## Largest |rstudent|:
```

```
##      rstudent unadjusted p-value Bonferroni p
## 24 -3.038411          0.0034786      0.22611
```

Se observa que la determinación 24 es la que presenta el mayor valor de r_{scB} . En base a ello, debido a que su $(p - valor)_B$ es mayor a $\alpha = 0,05$, este test permite aceptar con el 95% de confianza que la determinación 24 no es un dato atípico. En consecuencia, se podría concluir que la muestra no presenta datos atípicos.

Respecto a la posibilidad de la existencia de datos influyentes, las determinaciones con mayor posibilidad de serlo son la 51 y la 52 debido a que presentan los mayores valores de h_{cB} y de D_{ccB} (Figs. A.21.2-A.21.3). En base a ello, en primer lugar se planteó el modelo considerando todas las determinaciones y se obtuvieron los valores para b_{cB1} y b_{cB0} con sus respectivos intervalos del 95% de confianza.

```
# Modelo de regresion considerando todos los datos
modelo_rl = lm(cB_1 ~ cB_2)
# Estimadores (b1, b0, s)
summary(modelo_rl)

##
## Call:
## lm(formula = cB_1 ~ cB_2)
##
## Residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -0.074133 -0.008988 -0.003712  0.004761  0.072066
##
## Coefficients:
##              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)  0.004254   0.005513   0.772   0.443
## cB_2         0.998120   0.019133  52.167 <2e-16 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 0.02634 on 63 degrees of freedom
## Multiple R-squared:  0.9774, Adjusted R-squared:  0.977
## F-statistic: 2721 on 1 and 63 DF, p-value: < 2.2e-16
```

```
# Intervalos del 95 % de confianza de los estimadores
```

```
##                2.5 %    97.5 %
## (Intercept) -0.006762568 0.01527036
## cB_2         0.959884889 1.03635448
```

En segundo lugar, se planteó el modelo sin considerar a la determinación 51 y se obtuvieron los estimadores de $\beta_1 = b_{1,(-51)}$ y de $\beta_0 = b_{0,(-51)}$.

```
# Modelo de regresion sin considerar el dato 51
```

```
modelo_rl51= lm(cB_1_51~cB_2_51)
```

```
# Estimadores (b1, b0, s)
```

```
summary(modelo_rl51)
```

```
##
```

```
## Call:
```

```
## lm(formula = cB_1_51 ~ cB_2_51)
```

```
##
```

```
## Residuals:
```

```
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -0.076536 -0.009271 -0.002764  0.003870  0.072205
```

```
##
```

```
## Coefficients:
```

```
##              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept) 0.002764    0.005462   0.506   0.615
## cB_2_51     1.007910    0.019466  51.779 <2e-16 ***
```

```
## ---
```

```
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
##
```

```
## Residual standard error: 0.02582 on 62 degrees of freedom
```

```
## Multiple R-squared:  0.9774, Adjusted R-squared:  0.977
```

```
## F-statistic: 2681 on 1 and 62 DF, p-value: < 2.2e-16
```

Luego, se volvió a incluir a 51, se eliminó a la determinación 52 y se obtuvieron los estimadores de $\beta_1 = b_{1,(-52)}$ y de $\beta_0 = b_{0,(-52)}$ (Fox y Weisberg, 2019).

```

# Modelo de regresion sin considerar el dato 52
modelo_rl52= lm(cB_1_52~cB_2_52)
# Estimadores (b1, b0, s)
summary(modelo_rl52)

##
## Call:
## lm(formula = cB_1_52 ~ cB_2_52)
##
## Residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -0.071030 -0.008814 -0.004606  0.006200  0.072132
##
## Coefficients:
##              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)  0.005802   0.005229   1.11   0.271
## cB_2_52      0.986426   0.018486  53.36 <2e-16 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 0.02486 on 62 degrees of freedom
## Multiple R-squared:  0.9787, Adjusted R-squared:  0.9783
## F-statistic: 2848 on 1 and 62 DF, p-value: < 2.2e-16

```

Por un lado, los valores obtenidos para $b_{c_{B1},(-51)}$ y para $b_{c_{B1},(-52)}$ se encuentran dentro del intervalo del 95% de confianza de $b_{c_{B1}}$ y los valores obtenidos para $b_{c_{B0},(-51)}$ y para $b_{c_{B0},(-52)}$ se encuentran dentro del intervalo del 95% de confianza de $b_{c_{B0}}$. Por otro lado, la **Fig. A.21.4** muestra que las rectas de regresión obtenidas con los tres modelos están prácticamente superpuestas. En base a ello, se puede concluir con el 95% de confianza que las determinaciones 51 y 52 no son datos estadísticamente influyentes en el modelo y la recta de regresión que ajusta a los datos experimentales es,

$$c_{B1} = (0,99812 \pm 0,03823) c_{B2} + (0,004254 \pm 0,011102) \quad (\text{A.21.13})$$

con un error medio $s = 0,02634$ y coeficiente de determinación $R^2 = 0,977$.

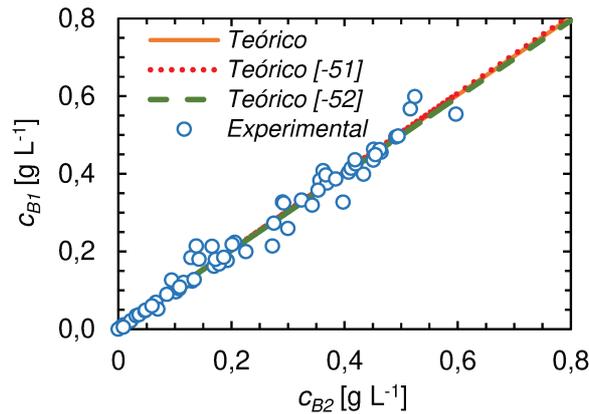


Figura A.21.4. Gráfico de los datos experimentales y de la función de regresión teórica de los duplicados de la concentración de urea en el compartimiento B de la celda de difusión (c_{B1} , c_{B2}). Las curvas “Teórico”, “Teórico [-51]” y “Teórico [-52]” corresponden a la función de regresión obtenida de considerar todas las determinaciones, de eliminar a la determinación 51 y de eliminar a la determinación 52, respectivamente.

A.21.2. Análisis estadístico de los duplicados de c_{Ca}

El tratamiento estadístico de los duplicados de la concentración de calcio en el medio de disolución c_{Ca} fue similar al descrito para los duplicados de c_B . En primer lugar, se obtuvieron valores de los estimadores de los parámetros del modelo poblacional ($b_{c_{Ca1}}$ [-], $b_{c_{Ca0}}$ [mg g_{ss}⁻¹] y $s_{c_{Ca}}^2$ [mg² L⁻²]) a través de la función *lm* de RStudio (Dunn y Smyth, 2018). Luego, se realizó un análisis exploratorio de la tendencia de los duplicados a partir del gráfico de c_{Ca1} vs. c_{Ca2} (Fig. A.21.5). Allí se puede observar que c_{Ca1} muestra un comportamiento aproximadamente lineal respecto a c_{Ca2} . Sin embargo,

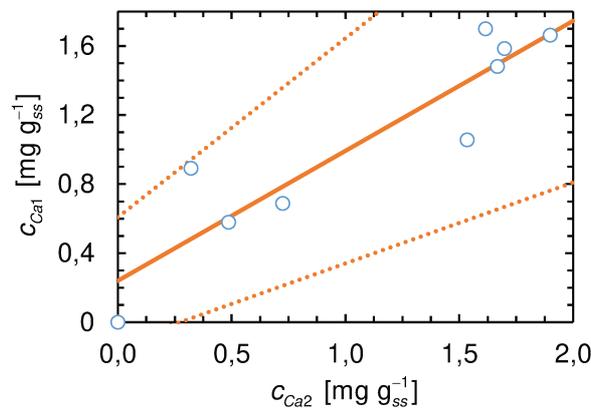


Figura A.21.5. Gráfico de los datos experimentales y de la función de regresión teórica de los duplicados de la concentración de calcio en la solución buffer (c_{Ca1} , c_{Ca2}). Las líneas de puntos muestran el intervalo del 95% de confianza de la recta teórica.

la variabilidad aumenta para mayores valores de c_{Ca1} , es decir, parece que no se cumple el supuesto de homocedasticidad (Dunn y Smyth, 2018). Además, el valor del estimador de la ordenada al origen $b_{c_{Ca}0}$ del modelo poblacional es diferente de cero, aunque parece que el intervalo de confianza del 95 % lo incluye.

En segundo lugar, se utilizó la función *plot* para realizar un análisis exploratorio de los residuos y verificar los supuestos del modelo de regresión lineal expuestos en la **Sección 5.3.3**. En las **Figs. A.21.6.(a)** y **(c)** se puede ver que los $e_{c_{Ca}}$ se distribuyen en forma aleatoria alrededor de cero. Esto demuestra que la muestra presenta una variabilidad constante alrededor de cero (Dunn y Smyth, 2018). Las determinaciones 2, 5 y 7 son las que presentan los mayores valores de $e_{c_{Ca}}$. En el *Q-Q plot* (**Fig. A.21.6.b**) se observa que los $r_{ec_{Ca}}$ tienen una distribución aproximadamente normal, ya que se presentan a lo largo de la recta $x = y$ (Faraway, 2014). En la **Fig. A.21.6.(d)**, se muestran los $r_{ec_{Ca}}$ en función del leverage ($h_{c_{Ca}}$). El leverage promedio es $\bar{h}_{c_{Ca}} = 0,2222$. Las determinaciones que más se desvían del $\bar{h}_{c_{Ca}}$ son la determinación 1 ($1,83\bar{h}_{c_{Ca}}$), la 9 ($1,19\bar{h}_{c_{Ca}}$) y la 2 ($1,17\bar{h}_{c_{Ca}}$). Sin embargo, la determinación 1 corresponde al origen y la determinación 9 tiene un residuo relativamente bajo. Por lo tanto, se les debe prestar especial atención a la determinación 2, ya que podría ser un datos atípico y/o datos influyentes (Dunn y Smyth, 2018).

En la **Fig.A.21.7**, se muestran los gráficos obtenidos con la función *influenceIndexPlot* de la librería *car*. Estos, muestran los valores de $h_{c_{Ca}}$, de los $r_{sc_{Ca}}$ y de $D_{cc_{Ca}}$ de cada determinación.

La posibilidad de que haya datos atípicos fue evaluada a través de la función *outliertest* del paquete *car*. La salida fue,

```
# Modelo de regresion propuesto
modelo_rl = lm(cCa1 ~ cCa2)
# Test de datos atipicos
library(car)
outlierTest(modelo_rl)

## No Studentized residuals with Bonferroni p < 0.05
## Largest |rstudent|:
##      rstudent unadjusted p-value Bonferroni p
## 2  2.714511      0.034896      0.31407
```

Se observa que la determinación 2 es la que presenta el mayor valor de $r_{sc_{Ca}}$. Debido a que su $(p - valor)_B$ es mayor a $\alpha = 0,05$, este test permite aceptar con el 95 % de confianza que la determinación 2 no es un dato atípico. En consecuencia, se podría concluir que la muestra no presenta datos atípicos (Faraway, 2014).

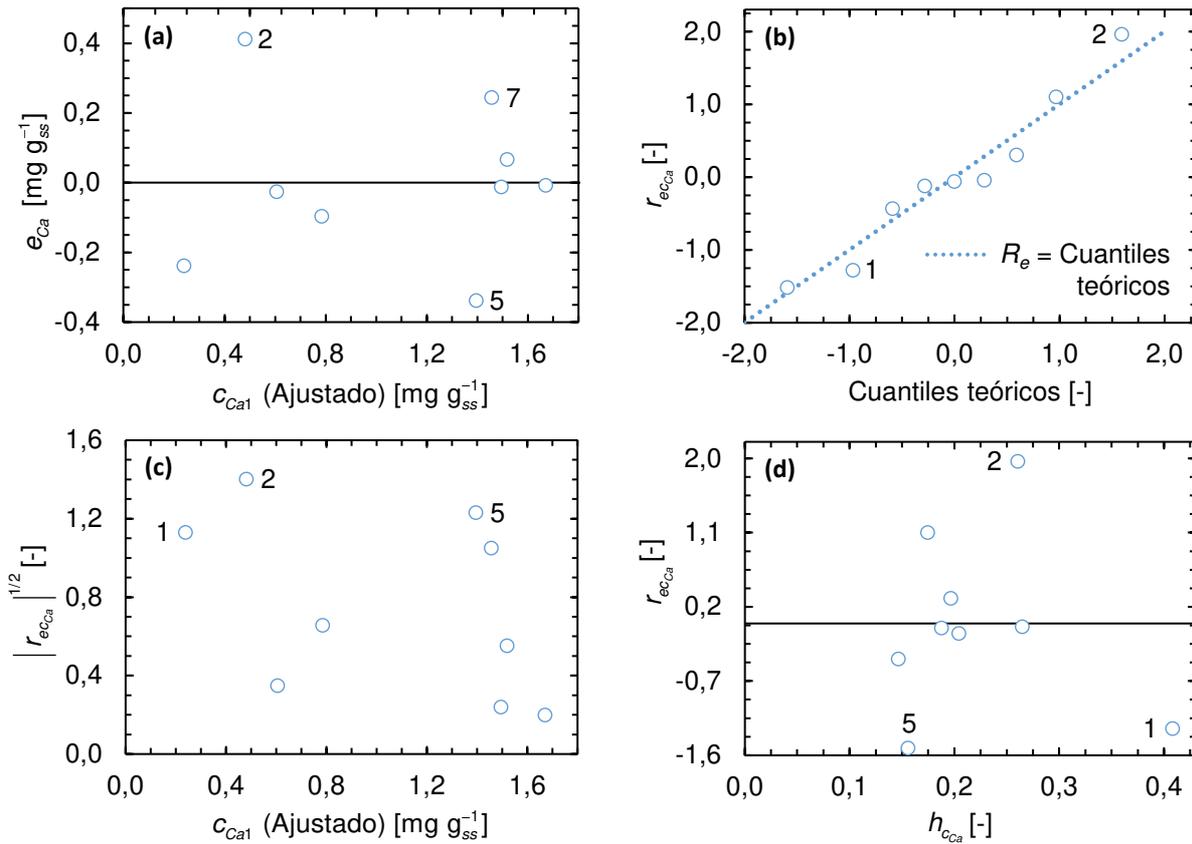


Figura A.21.6. Salida de la función *plot* de RStudio. Los gráficos muestran (a) los residuos (e_{cCa}) vs. los valores de c_{Ca1} obtenidos del ajuste, (b) los residuos estandarizados (r_{ecCa}) vs. los cuantiles teóricos de una curva normal estándar (*Q-Q plot*), (c) $|r_{ecCa}|^{1/2}$ vs. los valores de c_{Ca1} obtenidos del ajuste y (d) r_{ecCa} vs. el leverage (h_{cCa}).

Respecto a la posibilidad de la existencia de datos influyentes, la determinación con mayor posibilidad de serlo es la 2. Esto se debe a que presenta altos valores tanto de h_{cCa} como de D_{ccCa} (**Figs. A.21.6-A.21.7**). En primer lugar se planteó el modelo considerando todas las determinaciones y se obtuvieron los valores para los estimadores de la ordenada al origen b_{cCa0} y de la pendiente b_{cCa1} del modelo poblacional con sus respectivos intervalos del 95 % de confianza. Por un lado, el modelo lineal obtenido tiene un error cuadrado medio $s_{cCa}^2 = (0,2434)^2 \text{ mg}^2 \text{ g}_{ss}^{-2}$ y un coeficiente de determinación $R_{cCa}^2 = 0,8274$. Por otro lado, los intervalos de confianza de b_{cCa0} y de b_{cCa1} contienen al 0 y al 1, respectivamente. Es decir, que con el 95% de confianza, la recta de ordenada al origen igual a 0 y pendiente igual a 1 ajusta a los datos.

```
# Modelo de regresion considerando todos los datos
modelo_rl = lm(cCa_1 ~ cCa2)
# Estimadores (b1, b0, s)
```

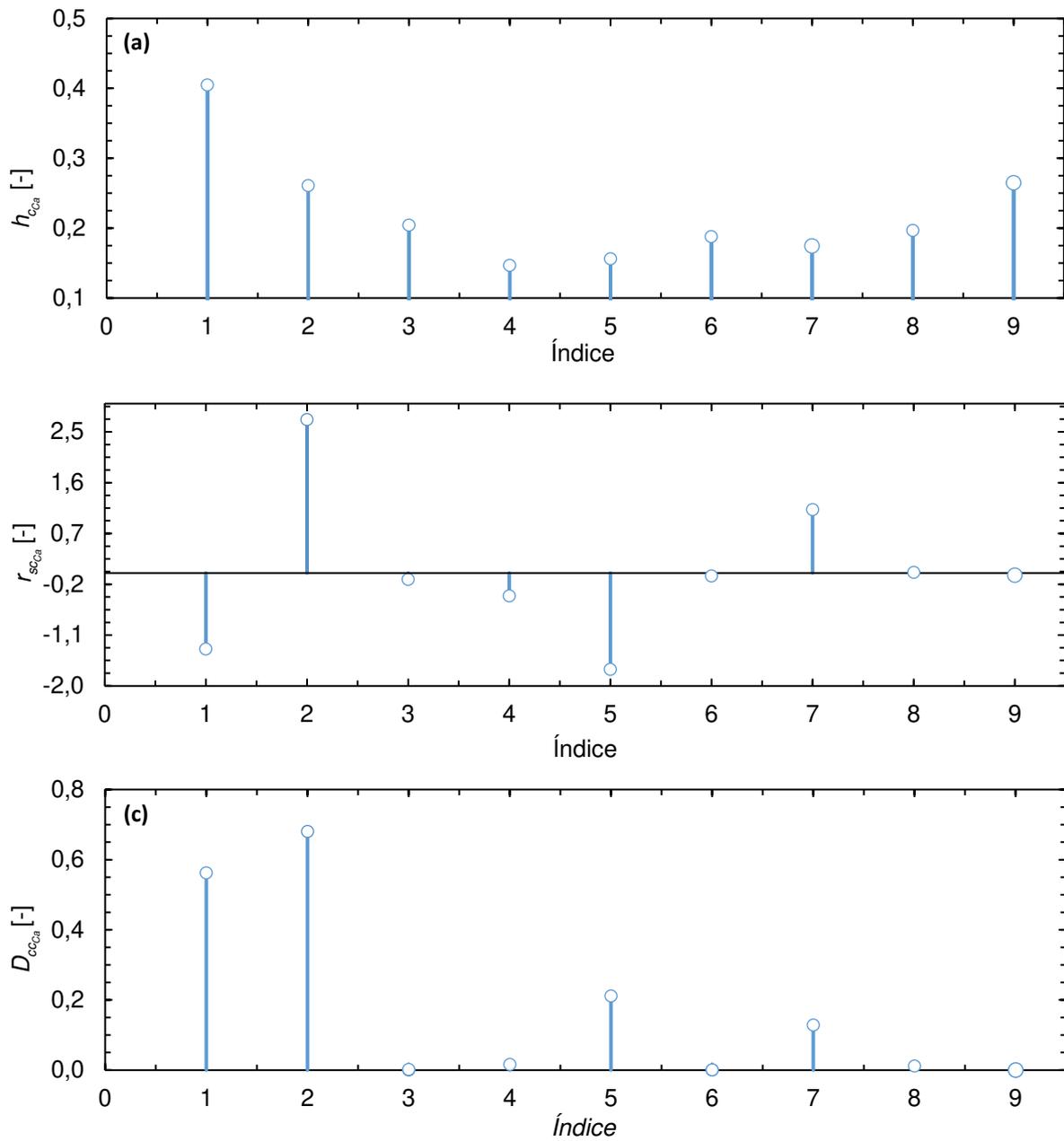


Figura A.21.7. Salida de la función *influenceIndexPlot* de RStudio. Gráfico (a) del leverage (h_{cCa}), (b) de los residuos estudentizados (r_{scCa}) y (c) de la distancia de Cook (D_{ccCa}) para cada determinación.

```
summary(modelo_rl)
```

```
##
```

```
## Call:
```

```
## lm(formula = cCa1 ~ cCa2)
```

```
##
## Residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -0.33840 -0.09682 -0.01261  0.06645  0.41113
##
## Coefficients:
##              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)   0.2390     0.1556   1.536 0.168330
## cCa2          0.7532     0.1201   6.272 0.000415 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
##
## Residual standard error: 0.2434 on 7 degrees of freedom
## Multiple R-squared:  0.8489, Adjusted R-squared:  0.8274
## F-statistic: 39.34 on 1 and 7 DF,  p-value: 0.0004152

# Intervalos del 95 % de confianza de los estimadores

##              2.5 %    97.5 %
##              2.5 %    97.5 %
## (Intercept) -0.1288493 0.6068601
## cCa2         0.4692061 1.0371063
```

En segundo lugar, se planteó el modelo sin considerar a la determinación 2 y se obtuvieron los estimadores de $\beta_{cCa1} = b_{cCa1,(-2)}$ y de $\beta_{cCa0} = b_{cCa0,(-2)}$. En este caso, $s_{cCa}^2 = (0,1761)^2 \text{ mg}^2 \text{ g}_{ss}^{-2}$ y $R_{cCa}^2 = 0,9198$. Esto significa que el modelo lineal sin el dato 2 ajusta en forma más adecuada a los datos experimentales y los intervalos de confianza correspondientes a b_{cCa0} y a_{cCa1} sean más estrechos. En la **Fig. A.21.8**, se muestran las recta obtenida con el modelo lineal que considera a todos los datos experimentales y la recta que no tiene en cuenta el dato 2. Se observa que dicho dato afecta al valor de b_{cCa0} . Por lo tanto, se concluye que el dato 2 es un dato influyente y no fue considerado en los cálculos posteriores. En base a ello, la recta de regresión que ajusta a los datos experimentales es,

$$c_{Ca1} = (0,8593 \pm 0,2331) c_{Ca2} + (0,5994 \pm 0,3193) \tag{A.21.14}$$

con un error medio $s = 0,1760$ y coeficiente de determinación $R^2 = 0,9198$.

```
# Modelo de regresion sin considerar el dato 2
modelo_rl2= lm(cCa1_2~cCa2_2)
# Estimadores (b1, b0, s)
summary(modelo_rl2)

##
## Call:
## lm(formula = cCa1_1 ~ cCa2_2)
##
## Residuals:
##      Min       1Q   Median       3Q      Max
## -0.32217 -0.03808 -0.00248  0.07427  0.25139
##
## Coefficients:
##              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
## (Intercept)  0.05994    0.13047   0.459 0.662147
## cCa2_2       0.85926    0.09528   9.018 0.000104 ***
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

## Residual standard error: 0.1761 on 6 degrees of freedom
## Multiple R-squared:  0.9313, Adjusted R-squared:  0.9198
## F-statistic: 81.33 on 1 and 6 DF,  p-value: 0.0001041

# Intervalos del 95 % de confianza de los estimadores

##              2.5 %    97.5 %
## (Intercept) -0.2593249 0.3791952
## cCa2_2       0.6261199 1.0924060
```

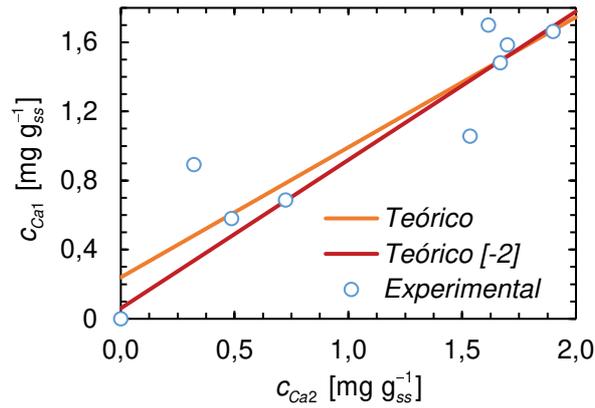


Figura A.21.8. Gráfico de los datos experimentales y de la función de regresión teórica de los duplicados de la concentración de calcio en el medio de disolución (c_{Ca1} , c_{Ca2}). Las curvas “Teórico” y “Teórico [-2]” corresponden a la función de regresión obtenida de considerar todas las determinaciones y de eliminar a la determinación 2, respectivamente.

A.21.3. Nomenclatura

$b_{\Gamma 0}$ Estimador de la ordenada al origen del modelo que siguen los duplicados de Γ [$g L^{-1}$, $mg g_{ss}^{-1}$]

$b_{\Gamma 1}$ Estimador de la pendiente del modelo que siguen los duplicados de Γ [-]

c_{Ca} Concentración de calcio en la solución buffer [$mg g_{ss}^{-1}$]

c_B Concentración de urea en la solución del compartimiento B de la celda de difusión [$g L^{-1}$]

$D_{c\Gamma}$ Distancia de Cook de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [-]

e_{Γ} Residuo de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [$g L^{-1}$, $mg g_{ss}^{-1}$]

h_{Γ} Leverage de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [-]

M_{Γ} Número de observaciones que componen a la muestra de Γ [-]

p_{Γ} Número de parámetros de la regresión de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [-]

$r_{e\Gamma}$ Residuo estandarizado de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [-]

$r_{s\Gamma}$ Residuo estudentizado de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [-]

s_{Γ}^2 Error cuadrado medio de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [$g^2 L^{-2}$, $mg^2 g_{ss}^{-2}$]

Símbolos griegos

α Nivel de significancia [-]

$\tilde{\Gamma}_1$ Valor ajustado de Γ_1 [g L⁻¹, mg g_{ss}⁻¹]

Γ Concentración (c_B, c_{Ca}) [g L⁻¹, mg g_{ss}⁻¹]

Γ_1 Duplicado 1 de la determinación de Γ [g L⁻¹, mg g_{ss}⁻¹]

Γ_2 Duplicado 2 de la determinación de Γ [g L⁻¹, mg g_{ss}⁻¹]

σ_{Γ}^2 Varianza poblacional de $\Gamma_1 = f(\Gamma_2)$ [g L⁻¹, mg g_{ss}⁻¹]

Subíndices

i i -ésimo tiempo de muestreo [-]

A.21.4. Bibliografía

Dunn, P.K. y Smyth, G.K. (2018). *Generalized linear models with examples in R*. Springer Texts in Statistics, Springer New York, New York, USA. doi:10.1007/978-1-4419-0118-7.

Faraway, J.J. (2014). *Linear models with R*. Chapman & Hall/CRC Texts in statistical science series, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, 2da ed.

Fox, J. y Weisberg, S. (2019). *An R companion to applied regression*. SAGE Publications, Inc., Los Angeles, USA, 3ra ed.

Walpole, R.E., Myers, R.H., Myers, S.L. y Ye, K. (2012). *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. Pearson Educación, México, 9na ed.

A.22. Espesores iniciales y finales de los geles de alginato (Tabla 5.2)

En la **Tabla A.22.1**, se muestran los valores medidos del espesor inicial (L_0) y final (L_f) de los geles de alginato de calcio utilizados en cada una de las 5 experiencias independientes.

Tabla A.22.1. Valores medidos de los espesores iniciales (L_0) y de los espesores finales (L_f) de los geles de alginato de calcio usados en las experiencias.

Experiencia									
E1		E2		E3		E4		E5	
L_0	L_f	L_0	L_f	L_0	L_f	L_0	L_f	L_0	L_f
(10^{-3}) [m]									
2,62	3,13	1,64	2,34	1,47	1,91	2,44	2,90	1,81	2,11
2,30	3,52	1,64	2,44	1,55	1,91	2,13	2,90	1,77	2,10
2,26	3,17	1,72	2,43	1,53	2,17	1,74	2,59	1,64	2,17
2,68	3,05	1,85	2,55		1,90	2,56	2,94	1,74	2,14
2,82	2,92	1,42	2,61		1,95	2,21			
2,77			1,98		1,92	2,17			

A.23. Concentración de urea en el compartimiento B a distintos tiempos (Fig. 5.9)

En la **Tabla A.23.1**, se muestra el valor de la concentración de urea (c_B) a distintos tiempos (t) obtenidos en 5 experiencias independientes.

Tabla A.23.1. Valores de concentración de urea en el compartimiento B (c_B) a distintos tiempos (t) en 5 experiencias independientes. Los valores de c_B a cada t fueron determinados a partir de duplicados.

Experiencia									
E1		E2		E3		E4		E5	
t (10^3)	c_B (10^{-2})	t (10^3)	c_B (10^{-2})	t (10^3)	c_B (10^{-2})	t (10^3)	c_B (10^{-2})	t (10^3)	c_B (10^{-2})
(10^3) [s]	[g L $^{-1}$]	[(10^3) [s]	[g L $^{-1}$]	[s]	[g L $^{-1}$]	[s]	[g L $^{-1}$]	[s]	[g L $^{-1}$]
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,6	0,53 \pm 0,06	0,6	4,72 \pm 0,00	0,6	4,87 \pm 0,03	1,8	18,95 \pm 3,33	0,3	0,72 \pm 0,28
0,9	1,04 \pm 0,10	0,9	6,09 \pm 1,30	0,9	8,78 \pm 0,26	2,4	27,97 \pm 2,89	0,7	6,00 \pm 0,02
1,2	2,18 \pm 0,07	1,2	11,80 \pm 0,35	1,2	13,12 \pm 0,47	3,0	36,98 \pm 1,85	0,9	10,85 \pm 0,03
1,4	3,32 \pm 0,18	1,5	18,47 \pm 1,13	1,5	17,58 \pm 0,53	3,6	37,26 \pm 0,48	1,5	18,59 \pm 0,12
1,5	3,71 \pm 0,01	1,8	16,56 \pm 0,53	1,8	17,60 \pm 5,38	3,9	41,65 \pm 2,44	1,8	20,99 \pm 1,16
1,8	6,78 \pm 0,16	2,1	17,31 \pm 0,78	2,1	21,47 \pm 1,21	4,2	42,25 \pm 0,38	2,4	30,87 \pm 2,27
2,1	9,92 \pm 0,43	2,4	24,33 \pm 4,15	2,4	27,40 \pm 0,17	4,5	42,74 \pm 1,25	2,7	35,58 \pm 0,32
2,4	10,58 \pm 0,30	2,7	32,84 \pm 0,59	2,7	30,90 \pm 2,60	4,8	46,03 \pm 0,62	3,0	38,20 \pm 2,11
2,7	12,72 \pm 0,53	3,0	21,49 \pm 1,84	3,0	33,10 \pm 1,67	5,1	49,29 \pm 0,30	3,2	38,56 \pm 0,15
3,0	11,05 \pm 2,27	3,3	36,24 \pm 4,99	3,3	38,52 \pm 3,23	5,4	54,18 \pm 3,58	3,4	46,23 \pm 0,01
3,3	15,63 \pm 3,91	3,6	40,57 \pm 0,22	3,6	41,31 \pm 0,17	5,7	57,53 \pm 3,07	3,6	45,20 \pm 0,40
3,6	16,14 \pm 2,60	3,9	45,75 \pm 0,81	3,9	44,31 \pm 1,13	6,0	56,17 \pm 5,27	3,8	49,62 \pm 0,16

A.24. Distribución del tamaño de las partículas usadas para las experiencias de depolimerización (Tabla 5.5)

En la **Fig. A.24.1**, se muestra la distribución del radio de las partículas usadas para las experiencias de depolimerización.

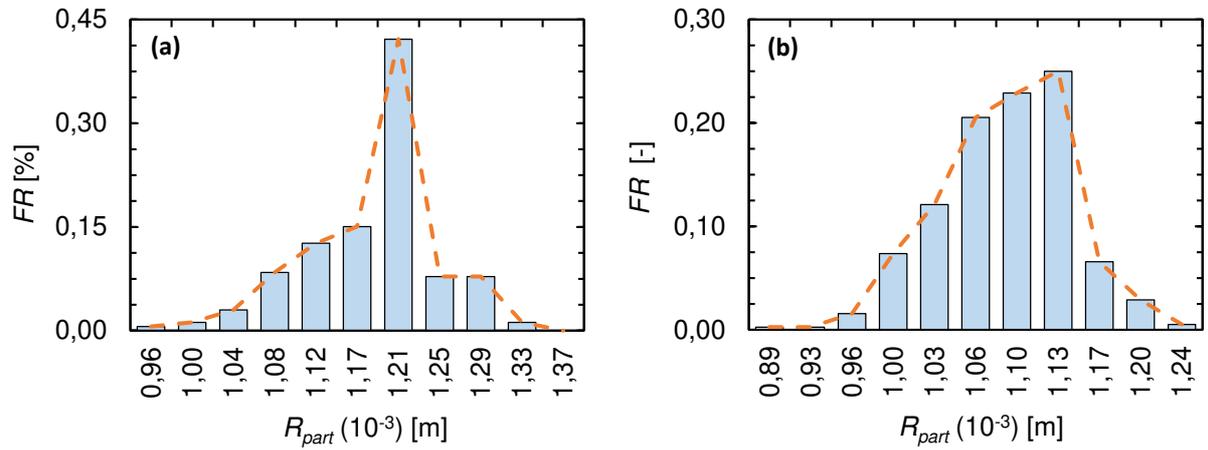


Figura A.24.1. Distribución del tamaño de las partículas usadas en las experiencias (a) Ek1 y (b) Ek2 de depolimerización.

A.25. Determinación de humedad de las partículas de alginato (Tabla 5.5)

En la **Tabla A.25**, se muestran los valores de humedad de las partículas a diferentes tiempos de secado en estufa a 80 °C.

Tabla A.25.1. Humedad de las partículas de alginato usadas en las experiencias de depolimerización (Ek1 y Ek2) a diferentes tiempo de secado.

Experiencia	Muestra	Humedad [mg g_{ss}^{-1}]		
		3 h	4 h	5 h
Ek1	M1	566,3	559,2	561,5
	M2	689,7	681,2	669,9
	M3	559,2	535,9	541,0
Ek2	M4	664,9	664,9	655,5
	M5	630,4	629,9	619,8
	M6	588,4	586,4	578,8

A.26. Concentración inicial de calcio en las partículas de alginato de calcio (Sección 5.4.4.2)

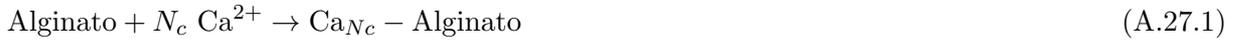
La concentración inicial de calcio en las partículas ($c_{Ca,0}$) de la experiencia Ek1 fue determinada por espectroscopia de absorción atómica (EAA) y verificada por espectroscopia de masa con plasma inductivo acoplado (ICP-MS). Los valores de $c_{Ca,0}$ de la experiencia Ek2 fue determinada por EAA. Los valores obtenidos se muestran en la **Tabla A.26.1**.

Tabla A.26.1. Concentración inicial de calcio en las partículas de alginato de calcio.

Experiencia	Método	$c_{Ca,0}$
		[mg g _{ss} ⁻¹]
Ek1	EAA	6,06
	EAA	5,91
	IMC-MC	5,65
Ek2	EAA	5,05

A.27. Estimación de la concentración inicial de calcio teórica en las partículas (Sección 5.4.4.2)

Braschler et al. (2011) propusieron que la reacción de formación de un gel de alginato de calcio puede representarse mediante,



donde N_c es el coeficiente estequiométrico y depende del contenido de residuos de ácido gulurónico (G) que contiene el alginato y del modelo considerado para describir la estructura del gel de alginato de calcio.

Grant et al. (1973) propusieron un modelo de entrecruzamiento de *caja de huevos* para describir la estructura de gel de alginato de calcio (**Fig. 2.8**). Estos autores reportaron que en las secuencias de poliguluronato (bloques G) los grupos G se encuentran unidos a través de enlaces axial-axial adquiriendo la forma y carga electrostática adecuadas para unirse en forma estable con iones Ca^{2+} . En cuanto a las secuencias de polimanuronato (bloques M) y las secuencias alternadas de residuos de ácido manuronato (M) y de G (bloques MG), no se acomodarían espacialmente en forma adecuada para formar sitios de unión para el Ca^{2+} . Según este modelo, los grupos COO^- de dos residuos de G interactuarían con un átomo Ca^{2+} (**Fig. 2.8**). Esto establece una relación estequiométrica G: Ca^{2+} de 2:1, cuando los residuos G se encuentran formando bloques G. En consecuencia, según el modelo *caja de huevos*, la estructura del gel de alginato de calcio se constituiría a partir de dos cadenas de alginato (dímeros). Sin embargo, Morris et al. (1978) propusieron que la máxima capacidad de unir calcio de los dímeros poliguronatos es 1,5 veces mayor al valor estequiométrico. Esto se debería a la formación de agregados por parte de los dímeros formados inicialmente. Por lo tanto, la relación estequiométrica de G: Ca^{2+} sería de 4:3 (**Fig. A.27.1.c**). A este modelo se lo conoce como *mitad de caja de huevos* (**Fig. A.27.1**). En consecuencia, considerando este modelo y que todos los grupos G presentes en la molécula de alginato se encuentran formando parte de bloques G, la expresión para estimar el valor de N_c es (Morris et al., 1978),

$$N_c \approx \frac{3}{4} \frac{M_{Alg}}{M_{mon}} \sigma \quad (\text{A.27.2})$$

donde M_{Alg} y M_{mon} son el peso molecular de alginato y el peso molecular de sus monómeros [g mol^{-1}], respectivamente, y σ es la fracción de grupos G presentes en el alginato.

A.27.1. Estimación del coeficiente estequiométrico N_c

El valor de N_c fue estimado a partir de la **Ec. (A.27.2)**. Allí, se tuvo en cuenta el valor del peso molecular medio en peso (\bar{M}_w), la relación de residuos del ácido manurónico y gulurónico (F_M/F_G) y

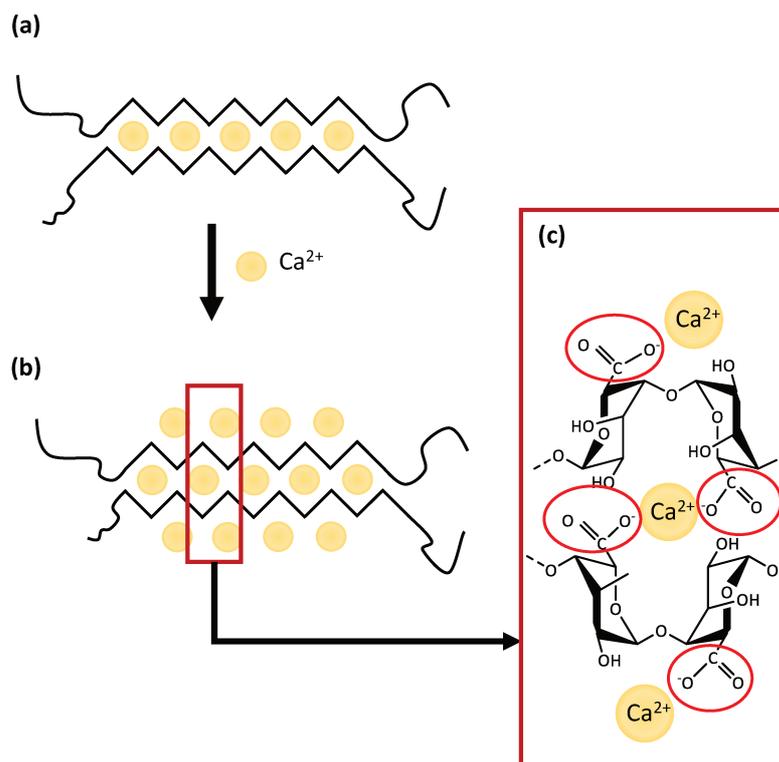


Figura A.27.1. (a) Dímero formado inicialmente por el alginato y Ca^{2+} (modelo *caja de huevos*). (b) Modelo de entrecruzamiento *mitad de caja de huevos*. (c) Interacción molecular entre grupos G del alginato y Ca^{2+} según el modelo *mitad de caja de huevos*.

la fracción de residuos del ácido gulurónico (σ) del alginato de sodio de Kelco LV obtenidos experimentalmente en el **Capítulo 4** y mostrados en la **Tabla A.27.1**. Además, se consideró un $M_{mon} = 198 \text{ g mol}^{-1}$ (Duez et al., 2000). En base a ello, se obtuvo un valor de $N_c \approx 259$. Esto indica que por cada mol de alginato, se requieren 259 moles de Ca^{2+} .

Tabla A.27.1. Características del alginato de sodio de Kelco LV.

Característica	Valor	Unidad
\bar{M}_w	$1,92 \times 10^5$	g mol^{-1}
F_M/F_G	1,81	-
σ	0,3559	-

A.27.2. Composición de las partículas

Las partículas fueron obtenidas a partir de una emulsión formada por polisorbato 80 (emulsionante), aceite de soja, alginato de sodio y agua (**Sección 2.3.2**). La composición de la emulsión se muestra en

la **Tabla A.27.2**. Allí, c_{tw} es la concentración de emulsionante, c_{ac} es la concentración de aceite, c_{al} es la concentración de alginato de sodio y c_{H_2O} es la concentración de agua. Se adoptó una densidad de aceite de soja igual a $0,92 \text{ g mL}^{-1}$ (Noureddini et al., 1992).

Tabla A.27.2. Composición de la emulsión.

Variable	Unidad	
	% (m:m) bh	% (m:m) bs
c_{tw}	2,00	7,55
c_{ac}	23,00	86,80
c_{al}	1,50	5,66
c_{H_2O}	73,50	—

A.27.3. Estimación de la concentración de calcio en las partículas

La concentración inicial de calcio teórica en la partículas ($c_{Ca,T}$) fue estimada considerando (a) la relación estequiométrica dada por la **Ec. (A.27.1)**, (b) que las partículas secas de alginato de calcio están compuestas principalmente por la emulsión seca y Ca^{2+} y (c) que la concentración de Ca^{2+} es despreciable frente a la concentración de emulsión. En consecuencia, $c_{Ca,T}$ fue estimado a partir de,

$$c_{Ca,T} = 1000 \frac{c_{al} N_c M_{Ca}}{\bar{M}_w} \quad (\text{A.27.3})$$

donde M_{Ca} es el peso molecular del calcio. Entonces, teniendo en cuenta los valores de c_{al} de la **Tabla A.27.2**, \bar{M}_w de la **Tabla A.27.1**, N_c de la **Sección A.27.1** y $M_{Ca} = 40,08 \text{ g mol}^{-1}$, se obtuvo un valor de $c_{Ca,T} = 3,06 \text{ mg g}_{ss}^{-1}$. El mismo coincide con el valor obtenido a partir de la expresión propuesta por Duez et al. (2000) para determinar la concentración estequiométrica de calcio unido al alginato.

A.27.4. Nomenclatura

c_{ac} Concentración de aceite [m:m %]

c_{al} Concentración de alginato de sodio [m:m %]

c_{tw} Concentración de emulsionante [m:m %]

c_{H_2O} Concentración de agua [m:m %]

$c_{Ca,T}$ Concentración teórica de calcio [mg g_{ss}^{-1}]

F_M/F_G Relación de residuos del ácido manurónico y gulurónico [-]

M_{Alg} Peso molecular del alginato [g mol⁻¹]

M_{mon} Peso molecular de los monómeros del alginato [g mol⁻¹]

\bar{M}_w Peso molecular medio en peso del alginato [g mol⁻¹]

N_c Coeficiente estequiométrico [-]

Símbolos griegos

σ Fracción de residuos del ácido gulurónico presente en el alginato [g mol⁻¹]

A.27.5. Bibliografía

Braschler, T., Valero, A., Colella, L., Pataky, K., Brugger, J. y Renaud, P. (2011). Link between alginate reaction front propagation and general reaction diffusion theory. *Analytical Chemistry*, 83(6):2234–2242. doi:10.1021/ac103118r.

Duez, J.M., Mestdagh, M., Demeure, R., Goudemant, J.F., Hills, B.P. y Godward, J. (2000). NMR studies of calcium-induced alginate gelation. Part I—MRI tests of gelation models. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 38(5):324–330. doi:10.1002/1097-458X(200005)38:5<324::AID-MRC646>3.0.CO;2-1.

Grant, G.T., Morris, E.R., Rees, D.A., Smith, P.J. y Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Letters*, 32(1):195–198. doi:10.1016/0014-5793(73)80770-7.

Morris, E.R., Rees, D.A., Thom, D. y Boyd, J. (1978). Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific, primary dimerisation process in alginate gelation. *Carbohydrate Research*, 66(1):145–154. doi:10.1016/S0008-6215(00)83247-4.

Noureddini, H., Teoh, B.C. y Davis Clements, L. (1992). Densities of vegetable oils and fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69(12):1184–1188. doi:10.1007/BF02637677.

A.28. Datos de la concentración de calcio liberado (Tabla 5.6)

En la **Tabla A.28.1**, se muestran los valores de concentración de calcio en el medio de disolución a diferentes tiempos.

Tabla A.28.1. Concentración de calcio en el medio de disolución a diferentes tiempos.

t (10^3)	c_{Ca}					
	[mg L ⁻¹]		[mg g _{sh} ⁻¹]		[mg g _{ss} ⁻¹]	
	Ek1	Ek2	Ek1	Ek2	Ek1	Ek2
0,3	34	12	0,5589	0,1978	0,8921	0,3212
0,6	22	18	0,3629	0,2995	0,5791	0,4865
0,9	26	27	0,4306	0,4455	0,6872	0,7237
1,5	40	57	0,6619	0,9448	1,0564	1,5346
2,1	56	62	0,9285	1,0263	1,4819	1,6670
3,0	64	60	1,0651	0,9949	1,6999	1,6160
4,8	60	63	0,9929	1,0456	1,5846	1,6984
7,2	62	71	1,0413	1,1700	1,6619	1,9002

A.29. Coeficientes de disolución de la literatura (Sección 5.4.6)

En la literatura no se encontraron valores de coeficientes de disolución de matrices de alginato de calcio k_m . Sin embargo, [Kikuchi et al. \(1999\)](#) y [Voo et al. \(2015\)](#) reportaron perfiles de liberación de calcio \tilde{c}_{Ca} desde geles de alginato de calcio en condiciones intestinales simuladas (soluciones buffer fosfato pH 7,4, 37 °C). Estos perfiles son mostrados en la **Fig. A.29.1.(a)** y fueron usados para estimar el valor de la constante κ (**Ec. 5.7**) correspondientes a las experiencias reportadas por dichos autores (**Fig. A.29.1.b**). En la **Tabla A.29.1**, se muestran la relación de monómeros (F_M/F_G) y el peso molecular medio en peso (\bar{M}_w) del alginato de sodio utilizados por [Kikuchi et al. \(1999\)](#) y [Voo et al. \(2015\)](#) en sus experiencias. Además, se muestran los valores de κ obtenidos de las pendientes de $\ln(\tilde{c}_{Ca})$ vs. t de cada experiencia.

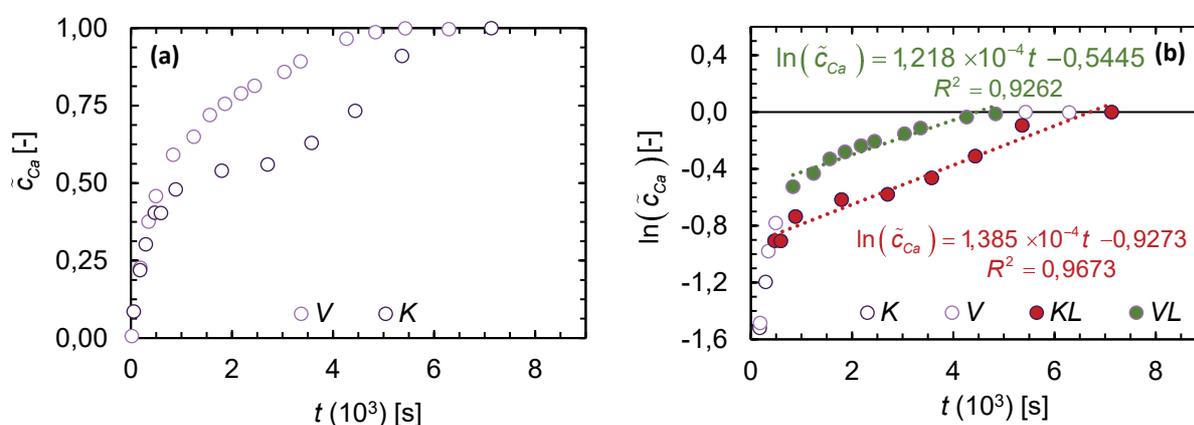


Figura A.29.1. (a) Concentración adimensional de calcio en el medio de disolución (\tilde{c}_{Ca}) reportados por [Kikuchi et al. \(1999\)](#) (K) y [Voo et al. \(2015\)](#) (V). (b) Linealización de K y V. KL y VL corresponden a los datos de los perfiles de K y V, respectivamente, usados para hacer la regresión lineal.

Tabla A.29.1. Relación de monómeros (F_M/F_G) y peso molecular medio en peso (\bar{M}_w) de los alginatos de sodio utilizados por [Kikuchi et al. \(1999\)](#) y [Voo et al. \(2015\)](#) en sus experiencias de depolimerización y valores de κ obtenidos a partir de las cinéticas de elución de Ca^{2+} reportados por estos autores.

Trabajo	F_M/F_G [-]	\bar{M}_w [kDa]	κ (10^{-4}) [s^{-1}]
Kikuchi et al. (1999)	1,3	100	1,385
Voo et al. (2015)	0,6	264	1,218

A.29.1. Nomenclatura

\tilde{c}_{Ca} Concentración adimensional de calcio [-]

F_G Fracción de grupos G [-]

F_M Fracción de grupos M [-]

k_m Constante de depolimerización del gel [$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$]

\bar{M}_w Peso molecular promedio en peso [kDa]

Símbolos griegos

κ Constante de la Ec. (5.7) [s^{-1}]

A.29.2. Bibliografía

Kikuchi, A., Kawabuchi, M., Watanabe, A., Sugihara, M., Sakurai, Y. y Okano, T. (1999). Effect of Ca^{2+} -alginate gel dissolution on release of dextran with different molecular weights. *Journal of Controlled Release*, 58(1):21–28. doi:10.1016/S0168-3659(98)00141-2.

Voo, W.P., Lee, B.B., Idris, A., Islam, A., Tey, B.T. y Chan, E.S. (2015). Production of ultra-high concentration calcium alginate beads with prolonged dissolution profile. *RSC Advances*, 5(46):36687–36695. doi:10.1039/C5RA03862F.