

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS



TESIS

**“ESTUDIO DEL CARGADO Y LIBERACIÓN CONTROLADA DE
LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO A PARTIR DE
PARTÍCULAS DE ALGINATO”**

**PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
LICENCIADO EN QUÍMICA**

**ELABORADO POR:
CARLOS RUBÉN MUNGUÍA ARTICA**

**ASESORA:
Dra. ANA CECILIA VALDERRAMA NEGRÓN**

**LIMA PERÚ
2019**

RESUMEN

Este trabajo es realizado debido a que surge el problema del incorrecto uso de hormonas vegetales, que si bien es cierto son parte fundamental del crecimiento de las plantas en el sector de la agricultura, muchas veces son empleadas sin algún criterio de concentración adecuada o sin tomar en cuenta factores como su fotosensibilidad que genera degradación por acción de la luz o la toxicidad para seres vivos que terminan ingiriendo los excesos de hormona que se mantienen disueltos y son transportadas por el agua de cultivo hacia un destino final como son mares, ríos o lagos, generando contaminación ambiental.

Frente a ello, se busca dar una solución desde la investigación científica, haciendo un proceso químico de encapsulamiento de dichas hormonas en una matriz biopolimérica natural, tal es el caso del alginato. Con la finalidad de que la matriz las proteja de la exposición a la luz y del contacto de éstas con el medio.

Para cumplir con las expectativas mencionadas, se empezó estudiando la naturaleza de este biopolímero, para lo cual se le realizó la caracterización por Espectroscopía FTIR y Viscosimetría, mientras que en el caso de partículas de alginato, se caracterizaron por las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Análisis Termogravimétrico (TGA).

En paralelo se ejecutó la caracterización de la hormona ácido 1,3-indol acético (AIA) mediante Espectrometría UV, en la cual se encontró que la longitud de onda de máxima absorbancia de la auxina (tipo de hormona) es a 280 nm.

Además se le realizó ensayos de estabilidad a diferentes tiempos 24, 48 y 72 horas y posterior a ello se obtuvo una curva de calibración (de la hormona vegetal), para poder cuantificar más adelante la cantidad de hormona ácido 1,3-indol acético cargada y liberada de las matrices con alginato.

De otro lado, el diseño factorial 2^3 , que tuvo como parámetros de evaluación a la concentración de alginato (% Alginato), concentración de hormona (% Hormona) y concentración de CaCl_2 (% CaCl_2), fue de mucha utilidad, ya que brindó información de que matrices específicas se deberían emplear como sistemas de liberación de mejor performance, las cuales fueron M3 (3% Alginato, 2% CaCl_2 y 0.1% Hormona) y M7 (3% Alginato, 2% CaCl_2 y 0.05% Hormona).

Asimismo, previamente a la selección de las matrices M3 y M7, una inferencia obtenida en base a las gráficas logradas en el diseño experimental, es que a menor concentración de alginato y mayor concentración de hormona, existe mayor velocidad de liberación de la hormona. De igual manera, se obtiene una velocidad media de liberación de 0,09 mg/hora.

Luego de esto, se caracterizan dichas matrices escogidas a través de Espectroscopía FTIR, SEM y TGA.

Se debe mencionar también que los ensayos de liberación controlada, fueron evaluados por parámetros físicoquímicos de temperatura, agitación, forma de preparación y liberación en medio acuoso. Cuyos efectos mostraron la cantidad de hormona (en gramos) que abandona la matriz polimérica, en un determinado tiempo (minutos), dato característico de una determinada matriz y que puede ser adecuada para uno o varios tipos de planta.

Otro factor de suma importancia es el modelo cinético para la liberación, donde las matrices de alginato se correlacionaron con el modelo matemático de Korsmeyer-Peppas, que indica que se produce la liberación por difusión a través de la partícula hidratada hacia la parte exterior.

Finalmente se debe tener en cuenta que la hormona usada en este trabajo es el ácido 1,3-indol acético. Esta pertenece a la familia de las auxinas y ha sido seleccionada en esta investigación, ya que tiene una notable predominancia en la rizogénesis (desarrollo de las raíces); además otras de sus funciones principales son dirigir el movimiento de los fotosintatos (alimentos y azúcares) hacia toda la planta e influenciar en el crecimiento de las plantas.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a Dios, así mismo de manera especial a mis padres por su incondicional apoyo a lo largo de toda mi etapa universitaria.

A la vez agradecer a mi asesora, Dra. Ana Cecilia Valderrama Negrón, por demostrar desde el primer momento un compromiso serio con este trabajo, por transmitirme parte de su experiencia y sin dejar de lado por brindarme la facilidad de tener a mi alcance el material requerido para la ejecución de este trabajo en su Laboratorio de Investigación en Biopolímeros y Metalofármacos (LIBIPMET).

Al Dr. Hugo Alarcón por su desinteresada ayuda para poder realizar las lecturas en el equipo del infrarrojo.

De igual manera al Dr. Gino Picasso por permitirme hacer uso del equipo de termogravimetría.

Finalmente al grupo, en general, de investigación que conforma LIBIPMET por crear siempre un ambiente adecuado de trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres Rubén y Rocío que me incentivaron en todo momento a dar este paso importante en mi carrera

A mi abuela Yolanda que de seguro se encuentra muy feliz de verme realizar como profesional y que gratamente debo mi formación como ser humano

A mi abuelos Raúl y Rosa que son personas muy nobles y que me brindan mucho amor

A mi tía Carmen que con su protección desde la infancia me demuestra día a día que salir adelante es posible con mucho esmero

A mis tíos Frank, Ángela, Maribel, Raúl que han estado pendientes de mi desarrollo desde siempre

A mi hermano Alessandro que sabe que con esfuerzo podemos construir un mejor futuro

A mi enamorada Indira que me hace ser una mejor persona y brinda su apoyo de manera incondicional

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
ÍNDICE.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
I. OBJETIVOS.....	2
I.1 OBJETIVOS GENERALES.....	2
I.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	2
II. MARCO TEÓRICO.....	3
II.1 ALGINATO.....	3
II.2 RETICULACIÓN IÓNICA.....	6
II.3 HORMONAS VEGETALES.....	7
II.4 LIBERACIÓN CONTROLADA.....	15
II.5 MODELOS CINÉTICOS DE LIBERACIÓN.....	19
II.6 CRITERIOS USADOS PARA ESTIMACIÓN DE LOS MODELOS CINÉTICOS.....	24
III. PARTE EXPERIMENTAL.....	25
III.1 MATERIALES Y REACTIVOS.....	25
III.2 EQUIPOS.....	26
III.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	27
III.3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	27
III.3.1.1 OBTENCIÓN DEL ESPECTRO EN LA REGIÓN DEL ULTRAVIOLETA DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	27
III.3.1.2 ENSAYOS CUALITATIVOS DE ESTABILIDAD DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO EN MEDIO ACUOSO.....	27
III.3.1.3 PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO EN AGUA.....	27
III.3.2 CARACTERIZACIÓN DEL ALGINATO.....	28
III.3.2.1 DETERMINACIÓN DEL PESO MOLECULAR POR VISCOSIMETRÍA.....	28
III.3.2.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR).....	29
III.3.3 PREPARACIÓN DE PARTÍCULAS DE ALGINATO SIN CARGADO DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	29

III.3.4 PREPARACIÓN DE PARTÍCULAS DE ALGINATO CARGADAS CON LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	29
III.3.5 DISEÑO FACTORIAL PARA LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	30
III.3.6 CARACTERIZACIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE ALGINATO.....	32
III.3.6.1 PARTÍCULAS DE ALGINATO SIN CARGADO DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	32
III.3.6.1.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	32
III.3.6.1.2 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)	32
III.3.6.2 PARTÍCULAS DE ALGINATO CARGADAS CON LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	32
III.3.6.2.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)	32
III.3.6.2.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	32
III.3.6.2.3 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)	33
III.3.7 ESTUDIO DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3- INDOL ACÉTICO	33
III.3.7.1 ENSAYOS DE LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO A PARTIR DE LA MATRIZ DE ALGINATO.....	33
III.3.8 ESTUDIOS CINÉTICOS DE LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO DE LAS PARTÍCULAS DE ALGINATO.....	33
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	36
IV.1 CARACTERIZACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO	36
IV.1.1 ESPECTRO ULTRAVIOLETA DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO	36
IV.1.2 ENSAYOS DE ESTABILIDAD DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO EN MEDIO ACUOSO.....	38
IV.1.3 PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO EN AGUA	39
IV.2 CARACTERIZACIÓN DEL ALGINATO	41
IV.2.1 DETERMINACIÓN DEL PESO MOLECULAR POR VISCOSIMETRÍA ..	41
IV.2.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)	45
IV.3 DISEÑO FACTORIAL PARA LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	47
IV.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE ALGINATO.....	52
IV.4.1 PARTÍCULAS DE ALGINATO SIN CARGADO DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	52
IV.4.1.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	52

IV.4.1.2 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)	53
IV.4.2 PARTÍCULAS DE ALGINATO CARGADAS CON LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	54
IV.4.2.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)	54
IV.4.2.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).....	57
IV.4.2.3 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)	60
IV.5 ESTUDIO DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO.....	63
IV.5.1 ENSAYOS DE LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO A PARTIR DE LA MATRIZ DE ALGINATO.....	63
IV.6 MODELOS CINÉTICOS DE LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO DE LAS PARTÍCULAS DE ALGINATO	65
IV.7 MODELO PROBABLE DE INTERACCIÓN ENTRE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO CON ALGINATO ENTRECruzADO CON IONES Ca ²⁺	79
V. CONCLUSIONES.....	81
VI. RECOMENDACIONES.....	83
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
VIII. ANEXOS.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura II. 1. Características estructurales del alginato	3
Figura II. 2. Fracciones o bloques M, G y MG con esquema desdoblado	4
Figura II. 3. Preparación de hidrogeles de Alginato	6
Figura II. 4. Reticulación del alginato, modelo "Egg-box"	7
Figura II. 5. Ácido 1-Naftaleno-1-acético	9
Figura II. 6. Ácido Indolacético	10
Figura II. 7. Zeatina	10
Figura II. 8. Kinetina	11
Figura II. 9. Análisis del Modo de Interacción entre las Auxinas y Citoquininas en la División Celular	11
Figura II. 10. Giberelina GA₁.....	12
Figura II. 11. Giberelina GA₇.....	12
Figura II. 12. Representación esquemática del uso del agente activo en la agricultura y alternativa de uso de sistemas de liberación controlada.....	16
Figura II. 13. Síntesis de perlas de alginato por el método de gelificación iónica	16
Figura II. 14. Representación de un sistema de liberación controlada de compuestos bioactivos basado en polisacáridos en agricultura	17
Figura II. 15. Representación gráfica de sistemas convencionales y de liberación controlada en aplicaciones agroquímicas.....	18
Figura III. 1. a. Liberación de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de M3 y M7 a 130 rpm b. Liberación de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de M3 y M7 a 200 rpm.....	34
Figura III. 2. a. Liberación de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de M3 y M7 a 15 °C b. Liberación de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de M3 y M7 a 25 °C.....	35
Figura IV. 1. Espectro UV de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético.....	36
Figura IV. 2. Grupos Funcionales de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	37
Figura IV. 3. Espectros UV de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético a diferentes tiempos en solución acuosa	38
Figura IV. 4. Curva de Calibración de Baja Concentración de Hormona en medio acuoso y ecuación de la recta	40
Figura IV. 5. Curva de Calibración de Alta Concentración de Hormona en medio acuoso y ecuación de la recta	41
Figura IV. 6. Rectas de Huggins formadas por las viscosidades reducidas e inherentes vs concentraciones de alginato	43
Figura IV. 7. Espectro FT-IR del Alginato de Sodio.....	45
Figura IV. 8. Porcentaje de Liberación Acumulada del Ácido 1,3-Indol Acético de las ocho matrices de alginato en agua para un intervalo de tiempo	47
Figura IV. 9. Efectos de las Variables Principales estudiadas en la Velocidad de Liberación teniendo como medio al agua.....	49

Figura IV. 10. Gráfica de Superficie de la Velocidad de Liberación en relación a los parámetros de % Alginato y % Hormona cuyo medio es el agua	50
Figura IV. 11. Micrografías Obtenidas de las Partículas de Alginato sin cargadas de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	52
Figura IV. 12. Termograma de las Partículas de Alginato sin cargado de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	53
Figura IV. 13. Espectros FT-IR de las Partículas de Alginato (M3 y M7) cargadas con la Hormona AIA y Espectro de Hormona AIA pura	55
Figura IV. 14. Micrografías de las Partículas de Alginato M3 cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	57
Figura IV. 15. Micrografías de las Partículas de Alginato M7 cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	58
Figura IV. 16. Micrografías de Partículas de Alginato M7 cortadas a la mitad y cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	59
Figura IV. 17. Termograma de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	60
Figura IV. 18. Termograma de las Partículas de Alginato M3 cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	61
Figura IV. 19. Termograma de las Partículas de Alginato M7 cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético	62
Figura IV. 20. Porcentaje de Liberación Acumulada de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de la matriz de Alginato M3 en agua y tiempo establecido	64
Figura IV. 21. Porcentaje de Liberación Acumulada de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de la matriz de Alginato M7 en agua y tiempo establecido	64
Figura IV. 22. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M3 a 130 rpm	68
Figura IV. 23. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M3 a 200 rpm	69
Figura IV. 24. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 a 130 rpm	69
Figura IV. 25. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 a 200 rpm	70
Figura IV. 26. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M3 en agua	71
Figura IV. 27. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 en agua	71
Figura IV. 28. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M3 a 15 °C	72
Figura IV. 29. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M3 a 25 °C	72
Figura IV. 30. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 a 15 °C	73
Figura IV. 31. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 a 25 °C	73
Figura IV. 32. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M3 formación de partículas de mayor tamaño	75
Figura IV. 33. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M3 formación de partículas de menor tamaño	75
Figura IV. 34. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 formación de partículas de mayor tamaño	76
Figura IV. 35. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 formación de partículas de menor tamaño	76
Figura IV. 36. Estructura conformada por la interacción entre la hormona AIA con alginato entrecruzado con Ca^{2+}	80

Figura VIII. 1. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M3 a 130 rpm	94
Figura VIII. 2. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M7 a 130 rpm	95
Figura VIII. 3. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M3 en agua	95
Figura VIII. 4. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M7 en agua	96
Figura VIII. 5. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M3 a 15 °C	96
Figura VIII. 6. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M7 a 15 °C	97
Figura VIII. 7. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M3 formación de partículas de mayor tamaño	97
Figura VIII. 8. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M7 formación de partículas de mayor tamaño	98
Figura VIII. 9. Modelo Lineal $\ln(Q_t)$ vs t para la matriz M3 a 130 rpm	98
Figura VIII. 10. Modelo Lineal $\ln(Q_t)$ vs t para la matriz M3 en agua	99
Figura VIII. 11. Modelo Lineal $\ln(Q_t)$ vs t para la matriz M3 a 15 °C	99
Figura VIII. 12. Modelo Lineal $\ln(Q_t)$ vs t para la matriz M3 formación de partículas de mayor tamaño	100

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro II. 1. Principales efectos fisiológicos originados por los grupos de hormonas vegetales en las plantas	13
Cuadro II. 2. Lugares de síntesis de los diversos reguladores de crecimiento.....	14
Cuadro II. 3. Caracterización de modelos cinéticos por el valor de n	23
Cuadro III. 1. Niveles de cada una de las variables estudiadas	31
Cuadro III. 2. Matriz de Diseño Factorial 2³	31
Cuadro III. 3. Composición de matrices M3 y M7.....	33
Cuadro IV. 1. Datos de Baja Concentración y Absorbancia de la Hormona AIA en medio acuoso.....	39
Cuadro IV. 2. Datos de Alta Concentración y Absorbancia de la Hormona AIA en medio acuoso.....	40
Cuadro IV. 3. Promedio de tiempos registrados a diferentes concentraciones de alginato.....	42
Cuadro IV. 4. Resultados de los tipos de viscosidades	42
Cuadro IV. 5. Datos de Viscosidades Reducidas y Concentraciones de Alginato	43
Cuadro IV. 6. Datos de Viscosidades Inherentes y Concentraciones de Alginato.....	43
Cuadro IV. 7. Grupos Funcionales obtenidos del espectro FT-IR del alginato.....	46
Cuadro IV. 8. Resultados de la Velocidad de Liberación, como factor principal del Diseño Factorial 2³, medidos a las 2 horas	48
Cuadro IV. 9. Valores calculados de k, n y R (coeficiente de correlación de Pearson) de la Ecuación IV.1 en la cinética de liberación in vitro de la hormona AIA bajo cuatro efectos y cantidades cargadas en la matriz de alginato.....	77
Cuadro VIII. 1. Valores calculados de R de la Ecuación VIII.1 (Modelo Orden Cero) en la cinética de liberación in vitro de la hormona AIA bajo cuatro efectos y cantidades cargadas en la matriz de alginato	101
Cuadro VIII. 2. Valores calculados de R de la Ecuación VIII.2 (Modelo Primer Orden) en la cinética de liberación in vitro de la hormona AIA bajo cuatro efectos y cantidades cargadas en la matriz de alginato	102

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha puesto de manifiesto el alto índice de demanda global de producción agrícola, debido a la incrementación poblacional consumidora mundial. Ello ha hecho que muchas investigaciones se centren en mejorar sostenidamente la productividad de los cultivos, así como la calidad de los alimentos. Por tanto, para lograr con estos cometidos, es de suma importancia la aplicación de hormonas vegetales o reguladoras de crecimiento en las plantas bajo parámetros específicos de concentración y de manera progresiva ^[1].

Asimismo, otro aspecto relevante a tener en cuenta, es que las propiedades fisiológicas de las plantas se encuentran reguladas por diversas interacciones y reacciones químicas, teniendo en estos eventos como principales agentes participativas, a las hormonas vegetales; que especialmente actúan en situaciones donde el clima o el abonado del suelo no favorecen el desarrollo de los cultivos. Estas se pueden encontrar en cinco primordiales grupos: citoquininas, giberelinas, ácido abscísico, etileno y auxinas (el ácido 1,3-indol acético, es analizado en esta Tesis). ^[2,3]

Siendo las auxinas, las que estimulan directamente en el crecimiento de las plantas y además presentan un rol importante en la modulación de la construcción del sistema radicular. ^[4]

Para lograr activar el principio fundamental de cada hormona en el sitio exacto de la planta, se necesitan de matrices que presenten ciertos requisitos tales como ser biocompatibles, biodegradables, no ser nocivos y por supuesto ser capaces de realizar sistemas de liberación controlada (controlando la velocidad y tiempo de entrega de la hormona vegetal). Todas estas condiciones las cumplen los biopolímeros y uno de ellos es el alginato. ^[5]

De esta manera, es conveniente realizar una breve descripción de este particular polisacárido, que se le conoce también como copolímero aniónico lineal. Se encuentra básicamente en algas marinas y adicionalmente en su estructura presenta dos tipos de residuos de ácido hexurónico que son el bloque β -D-manurónico (Bloque M) y el bloque α -L-gulurónico (Bloque G). ^[6]

I. OBJETIVOS

Prosiguiendo con el alto nivel de exigencia que se desarrolla en el Laboratorio de Biopolímeros y Metalofármacos (LIBIPMET), concerniente al campo de sistemas de liberación controlada de hormonas vegetales (para este trabajo son las auxinas), teniendo como matriz principal al polisacárido alginato, en esta Tesis se logra profundizar aún más el conocimiento acerca de este biopolímero natural y entender sus extraordinarias funciones en el área agroindustrial.

I.1 OBJETIVOS GENERALES

- Preparar partículas de alginato cargadas con la hormona vegetal ácido 1,3-indol acético, para realizar ensayos de liberación controlada de esta hormona en medio acuoso.

I.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterización estructural y fisicoquímica de alginato.
- Preparar las partículas de alginato cargadas con la hormona ácido 1,3-indol acético (AIA)
- Realizar un diseño factorial 2^3 para el estudio y análisis de la influencia de la concentración de CaCl_2 , concentración de la hormona y concentración de alginato, en la velocidad de liberación y cantidad liberada de la hormona ácido 1,3-indol acético, en medio acuoso.
- Preparar y caracterizar las matrices de alginato cargadas con la hormona ácido 1,3-indol acético (AIA), que presentan mejores capacidades de liberación controlada, conforme al Diseño Factorial 2^3 y las matrices de alginato sin cargado de hormona, a nivel estructural, térmica y morfológica.
- Identificar el mecanismo cinético de liberación de la hormona AIA a partir de partículas de alginato, en medio acuoso.
- Usar el programa Spartan 14 para simular las interacciones entre las moléculas del biopolímero entrecruzado con iones Ca^{2+} y las moléculas de la hormona ácido 1,3-indol acético (AIA).

II. MARCO TEÓRICO

II.1 ALGINATO

Es un polisacárido natural aniónico ^[7], que se produce generalmente en algas pardas (*Phaeophyceae*) o en las paredes bacterianas ^[8], como ácido alginico. Este último fue descubierto, extraído y patentado por Standford ^[9]. Asimismo, su extracción es con una solución alcalina diluida, luego se aísla al procesarlo con ácidos minerales y se obtiene la sal sódica del alginato; que es la más utilizada en la actualidad. ^[10]

Por otro lado, este biopolímero es muy hidrofílico, ya que posee una gran proporción de radicales hidroxilos (OH) en su matriz. ^[11]

Además su estructura es descrita como un copolímero binario lineal, que contiene fracciones de ácido β -D-manurónico (M) y ácido α -L-gulurónico (G), unidos por enlaces glicosidos 1-4 ^[12,13,14] y dispuestos en la cadena polimérica en bloques homogéneos contiguos (MMM o GGG), de forma intercalada (MGMG) ^[15] o también por bloques separados aleatoriamente (Bloque M - Bloque G - Bloque MG) ^[16,17], tal como se muestra en la Figura II.1.

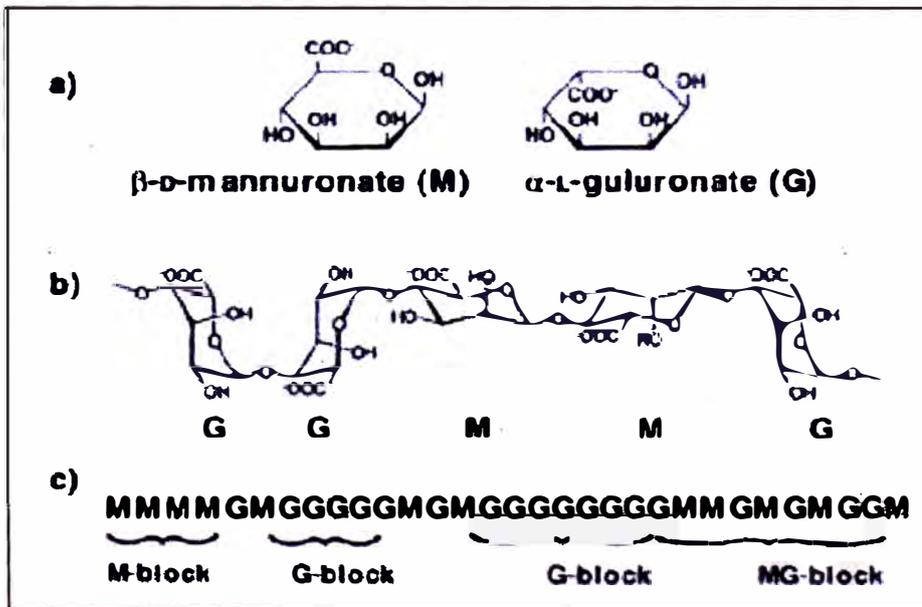


Figura II. 1. Características estructurales del alginato ^[10]

- a) Monómeros: Disposición $4C_1$ de ácido β -D manurónico (M) y ácido α -L gulurónico (G)
- b) Cadena con bloques G y M
- c) Fracciones o bloques M, G y MG

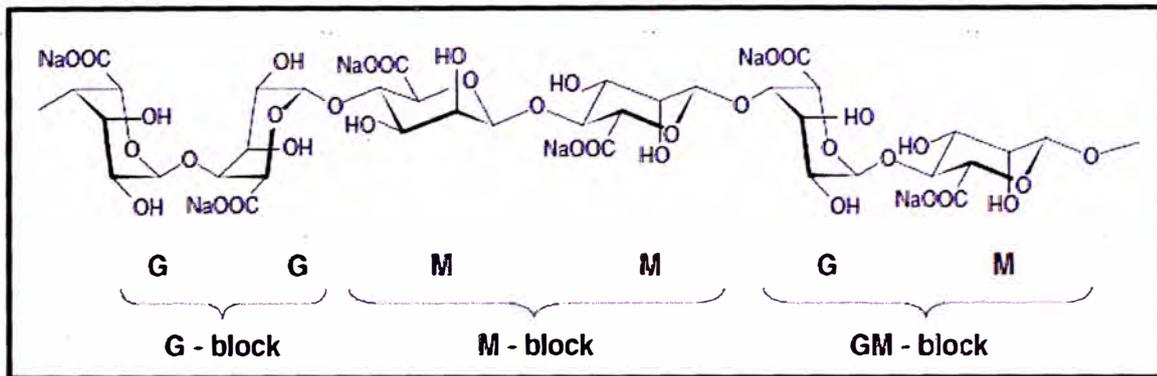


Figura II. 2. Fracciones o bloques M, G y MG con esquema desdoblado ^[17]

Es importante mencionar, que la viscosidad de una solución de alginato es equitativo a su peso molecular. A su vez, comercialmente este biopolímero varía su peso molecular en el rango de 32000 a 400000 g/mol, debido a los diversos tipos de algas que existen. ^[10]

Se conoce también, que las propiedades físicas y mecánicas del polisacárido en mención, dependen fuertemente de la secuencias de sus bloques G y M. En caso, contenga más ácido gulurónico, presentará una mayor solubilidad en agua, que el otro que contenga mayor proporción en ácido manurónico. Luego de solubilizarse, formará una solución coloidal viscosa. Un dato adicional que se rescata, es la casi insolubilidad del alginato en soluciones superiores al 30% hidroalcohólicas, solventes orgánicos y soluciones ácidas de pH menor a 3. ^[10,18]

Por otra parte, además de encontrar el valor crítico del pH del disolvente para su disolución, el alginato también presenta otros dos parámetros a tener muy en cuenta. El primero es la fuerza iónica del medio, que consiste en alterar ciertas propiedades como la extensión de la cadena, la viscosidad, la conformación del polímero; por tanto la solubilidad de la solución está sujeta a la variación de este parámetro. Y el segundo es la presencia de iones (cationes divalentes) gelificantes en el medio, tales como Ca^{2+} , Ba^{2+} y Sr^{2+} , que forman los hidrogeles de alginato. En consecuencia con este factor; si se necesitara disolver el biopolímero, se debe tener una solución libre de iones de reticulación. ^[19]

De igual manera es conocido, que mientras se encuentre mayor predominio de grupos gularónicos (G) en estos biopolímeros, crearán geles más resistentes en presencia de cationes divalentes reconocidos; ya que existen interacciones firmes de estos bloques con dichos iones ^[20]. Pasa todo lo inverso, cuando hay interacción de los bloques MG con estos cationes (forman uniones débiles). ^[21]

Para poder evidenciar la formación de geles de alginato, depende básicamente de dos métodos de reticulación, que se detallan en seguida y que en el siguiente ítem es desarrollado con mayor alcance. El primer método es un “acople interno”, en el cual la fuente de iones está dentro de la solución de alginato y requiere de manera indispensable de dos parámetros como su solubilidad o del pH, que necesitan ser difundidos controladamente a lo largo de la solución, para así activar la liberación de los iones de reticulación. El segundo método y quizá el de mayor empleabilidad por su también practicidad, consiste en la fluidez, desde un lugar externo, de los iones de reticulación a través de la solución de alginato. ^[22]

Una característica sobresaliente de los hidrogeles de este polielectrolito; es que se les considera como potenciales sistemas de entrega de fármacos. La liberación del elemento activo, se reduce en aquellos derivados de alginato con alto contenido de bloques G, ya que presentan menor permeabilidad que aquellos con alto contenido de bloques M, lo que impide su difusión. ^[23]

Otros usos con amplia gama de aplicación de este polisacárido (en su forma de gel), pueden ser hallados en la encapsulación de hormonas en la agricultura, alimentos, principios activos farmacéuticos, materiales biomédicos, entre otros. Además en la industria, los geles de alginato pueden usarse como matriz para la liberación de proteínas, así como para la encapsulación de células vivas. ^[24,25]

Por último el alginato de calcio también es muy útil para entregar fármacos de manera controlada hacia el tracto intestinal; debido a que tiene la capacidad de contraerse a pH ácido e hincharse a pH neutro o básico. Aparte de ello, se le suma sus propiedades de biodegradabilidad, biocompatibilidad y no toxicidad. ^[26]

II.2 RETICULACIÓN IÓNICA

Tal cual se ha mencionado con anterioridad, el alginato presenta la propiedad de afinidad a iones, con precisión hacia los cationes divalentes y trivalentes. Es esta razón, por la cual primordialmente se lleva a cabo la formación de hidrogel de dicho polisacárido (Figura II.3) con diversas propiedades de estabilidad y fisicoquímicas. A su vez, esta unión depende de la proporción M/G de los bloques del biopolímero. [27,28]

También, el alginato tiene alta compatibilidad por los metales del segundo grupo de la tabla periódica; pero que conforme baja en el período $Ba > Sr > Ca > Mg$, reduce su afinidad por estos. [29]

Siguiendo esta explicación, el mecanismo para la conformación de la estructura del gel de alginato, implica la dimerización de dos de sus bloques G; que se adhieren formando una especie de modelo de caja de huevos (“Egg-box model”, Figura II.4), en presencia de iones calcio (Ca^{2+}). Esta unión se da específicamente, a través de los átomos de oxígeno (de los grupos carboxilatos) de las unidades guluronato (G), con dichos iones metálicos blandos. Cabe agregar, que cada catión de calcio se une a 4 bloques G. [30,31]

Es por ello que, se evidenciará una formación de gel de mayor rigidez, si se tiene a este polisacárido con un alto contenido de bloques G; de igual forma habrá una baja predisposición para las rupturas de los enlaces glucosídicos. [22]

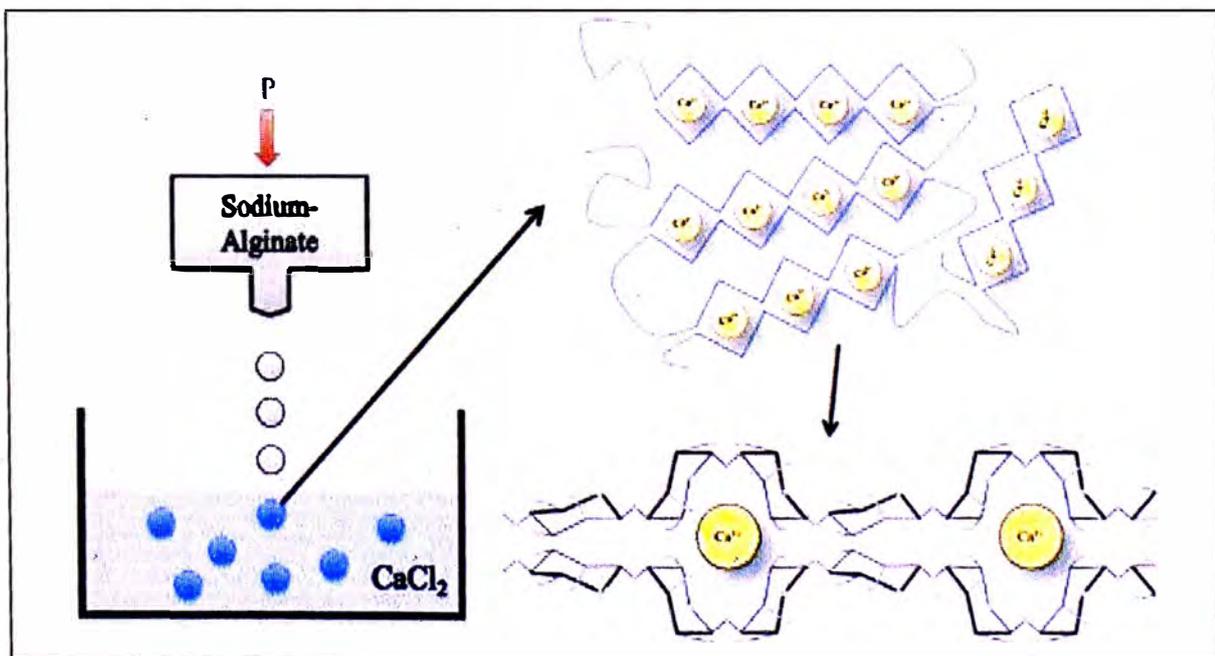


Figura II. 3. Preparación de hidrogel de Alginato [8]

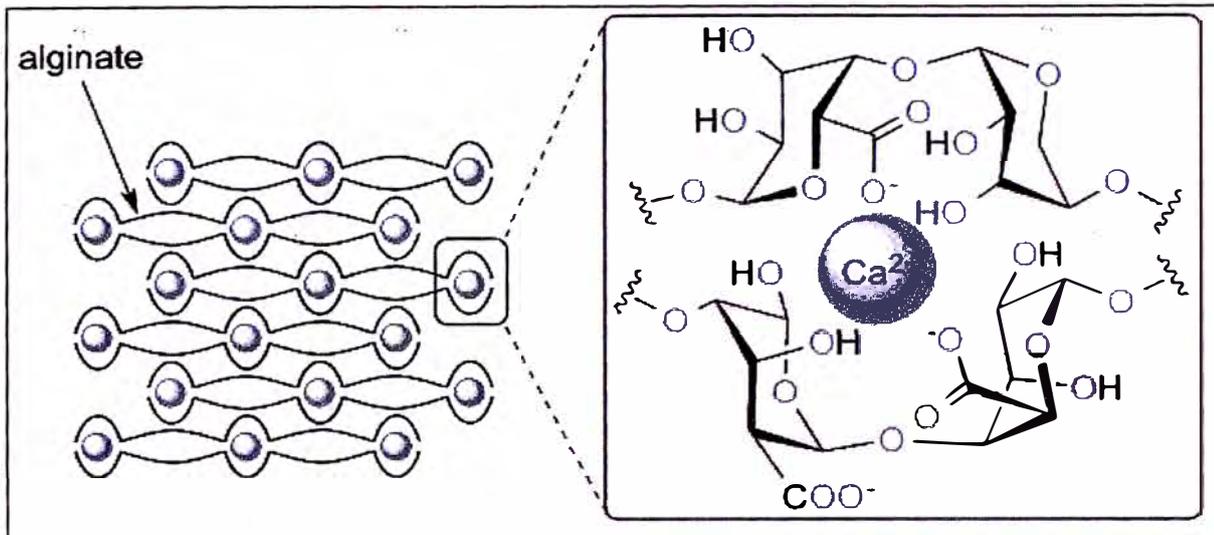


Figura II. 4. Reticulación del alginato, modelo "Egg-box" [27]

Otras formas que se dan para la reticulación del alginato son debido a:

- ❖ Reticulación celular
- ❖ Reticulación covalente
- ❖ Foto-reticulación

II.3 HORMONAS VEGETALES

El término "hormona vegetal" fue empleado por primera vez en 1948 por Thimann, refiriéndose a trazas de sustancias orgánicas que habían sido sintetizadas en ciertas partes de la planta y que podían ser transportadas hacia otras partes de esta, para cumplir con alguna función fisiológica específica. [32]

Paralelamente a esta primera idea, se conoce en la actualidad que las hormonas vegetales inciden en la regulación de los múltiples procesos fisiológicos de las plantas, en concentraciones mínimas; cuyo rango de intervalo varía de 10^{-9} M a 10^{-6} M. A diferencia de otras fuentes como nutrientes o vitaminas, que necesitan de mayores concentraciones para lograr tener un impacto positivo en dichos procesos. [33]

Por su parte, las plantas han ido desarrollando sistemas finamente compenetrados y estrictamente regulados, con el propósito de adecuar su fisiología y metabolismo en respuesta a estímulos externos. Además de adaptarse a las condiciones ambientales (pH, temperatura, etc) en donde se encuentran. [34]

De otro lado, los procesos funcionales influenciados por las también llamadas fitohormonas [35], son primordialmente las respuestas frente al estrés biótico y abiótico, así como el crecimiento y desarrollo de la planta [36,37], dentro de las cuales, intervienen en la defoliación, desarrollo de frutos, crecimiento del tallo, desarrollo de tejidos, dormancia de semillas, germinación de semillas, tropismos, inducción a la floración, senescencia, división celular, quiescencia, entre otras. [38,39,40]

Desde un enfoque empresarial, para que los resultados globales sean económicamente viables, el empleo de las hormonas vegetales debe darse eficientemente (en relación a su intervalo de concentración óptima para ciertos tipos de plantas y a otro aspecto como el sistema por el cual van a ser liberadas de manera periódica y controlada). Sólo así, las compañías agrícolas podrán obtener grandes beneficios; tales como mejora en la variedad, productividad y período de aprovisionamiento de múltiples productos vegetales; como consecuencia de ello, se conseguirá un costo-beneficio favorable. [41]

Hoy en día, las fitohormonas son divididas en cinco grandes grupos: auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno y ácido abscísico. Cabe mencionar también que existen otros cuatro grupos complementarios: jasmonatos, ácido salicílico, brasinoesteroides y strigolactonas [42]. La descripción de los grupos principales, se detalla en seguida.

Las auxinas, se caracterizan por ser sintetizadas en los meristemas apicales y en las hojas jóvenes; así como también de ser partícipes de casi todas las etapas del ciclo de vida de la planta [43,44]. Fundamentalmente en sus procesos de crecimiento [45] (acelerando el desarrollo radicular, llevado a cabo por el ácido 1,3-indol acético, auxina natural más común) [46,47,48] y regulación de la división celular; que involucra directamente la interrupción de su expansión. [49]

También son muy relevantes en los eventos que tienen lugar al desarrollo de la semilla, la rizogénesis ^[50,51] o enraizamiento de esquejes de tallo (enraizamiento adventicio), la hiperpolarización de la membrana, los cambios en la endocitosis ^[52,53,54], la formación de órganos, la dominancia apical, el gravitropismo y la diferenciación vascular. ^[55]

Concerniente a los mecanismos de transporte de las auxinas, se identifican a dos de ellos. El primero, un mecanismo no polar de mayor rapidez, en el floema, donde estaría asociado con procesos de división del cambium y ramificación de raíces ^[33]. En cambio el segundo, se da por un mecanismo polar, mediado por proteínas transportadoras de salida de auxina; las más jerárquicas son las conocidas como PINFORMED. ^[53]

Adicionalmente, las auxinas comúnmente son transportadas basipetalmente de los brotes hacia la base de la planta y en forma acrópeta desde las raíces. ^[56]

Algunos nombres principales de auxinas se ponen de manifiesto en las siguientes imágenes:

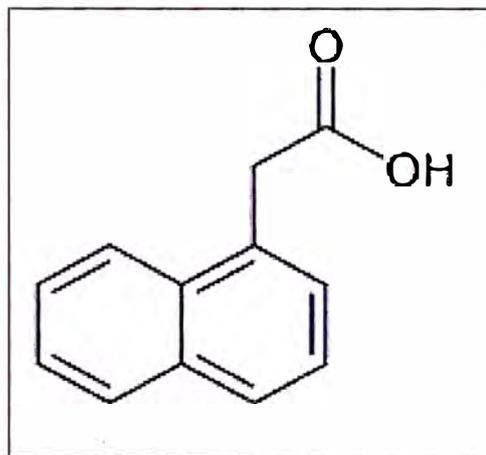


Figura II. 5. Ácido 1-Naftaleno-1-acético
 $C_{12}H_{10}O_2$ ^[57]

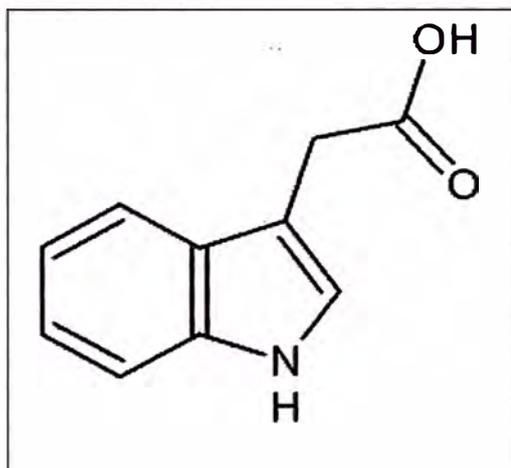


Figura II. 6. Ácido Indolacético
 $C_{10}H_9NO_2$ [58]

El siguiente grupo importante de hormonas vegetales, son las citoquininas, que se derivan de la adenina. Estas se sintetizan principalmente en las puntas de las raíces y de inmediato son transportadas acropetalmente en la savia del xilema, a través del impulso de transpiración, direccionándolas hacia el tejido ubicado encima del suelo. Así mismo, se citan principalmente a la zeatina (Figura II.7), 6- Bencil adenina y kinetina (Figura II.8) como algunos ejemplos de estas fitohormonas. [59,60]

De otra parte, tienen como responsabilidad promover y sostener la división celular de las plantas, además de estar presentes en procesos de proliferación de yemas axilares, floración, senescencia foliar y en las actividades de diferenciación, como la regulación del desarrollo vascular, el crecimiento primario de la raíz o la iniciación de los brotes [60,61]

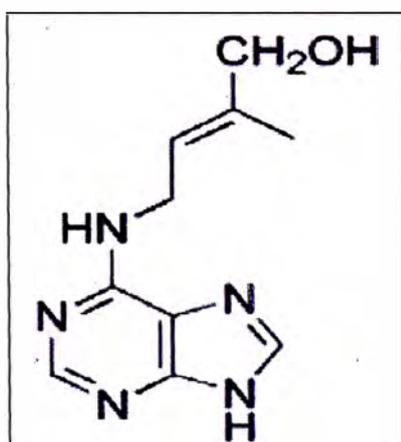


Figura II. 7. Zeatina ($C_{10}H_{13}N_5O$) [62]

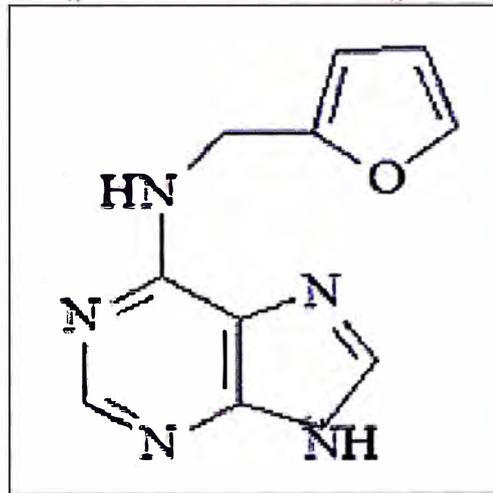


Figura II. 8. Kinetina (C₁₀H₉N₅O) ^[63]

Luego de haber detallado tanto las auxinas y las citoquininas, en la Figura II.9 se bosqueja el perfil de interacción y función entre estas dos hormonas vegetales en la división celular.

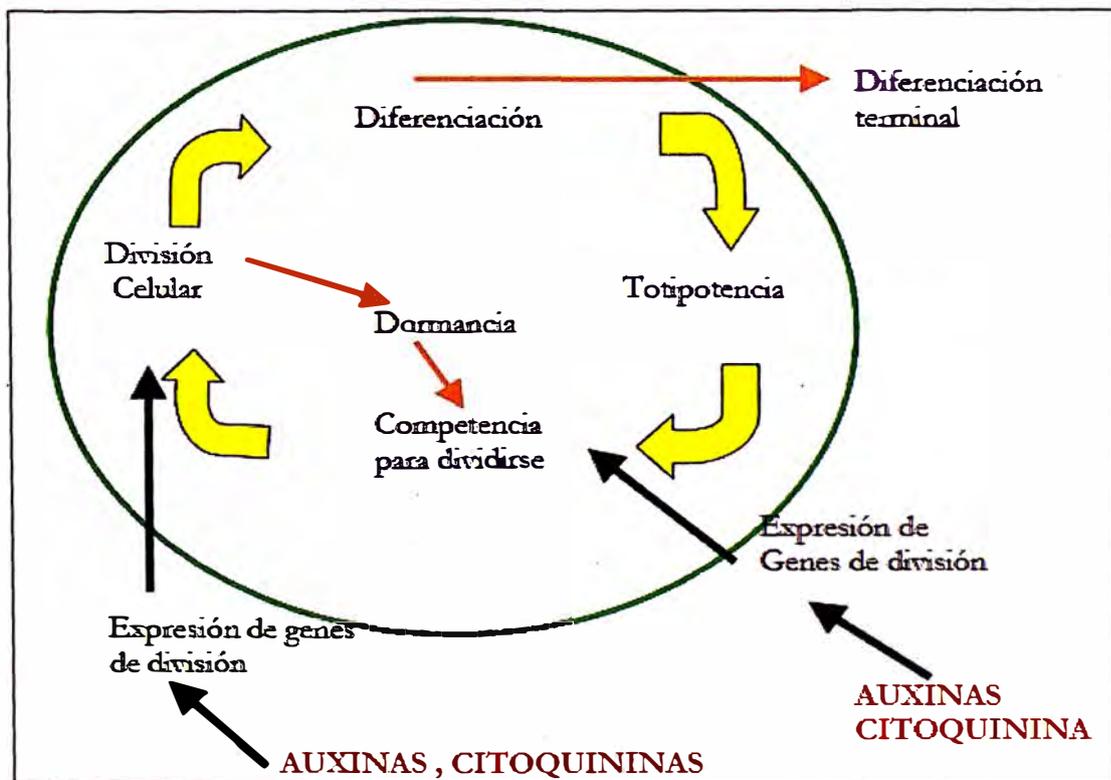


Figura II. 9. Análisis del Modo de Interacción entre las Auxinas y Citoquininas en la División Celular ^[64]

Las giberelinas son una vasta familia de fitohormonas diterpenoides tetracíclicas, que promocionan el crecimiento longitudinal de las plantas, la inducción de enzimas hidrolíticas en semillas germinadas, el desarrollo de la fruta y la inducción floral [65,66].

Dos estructuras de este tipo de hormonas vegetales son elucidadas en las siguientes gráficas:

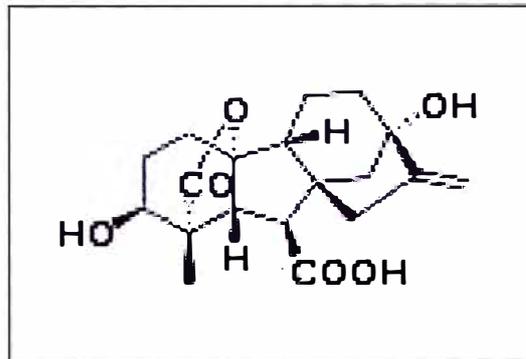


Figura II. 10. Gibberelina GA₁ [62]

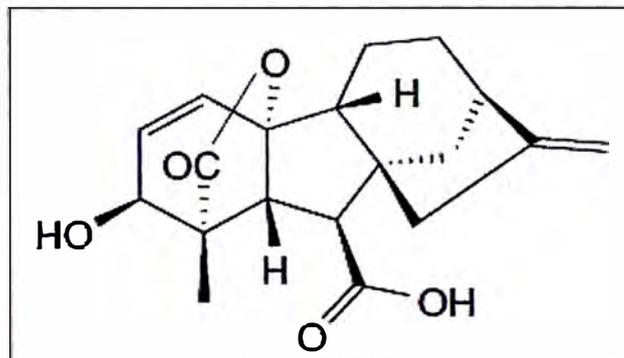


Figura II. 11. Gibberelina GA₇ [66]

Siguiendo con la secuencia de descripción de los grupos más relevantes de hormonas vegetales, el ácido abscísico es detectado en la planta, a través de procesos fisiológicos, moleculares y celulares; exactamente en las actividades enzimáticas antioxidantes, los ajustes osmóticos, la inducción de expresión de genes y el cierre estomático. [67]

Adicionalmente participa en la dormancia y germinación de semillas, en la transición floral y en respuestas a estreses abióticos; tales como salinidad, frío, sequía y radiación UV. [62]

Finalmente el etileno, no es estrictamente considerado como una hormona, pero es claramente un compuesto activo en el desarrollo vegetal; que se sintetiza a partir del aminoácido metionina. Además cumple roles de expansión celular, maduración de frutos, resistencia ante la infección de patógenos, adaptación a condiciones de estrés, senescencia y abscisión de hojas y flores. ^[38,68]

En el siguiente cuadro se elucida un resumen de los principales efectos fisiológicos que cada uno de los grupos de hormonas vegetales realizan en la planta.

Cuadro II. 1. Principales efectos fisiológicos originados por los grupos de hormonas vegetales en las plantas ^[38]

Efectos Fisiológicos	Auxinas	Citoquininas	Giberelinas	Ácido Abscísico	Etileno
Incremento del tamaño celular en cultivos de tejidos	Sí, en ciertos casos	Sí	Sí, en ciertos casos	No	No
Respuestas Trópicas	Sí	No	Sí	Sí	Sí
Activa el crecimiento de frutos	Sí	Sí, en ciertos casos	Sí	No	No
Abscisión de hojas y frutos	Sí	Sí	No, de manera directa	Sí	Sí
Perjudica el crecimiento del tallo	No	No	Sí, lo activa	Lo inhibe	Lo inhibe
Mantenimiento de la dominancia apical	Sí	No	Sí	Se desconoce	Sí
Frena el reposo de las yemas vegetativas	No	Sí	Sí	No, lo induce	Sí, en ciertos casos

De igual manera, en el Cuadro II.2 se pone de manifiesto un extracto de los lugares de síntesis de los grupos de fitohormonas que dan lugar al desarrollo de la planta.

Cuadro II. 2. Lugares de síntesis de los diversos reguladores de crecimiento ^[64]

Regulador de Crecimiento	Lugar de Síntesis
Auxinas	Meristemas, primordios foliares, polen Hojas Jóvenes Semillas y frutos en expansión
Citoquininas	Raíces, frutos Tejidos seminales
Giberelinas	Semillas en desarrollo Brotos en activo crecimiento
Ácido Abscísico	Hojas (cloroplastos y plastidios)
Etileno	Todos los tejidos según etapa de desarrollo
Brasinoesteroides	Polen, hojas, semillas, brotes y flores
Salicilatos	Estructuras reproductivas, hojas
Jasmonatos	Meristema apical Hojas jóvenes Frutos inmaduros Meristema radical

Cabe señalar un aspecto importantísimo e indispensable a tener en cuenta respecto a los tipos de hormonas vegetales, que si bien es cierto se han descrito las bondades que cada uno de estos grupos presentan en las diversas y complejas etapas de la planta; no siempre son eficientes a cualquier dosis de aplicación. Ya que, para que un cierto tipo de planta obtenga grandes beneficios en sus procesos, requiere una previa planificación de la etapa de aplicación, la especificidad del cultivo, la especificidad de estaciones y la cantidad óptima que debe suministrarse. ^[69]

De lo contrario existirá una caída en la actividad biológica y por consecuencia ante un incremento de dosis de hormona se tendrán resultados negativos en el funcionamiento de las plantas. [69]

Es así precisamente, debido a este inconveniente; que se han desarrollado muchas investigaciones respecto a cómo ayudar a mejorar la inyección de hormonas vegetales, bajo ciertas concentraciones y mediante ciertos mecanismos que garanticen su productividad. Este es el caso de la utilización de sistemas de liberación controlada, ya que presentan ventajas puntuales, de cómo transportar lentamente las fitohormonas hacia un sitio localizado, evitar su disminución en el proceso y lo más importante avalar su uso eficiente. [70]

II.4 LIBERACIÓN CONTROLADA

Como preámbulo a esta sección, es sabido que en las formulaciones convencionales de agroquímicos como herbicidas o pesticidas; el rendimiento de los procesos de liberación controlada de sus elementos activos hacia un cultivo, está directamente asociado a sus materiales de soporte. [70]

Sin embargo, existe una gran desventaja, en caso el ingrediente activo se libere raudamente; que es la disminución en su concentración durante este suceso. Por consecuencia, este compuesto se encontrará por debajo de la concentración mínima requerida para obtener un buen resultado biológico. Las razones por las cuales se pierden de forma rápida estos elementos químicos, son debidas a la realización de diferentes procesos de degradación (degradación fotolítica, degradación hidrolítica y degradación microbiana). Además de pérdidas por evaporación, lixiviación y volatilización que ocurren post inserción en el cultivo. [71]

A causa de estas desfavorables eventualidades, se han realizado varias investigaciones en la agricultura, para llegar a garantizar que haya una reducción de fitotoxicidad, disminución de la contaminación ambiental y que el nivel de concentración sea constante de los agentes activos, al momento de su entrega en los campos de cultivo. [72,73]

Es por ello, que se deberá recurrir a sistemas de liberación controlada (ver Figura II.12) o sostenida de estos componentes, a través de formulaciones que contengan biopolímeros como el alginato. [74]

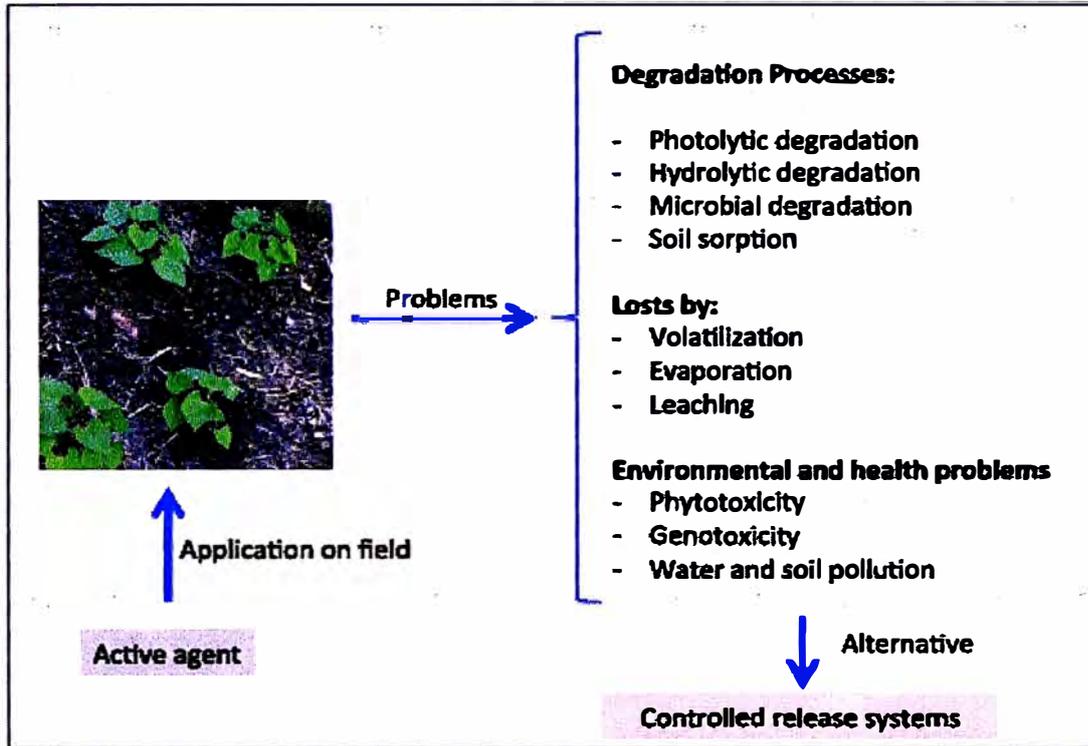


Figura II. 12. Representación esquemática del uso del agente activo en la agricultura y alternativa de uso de sistemas de liberación controlada [71]

Cabe mencionar en esta parte, que previamente dichos elementos activos han sido encapsulados mediante técnicas como secado de pulverización, spray-drying o gelación iónica (ver Figura II.13); este último método es comúnmente empleado ya que los protege de condiciones adversas del medio. También se le identifica como técnica de goteo con alginato por que se da una reacción entre el polisacárido y un ión de carga opuesta. [9]

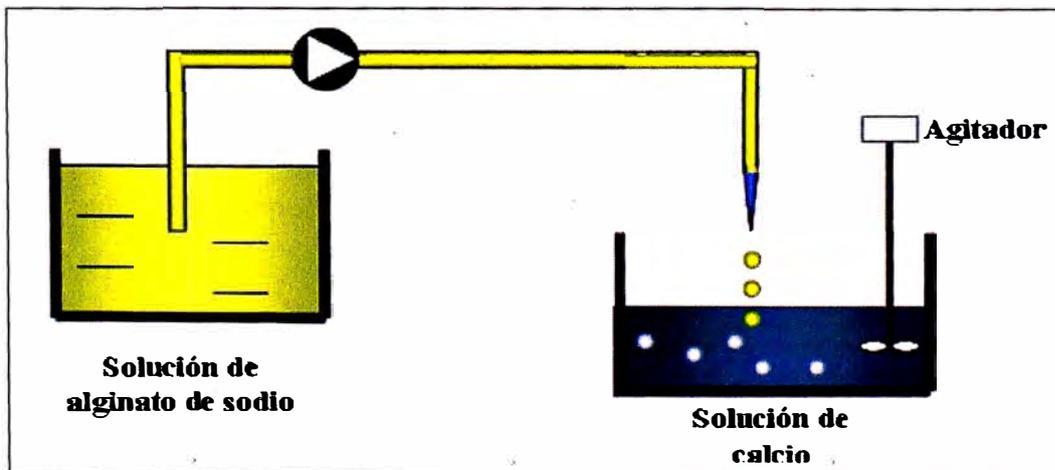


Figura II. 13. Síntesis de perlas de alginato por el método de gelificación iónica [75]

Analizando con mayor prolijidad los sistemas de liberación controlada, una gran ventaja es que estos tienen la capacidad de suministrar el producto activo de manera lenta y progresiva con cierta velocidad hacia un lugar específico de la planta (Ver Figura II.14) [72]. De esta forma, se reduce notablemente el impacto nocivo de los agroquímicos en el medio ambiente. Así como el gran beneficio que significa la seguridad de mantener una alta eficiencia biológica del elemento activo. [76,77]

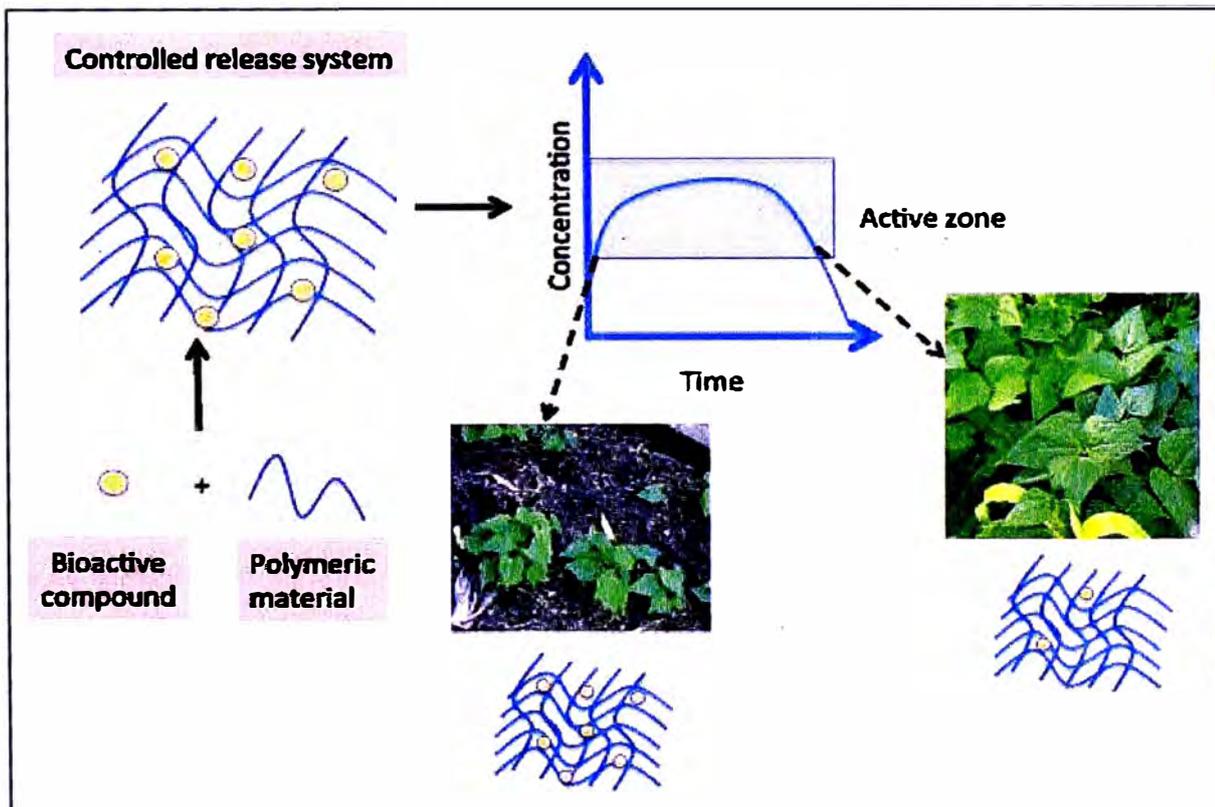


Figura II. 14. Representación de un sistema de liberación controlada de compuestos bioactivos basado en polisacáridos en agricultura [71]

Existen otros factores muy importantes, entre ellos el pH, luz, temperatura, fuerza osmótica, enzimas, campos magnéticos, que sirven como inductores para proporcionar compuestos activos hacia un lugar en específico, bajo una velocidad establecida a lo largo del tiempo en un sistema de liberación controlada (ver representación en la Figura II.15) a través de matrices poliméricas. Además se difunde hacia diversos campos de aplicación entre los cuales se tienen áreas de agricultura (que es la aplicación del presente trabajo), productos farmacéuticos, cosmética e industria de alimentos. [78]

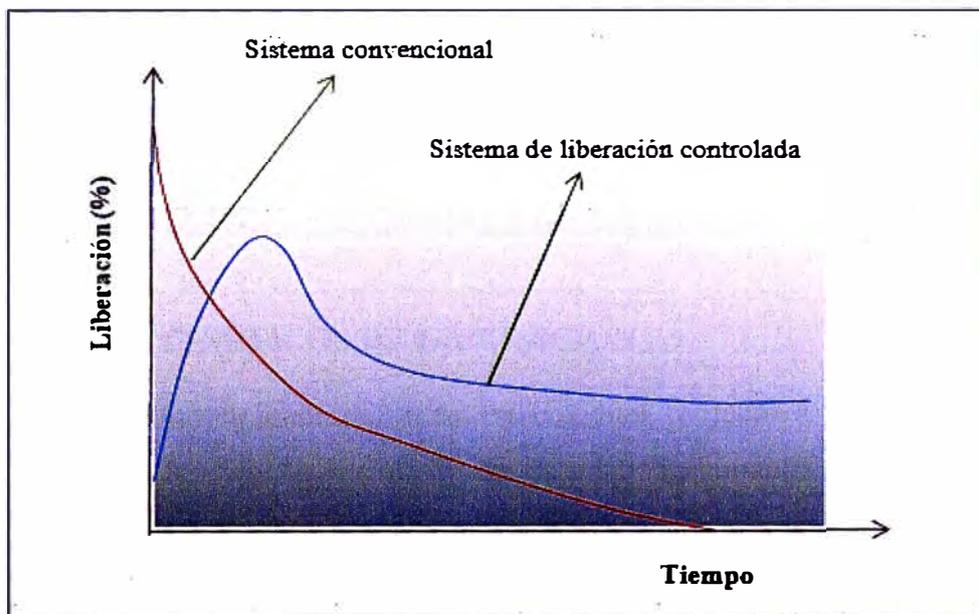


Figura II. 15. Representación gráfica de sistemas convencionales y de liberación controlada en aplicaciones agroquímicas ^[77]

Hay en la actualidad reportes en estudios de empleabilidad de alginato como matriz para liberación controlada de ingredientes activos. Uno de ellos, usa este biopolímero dentro de su formulación para liberación controlada del insecticida imidacloprid e informa que la movilidad en el suelo del componente activo (44.7%) disminuye en relación al producto técnico (82.3%). En adición a esta información, se ha dado a conocer que la utilización de sistemas poliméricos para estos fines, reduce la volatilización del elemento activo. ^[71]

Es necesario entonces entender la importancia de la utilidad de los polímeros naturales en la agricultura, ya que presentan todos los requisitos primordiales como biodegradabilidad, solubilidad, naturaleza ecológica, rentabilidad, disponibilidad y difusión para ser dispuestos en los sistemas de liberación controlada. ^[79]

Además, se prefiere la conformación de hidrogeles o perlas de los biopolímeros, ya que en estas formas tienen la capacidad de retener agua del suelo, por tener redes poliméricas hidrofílicas tridimensionales y reticuladas que se hinchan rápidamente. ^[80]

Por estas razones, los hidrogeles biodegradables han recibido mucha atención del sector agrícola en los últimos años. Un factor principal es que permiten la liberación prolongada controlada de fertilizantes en el suelo, favoreciendo en el crecimiento de las plantas. ^[80]

De igual manera, el uso gradual de fertilizantes a través de estos sistemas de liberación controlada, ha contribuido también con disminuir la tasa de mortalidad de las plantas, reducir la frecuencia de riego, minimizar los costos destinados y ayudar a mejorar el rendimiento en cultivos. [81]

II.5 MODELOS CINÉTICOS DE LIBERACIÓN

Se encuentran informaciones de suma envergadura respecto a los diversos modelos cinéticos que evidencian liberación de un fármaco o elemento activo, a partir de las distintas cantidades de dosificación o concentración según sea el caso (fármacos u hormonas vegetales) y que se clasifican básicamente en dos grupos: modelos mecanicistas o reales y modelos empíricos o no mecanicistas. [82]

El modelo real o mecanicista, hace referencia a fenómenos reales; entre los cuales se da paso a la disolución, difusión, degradación, hinchamiento y erosión. Entre las principales leyes predominantes, se encuentran la ley de difusión (segunda Ley de Fick), así como la propuesta por Korsmeyer y colaboradores, en relación al hinchamiento del polímero. [83]

El modelo empírico o no mecanicista, se basa en ecuaciones matemáticas con fundamento descriptivo, mas no en acontecimientos reales químicos, físicos y/o biológicos. De esta manera, se denota un escaso aporte en cuanto a los mecanismos de liberación del agente activo. Algunos ejemplos de este tipo de modelo son el de Hopfenberg; basado en la erosión del polímero, el modelo relativo a redes neuronales artificiales (ANNs), entre otros. [83]

Es imprescindible conocer que la cinética de liberación de ingredientes activos manifiesta ser un fenómeno complejo de modelar, ya que para que un fármaco logre ser absorbido es obligatorio que esté en solución. Para lo cual necesariamente dependerá del tamaño de partícula, del medio donde se libera, de la forma cristalina, de la cantidad, de la solubilidad y del método de elaboración. [82]

Pero comúnmente se determina la cantidad de principio activo que se libera desde la red polimérica en función del tiempo. [84]

A continuación se describen los principales modelos cinéticos de liberación:

✓ **Modelo de Orden Cero** ^[85]

Un hecho particular es que en este modelo, la velocidad se mantiene fija a lo largo del tiempo; además al tener un perfil de liberación ideal, permite tener una acción farmacológica prolongada.

Otras características son que las formulaciones no se desagregan al ejecutarse la entrega controlada del fármaco y no depende de la concentración del fármaco.

$$\begin{aligned} \frac{dC}{dt} &= -k_0 \\ C &= C_0 - kt \end{aligned} \quad \dots \text{Ecuación II.1}$$

✓ **Modelo de Primer Orden** ^[86]

Fue propuesta en 1967 por Gibaldi y Feldman. Este modelo indica que los agentes activos hidrosolubles en matrices porosas, se liberan de manera equitativa en relación a la cantidad remanente de su interior; ocasionando así una reducción en la cantidad del elemento activo liberado por unidad de tiempo.

$$\begin{aligned} \frac{dC}{dt} &= -k_1 C \\ \ln C &= \ln C_0 - k_1 t \end{aligned} \quad \dots \text{Ecuación II.2}$$

Donde:

C : Concentración del principio activo en un tiempo t

C_0 : Concentración inicial del principio activo

t : Tiempo

k_1 : Constante de velocidad que depende de las condiciones experimentales.

✓ **Modelo de Hixson-Crowell** [86]

No tiene en cuenta los sistemas donde se producen cambios de diámetro y de sus áreas superficiales, en otros términos de una probable difusión del elemento activo a partir de la matriz polimérica. En lo que si se interesa este modelo, es por la dependencia de la tasa de liberación del principio activo respecto de la velocidad de disolución de sus partículas.

Se identifica que el área de la partícula se encuentra en proporción a la raíz cúbica de su volumen, obteniendo una ecuación descrita como sigue:

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = K_s t \quad \dots \text{Ecuación II.3}$$

Donde:

W_0 : Cantidad inicial de principio activo en la forma de dosificación farmacéutica

W_t : Cantidad restante de principio activo en la forma farmacéutica en el tiempo t

K_s : Constante de correlación superficie-volumen.

En síntesis este modelo se aplica a formas farmacéuticas (comprimidos), en las cuales la disolución se realiza en planos paralelos a la superficie del fármaco, siempre y cuando sus dimensiones son reducidas gradualmente; consecuentemente la forma geométrica de partida permanece invariable todo el tiempo.

✓ **Modelo de Higuchi** [87]

Este modelo matemático indica que la porción de principio activo liberado se encuentra en función de la raíz cuadrada del tiempo.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k\sqrt{t} \quad \dots \text{Ecuación II.4}$$

Donde:

M_t : Cantidad absoluta de principio activo liberado en un tiempo t

M_∞ : Cantidad de principio activo liberado en tiempo infinito, que correspondería a la proporción total absorbida dentro del sistema

k : Constante que hace referencia a las variables del diseño del sistema

t : Tiempo en marcha desde el comienzo de la liberación del principio activo.

Así mismo, la relación M_t/M_∞ también tiene equivalencia al porcentaje de liberación del principio activo, Q .

$$Q = k\sqrt{t} \quad \dots \text{Ecuación II.5}$$

Hoy en día el uso de este modelo es amplio para la liberación por difusión de agentes activos poco solubles, a través de matrices sólidas. Asimismo, se le conoce también como mecanismo Caso I o Fickiano.

✓ **Modelo de Korsmeyer-Peppas** ^[84]

Se basa en relacionar el modelo de liberación del principio activo con el tiempo, dado a partir de sistemas poliméricos que tienen características de hinchamiento. Cabe destacar también, que este modelo se ajusta de un 60 % a 70 % respecto de la cantidad de agente activo liberado.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \dots \text{Ecuación II.6}$$

Donde:

M_t/M_∞ : Fracción del principio activo liberado en un tiempo t

k : Constante de velocidad de liberación

n : Exponente de liberación

Se sabe también que el valor de n caracteriza distintas matrices poliméricas con sus respectivas liberaciones, por lo que en seguida se manifiesta las interpretaciones que corresponden a los diferentes valores que toma este coeficiente de difusión: ^[87]

$n \leq 0,45$ (0,5; según geometría de la matriz) : La Cinética de Liberación adopta un mecanismo de “Difusión Fickiana”

$0,45$ (0,5; según geometría de la matriz) $< n < 0,89$ (1,0; según geometría de la matriz) : La Cinética de Liberación presenta un mecanismo “No Fickiano”

$n = 0,89$ (1,0; según geometría de la matriz) : Tiene un mecanismo de liberación “No Fickiano” con transporte de Caso Tipo II (relajación-erosión)

$n > 0,89$ (1,0; según geometría de la matriz) : Adopta un mecanismo de liberación “No Fickiano” con transporte Super Caso II

En el siguiente cuadro se complementan los modelos cinéticos en función a su coeficiente difusional:

Cuadro II. 3. Caracterización de modelos cinéticos por el valor de n ^[88]

Modelo	Ecuación	Coficiente Difusional (n)
Orden Cero	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n$	$n = 1$
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = k^2\sqrt{t}$	$n = 0,5$
Korsmeyer-Peppas	$\ln \frac{M_t}{M_\infty} = \ln k + \ln t$	$0,5 < n < 1,0$

II.6 CRITERIOS USADOS PARA ESTIMACIÓN DE LOS MODELOS CINÉTICOS

Hay muchos criterios que han sido desarrollados con el objetivo de asegurar la precisión de algún modelo tomado y su proximidad con los factores principales que ejercen en dicho modelo cinético. Comúnmente, se asocia a todo sistema de liberación (matriz polimérica) de principio activo con algún modelo cinético que presente una mayor probabilidad de estar involucrado, para lo cual en teoría se esperaría que se encuentre dentro de un intervalo de confianza alto para su aceptación. [89]

En seguida se expone algunos criterios de aceptación de mayor relevancia:

✓ Coeficiente de Correlación de Pearson y Coeficiente de Determinación R , R^2

El coeficiente de correlación de Pearson generalmente se denota por R y es una herramienta estadística que brinda información de la relación entre dos variables aleatorias de forma lineal. Una vez evaluado el valor de R , podrá inferirse respecto a si hay un buen ajuste con el modelo cinético. [90]

Por otro lado, el coeficiente de determinación R^2 , no es más que el cuadrado del coeficiente de correlación y es usado comúnmente para medir el grado de ajuste del modelo de regresión con los datos de la variable en estudio. [91]

✓ Coeficiente de Determinación ajustado, R^2_{Adj} [92]

Evidencia la variabilidad total explicada por el modelo de regresión, teniendo en consideración el número total de parámetros que van a ser estimados o estudiados en la cinética.

$$R^2_{Adj} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{\sum_{i=1}^N (Y_i - \bar{Y})^2} \cdot \left(\frac{N-1}{N-p} \right) \dots \text{Ecuación II.7}$$

Donde:

N : número de valores experimentales en el modelo

p : número de parámetros a estimar en el modelo

$Y_i - \hat{Y}_i$: residuo del dato i -ésimo

$Y_i, \hat{Y}_i, \bar{Y}_i$: valor observado, predicho y promedio

✓ **Criterio de Información de Akaike, AIC** [92]

En primer lugar AIC es un índice empleado para seleccionar el mejor modelo, en relación con la reducción de la distancia de Kullback-Liebler; teniendo en cuenta el número de parámetros estimados en el ajuste.

$$\Delta_{AIC} = N \cdot \ln \tilde{\sigma}_j^2 + 2 \cdot K_j - \text{mínimo}(N \cdot \ln \tilde{\sigma}_j^2 + 2 \cdot K_j) \quad \dots \text{Ecuación II.8}$$

Donde:

K_j : número de parámetros del modelo j más 1 ($K_j = p+1$)

$\tilde{\sigma}_j^2$: estimador de la varianza del error del modelo j , su valor se obtiene así:

$$\tilde{\sigma}_j^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{N} \quad \dots \text{Ecuación II.9}$$

III. PARTE EXPERIMENTAL

III.1 MATERIALES Y REACTIVOS

Materiales

- Buretas
- Pipetas
- Micropipetas
- Vasos de precipitado
- Fiolas
- Espátulas de metal
- Termómetro
- Placas Petri de vidrio

- Desecador
- Pastillas magnéticas
- Probetas
- Baguetas
- Pinzas con nuez
- Embudos de vidrio
- Soporte universal

Reactivos

- Hormona
 - Ácido 1,3 indol acético Sigma - Aldrich Chemistry (United Kingdom)
- Biopolímeros:
 - Alginato de sodio Sigma - Aldrich Chemistry (United Kingdom)
- Agentes entrecruzantes:
 - Cloruro de calcio Merck (Germany)

III.2 EQUIPOS

- Agitador magnético WiseStir MSH-20D (UNI-LIBIPMET)
- Espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu (Laboratorio de Química Analítica y de Instrumentación, FC – UNI)
- Microscopio de Barrido Electrónico CarlZeiss EVO 10 MA (Laboratorio de Nanomateriales de la Facultad de Ciencias de la UNI)
- Espectrómetro Infrarrojo 1001-R Perkin Elmer (UNI-FC)
- Conductímetro-pH metro PL-700PC (UNI-LIBIPMET)
- Estufa de calentamiento (UNI-LIBIPMET)
- Balanza Analítica (UNI-LIBIPMET)
- Equipo Termogravimétrico TGA STA 6000 Perkin Helmer (UNI-LABINFIS)

III.3 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

III.3.1 CARACTERIZACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

III.3.1.1 OBTENCIÓN DEL ESPECTRO EN LA REGIÓN DEL ULTRAVIOLETA DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

Se preparó una concentración de 20 ppm de una solución acuosa de hormona. Posterior a ello, se obtuvo su espectro UV y fue medido en la región de 190 a 400 nm en el Espectrofotómetro Shimadzu.

III.3.1.2 ENSAYOS CUALITATIVOS DE ESTABILIDAD DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO EN MEDIO ACUOSO

Para este propósito se pesaron 0.05 g de hormona vegetal e inmediatamente se disolvió en 2 mL de etanol puro. Una vez disuelta se adicionó 48 mL de agua destilada y se mantuvo en agitación durante 5 minutos.

Finalmente esta solución se dejó en reposo durante 72 h con el objeto de medir su espectro UV en tiempos de 24, 48 y 72 horas.

III.3.1.3 PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO EN AGUA

Se elucidó la curva de calibración a 280 nm, en base a lo reportado por Şerban y colaboradores de forma espectrofotométrica: [93]

- Curva de Calibración de ‘Baja’ Concentración

Se disolvió 8.8 mg de hormona en 10 mL de etanol, en seguida se trasvasó la disolución a una fiola de 50 mL, para finalmente ser enrasada con agua destilada.

Luego se midieron ciertos volúmenes para obtener la curva de calibración de ‘baja’ concentración: 0, 125, 250, 375, 500 y 625 µL. A su vez, cada una de estas alícuotas fue colocada en fiolas de 25 mL y enrasada con agua destilada.

Una vez listas las soluciones, se midieron sus absorbancias en un espectrofotómetro para un rango de 190 nm a 400 nm. Y se bosquejó la curva de calibración usando en cada espectro la absorbancia de mejor performance encontrada a 280 nm.

- Curva de Calibración de 'Alta' Concentración

Se tomaron los siguientes volúmenes: 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 mL, a partir de una solución de 176 ppm de hormona, para de forma análoga ser llevados a un volumen de 25 mL con agua destilada. Después de la preparación de las soluciones se procedió a la obtención de las mediciones de sus absorbancias, con el uso de un espectrofotómetro, dentro de un rango de 190 nm a 400 nm.

Por último, se usó la absorbancia de mayor eficiencia encontrada a 280 nm (longitud de onda de absorción de la hormona) para la elaboración de la curva de calibración de 'alta' concentración.

III.3.2 CARACTERIZACIÓN DEL ALGINATO

III.3.2.1 DETERMINACIÓN DEL PESO MOLECULAR POR VISCOSIMETRÍA

En primera instancia se pesó 1 g de alginato (sal sódica de ácido algínico), luego se disolvió con la solución buffer NaCl 0.1 M mediante agitación durante aproximadamente media hora a temperatura ambiente ($T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$).

De inmediato se enrasó esta solución con el buffer hasta un volumen de 250 mL. A partir de la obtención de la solución patrón de alginato de 4000 ppm, se tomaron cuatro alícuotas de 16.5 mL, 35.8 mL, 44 mL y 55 mL. A continuación cada una de las cuatro muestras se llevó a un volumen de 100 mL.

Finalmente las viscosidades se registraron con la ayuda de un viscosímetro Ubbelohde, que reprodujo un tiempo de flujo del disolvente (0,1 M NaCl) de 146.57 s a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ (las mediciones se hicieron por quintuplicado).

III.3.2.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)

El espectro infrarrojo del alginato (en estado sólido) se obtuvo haciendo uso de un FTIR 1001-R (Perkin Elmer), mediante el método de reflectancia total atenuada (ATR) en un intervalo espectral de análisis de 4000 - 600 cm^{-1} .

III.3.3 PREPARACIÓN DE PARTÍCULAS DE ALGINATO SIN CARGADO DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

Se calentó 100 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 250 mL, hasta que el termómetro registró 70 °C. Luego de esto, se adicionó lentamente 2 g de alginato (se utilizó 3 g para el caso de alginato al 3%) con agitación constante hasta su total disolución y finalmente se dejó enfriar por unos minutos. Inmediatamente la solución se colocó en una bureta de 50 mL (2 series).

Asimismo, en paralelo se preparó una solución de 100 mL de cloruro de calcio (CaCl_2) al 2% o 3%, según corresponda y se dispuso a ser vertida en un vaso de precipitado de 400 mL.

Al tener lista esta última solución se hizo gotear la solución de alginato sobre la solución cloruro de calcio (CaCl_2).

Una vez terminado el goteo, se procedió a lavar las perlas con agua destilada hasta lograr un pH neutro. Luego del lavado, se secaron al vacío en un desecador.

III.3.4 PREPARACIÓN DE PARTÍCULAS DE ALGINATO CARGADAS CON LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

Se calentó 50 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 250 mL, hasta que el termómetro registró 70 °C. Inmediato a esto, se adicionó poco a poco 2 g de alginato (se utilizó 3 g para el caso de alginato al 3%) con agitación vigorosa hasta su total disolución y por último se dejó enfriar unos minutos.

Una acotación importante es que esta técnica de cargado de la hormona en las partículas de alginato se realizó por gelificación iónica con Ca^{2+} como lo indica Gouin. ^[9]

Por otra parte, se pesó 0.05 g de hormona, disolviéndola en 2 mL de etanol puro. Una vez disuelta se le adicionó 48 mL de agua destilada y se mantuvo en agitación por 5 minutos.

Para el caso de hormona al 0.1% se pesó 0.1g de hormona y se disolvió con 15 mL de etanol puro. Luego se le agregó 35 mL de agua destilada y se agitó la solución también por 5 minutos.

Cuando ambas soluciones fueron obtenidas, tanto la del alginato como la de la hormona, se mezclaron y se colocaron en una bureta de 50 mL (2 series).

Paralelamente se preparó una solución de 100 mL de cloruro de calcio (CaCl_2) al 2% o 3%, según corresponda y se colocó en un vaso de precipitado de 400 mL.

Al tener lista esta última solución se hizo gotear la solución de alginato – hormona sobre la solución cloruro de calcio (CaCl_2).

Una vez finalizado completamente el goteo, se dejaron reposar las partículas en la solución de CaCl_2 durante 30 minutos antes de proceder a lavarlas con agua destilada hasta lograr un pH neutro.

Finalmente posterior al lavado, las perlas se secaron al vacío en un desecador.

III.3.5 DISEÑO FACTORIAL PARA LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

Para este análisis se empleó un Diseño Factorial 2^3 (respaldado por el software Minitab 17), cuyo objetivo fue determinar el efecto que tienen ciertos parámetros durante la preparación de las partículas de alginato cargadas con la hormona vegetal: % de alginato, % de CaCl_2 y cantidad de hormona. Al mismo tiempo, juzgó el comportamiento de la velocidad de liberación de dicha hormona al cabo de 2 horas. ^[94]

Dicho lo anterior, se realizó un cuadro de análisis del diseño factorial y las condiciones a evaluar de los niveles para cada una de las variables en estudio:

Cuadro III. 1. Niveles de cada una de las variables estudiadas

Parámetro	Nivel Bajo (-)	Nivel Alto (+)
% Alginato	2	3
% CaCl ₂	2	3
% Hormona	0.05	0.1

La matriz particular de dicho diseño factorial se presenta en el Cuadro III.2:

Cuadro III. 2. Matriz de Diseño Factorial 2³

Nº	Muestra	V1	V2	V3
1	M1	-	-	-
2	M7	+	-	-
3	M2	-	+	-
4	M8	+	+	-
5	M5	-	-	+
6	M3	+	-	+
7	M6	-	+	+
8	M4	+	+	+

V1: % Alginato, V2: % CaCl₂, V3: % Hormona

III.3.6 CARACTERIZACIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE ALGINATO

III.3.6.1 PARTÍCULAS DE ALGINATO SIN CARGADO DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

III.3.6.1.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Se obtuvo la micrografía realizada a la matriz de alginato 3% con CaCl₂ al 2% (sin cargado de la hormona) en el equipo CarlZeiss EVO 10 MA del Laboratorio de Nanomateriales de la Facultad de Ciencias de la UNI.

III.3.6.1.2 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

El ensayo de termogravimetría para la matriz de alginato 3% con CaCl₂ al 2% (sin cargado de la hormona), se llevó a cabo en el equipo TGA STA 6000 Perkin Helmer, en una atmósfera de nitrógeno, a una velocidad de calentamiento de 10 °C/ min y en el rango de temperatura de 0 °C a 450 °C.

III.3.6.2 PARTÍCULAS DE ALGINATO CARGADAS CON LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

III.3.6.2.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)

Los espectros de infrarrojo para las matrices M3 y M7 (ver composición en el Cuadro III.3), se obtuvieron a partir de las muestras secas con la ayuda del equipo FTIR 1001-R (Perkín Elmer) y mediante el método de reflectancia total atenuada (ATR) en un intervalo espectral de análisis de 4000 - 600 cm⁻¹.

III.3.6.2.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Las micrografías realizadas a las matrices M3 y M7, se obtuvieron en el equipo CarlZeiss EVO 10 MA perteneciente al Laboratorio de Nanomateriales de la Facultad de Ciencias de la UNI.

III.3.6.2.3 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

Los ensayos de termogravimetría para las matrices M3 y M7, se llevaron a cabo en el equipo TGA STA 6000 Perkin Helmer, en una atmósfera de nitrógeno, a una velocidad de calentamiento de 10 °C/ min y en un rango de temperatura de 0 °C a 450 °C.

III.3.7 ESTUDIO DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3- INDOL ACÉTICO

III.3.7.1 ENSAYOS DE LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO A PARTIR DE LA MATRIZ DE ALGINATO

Se sumergieron 60 mg de partículas secas de cada una de las matrices en 50 mL de agua destilada.

Se mantuvieron a temperatura ambiente ($T= 25\text{ °C}$) y en agitación constante de 130 rpm.

Luego se realizaron mediciones de las absorbancias de las soluciones a 280 nm (longitud de onda de absorción de la hormona) en intervalos de tiempo de 5, 10, 30, 60, 120, 180, 300, 480 min y de 1, 2 y 3 días.

III.3.8 ESTUDIOS CINÉTICOS DE LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO DE LAS PARTÍCULAS DE ALGINATO

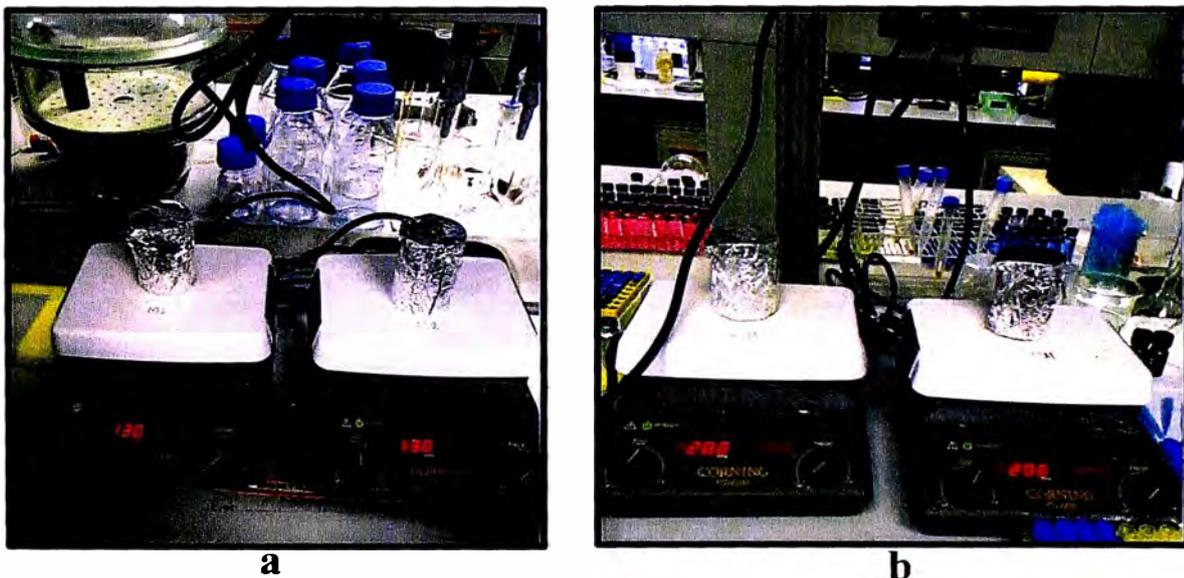
Una vez conforme a los análisis de los resultados del diseño experimental, se determinó que las matrices con las mejores características de liberación de la hormona ácido 1,3-indol acético son M3 y M7 (esta parte se explica en la sección IV.3), las cuales presentan la siguiente composición:

Cuadro III. 3. Composición de matrices M3 y M7

Muestra	Alginato	CaCl ₂	Hormona AIA
M3	3%	2%	0.1%
M7	3%	2%	0.05%

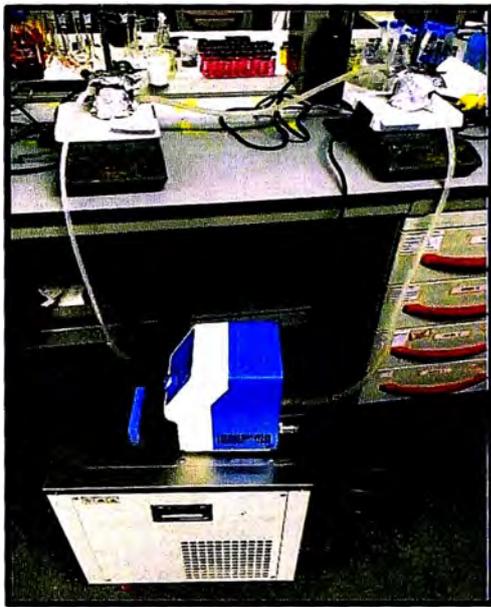
En este procedimiento se evaluaron los cambios en velocidad de agitación, temperatura y tipo de preparación e inmediato a ello se realizó el análisis de la liberación de dicha hormona en medio acuoso.

Velocidad de agitación: Se pesó 60 mg de la matriz M3, M7 y se ubicó cada una en un vaso de precipitado que contenía 50 mL de agua destilada, posterior a estos pasos se dejó en agitación constante a 130 rpm. De igual modo, en el otro caso se repitieron todas estas etapas del proceso, modificándose únicamente la velocidad a 200 rpm.

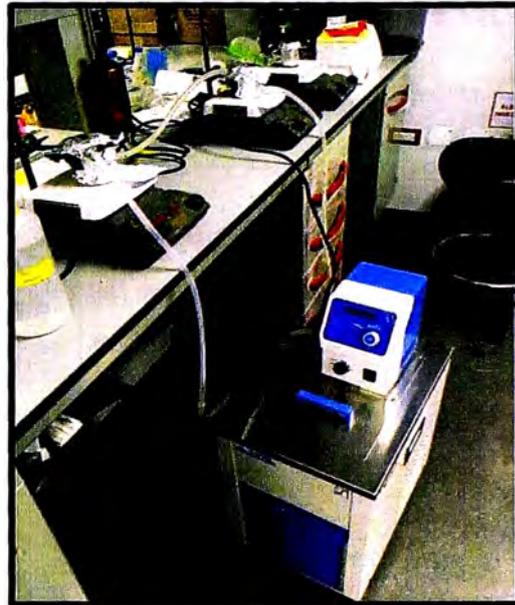


**Figura III. 1. a. Liberación de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de M3 y M7 a 130 rpm
b. Liberación de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de M3 y M7 a 200 rpm**

Temperatura: Se pesó 60 mg de cada una de las matrices (M3 y M7) y se ejecutó la liberación en un vaso con chaqueta que contenía 50 ml de agua destilada. Dicho vaso previamente fue conectado hacia un recirculador de agua (chiller) para preservar una temperatura constante de 15 °C. Se repitió el mismo proceso, pero esta vez a una temperatura de 25 °C.



a



b

Figura III. 2. a. Liberación de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de M3 y M7 a 15 °C
b. Liberación de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de M3 y M7 a 25 °C

Medio de liberación: De igual manera se pesó 60 mg de las matrices M3 y M7 e inmediatamente se realizó, de forma independiente, la liberación de la hormona de cada matriz en medio acuoso. Este medio contenía 50 mL de agua destilada en un vaso de precipitado.

Tipo de preparación: Primero que nada se obtuvieron las matrices M3 y M7, mediante el método de preparación seleccionado. La única diferencia en este procedimiento, es que en una tanda de preparación se empleó jeringa y en la otra bureta, para hacer gotear la mezcla alginato-hormona. Finalmente se cogió 60 mg de partículas secas de cada matriz (M3 y M7) y se ejecutó la liberación en vasos con 50 ml de agua destilada a temperatura de 25 °C.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

IV.1 CARACTERIZACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

IV.1.1 ESPECTRO ULTRAVIOLETA DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

Para empezar a entender a detalle acerca de la hormona en estudio (auxina), lo primero que se realiza es la obtención de su espectro UV, tal cual se presenta en la Figura IV.1:

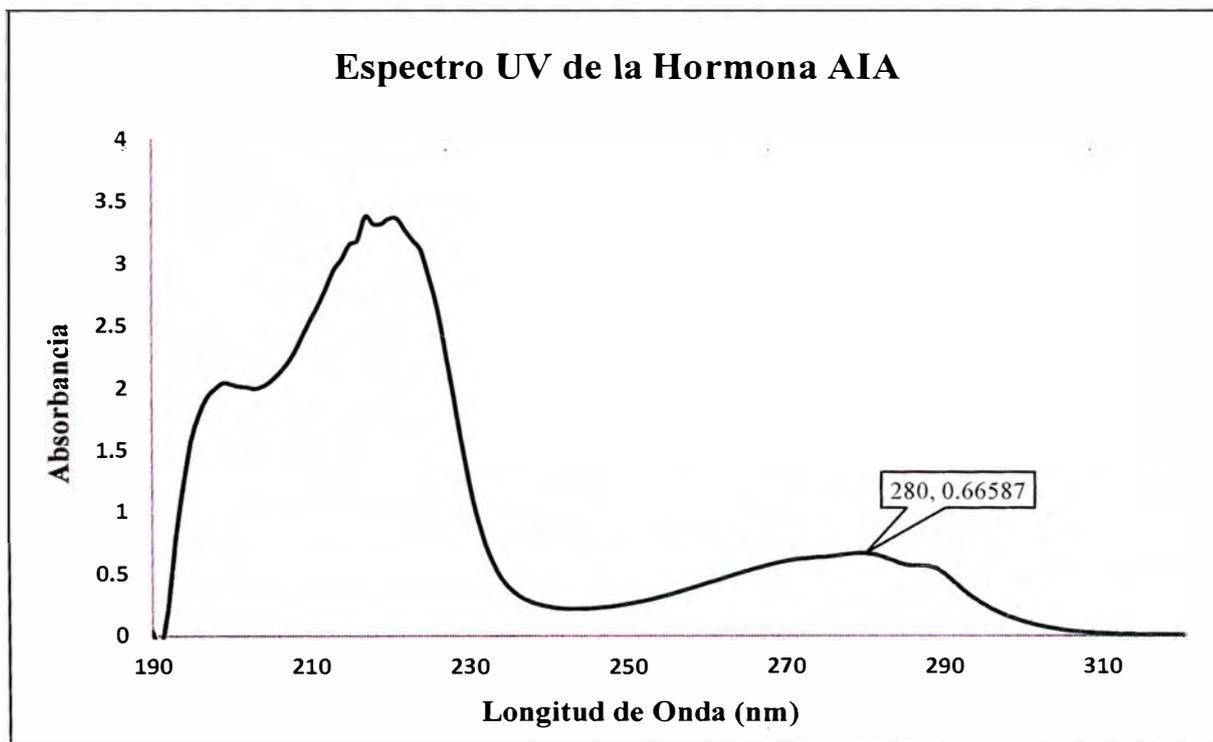


Figura IV. 1. Espectro UV de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

Un dato particular es que los anillos aromáticos son considerados cromóforos. En especial, el anillo bencénico presenta en la región ultravioleta tres bandas de absorción máximas características de origen $\pi \rightarrow \pi^*$. Estas se encuentran según Seyhan a 180 nm, 200 nm y 254 nm. ^[95]

De acuerdo al espectro obtenido (Figura IV.1), se detectan de forma sobresaliente las bandas de absorción a 198 nm, 218 nm y a 280 nm, que se atribuyen en primera instancia a β (también conocida como segunda banda primaria de moderada intensidad), a p (banda primaria) y a α (banda secundaria de baja intensidad) respectivamente.

Todas ellas se relacionan directamente al anillo bencénico, que evidentemente ha sufrido un desplazamiento en sus longitudes de ondas teóricas, debido a que esta parte aromática está unida a un anillo pirrónico (compuesto heterocíclico); adicionalmente cabe indicar que el grupo pirrol no forma transiciones $n \rightarrow \pi^*$.

Con respecto a lo anterior, está también el grupo carboxilo que va a tener un grado de influencia en el desplazamiento de las bandas principales de la auxina.

Asimismo, se identifica para la hormona ácido 1,3-indol acético, que la banda correspondiente a 280 nm del espectro logrado, es asignada al grupo indol o grupo aromático indólico. [96]

Es de suma importancia mencionar también que se ha utilizado como referencia la banda a esta longitud de onda (280 nm), para obtener a través de esta, las medidas de las absorbancias y por consecuencia permitió cuantificar dicha hormona mediante una curva de calibración (absorbancia vs concentración). [93]

Por otra parte en la Figura IV.2, se ubican a los tres grupos funcionales que componen a la fitohormona en estudio.

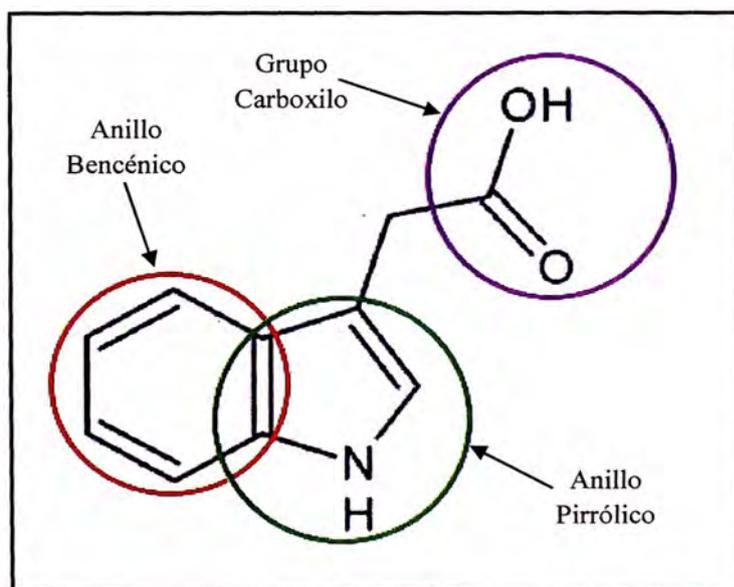


Figura IV. 2. Grupos Funcionales de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético [58]

IV.1.2 ENSAYOS DE ESTABILIDAD DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO EN MEDIO ACUOSO

Se considera muy relevante conocer la estabilidad química que llega a presentar esta fitohormona durante el tiempo de análisis y su exposición en este intervalo.

Para lograr identificar si se dan cambios en la estructura química, se presenta en la Figura IV.3 los espectros de la auxina, medidos a diferentes tiempos (24 h, 48 h y 72 h). Cabe mencionar además que la hormona se encuentra bajo exposición en agua.

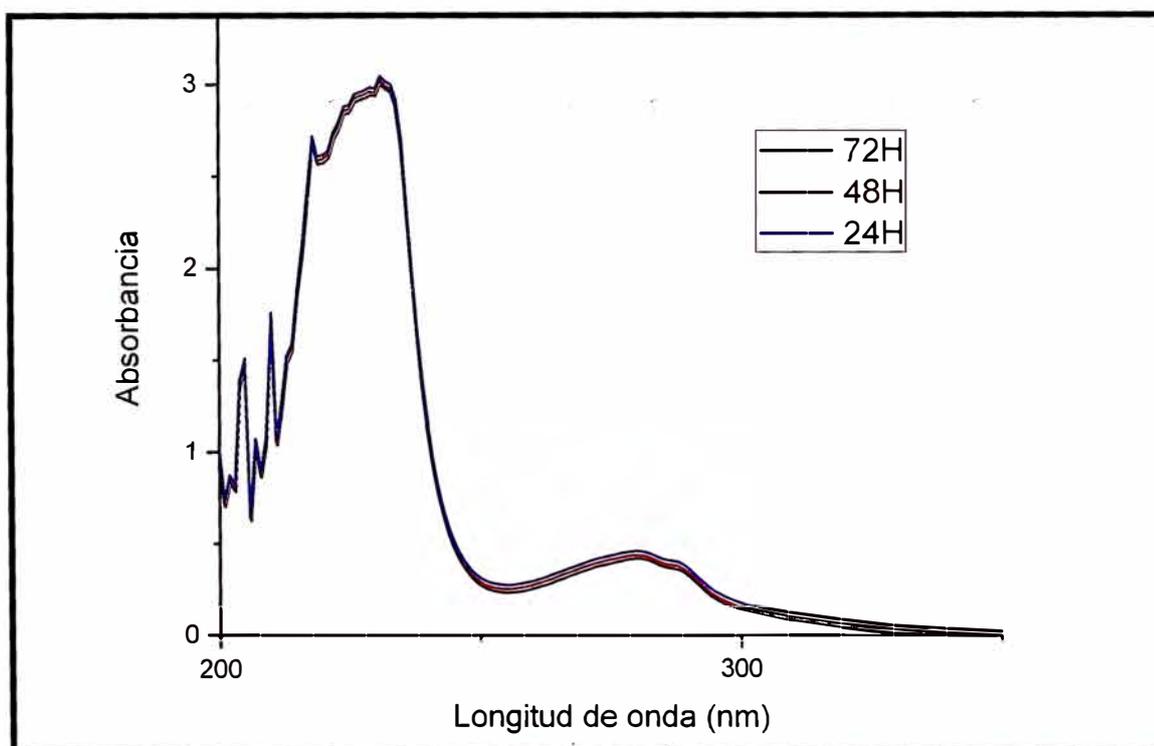


Figura IV. 3. Espectros UV de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético a diferentes tiempos en solución acuosa

De acuerdo a características de la hormona ácido 1,3-indol acético (AIA), esta mantiene su estabilidad en períodos no tan extendidos, por lo que es conveniente detectar hasta que tope no se va a degradar. [97]

Entonces mencionado esta parte, al hacer el análisis de los espectros, se puede apreciar que la hormona AIA mantiene estabilidad química para todos los tiempos evaluados (hasta 72 h) en medio acuoso.

IV.1.3 PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO EN AGUA

La curva de calibración para la cuantificación de la hormona AIA, ha sido separada en dos tramos, la primera menor a 3.54 ppm y la siguiente va desde 3.54 ppm a 17.6 ppm.

Estos intervalos seleccionados para elaborar dichas rectas, han sido propuestos teniendo en cuenta la información de que las hormonas vegetales presentan alta efectividad (concerniente a su principio activo) a mínimas concentraciones en un determinado rango (10^{-9} M – 10^{-6} M o incluso hasta de 6000 ppm). [33,98]

Por otra parte, las lecturas de las absorbancias se han realizado a una longitud de onda de absorción de 280 nm (tal cual ha sido mencionado en la sección IV.1.1).

En efecto, los resultados para ambas curvas de calibración satisfacen los requerimientos que propone la Ley de Lambert-Beer, los cuales indican de forma específica ser aplicados a bajas concentraciones y en un rango lineal (es decir tener un $R^2 \approx 1$). [99]

De las Figuras IV.4 y IV.5, se afirma que al presentar la primera curva un coeficiente de determinación (R^2) igual a 0.9998, indica que hay correlación entre las dos variables que son absorbancia y concentración; en otras palabras ambas son directamente proporcionales en este intervalo. A su vez, la otra recta tiene un R^2 igual a 0.9997, por consecuencia la gráfica también se ajusta a una recta.

En seguida se presentan ambas rectas de calibración denominadas a ‘baja’ concentración y a ‘alta concentración’:

- Curva de Calibración de ‘Baja’ Concentración

Cuadro IV. 1. Datos de Baja Concentración y Absorbancia de la Hormona AIA en medio acuoso

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA (Abs)
0.8759	0.027
1.7518	0.052
2.6277	0.079
3.5036	0.104

Esta gráfica sirvió para cuantificar cierta matriz polimérica, hallando su concentración de Hormona AIA y que cumpla el requisito de tener un rango menor a 0.10 de absorbancia.

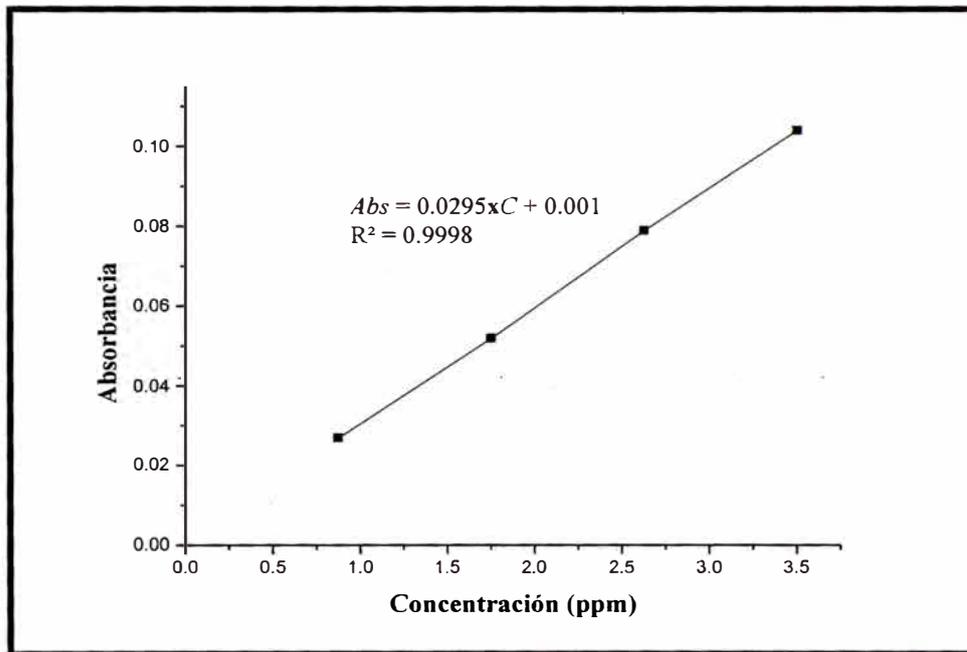


Figura IV. 4. Curva de Calibración de Baja Concentración de Hormona en medio acuoso y ecuación de la recta

- Curva de Calibración de 'Alta' Concentración

Cuadro IV. 2. Datos de Alta Concentración y Absorbancia de la Hormona AIA en medio acuoso

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA (Abs)
3.504	0.1
7.007	0.213
10.511	0.321
14.014	0.423
17.518	0.537

La gráfica que se muestra ayudó a cuantificar alguna matriz polimérica, hallando su concentración de Hormona AIA, pero que previamente debe tener entre 0.10 a 0.54 de absorbancia.

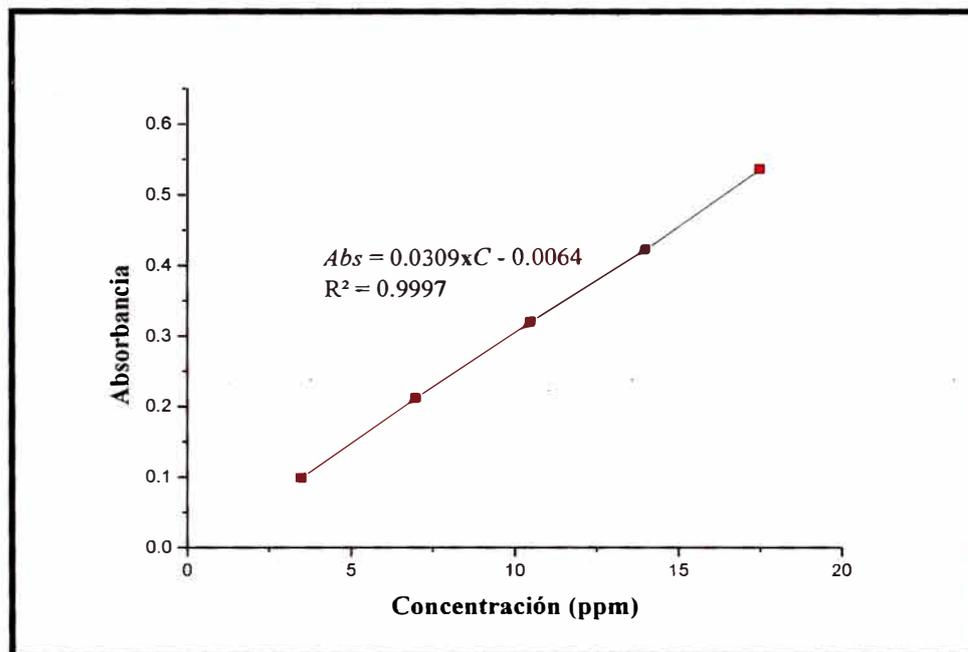


Figura IV. 5. Curva de Calibración de Alta Concentración de Hormona en medio acuoso y ecuación de la recta

IV.2 CARACTERIZACIÓN DEL ALGINATO

IV.2.1 DETERMINACIÓN DEL PESO MOLECULAR POR VISCOSIMETRÍA

Obtención de los valores de las constantes de la ecuación de Mark-Houwink-Sakurada (*M-H-S*):

Para calcular el valor del peso molecular promedio del alginato, en primera instancia se procede a hallar los valores de las constantes K y a que tienen lugar en la ecuación de *M-H-S*, bajo ciertas condiciones químicas.

Luego de haberse encontrado los valores de ambas constantes, se sigue un procedimiento para tener el valor de la viscosidad intrínseca. Dicho cálculo se muestra a detalle a continuación:

Cuadro IV. 3. Promedio de tiempos registrados a diferentes concentraciones de alginato

Soluciones	Concentración(g/L)	Tiempo(s)
Buffer	0	146.57
CAIg1	0.66	189.75
CAIg2	1.43	244.30
CAIg3	1.76	274.49
CAIg4	2.20	314.15

Mediante las siguientes expresiones, se calculan las diferentes viscosidades:

$$n_{rel} = t/t_0 \quad \text{viscosidad relativa}$$

$$n_{sp} = (t - t_0)/t_0 \quad \text{viscosidad específica}$$

$$n_{red} = n_{sp}/c \quad \text{viscosidad reducida}$$

$$n_{inh} = \ln(n_{rel})/c \quad \text{viscosidad inherente}$$

Cuadro IV. 4. Resultados de los tipos de viscosidades

Concentración(g/L)	$\eta_{relativa}$	$\eta_{especifica}$	$\eta_{reducida}$	$\eta_{inherente}$
0.66	1.294630	0.294630	0.446409	0.391250
1.43	1.666854	0.666854	0.466332	0.357299
1.76	1.872787	0.872787	0.495902	0.356493
2.20	2.143401	1.143401	0.519728	0.346543

Una vez adquirida esta información, inmediatamente se obtienen las gráficas de las rectas de Huggins tanto para la viscosidad reducida, así como para la viscosidad inherente respecto a las concentraciones de las soluciones con alginato.

Se muestran en los Cuadros IV.5 y IV.6, los datos requeridos para bosquejar las rectas de Huggins:

Cuadro IV. 5. Datos de Viscosidades Reducidas y Concentraciones de Alginato

Concentración(g/L)	$\eta_{reducida}$
0.66	0.446409
1.43	0.466332
1.76	0.495902
2.20	0.519728

Cuadro IV. 6. Datos de Viscosidades Inherentes y Concentraciones de Alginato

Concentración(g/L)	$\eta_{inherente}$
0.66	0.391250
1.43	0.357299
1.76	0.356493
2.20	0.346543

De ambos cuadros se extraen sus datos y se grafican las rectas de Huggins:

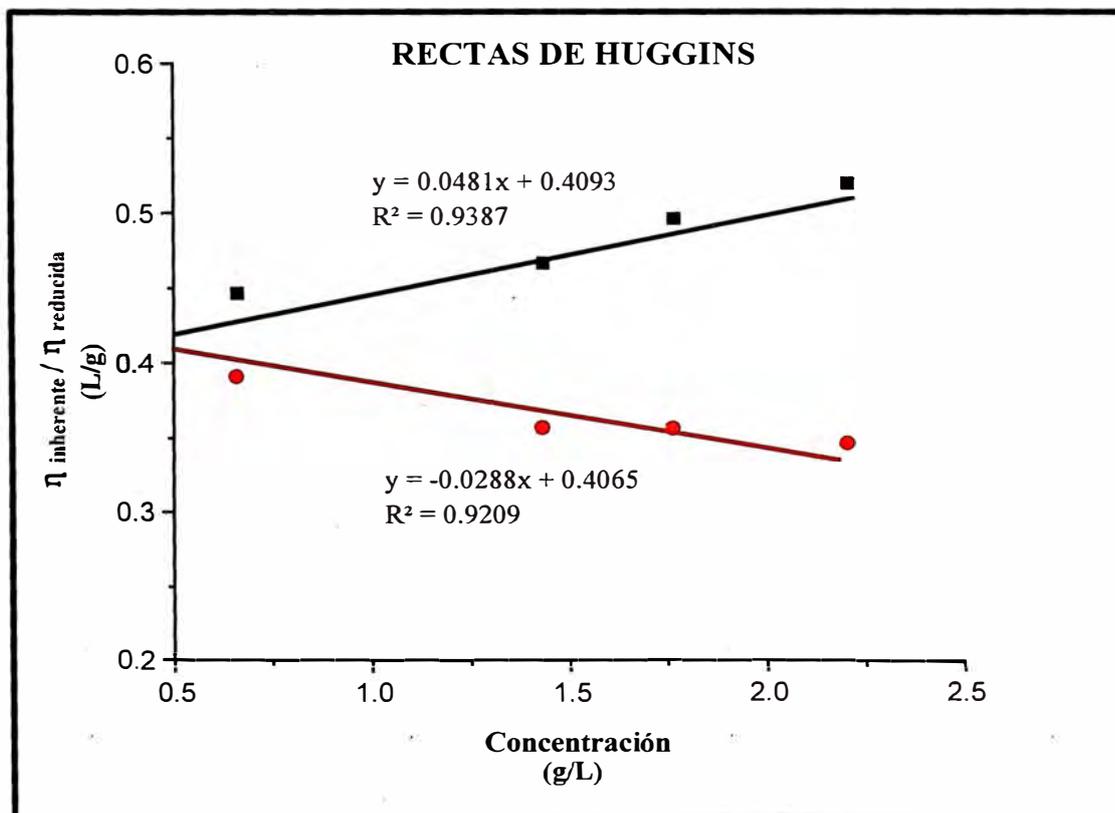


Figura IV. 6. Rectas de Huggins formadas por las viscosidades reducidas e inherentes vs concentraciones de alginato

Posterior a ello, se ejecuta una extrapolación a concentración $c = 0$, tanto para la viscosidad inherente como para la viscosidad reducida, obteniéndose los siguientes valores:

$$\eta_{inh} = 0.4065 \text{ L/g}$$

$$\eta_{red} = 0.4093 \text{ L/g}$$

Estos dos resultados de viscosidades, permiten encontrar el valor de la viscosidad intrínseca $[\eta]$, mediante su semisuma o que es lo mismo decir sacando su promedio.

Entonces aproximadamente tendremos que:

$$[\eta] = (0.4093 + 0.4065)/2$$

$$[\eta] = 0.4079 \text{ L/g}$$

Expresando en dL/g , la viscosidad intrínseca queda de la siguiente manera:

$$\eta \text{ (intrínseca)} = 4.079 \text{ dL/g}$$

De acuerdo a Gómez-Díaz y Navaza ^[100], los valores de los parámetros son:

$$k = 7.3 \times 10^{-5} \text{ g/dL } y$$

$$a = 0.92$$

Finalmente se aplica la ecuación de Mark Houwink Sakurada: ^[100,101]

$$[\eta] = K(M_w)^a$$

$$M_w = ((4.079)/(7.3 \times 10^{-5}))^{1/0.92}$$

El peso molecular promedio del alginato es:

$$M_w = 144.6 \text{ kDa}$$

IV.2.2 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)

El espectro FT-IR del alginato, en el cual se identificaron las bandas características de absorción del polisacárido, es presentado en la Figura IV.7:

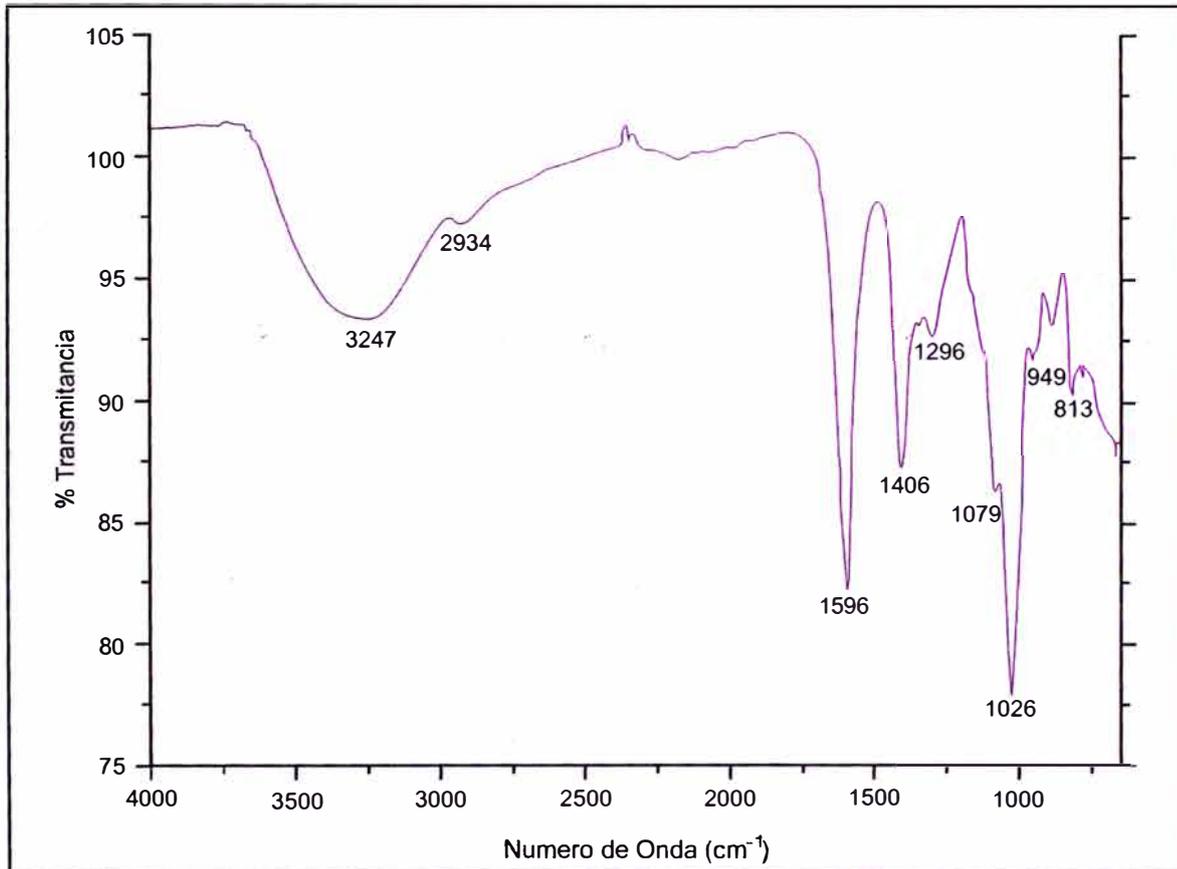


Figura IV. 7. Espectro FT-IR del Alginato de Sodio

En la región de 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , se observa en principio que aparece una banda ancha a 3247 cm^{-1} , la cual le corresponde a las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilos (O-H); esto se puede explicar debido a que el alginato es un polímero hidrofílico.

Por otro lado, se nota la presencia de una banda débil a aproximadamente 2934 cm^{-1} , en este caso se producen vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H. Además, la banda expuesta a 1596 cm^{-1} le pertenece al estiramiento asimétrico de la vibración del carboxilato O-C-O.

Asimismo, la banda ubicada a 1406 cm^{-1} , se le atribuye a la vibración de deformación de C-OH con contribución de la vibración de estiramiento simétrico O-C-O del grupo carboxilato.

Las bandas débiles a 1296 cm^{-1} y a 1079 cm^{-1} , son asignadas a las vibraciones de deformación C-C-H, O-C-H y a las vibraciones de estiramiento C-O, C-C de los anillos piranos respectivamente. Por su parte, la banda a 1026 cm^{-1} , es debido a las vibraciones de estiramiento de C - O.

El espectro también muestra una banda a 949 cm^{-1} que es a causa de la vibración de deformación C₁-H de los residuos de ácido β-manurónico y finalmente existe otra banda a 813 cm^{-1} que le correspondería por característica a residuos de ácido manurónico.

Conforme a lo discutido, es ideal hacer un cuadro de comparación entre las frecuencias experimentales versus las frecuencias teóricas que se han obtenido del espectro FT-IR para el alginato, por lo que se muestra todo ello a detalle en el Cuadro IV.7:

Cuadro IV. 7. Grupos Funcionales obtenidos del espectro FT-IR del alginato

Grupo Funcional	Tipo de vibración	ν Experimental (cm^{-1})	ν Teórico (cm^{-1}) [102]
Grupo O-H	Estiramiento	3247	3200 – 3427
Grupo C-H	Estiramiento	2934	2927
Grupo – COO –	Estiramiento Antisimétrico y Simétrico	1596	1615
		1406	1415
Grupo –C–C–H	Deformación Vibraciones de su estructura piranos	1296	1301
Grupo C–O–C	Tensión asimétrica del C-O-C Vibraciones de su estructura piranósica	1079 y 1026	1094 y 1035

IV.3 DISEÑO FACTORIAL PARA LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

Es fundamental realizar un diseño factorial, ya que aporta gran información respecto a las variables dentro de un sistema experimental, además permite saber cuáles de ellas son las más influyentes frente a algún parámetro en estudio.

Para esta Tesis un resultado importante es la velocidad de liberación debido a que se requirió preparar matrices de alginato con entrega prolongada y controlada de la hormona; en torno a este girarán tres factores esenciales: % Alginato, % Hormona y % CaCl_2 . Ello implica tener un diseño factorial 2^3 , en el cual se ha identificado también la correlación entre estos factores en un mismo tiempo. ^[103]

Entonces previamente a aplicar el diseño factorial 2^3 , se evidencia los estudios de liberación de la hormona AIA en las ocho matrices de dicho biopolímero cargadas, en medio acuoso.

Para lo cual en la Figura IV.8 se dispone de los resultados del % de liberación acumulada de la hormona AIA en las diferentes matrices preparadas de alginato, teniendo como medio el agua y bajo los tiempos de exposición de 5, 10, 30, 60, 120, 180, 300, 480, 1440, 2880 y 4320 minutos:

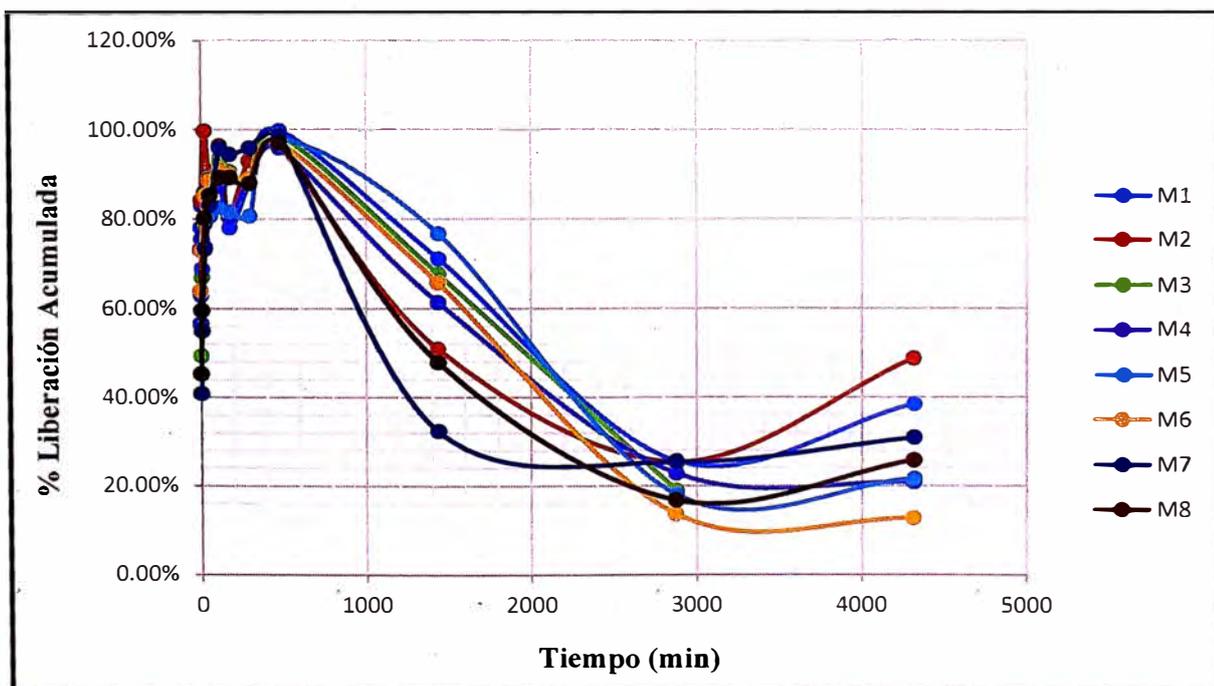


Figura IV. 8. Porcentaje de Liberación Acumulada del Ácido 1,3-Indol Acético de las ocho matrices de alginato en agua para un intervalo de tiempo

Cabe mencionar que los valores de la ordenada en la Figura IV.8, son obtenidos haciendo la proporción de la cantidad de hormona liberada (en mg) en cada tiempo medido, respecto al máximo valor de liberación (en mg) de hormona que llega a haber en 60 mg de cada una de las 8 matrices en estudio.

Además de esta gráfica, se observa que se da casi una completa liberación al término de las primeras 8 horas del experimento. Inmediatamente después a este tiempo máximo de liberación, las medidas del porcentaje liberado de la hormona decaen, indicando de esta forma, que probablemente se esté dando una reabsorción del ácido 1,3-indol acético en las matrices del alginato. Esto tiene una explicación, ya que se ha reportado en la sección IV.1.2, que la hormona no presenta degradación, en otras palabras tiene estabilidad en su estructura química bajo estas mismas condiciones (en medio acuoso).

Dicho todo esto y teniendo de referencia el tiempo en el cual se produce la máxima liberación de la hormona; se toma las mediciones de la velocidad de liberación a las 2 horas (tiempo de análisis para el diseño factorial) de haberse ejecutado el experimento.

En seguida se muestran estos resultados en el Cuadro IV.8:

Cuadro IV. 8. Resultados de la Velocidad de Liberación, como factor principal del Diseño Factorial 2³, medidos a las 2 horas

Número para matrices	Muestra preparada	V1	V2	V3	Velocidad (en agua), mg/hora
1	M1	-	-	-	0.0753
2	M7	+	-	-	0.0528
3	M2	-	+	-	0.0675
4	M8	+	+	-	0.0536
5	M5	-	-	+	0.1354
6	M3	+	-	+	0.1023
7	M6	-	+	+	0.1549
8	M4	+	+	+	0.1006

V1: % Alginato, V2: % CaCl₂, V3: % Hormona

Una vez obtenida toda la información respecto de la velocidad de liberación para cada matriz de alginato a las 2 horas, se evalúan estos resultados a través del análisis estadístico, específicamente del Diseño Factorial 2^3 y además teniendo de apoyo el software Minitab 17; este estudio se refleja en la Figura IV.9:

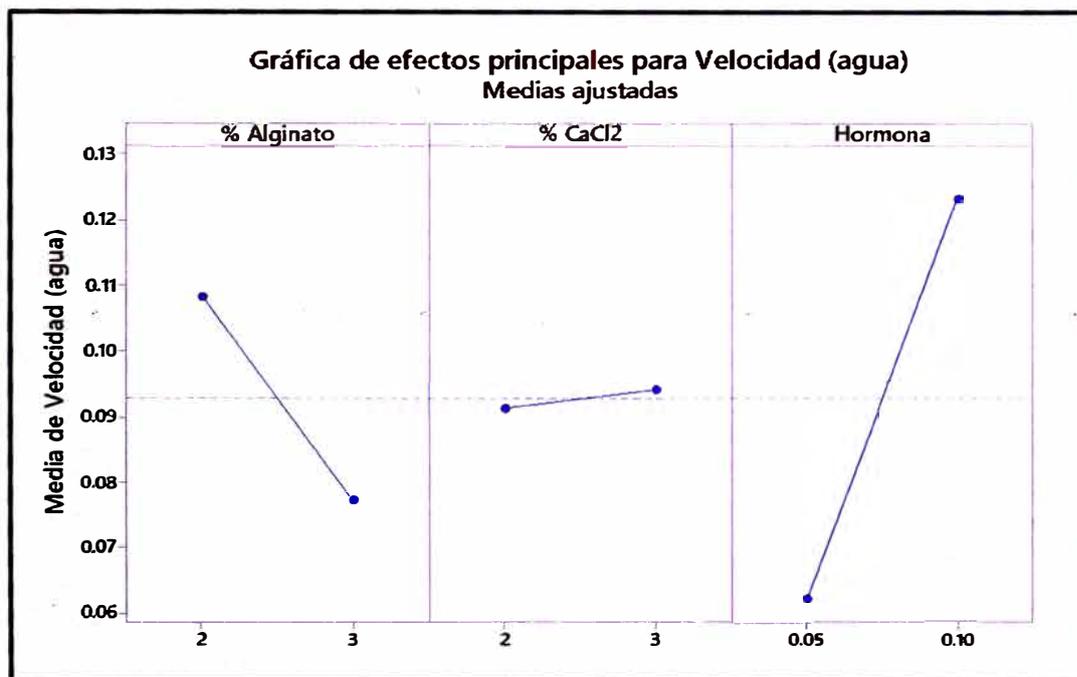


Figura IV. 9. Efectos de las Variables Principales estudiadas en la Velocidad de Liberación teniendo como medio al agua

En este gráfico, hay tres partes importantes que analizar; la primera es que mientras aumenta la concentración de alginato hay una disminución en la velocidad de liberación de forma notoria, asimismo el porcentaje del agente entrecruzante prácticamente no tiene influencia en la velocidad de liberación, tal cual se puede apreciar en la Figura IV.9. Si bien es cierto se tendría alguna expectativa de que el porcentaje de CaCl_2 tenga cierto dominio en el proceso, se debe entender también que este tiene otra función de mayor jerarquía, que es darle a la matriz compactación; además que el grado de entrecruzamiento se da iónicamente como Ca^{2+} y adicional a ello la hormona es levemente hidrófoba.

Finalmente se indica en la última parte, que conforme la concentración de la hormona aumenta, la velocidad de liberación también aumenta, siendo este factor el más influyente en el diseño factorial.

Todo lo que se ha venido explicando en esta sección fue de vital importancia, ya que ayudó bastante a controlar cada parámetro para una efectiva forma de liberación de la hormona AIA. Un dato adicional es que la velocidad media de liberación de la hormona fue de 0,09 mg/hora.

En esta nueva figura, que es conocida como gráfica de superficie; se ilustra la correlación que existe entre los dos parámetros más influyentes (% Alginato y % Hormona) respecto a la velocidad de liberación:

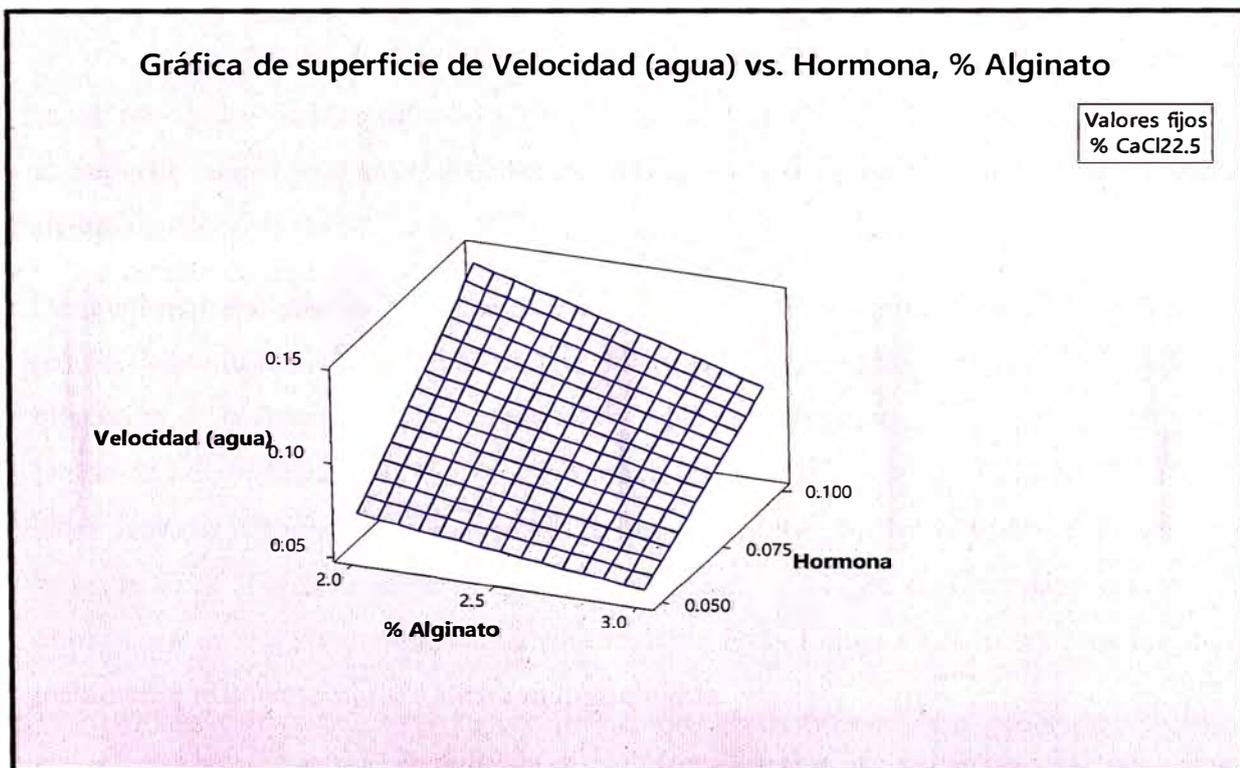


Figura IV. 10. Gráfica de Superficie de la Velocidad de Liberación en relación a los parámetros de % Alginato y % Hormona cuyo medio es el agua

De la Figura IV.10, se puede afirmar que para este modelo que tiene dos factores relevantes, tiene mayor velocidad de liberación de la hormona, siempre y cuando haya menor % Alginato y mayor % Hormona.

Con lo expuesto en esta sección, el modelo del Diseño Factorial 2³, prioriza dar un alcance respecto a la velocidad de liberación de la hormona AIA de forma controlada y gradual, en otras palabras aquellas matrices de alginato que presenten una menor velocidad de entrega de dicha hormona en el tiempo.

Además, es importante conocer de este estudio, que se han seleccionado en total dos matrices poliméricas de los dos grupos de cuatro matrices (una por cada grupo). Los grupos se distinguen por tener concentraciones de 0.05 % y de 0.1 % de la hormona ácido 1,3-indol acético.

Asimismo, de acuerdo al Cuadro IV.8, se denota inteligiblemente que para las matrices del biopolímero: M1, M7, M2 y M8 (todas estas con igual porcentaje de hormona de 0.05%), la que presentó menor velocidad de liberación de la hormona en estudio, le correspondió a M7 (0.0528 mg/h) y cuya composición fue dada por Alginato 3%, CaCl₂ 2% y Hormona 0.05%. Esta información, ha sido complementada a la vez con el análisis de los resultados de las gráficas de Efectos de las Variables Principales (Figura IV.9) y de Superficie de la Velocidad de Liberación (Figura IV.10), que fueron explicadas líneas arriba.

De igual manera, para el otro grupo de cuatro matrices de alginato: M5, M3, M6 y M4 (con 0.1% de hormona para cada una de ellas), las que presentaron menor velocidad de liberación de la hormona AIA fueron M3 y M4. De estas matrices, se seleccionó a M3 (velocidad de entrega de 0.1023 mg/h y cuya composición fue de Alginato 3%, CaCl₂ 2% y Hormona 0.1%), ya que, a pesar de que la variable % CaCl₂ no fue el factor más influyente, se analizó que hubo ligeramente menor velocidad de liberación cuando se obtuvo una menor concentración de esta variable en la Figura IV.9 y esta característica justamente le correspondió a dicha matriz elegida.

En síntesis, la matriz factorial sugirió centrar toda caracterización de las partículas de alginato cargadas con la hormona AIA, en las matrices M3 (Alginato 3%, CaCl₂ 2% y Hormona 0.1%) y M7 (Alginato 3%, CaCl₂ 2% y Hormona 0.05%).

IV.4 CARACTERIZACIÓN DE LAS PARTÍCULAS DE ALGINATO

IV.4.1 PARTÍCULAS DE ALGINATO SIN CARGADO DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

IV.4.1.1 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Tal como se puede visualizar en las micrografías de alta resolución que se obtuvieron en el equipo CarlZeiss EVO 10 MA, las partículas de alginato 'base' (3% Alginato y 2% CaCl₂) muestran superficies lisas en las tomas que han sido seleccionadas de forma aleatoria. [104]

Estas características percibidas del biopolímero de partida, permitieron ser comparadas con las micrografías, que son presentadas en la sección IV.4.2.2, de las matrices M3 y M7.

En seguida se da a conocer como se conforman las partículas del polisacárido sin la hormona AIA, irradiadas por un haz de electrones y teniendo un diferencial de potencial alcanzado de 5 kV:

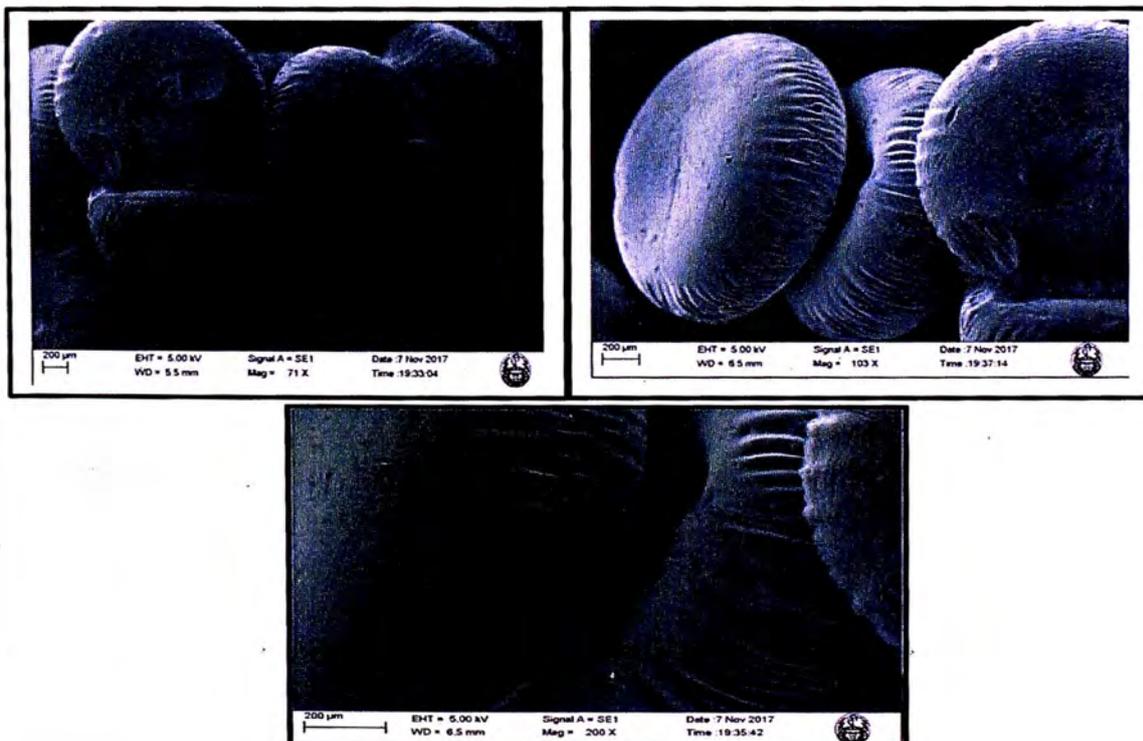


Figura IV. 11. Micrografías Obtenidas de las Partículas de Alginato sin cargadas de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

IV.4.1.2 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

En la siguiente curva de análisis termogravimétrico es importante identificar los eventos que se desarrollan para las partículas de alginato (3% Alginato y 2% CaCl₂). Uno de los aspectos más destacados en esta técnica de caracterización, es llegar a obtener las pérdidas de masa, que son expresadas en porcentaje y están regidas por la variación de la temperatura. [105,106]

Para la prueba de análisis por termogravimetría, se ha de emplear una velocidad de calentamiento de 10 °C/ min.

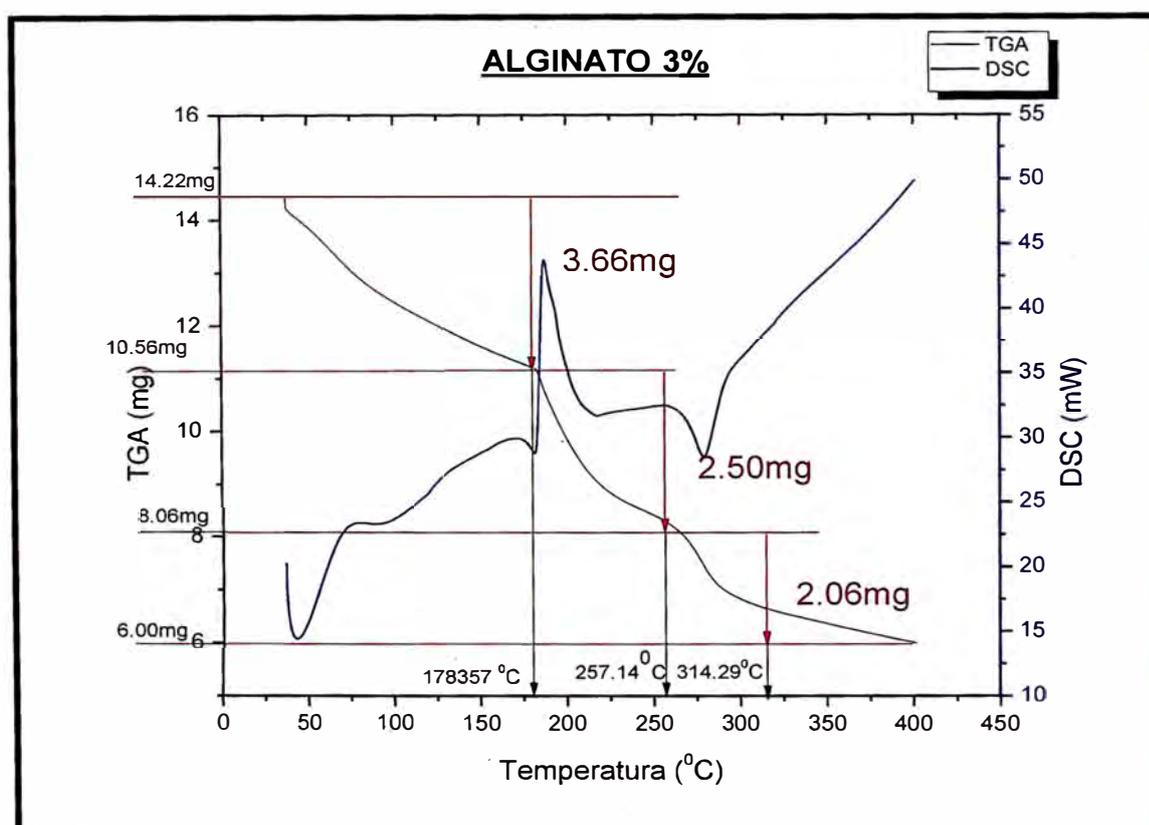


Figura IV. 12. Termograma de las Partículas de Alginato sin cargado de Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

En la Figura IV.12, se presentan tres eventos importantes de degradación para las partículas de alginato [107]. La primera etapa empieza con calentamiento desde temperatura ambiente (cercana a 25°C) hasta 178 °C y tiene un porcentaje de pérdida de masa de 25.74 %. Se le atribuye a este intervalo, la evaporación de las moléculas de agua, que han sido atrapadas y fisisorbidas por la matriz polimérica. [107, 108]

En la segunda etapa se da el calentamiento gradual desde 178 °C hasta 257 °C, durante este intervalo se llega a perder 17.58 % de masa. Además se le asigna a la desorción y degradación preliminar de alginato. [109]

Finalmente la tercera etapa va desde 257 °C hasta 314 °C y se logra obtener un valor de 14.49 % de pérdida de masa. Este intervalo es relacionado con la mayor degradación de alginato. [109]

Juntando toda esta información se certifica que durante estos tres procesos de degradación térmica (178 °C, 257 °C y 314 °C), representaron un 57.81 % de pérdida de masa de las partículas de alginato de partida.

Se resalta además que, existe evidencia de producirse por encima de 314 °C, la formación y desintegración de ciertos compuestos orgánicos: primero del carbonato de calcio (CaCO_3) y luego del óxido de calcio (CaO). [22]

IV.4.2 PARTÍCULAS DE ALGINATO CARGADAS CON LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

IV.4.2.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)

En la Figura IV.13, se puede observar tres espectros FT-IR, que han sido obtenidos en un rango espectral de 4000 - 600 cm^{-1} . Estos les corresponden a la hormona AIA pura (trazo de color azul), a la matriz polimérica elaborada M3 (Alginato 3%, CaCl_2 2% y Hormona 0.1%), cuyo color de trazo es negro y a la matriz de biopolímero preparado M7 (Alginato 3%, CaCl_2 2% y Hormona 0.05%), cuyo trazo es de color rojo.

Asimismo, para estos bosquejos de espectros, se tiene como propósito, corroborar si los grupos funcionales característicos tanto para el alginato y la hormona ácido 1,3-indol acético se siguen manteniendo, aun cuando estos pueden ser conformados dentro de una sola matriz.

Esta información permitió afirmar, que existe la posibilidad de que las partículas de alginato puedan cargar a la hormona AIA.

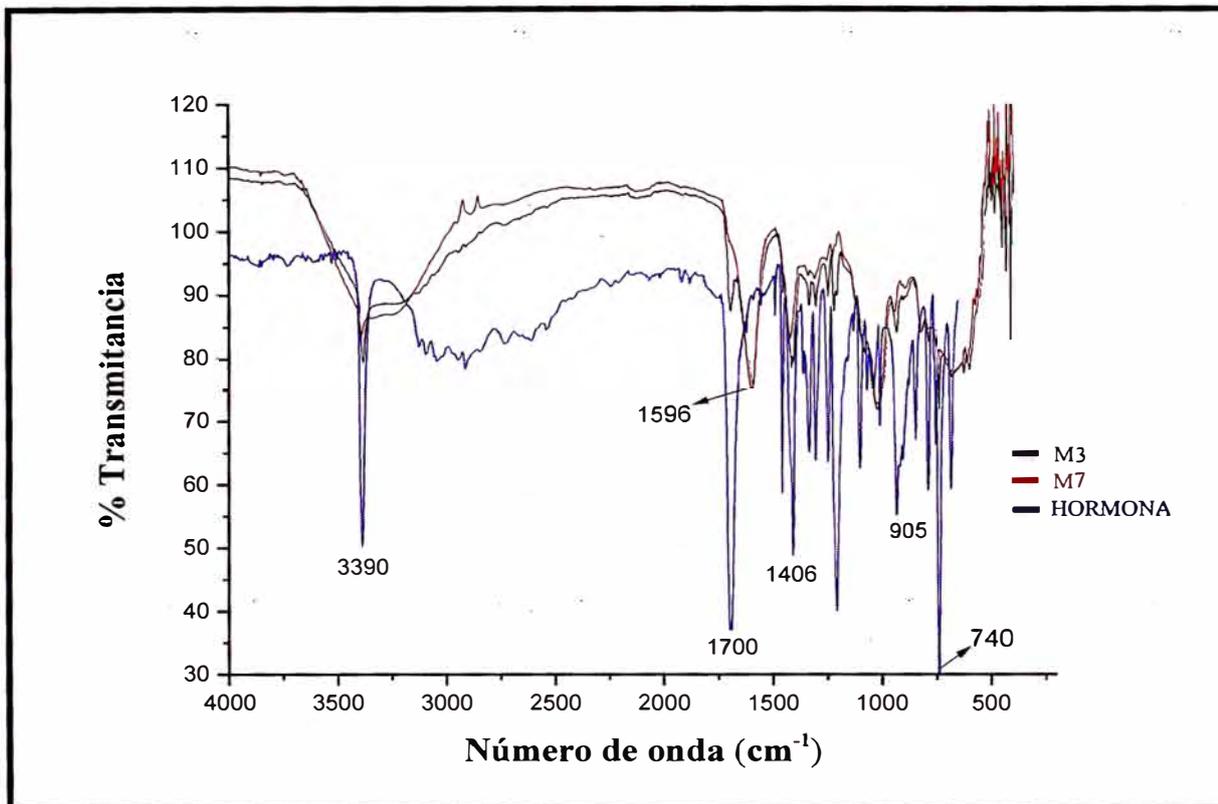


Figura IV. 13. Espectros FT-IR de las Partículas de Alginato (M3 y M7) cargadas con la Hormona AIA y Espectro de Hormona AIA pura

El análisis de las conformaciones de las bandas de absorción que aparecen en los espectros FT-IR de las partículas de biopolímero M3 y M7, respecto al espectro del alginato (ver en la sección IV.2.2), indica que ambas matrices presentan a lo largo del rango espectral, las bandas principales de absorción que tiene la estructura de este polisacárido.

Para desglosar esta idea, primero se registra dos bandas a 1596 cm^{-1} y 1406 cm^{-1} , tanto para M3 como para M7. Estas corresponden a los estiramientos antisimétricos y simétricos del grupo carboxilato (O-C-O), conforme a lo estudiado. ^[102]

Asimismo, se manifiestan las bandas de 1296 cm^{-1} (vibraciones de deformación C-C-H, O-C-H); de 1079 cm^{-1} (vibraciones de estiramiento C-O, C-C) y la de 1026 cm^{-1} (estiramiento de C-O); estas tres bandas se dan en M3 y M7, además son particulares de los estiramientos de los anillos piranos en el alginato (ver Cuadro IV.7 de comparación).

Por su parte, las bandas de absorción relacionadas a la hormona AIA también han sido analizadas y a la vez fueron comparadas con las bandas que presentan las partículas de alginato M3 y M7. En primera instancia, se visualiza una banda aguda muy intensa a 3390 cm^{-1} , que es la principal peculiaridad en la hormona ácido 1,3-indol acético, ya que se le atribuye al enlace N-H de su grupo indol. ^[110]

De igual manera, otra banda fuerte y típica en esta hormona se da a 1700 cm^{-1} , que se le asigna al enlace carbonilo C=O (vibración de tensión). ^[110]

Las otras dos bandas singulares de la hormona AIA, se presentan a 905 cm^{-1} , correspondiente al enlace -OH del grupo carboxílico y por último la banda fuerte visualizada a 740 cm^{-1} , que es típico de las vibraciones fuera del plano de los enlaces -CH, de los anillos de benceno. ^[110]

Con la información obtenida de las bandas primordiales de la hormona AIA, ahora es turno de identificarlas en las matrices M3 y M7, si así se da el caso.

Siguiendo la secuencia, se afirma que tanto para las partículas de alginato M3 y M7, se presenta una banda aguda pero débil a 3390 cm^{-1} , que como bien se sabe le corresponde al enlace N-H de la parte indólica de la hormona AIA. Ello conlleva a tener la certeza de que las matrices seleccionadas de alginato se encuentran cargando a la auxina ácido 1,3-indol acético.

Es muy importante también, que la banda a 1700 cm^{-1} (C=O) de la hormona AIA, aparece para la matriz M3 a baja intensidad, mientras que para M7 casi ni se nota. Una explicación a este suceso, es que al estar la hormona a baja concentración, hay predominio del biopolímero en ese intervalo espectral. Al mismo tiempo, es bueno inferir que a medida que se tenga mayor concentración de hormona vegetal en la red polimérica, la banda perteneciente al grupo carbonilo podría llegar a solapar en este tramo del espectro a las bandas del alginato (estiramientos del grupo carboxilato).

Al tener por lo tanto, el factor concentración de manera baja para la hormona AIA, se percibió que para el intervalo de $1700\text{ a }600\text{ cm}^{-1}$, también siguieron apareciendo bandas del biopolímero con amplio margen.

Por último, al hacer una comparación directa entre las partículas de alginato M3 y M7, se ha de percatar que hay una mejor resolución en las bandas para M3 debido a que su composición alberga mayor cantidad de hormona AIA.

IV.4.2.2 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)

Las micrografías que se van a mostrar en esta sección, permitieron corroborar aún más de forma visual, que las matrices seleccionadas mediante el diseño factorial 2^3 (ver sección IV.3), correspondientes a M3 y M7; tenían la particularidad de contener a la auxina ácido 1,3-indol acético.

Entonces, para el análisis de la Figura IV.14, se muestran tres micrografías que pertenecen a las partículas de alginato M3. En las cuales se puede apreciar que sus superficies son rugosas ^[111] y además incorporan uniformemente a la hormona AIA a través de estas.

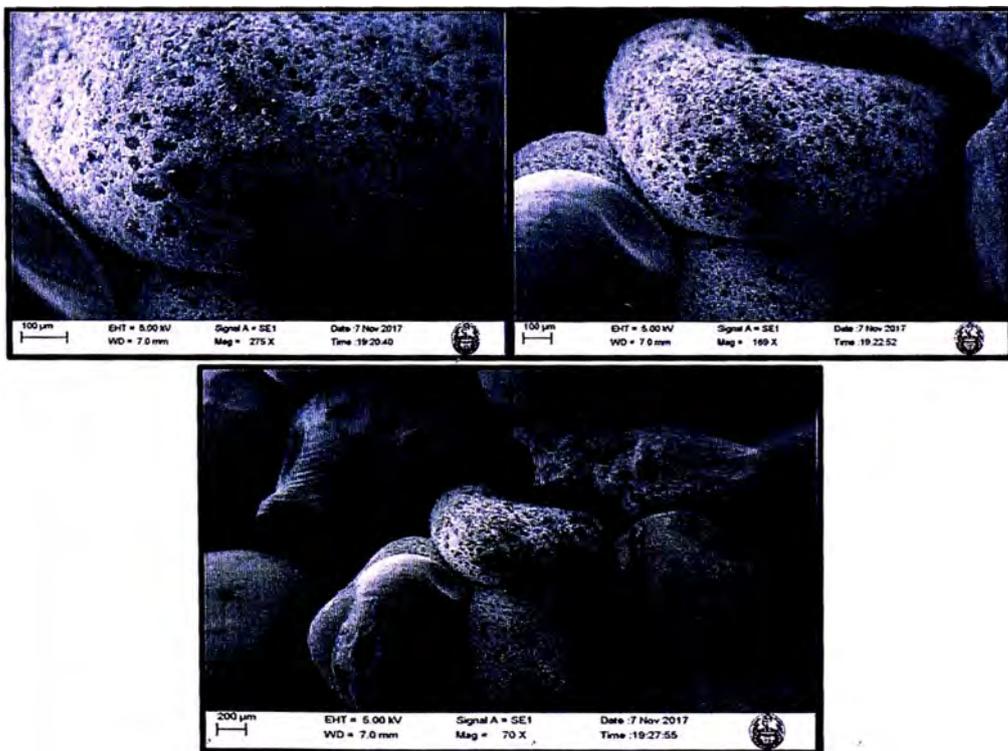


Figura IV. 14. Micrografías de las Partículas de Alginato M3 cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

En la Figura IV.15, se ponen de manifiesto cinco micrografías, en las cuales se evidencian también un comportamiento de distribución constante de la hormona ácido 1,3-indol acético a lo largo de las superficies de las partículas de alginato M7, quizás en menor proporción que en las partículas de alginato M3, debido a que presentan la mitad en concentración de la hormona AIA respecto a estas últimas.

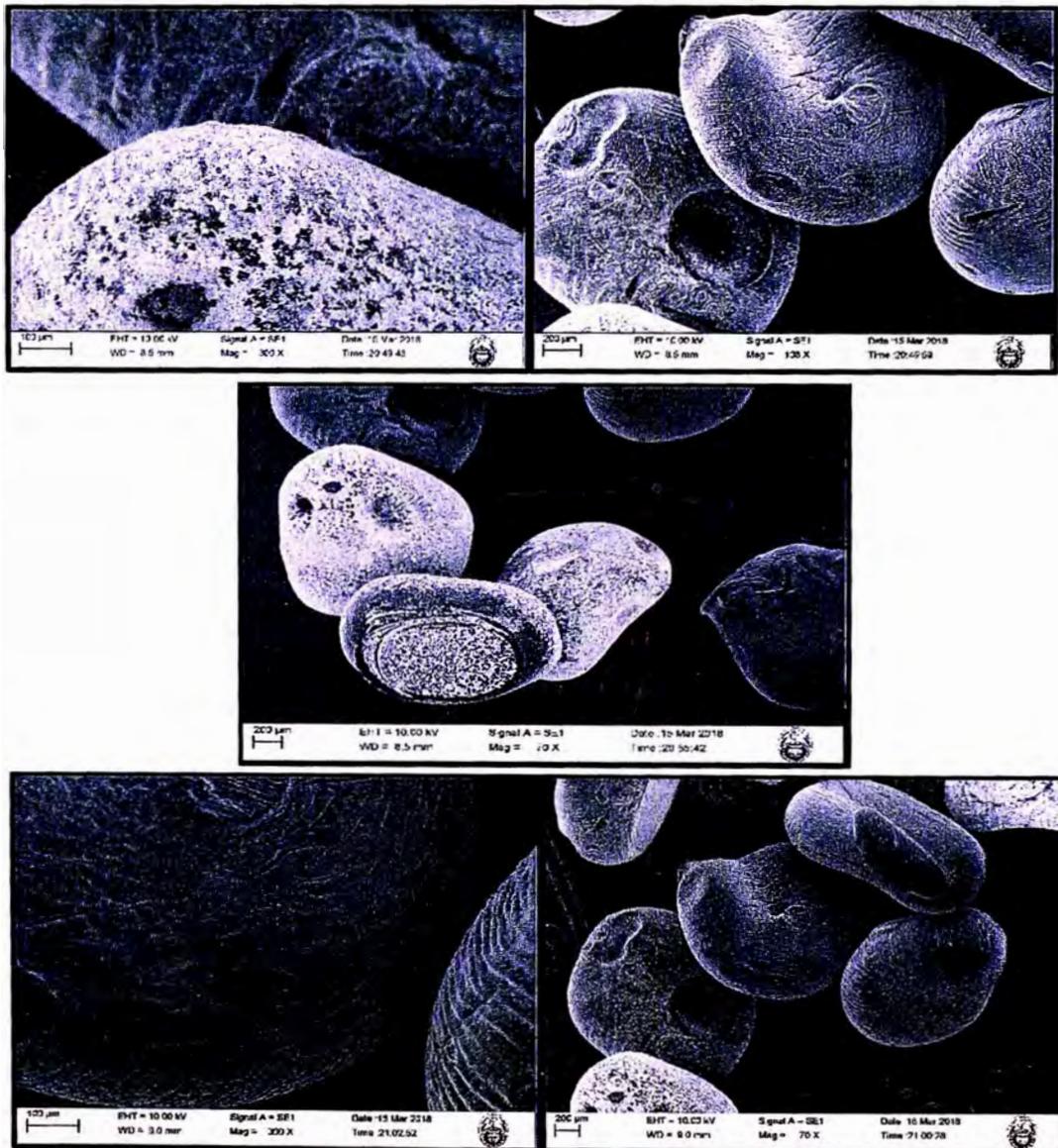


Figura IV. 15. Micrografías de las Partículas de Alginato M7 cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

Por último, es relevante también pretender revelar que, existen indicios de la hormona AIA internamente en las partículas de alginato. Para poder determinar este objetivo, durante la preparación de las matrices M7, se parten por la mitad las partículas aún en fase de hidrogel y previo a la obtención de sus micrografías, se dejan secar en un desecador al vacío.

Ya incursionándonos en el análisis de estas partículas, se muestran cuatro micrografías (ver Figura IV.16), que indican en ciertos tramos seleccionados, que determinadas partículas cortadas a la mitad se enrollan, probablemente durante el secado de estas y hay otras que preservan su estructura abierta.

Esto nos permite afirmar que la hormona también se localiza en la parte interna de las partículas de alginato.

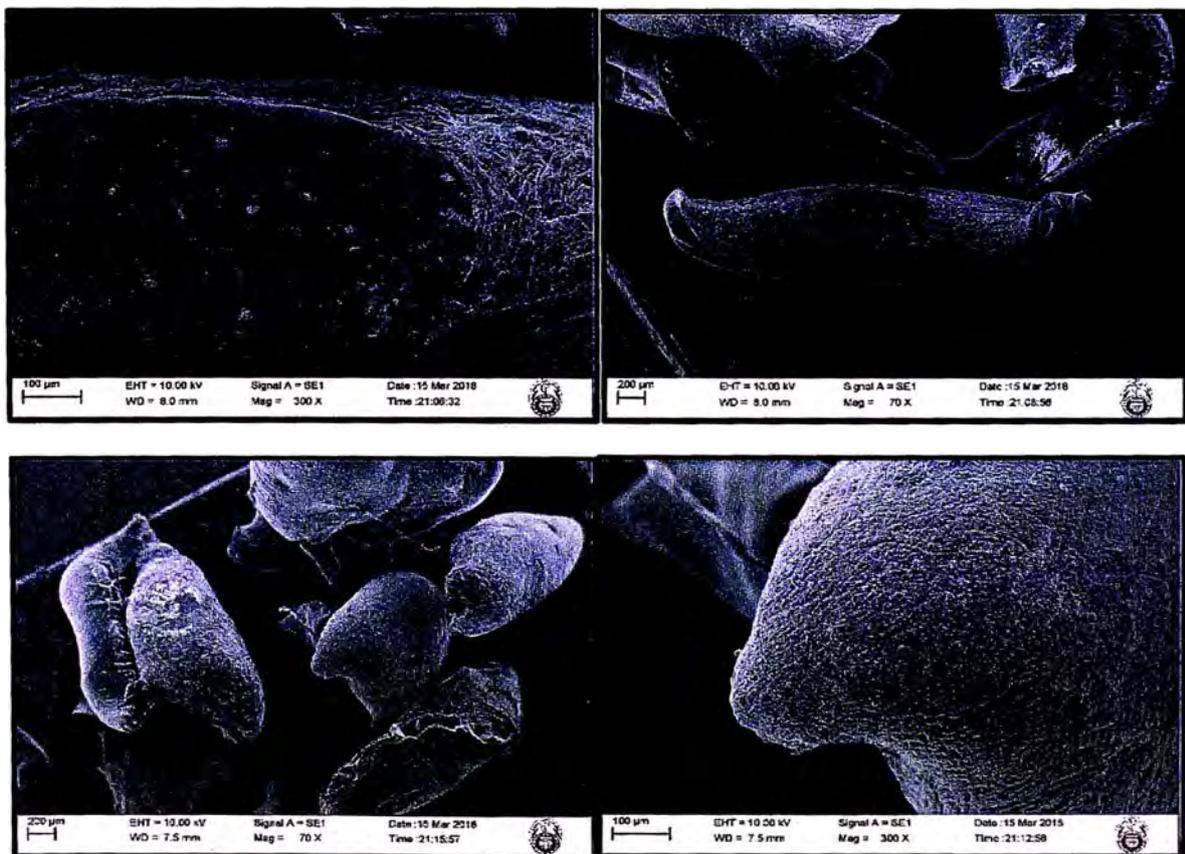


Figura IV. 16. Micrografías de Partículas de Alginato M7 cortadas a la mitad y cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

IV.4.2.3 ANÁLISIS TERMOGRAVIMÉTRICO (TGA)

Los siguientes termogramas que se van a presentar en esta sección, permitieron explicar que matrices poliméricas poseen mayor estabilidad térmica, mediante la aparición de sucesos, que se rigen mediante pendientes (con caídas marcadas), en ciertos tramos de la curva termogravimétrica, a medida que se va produciendo incrementos en la temperatura.

Para empezar este análisis, es muy importante reconocer el comportamiento térmico de la hormona ácido 1,3-indol acético pura. Por lo que en la Figura IV.17, claramente se visualiza que la hormona AIA, presenta un único evento en su descomposición, iniciándose muy próximo a 160 °C y terminando con la pérdida de su 100 % de masa a 296 °C. Estos resultados que se han obtenido, fueron corroborados con estudios de investigación previos. [112]

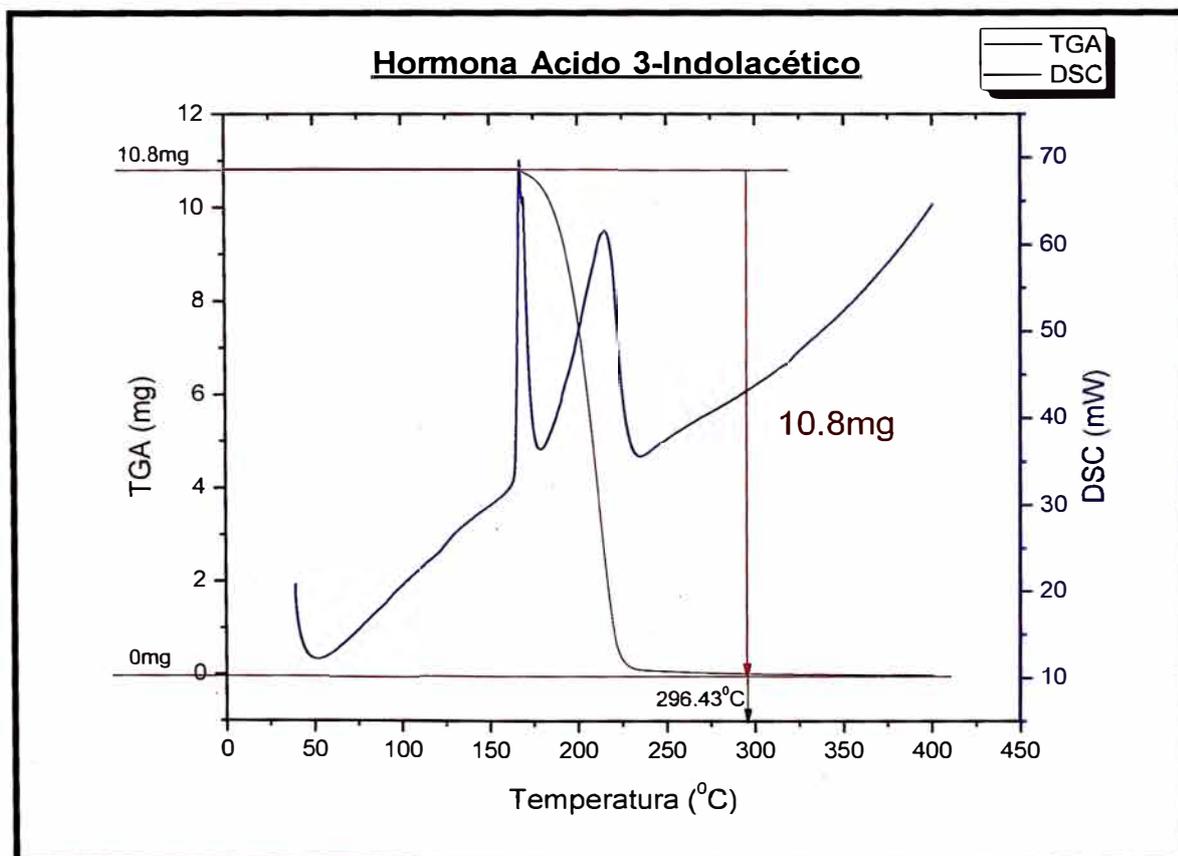


Figura IV. 17. Termograma de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

En el caso de la Figura IV.18, que le corresponde al termograma de las partículas de alginato M3 cargadas con la hormona AIA, al igual que para el termograma de las partículas de alginato, presenta también tres eventos principales de degradación.

El primer tramo empieza con calentamiento gradual a partir de temperatura ambiente (cerca de 25 °C) hasta 184 °C, obteniéndose en este intervalo un porcentaje de pérdida de masa de 16 %. Además este evento es relacionado con la pérdida de las moléculas de agua que han sido adsorbidas en la superficie de las partículas de alginato M3.

Para la segunda etapa, el calentamiento viene dado desde 184 °C y va hasta 261 °C, aquí se pierde 22.5 % de masa. Asimismo, se le atribuye a la degradación inicial de la hormona y del alginato.

Por último, en el tercer evento desarrollado, el calentamiento va de 261 °C y culmina en 400 °C. Por consiguiente, se obtiene un porcentaje de pérdida de masa de 16 %. Cabe resaltar que en dicho evento la hormona se degrada totalmente y que a su vez el alginato llega a tener una mayor degradación.

En síntesis, las tres etapas de degradación para M3 son a 184 °C, 261 °C y 400 °C, resultando en todo el proceso un 54.5 % de pérdida de masa.

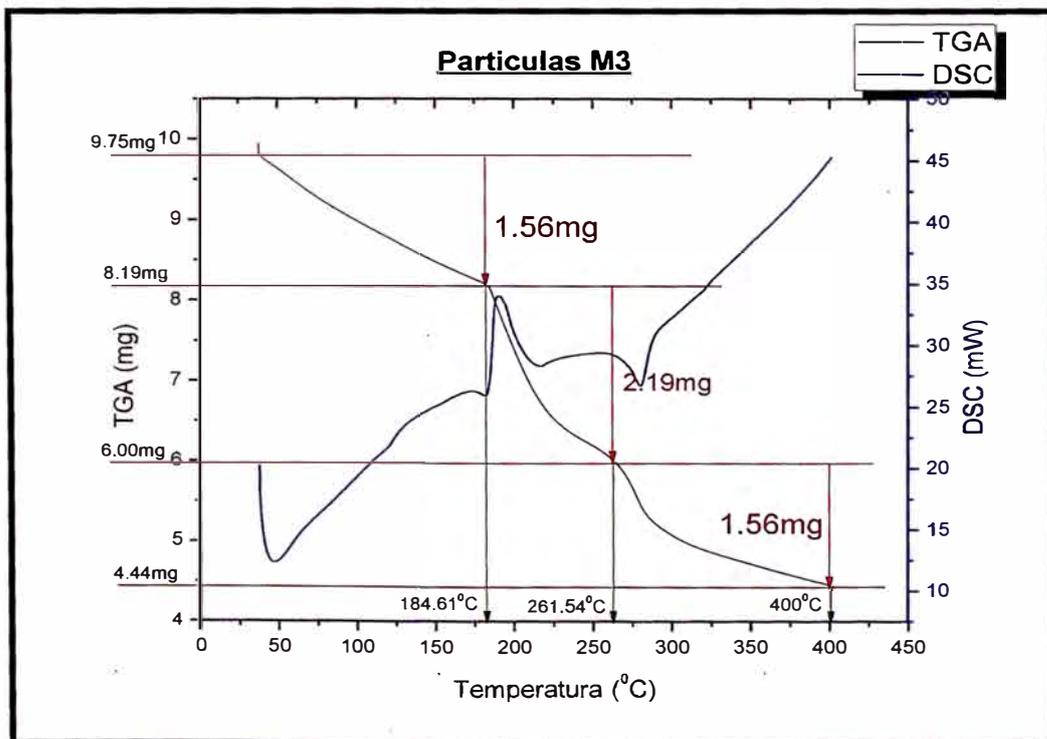


Figura IV. 18. Termograma de las Partículas de Alginato M3 cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

Por otra parte la Figura IV.19, perteneciente a las partículas de alginato M7 cargadas con la hormona AIA, mantiene también la presencia de los tres eventos particulares de degradación.

De acuerdo a ello, el primer evento inicia a temperatura ambiente ($T \approx 25^\circ\text{C}$) y concluye a 182°C , para este tramo el porcentaje de pérdida de masa ha sido de 14.53%. Tal como se ha venido describiendo, en este intervalo de temperatura, las moléculas de agua fisisorbidas en las partículas de alginato M7, se evaporan en su totalidad.

La segunda etapa va desde 182°C hasta 264°C . Además presenta 23.92 % de pérdida de masa y le corresponde a la degradación preliminar de la hormona y alginato.

Para cerrar el análisis, el tercer evento empieza a 264°C y termina a 389°C , adquiere un porcentaje de pérdida de masa de 15.40 % y es en esta etapa donde se produce la degradación al 100 % de la hormona y la mayor degradación del polisacárido.

De toda la información recopilada, se determina que las etapas de degradación para M7 surgen a 182°C , 264°C y 389°C , con un 53.85 % de pérdida de masa.

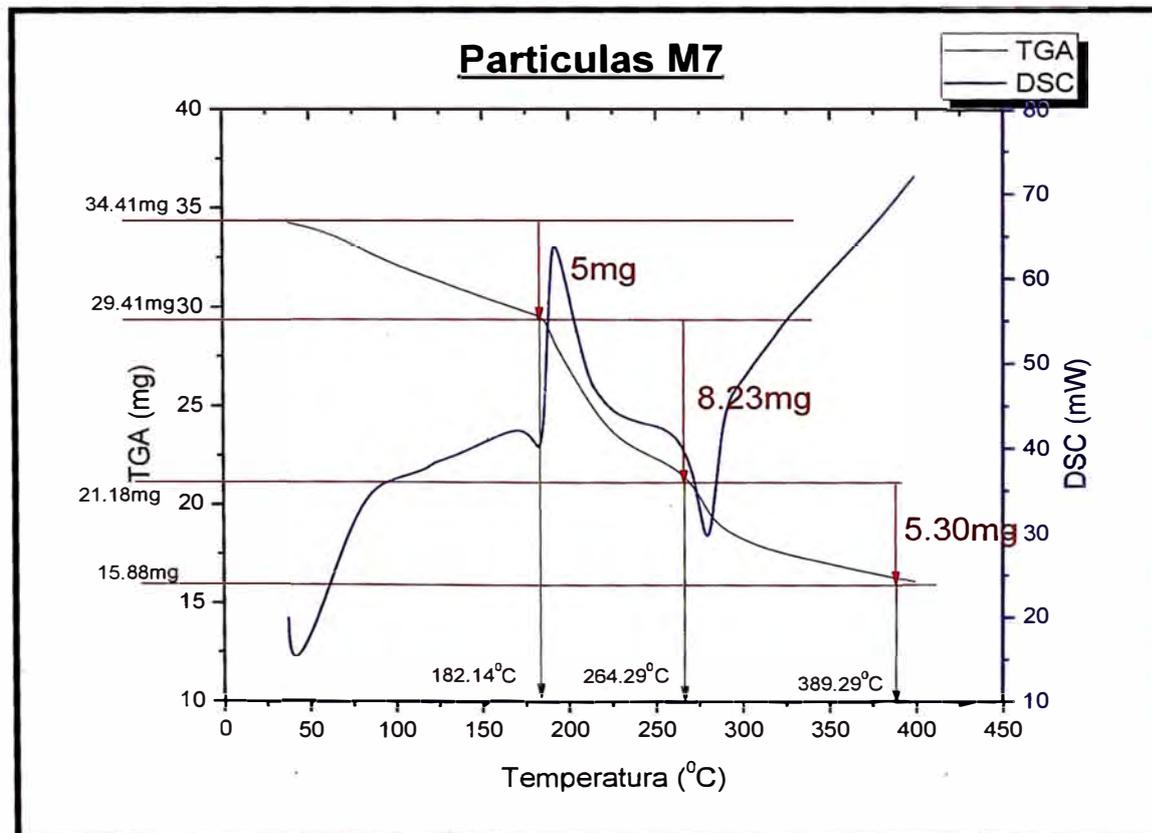


Figura IV. 19. Termograma de las Partículas de Alginato M7 cargadas con la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético

En resumen, para las partículas de alginato M3 y M7, se obtienen los tres eventos de degradación a mayores temperaturas que las partículas de alginato sin la hormona AIA.

Esto indica que existe mayor estabilidad térmica para M3 y M7 y además, es este factor que sugiere que se les asocie con el cargado de la hormona ácido 1,3-indol acético.

Adicionalmente, se hace mención para las figuras IV.18 y IV.19, que a temperaturas mayores a 400 °C, se tiene la certeza de producirse la formación y desintegración de específicos compuestos orgánicos: inicialmente del carbonato de calcio (CaCO_3) y posteriormente del óxido de calcio (CaO).^[22]

IV.5 ESTUDIO DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO

IV.5.1 ENSAYOS DE LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO A PARTIR DE LA MATRIZ DE ALGINATO

En este proceso de liberación de la hormona se debe considerar que, si bien es cierto se pretende tener un sistema óptimo para su entrega, hay otros aspectos también que son muy relevantes al momento de la ejecución del traslado de la fitohormona.

Uno de estos factores muy críticos muestra que la liberación no debe realizarse de manera rápida sino que por el contrario esta debe darse de forma progresiva.

Siendo de esta manera, una de las razones principales por la que en la sección IV.3, se han escogido a dos matrices (como sistemas de liberación candidatos) del biopolímero las cuales son M3 y M7.

La matriz M3 (Alginato 3%, CaCl_2 2% y Hormona 0.1%), tiene una velocidad promedio de liberación en agua de 0.1023 mg/h, logrando tener un pico máximo de liberación a las 8 horas del proceso realizado en agua como medio.

En la figura IV.20, se muestra la secuencia y evolución que sigue la hormona AIA en el tiempo, durante su liberación:

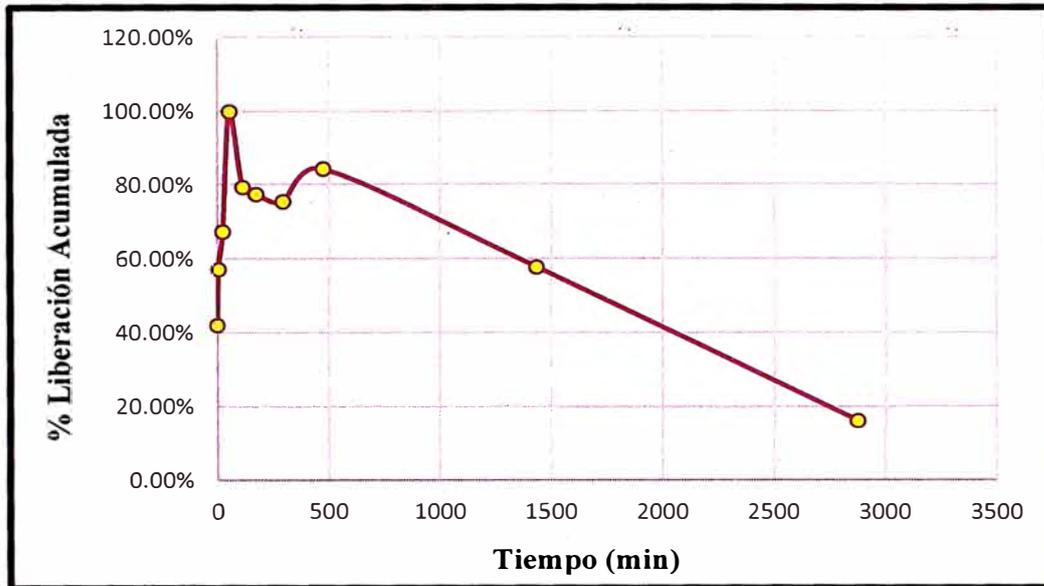


Figura IV. 20. Porcentaje de Liberación Acumulada de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de la matriz de Alginato M3 en agua y tiempo establecido

Asimismo, la matriz M7 (Alginato 3%, CaCl₂ 2% y Hormona 0.05%), manifiesta llegar a una media de velocidad de 0.0528 mg/h, concretando su tope de liberación después de pasadas 8 horas en medio acuoso.

Este comportamiento se esquematiza en la Figura IV.21:

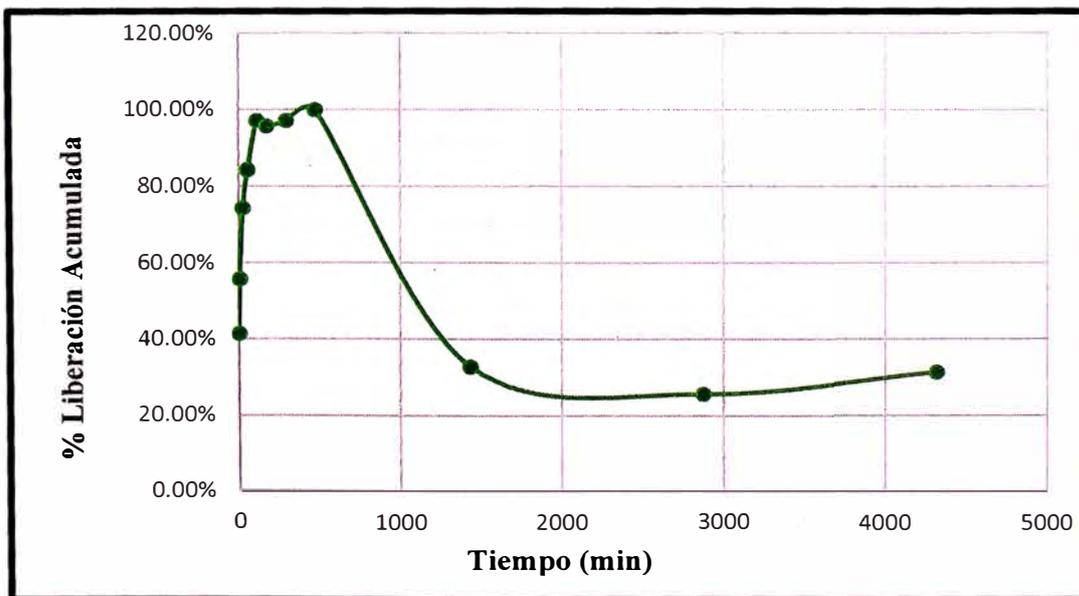


Figura IV. 21. Porcentaje de Liberación Acumulada de la Hormona Ácido 1,3-Indol Acético de la matriz de Alginato M7 en agua y tiempo establecido

Además, tal como se analizó en la sección IV.3, para las Figuras IV. 20 y IV.21, luego de haber liberado cerca a la totalidad de la hormona ácido 1,3-indol acético (a 25 °C), los resultados del porcentaje de liberación en medio acuoso disminuyeron.

Este suceso, posiblemente fue a causa de una reabsorción de dicha hormona y esta explicación se complementa con la información de que la hormona AIA, no experimenta algún tipo de degradación, tal como se puede apreciar en la Figura IV.3, por lo que su estructura química mantiene estabilidad.

IV.6 MODELOS CINÉTICOS DE LA LIBERACIÓN DE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO DE LAS PARTÍCULAS DE ALGINATO

Los estudios cinéticos que han sido realizados, se han analizado para las matrices de alginato M3 y M7 cargadas con la hormona ácido 1,3-indol acético.

Asimismo, los resultados recopilados de la cinética presentan un mejor ajuste con el modelo matemático de Korsmeyer – Peppas (ver Cuadro IV.9), el cual contempla que existe una difusión de la hormona desde la parte interna de la partícula de alginato.

Cabe resaltar, que los otros dos modelos cinéticos, tomados preliminarmente en cuenta, de Orden Cero y de Primer Orden, se revisan y se hace una inferencia en el Anexo 1, de las principales causas por las cuales no han sido considerados como los prototipos que gobiernan el proceso de la liberación de la hormona vegetal.

Retornando al modelo seleccionado de Korsmeyer – Peppas, este se rige por la siguiente expresión, como recurso a la ecuación de Fick y en términos de gradientes de tiempo:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad \dots \text{Ecuación IV.1}$$

De la Ecuación IV.1, la proporción M_t/M_∞ hace alusión a la parte de soluto liberado en un determinado tiempo t.

Por otra parte, n y k son dos constantes muy relevantes en cuanto a su interpretación dentro de la dimensión de lo que significa este modelo cinético.

La primera constante (n), describe el mecanismo de transporte; mientras que la segunda de ellas (k) relaciona la matriz polimérica/medio de disolución.

Otro detalle de suma importancia es interpretar que cuando el valor de n es 0.50, el proceso de liberación de la hormona describe un comportamiento asociado al mecanismo fickiano, que consiste en realizar el proceso de difusión, el elemento activo atraviesa el polímero, estimulado por el gradiente de concentración existente entre el sistema de liberación y la solución contigua, aprovechando que la velocidad de difusión del solvente a través del polímero es bastante más lenta que la relajación de las cadenas del mismo, permitiendo el intercambio molecular solvente-hormona. [113]

Al mencionar procesos de relajación, se hace referencia a los tiempos determinados que necesitan las cadenas macromoleculares para replicar a la presión de hinchamiento osmótico y acondicionarse para recepcionar a las moléculas del disolvente que penetran en su interior. [114]

Ahora bien, para poder extraer la máxima información de los resultados, se ejecuta la linealización de la Ecuación IV.1, tal como sigue a continuación:

Ecuación de Korsmeyer - Peppas:

$$\text{Log}(M_t/M_\infty) = \text{Log}k + n \times \text{Log}t \quad \dots \text{Ecuación IV.2}$$

En seguida, se describe mediante los gráficos obtenidos de la cinética de liberación de la hormona AIA, la intención real del modelo Korsmeyer - Peppas para las matrices M3 y M7, teniendo en cuenta la modificación en la velocidad de agitación, cambio de temperatura, medio de liberación en agua y tipo de preparación de las partículas de alginato.

Cabe indicar que, las primeras gráficas (Figuras IV.22, IV.26, IV.28 y IV.32) de cada una de las cuatro condiciones, se mostraron de manera íntegra (rango completo de liberación de la hormona AIA); notándose en estas, zonas lineales y no lineales a medida que se fue desarrollando el proceso de liberación.

No obstante, se trabajó el análisis únicamente en la zona lineal, ya que posteriormente se validó el ajuste para la liberación de la hormona AIA desde las partículas poliméricas con el modelo cinético linealizado de Korsmeyer – Peppas, a través del coeficiente de correlación de Pearson (R) que presenta dicho modelo matemático.

Estos resultados se reportaron en el Cuadro IV.9 y es por ello, que las siguientes gráficas (Figuras IV.23, IV.24, IV.25, IV.27, IV.29, IV.30, IV.31, IV.33, IV.34 y IV.35) fueron bosquejadas sólo en este sector. ^[84]

El término “ajuste de la liberación de la hormona AIA” desde las partículas de alginato hacia algún modelo cinético, se refiere a que existe en todo proceso de liberación de algún elemento activo, una explicación o descripción de su comportamiento mediante el uso de modelos cinéticos que son los encargados de indicar las formas de liberación del compuesto activo (fickiana, no fickiana, transporte tipo II, entre otros), conforme este va evolucionando en el tiempo.

- VELOCIDAD DE AGITACIÓN

Se analizó para la expresión cinética desarrollada en la liberación de la hormona AIA, el efecto de la velocidad de agitación; el cual se estudió en dos velocidades diferentes, a 130 rpm y 200 rpm, bajo el modelo matemático de Korsmeyer – Peppas, que indica la relación entre la liberación del elemento activo respecto al tiempo dada por una ecuación exponencial (Ecuación IV.1) y que aplica al 60% de la cantidad total de hormona liberada. ^[84]

Dichas velocidades de agitación, fueron seleccionadas con el criterio de acelerar hasta cierto punto, el contacto entre las moléculas del solvente con la matriz polimérica y así lograr empezar la liberación de la hormona AIA. Claro está, que ambas tenían que diferenciarse en cierto margen y además, no tenían que ser muy elevadas, ya que habrían ocasionado un intercambio muy forzado entre el sistema de liberación con su medio de contacto.

Por tanto, teniendo en cuenta estas premisas y además respaldadas por la literatura científica, se realizó la liberación de la hormona vegetal a 130 rpm y 200 rpm. [115]

Las gráficas del modelo linealizado del estudio cinético de liberación, para la matriz de alginato M3 cargada con la hormona ácido 1,3-indol acético, se presentan en seguida, tanto a 130 rpm como a 200 rpm respectivamente.

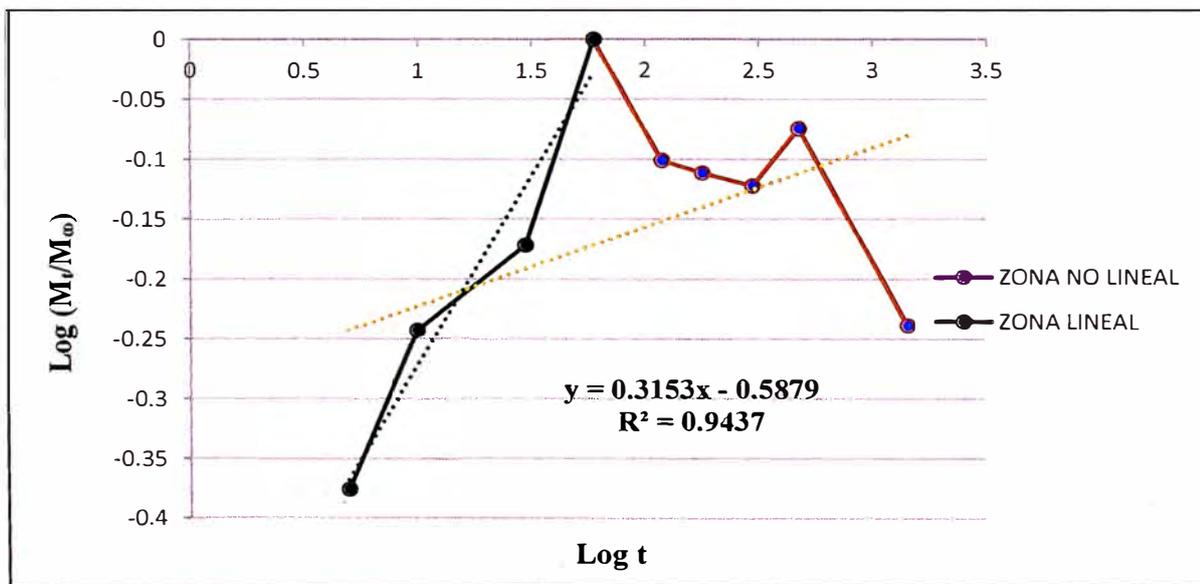


Figura IV. 22. Modelo Lineal Log (M_t/M₀) vs Log t para la matriz M3 a 130 rpm

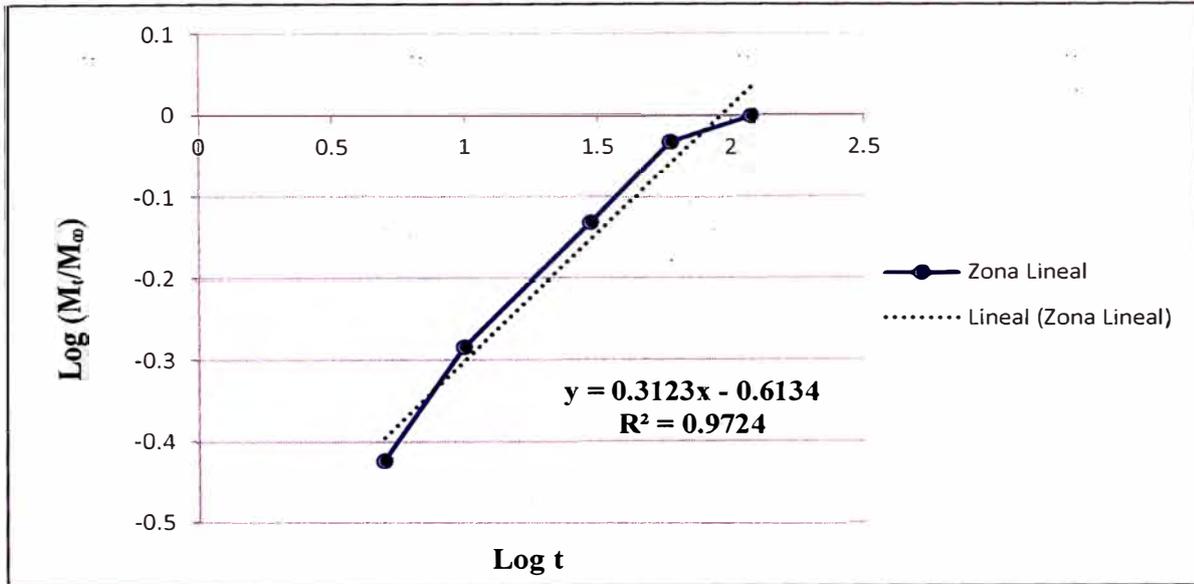


Figura IV. 23. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M3 a 200 rpm

Conforme a lo observado en las Figuras IV.22 y IV.23, se ha de percatar que el cambio en la velocidad de agitación (ejecutado en dos eventos separados) que se hace para la liberación de la hormona AIA desde la matriz M3, no origina un cambio notorio en el perfil del prototipo linealizado de la cinética de liberación. Además ambas gráficas mostraron tendencias acorde al modelo establecido por Korsmeyer - Peppas.

Asimismo, se muestran los bosquejos del modelo lineal de la cinética de liberación, para la matriz de alginato M7 cargada con la hormona ácido 1,3-indol acético a 130 rpm y 200 rpm.

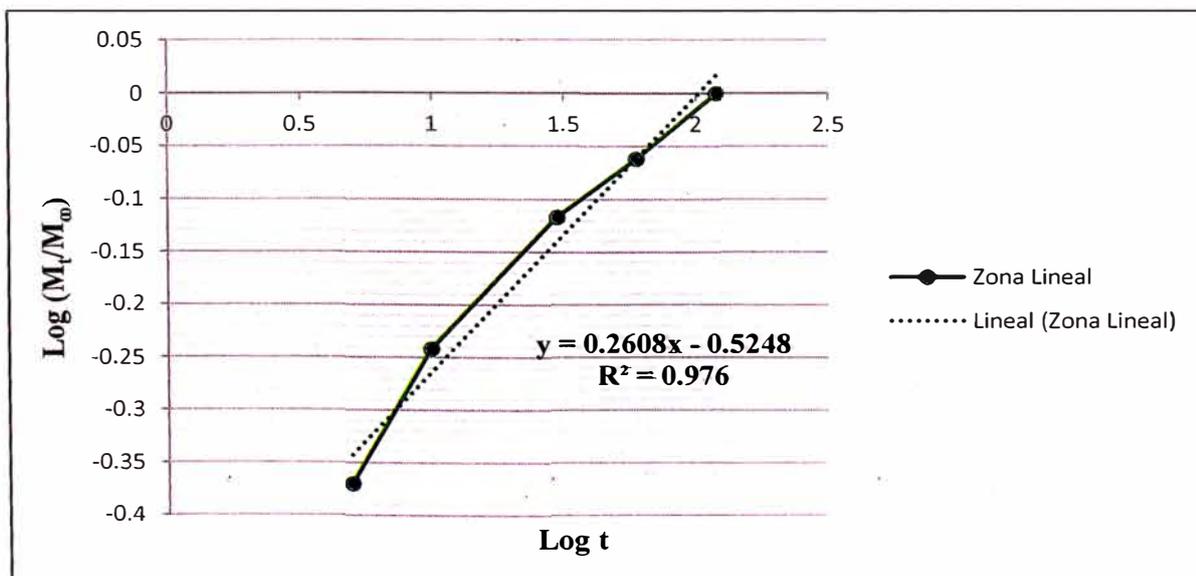


Figura IV. 24. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 a 130 rpm

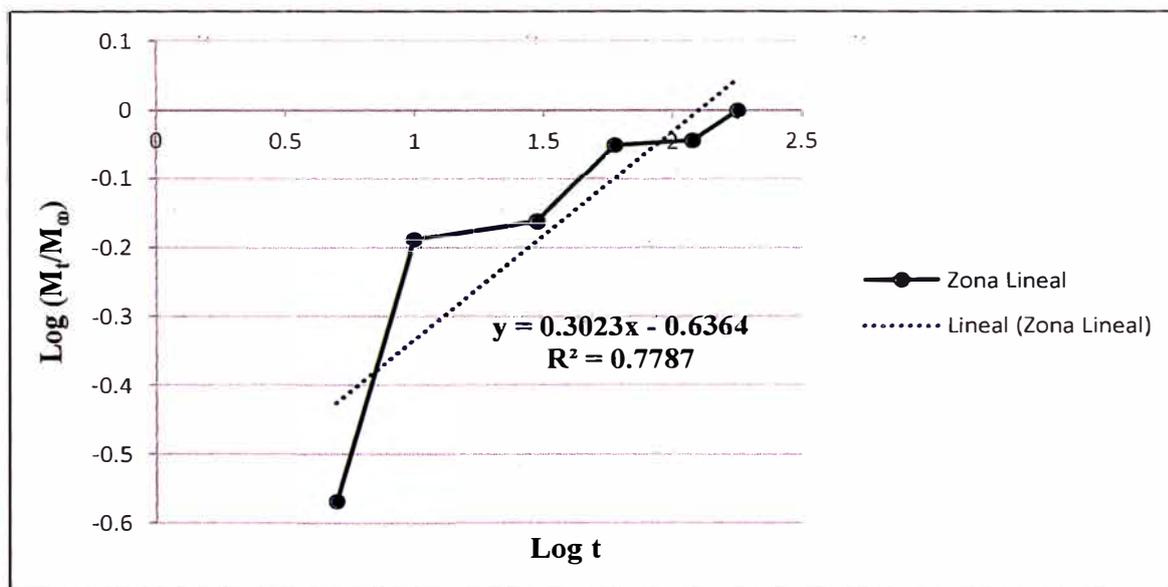


Figura IV. 25. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 a 200 rpm

En relación a las Figuras IV.24 y IV.25, se expone que pudo haber un cambio significativo en el perfil del modelo cinético linealizado, al realizar la variación de la velocidad de agitación, en dos sesiones independientes, durante la etapa de liberación de la hormona vegetal a partir de la matriz M7.

Pero por lo general, se infiere que los resultados del efecto de la velocidad de agitación, en el estudio cinético de liberación de la hormona AIA, llegaron a ajustarse satisfactoriamente con el modelo cinético dado por Korsmeyer - Peppas, para las matrices de alginato M3 y M7.

- MEDIO DE LIBERACIÓN

La liberación de la hormona ácido 1,3-indol acético ha sido realizada en agua y se estudiaron sus cambios cinéticos durante su liberación, causados por el efecto del medio siguiendo los lineamientos del modelo de Korsmeyer - Peppas.

Las dos gráficas del modelo linealizado de la cinética de liberación en agua, para las matrices de alginato M3 y M7 cargadas con la hormona ácido 1,3-indol acético, se muestran en seguida:

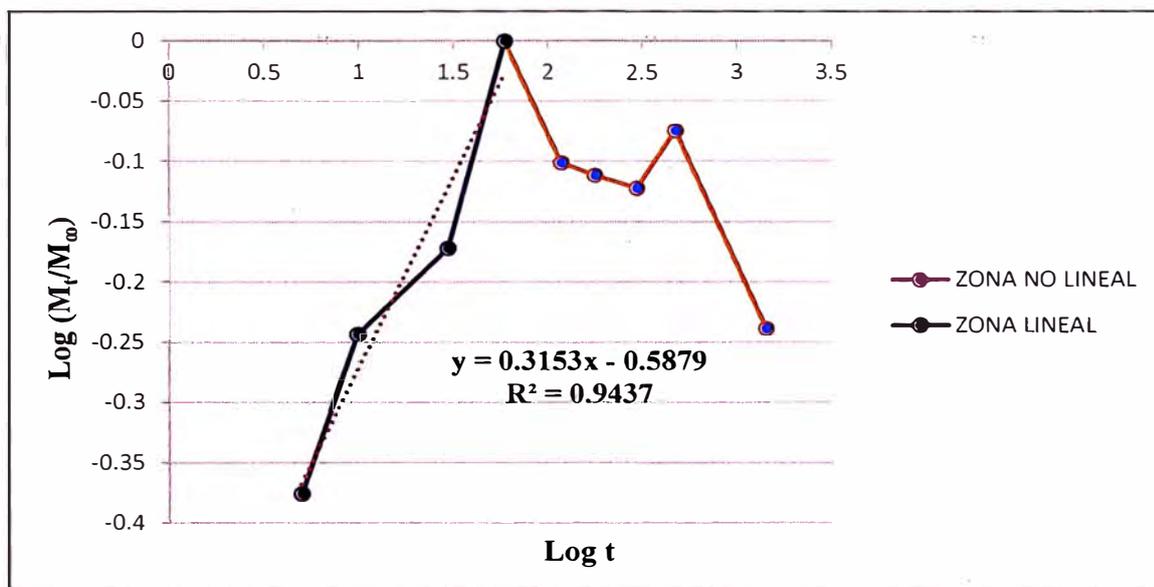


Figura IV. 26. Modelo Lineal $\text{Log}(M_t/M_\infty)$ vs $\text{Log } t$ para la matriz M3 en agua

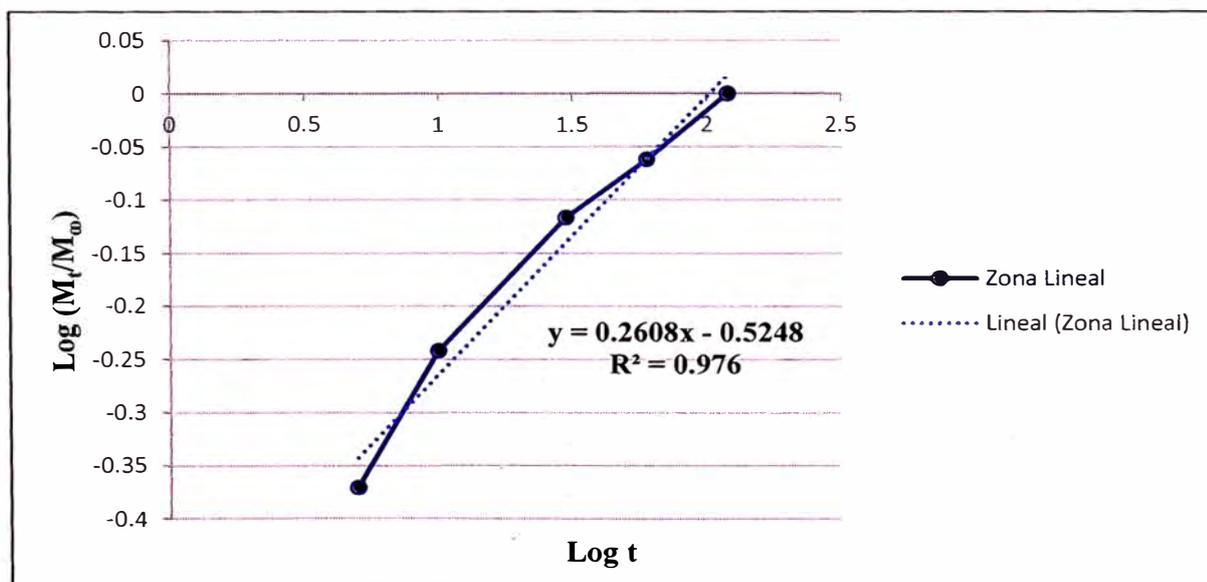


Figura IV. 27. Modelo Lineal $\text{Log}(M_t/M_\infty)$ vs $\text{Log } t$ para la matriz M7 en agua

De las Figuras IV.26 y IV.27, no hubo una modificación relevante en el modelo linealizado de la cinética de liberación de la hormona AIA; cuando se tiene como medio al agua tanto para las partículas de alginato M3 y M7. De esta información, se destaca que las dos figuras presentaron un comportamiento dirigido por el modelo cinético de Korsmeyer - Peppas.

- TEMPERATURA

Otro efecto importante en el estudio de la cinética de liberación de la hormona ácido 1,3-indol acético, es la temperatura; que tal como se sabe, a medida que aumenta, hace que la hormona sea vulnerable y se descomponga gradualmente. Este proceso se realizó a 15 °C y a 25 °C, a través del modelo cinético de Korsmeyer - Peppas.

En las dos gráficas siguientes, se muestra la evolución cinética de la liberación de la hormona AIA, para las partículas de alginato M3 a las dos temperaturas escogidas.

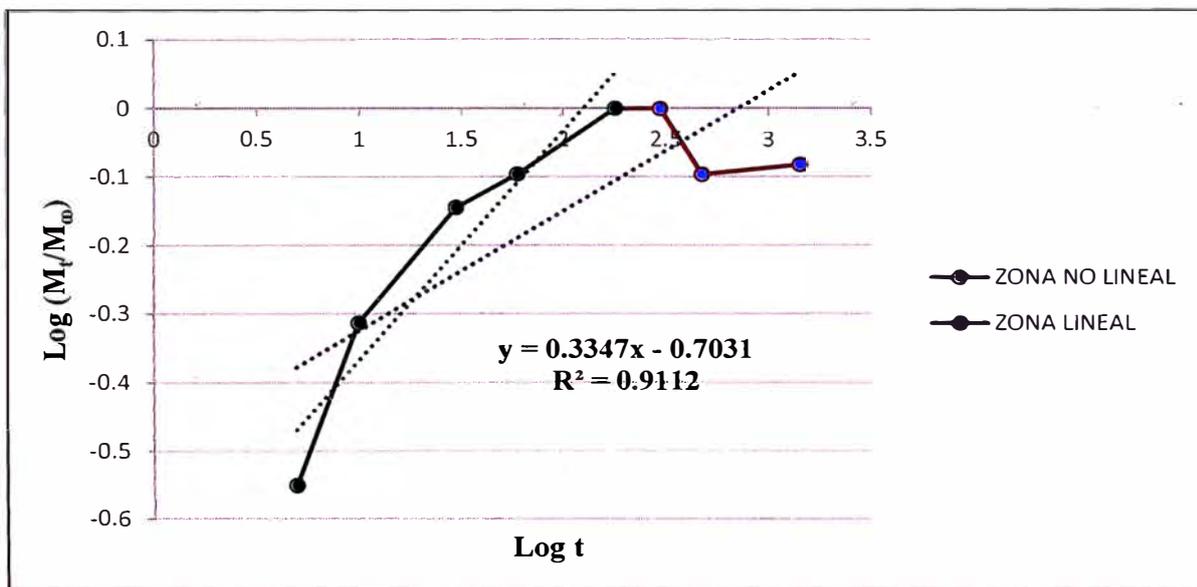


Figura IV. 28. Modelo Lineal Log (M_t/M_o) vs Log t para la matriz M3 a 15 °C

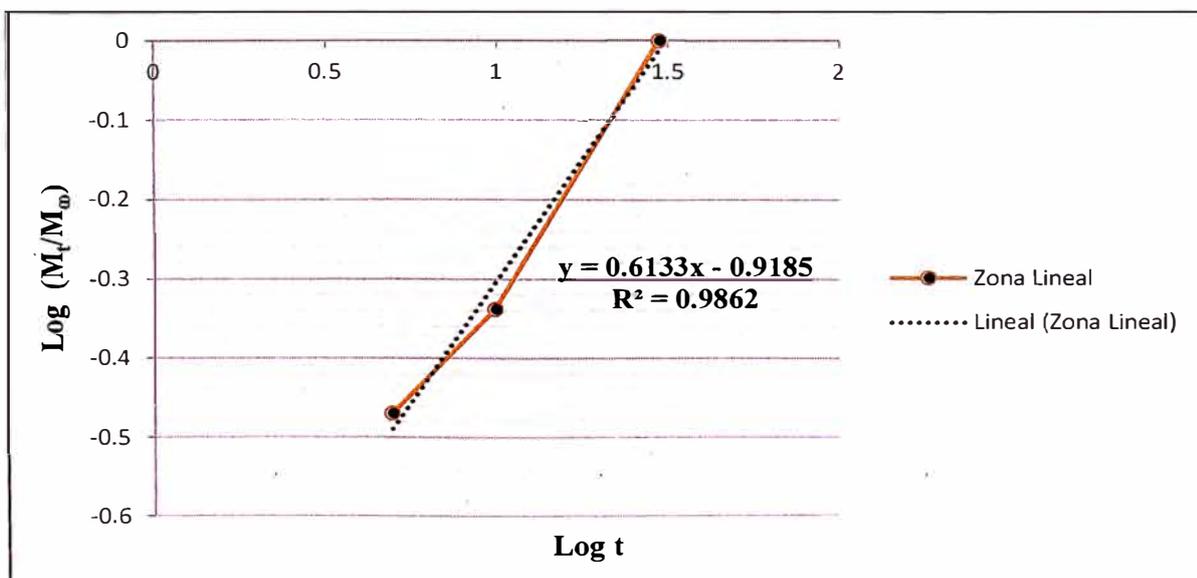


Figura IV. 29. Modelo Lineal Log (M_t/M_o) vs Log t para la matriz M3 a 25 °C

Al tener las Figuras IV.28 y IV.29, se muestra que el modelo linealizado de la cinética de liberación de la hormona AIA, mantiene su perfil en ambos bosquejos; a pesar de los cambios de temperatura sufridos en cada proceso para las partículas de alginato M3. A su vez, se infirió que el mecanismo de liberación de la hormona vegetal en las dos gráficas, es gobernado por el modelo de Korsmeyer - Peppas.

De igual manera, se presentan dos figuras para las partículas de alginato M7, respecto al perfil del modelo lineal de su cinética de liberación de la hormona AIA, a 15 °C y a 25 °C.

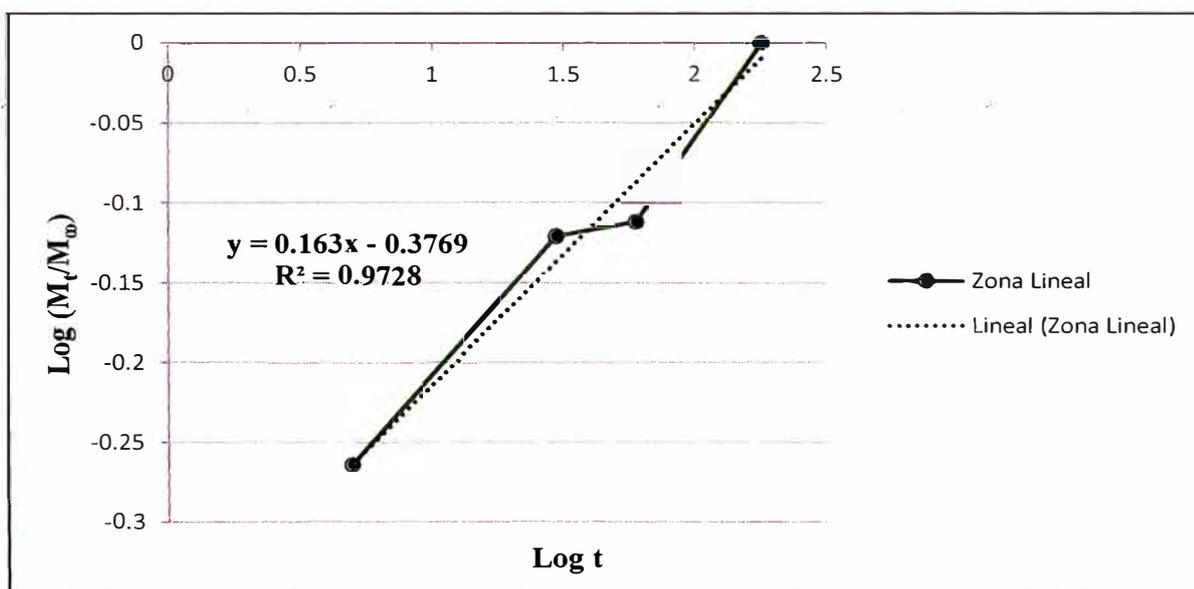


Figura IV. 30. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 a 15 °C

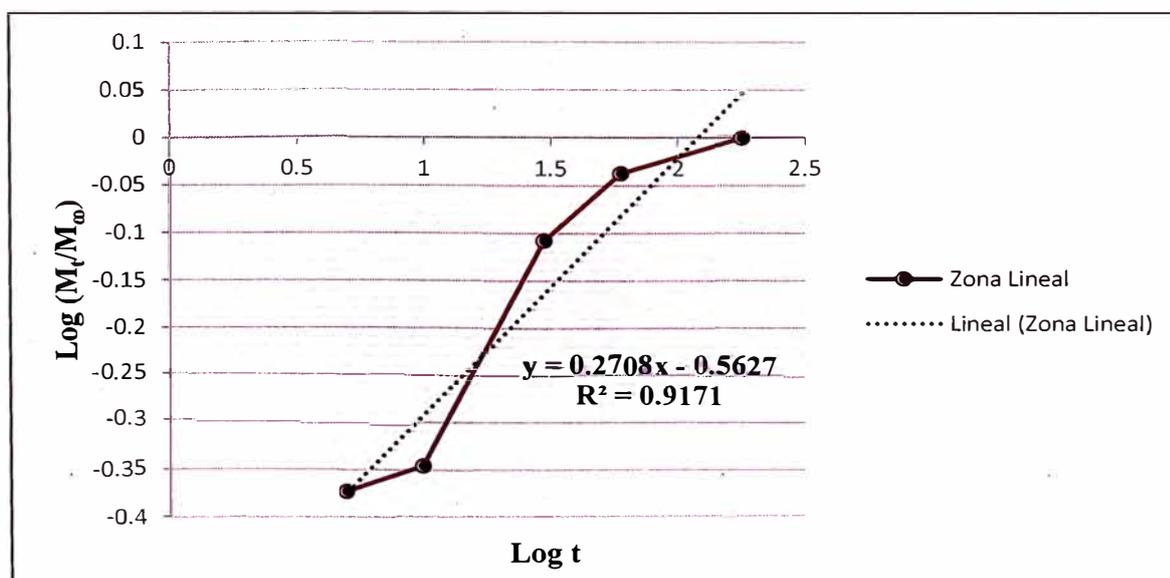


Figura IV. 31. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 a 25 °C

Del análisis de las Figuras IV.30 y IV.31, se afirma que no se evidenció una diferencia significativa en el trazo del modelo linealizado de Korsmeyer - Peppas en la cinética de liberación de la hormona AIA, para las partículas de alginato M7 y cuando la temperatura se modifica de 15 °C a 25 °C (en procesos independientes).

Finalmente se analizó que a una mayor temperatura, se incrementa el valor de la pendiente de la ecuación linealizada; ello indica que se manifestaría un mejor mecanismo de liberación de la hormona AIA. Asimismo, los resultados del efecto de la temperatura, en el estudio cinético de liberación de la auxina, se ajustaron convenientemente al modelo de Korsmeyer - Peppas para las dos matrices de alginato M3 y M7.

- TIPO DE PREPARACIÓN

El cuarto efecto que se estudió para la cinética de liberación de la hormona AIA, fue el tipo de preparación de las partículas de alginato. Para ello, se emplearon dos formas de elaboración. Tanto la primera como la segunda forma siguieron etapas idénticas de preparación; la única variante fue, que para el primer proceso de obtención se utilizó una bureta y para el segundo una jeringa respectivamente. Logrando de esta manera obtener diferentes tamaños de partículas poliméricas.

A continuación se muestran dos figuras, que representan al estudio cinético de liberación de la auxina, cada una con su modelo linealizado de Korsmeyer - Peppas para la matriz de alginato M3 y con su tipo de preparación establecido.

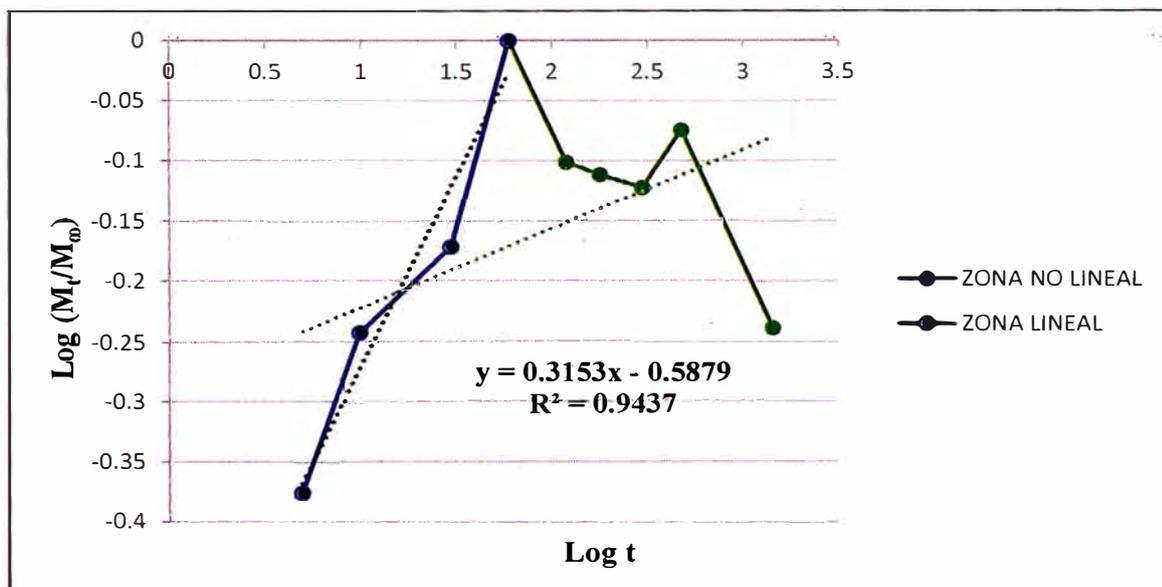


Figura IV. 32. Modelo Lineal $\text{Log}(M_t/M_0)$ vs $\text{Log } t$ para la matriz M3 formación de partículas de mayor tamaño

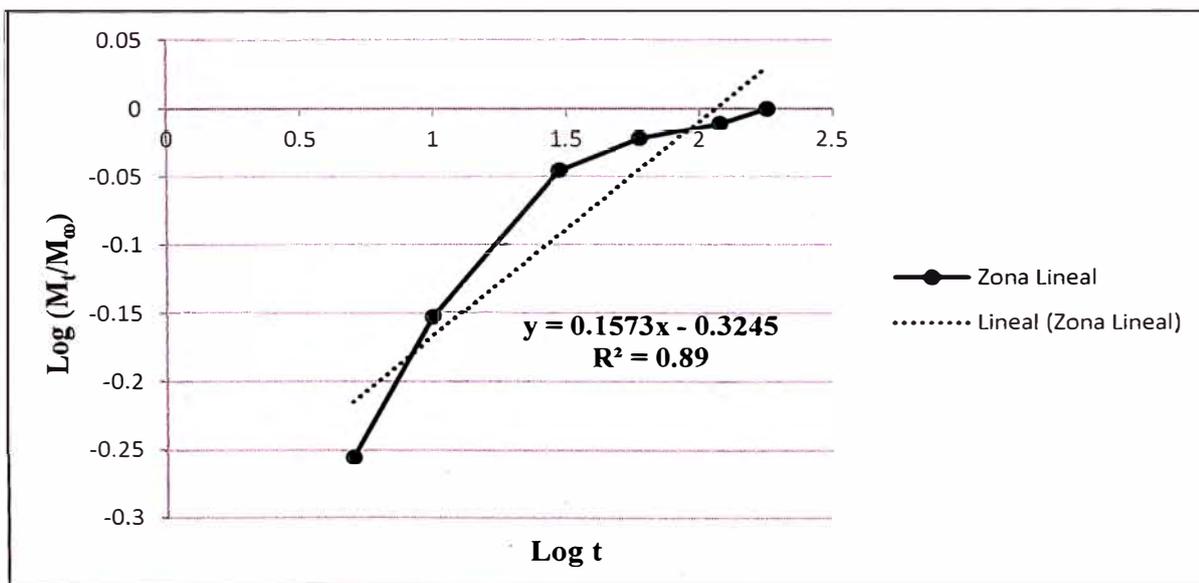


Figura IV. 33. Modelo Lineal $\text{Log}(M_t/M_0)$ vs $\text{Log } t$ para la matriz M3 formación de partículas de menor tamaño

De las Figuras IV.32 y IV.33, se estableció que luego de la evaluación del efecto del tipo de preparación de las partículas de alginato M3; el perfil del modelo lineal de Korsmeyer - Peppas de dichas gráficas, se mantiene casi invariante, una vez realizada la cinética de liberación de la hormona ácido 1,3-indol acético.

Así también, se presentan dos gráficas finales, cuyos estudios cinéticos de liberación de la hormona AIA, se realizaron con el modelo lineal de Korsmeyer – Peppas, para la matriz de alginato M7, bajo el análisis del efecto de modo de preparación.

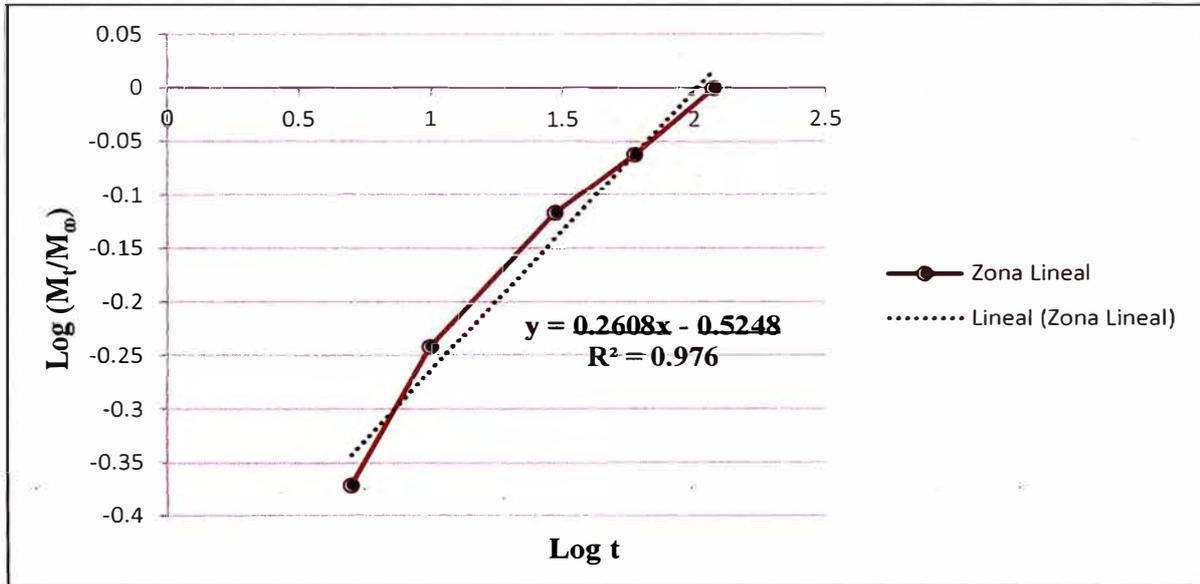


Figura IV. 34. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 formación de partículas de mayor tamaño

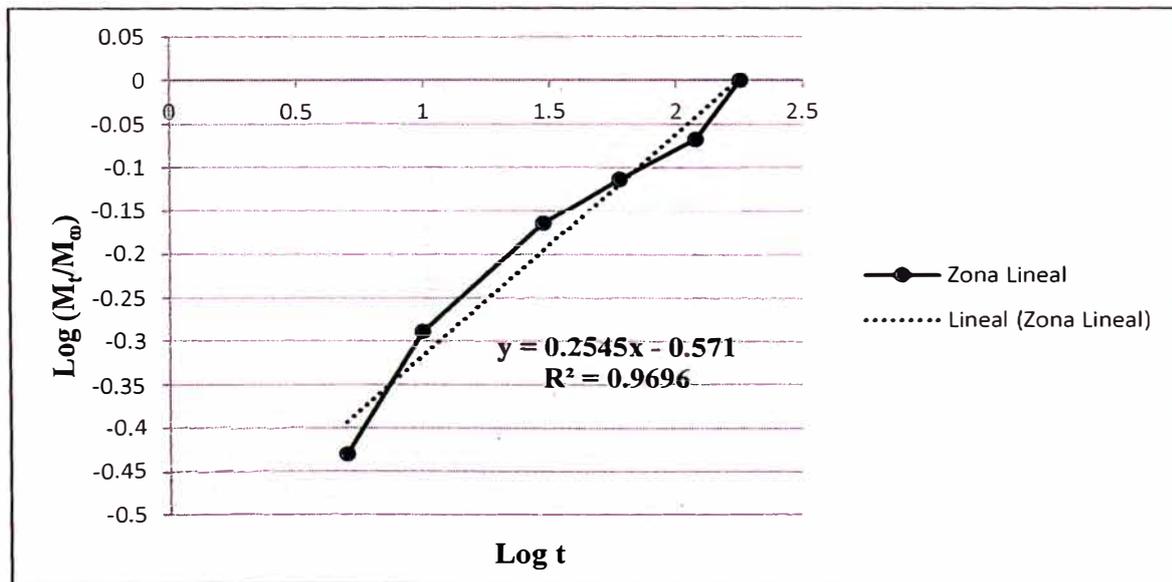


Figura IV. 35. Modelo Lineal Log (M_t/M_∞) vs Log t para la matriz M7 formación de partículas de menor tamaño

Se confirma de las Figuras IV.34 y IV.35, que tampoco existe una disimilitud relevante en el trazo del modelo lineal de la cinética de liberación de la hormona ácido 1,3-indol acético (siguiendo el criterio del modelo de Korsmeyer – Peppas), para la matriz de alginato M7, bajo el efecto del tipo de preparación de las partículas de alginato.

Cabe resaltar, que prácticamente este efecto de la forma de obtención de las partículas, no modifica la delineación del mecanismo cinético de liberación de la auxina AIA, para las matrices de alginato M3 y M7. Además, estas cuatro gráficas se desarrollan bajo el modelo matemático de Korsmeyer – Peppas.

Prosiguiendo con la investigación de estos cuatro efectos (velocidad de agitación, medio de liberación, temperatura y tipo de preparación), se presentó en el Cuadro 15, un resumen muy detallado de cada uno de ellos y de los valores que adoptaron las constantes principales (n y k) del modelo cinético de Korsmeyer – Peppas; además del coeficiente de correlación (R), que se extrajo del modelo linealizado de la cinética de liberación para cada figura:

Cuadro IV. 9. Valores calculados de k , n y R (coeficiente de correlación de Pearson) de la Ecuación IV.1 en la cinética de liberación *in vitro* de la hormona AIA bajo cuatro efectos y cantidades cargadas en la matriz de alginato

Efectos de Evaluación		Nombre de Matriz Polimérica	mg de Hormona/100mg de perla seca	k	n	R
Velocidad de Agitación	130 rpm	M3	0.430	0.258	0.32	0.9714
	200 rpm	M3	0.309	0.244	0.31	0.9861
	130 rpm	M7	0.176	0.299	0.26	0.9879
	200 rpm	M7	0.192	0.231	0.30	0.8824
Medio de Liberación	Agua	M3	0.430	0.258	0.32	0.9714
	Agua	M7	0.176	0.299	0.26	0.9879
Temperatura	15°C	M3	0.303	0.198	0.33	0.9546
	25°C	M3	0.344	0.121	0.61	0.9931
	15°C	M7	0.171	0.420	0.16	0.9863
	25°C	M7	0.189	0.274	0.27	0.9577
Tipo de Preparación	Bureta	M3	0.430	0.258	0.32	0.9714
	Jeringa	M3	0.210	0.474	0.16	0.9434
	Bureta	M7	0.176	0.299	0.26	0.9879
	Jeringa	M7	0.091	0.269	0.25	0.9847

El estadístico R , que viene a ser el coeficiente de correlación de Pearson, es un parámetro evaluado dentro de los modelos cinéticos de liberación; ya que relaciona cuantitativamente a las variables en estudio y verifica si entre ellas existe linealidad.

Entonces de acuerdo al Cuadro IV.9, los valores de R fueron ≥ 0.90 , en casi un 100% de los resultados obtenidos, usando el modelo cinético linealizado de Korsmeyer – Peppas para el estudio cinético de liberación de la hormona AIA y teniendo como efectos en cada proceso a la velocidad de agitación, medio de liberación, temperatura y tipo de preparación.

Ello indica, que este modelo matemático rige en máxima medida el mecanismo de liberación de la auxina ácido 1,3-indol acético; cuyo medio de difusión es el agua en todos los casos.

Además al tener un coeficiente de correlación ≥ 0.90 , se aseguró que las variables de la Ecuación IV.1, se hayan interrelacionado linealmente en un determinado tiempo.

También de esta misma ecuación, se debe conocer que cuando $n = 0.50$, el mecanismo cinético que describe el comportamiento general de un fármaco, se adapta en relación a la Ley de Fick.

Por otra parte, para valores de $n > 0.50$ y $n < 1.0$, se establece que existe una difusión anómala o no Fickiana; predominando en el proceso, la difusión-relajación de las cadenas poliméricas, esto quiere decir que el sistema de liberación es parcialmente dado por la proporción entre el flujo de la hormona con la gradiente de dicha concentración; así como, el tiempo que demora la cadena polimérica en acoger a las moléculas que ingresan del disolvente.

En caso se obtenga valores de $n = 1.0$, el mecanismo de transporte es conocido como Tipo II; ello quiere decir que el flujo del soluto es efectuado a velocidades fijas y es controlado principalmente por la relajación de las mallas poliméricas.

Una vez descritas todas las condiciones de la constante n (parámetro asociado al mecanismo de transporte de la hormona); se comprobó que los resultados en el Cuadro IV.9, mostraron valores de n oscilando entre 0.16 y 0.61. Esto quiere decir, que hubo una mínima desviación de la difusión fickiana y que la liberación de la hormona AIA fue parcialmente controlada, durante el ingreso del disolvente, por la relajación viscoelástica del biopolímero que, debido a este desprendimiento de la tensión de sus cadenas, genera posiblemente un hinchamiento que permite su liberación en función al tiempo.

Cabe destacar, que al analizar el efecto de la velocidad de agitación en las Figuras IV.22 y IV.23, correspondientes a la matriz M3 (3% Alginato, 2% CaCl₂ y 0.1% Hormona), se infirió que el valor de la pendiente es menor en la Figura IV.23; lo que indicó que posee un menor valor de n .

En consecuencia cuando la velocidad de agitación aumentó en el proceso de liberación de la hormona AIA, se afirma que el valor de n disminuye y hay una menor cantidad de hormona liberada.

En el caso del efecto de la temperatura para la matriz M3, comparando las Figuras IV.28 y IV.29, se extrajo la información que el mayor valor para la constante n se presentó en la Figura IV.29, la cual tuvo una mayor temperatura durante el proceso de liberación de la hormona AIA y llegó a tener una cantidad superior de hormona liberada.

Para la evaluación de la constante k en las Figuras IV.26 y IV.27, se observó que el valor de k aumentó en la matriz M7 (tuvo menor cantidad de hormona liberada), ello significa que probablemente, en medio acuoso, se generó una fuerte interacción por puente de hidrógeno, entre los grupos OH del biopolímero y la hormona.

IV.7 MODELO PROBABLE DE INTERACCIÓN ENTRE LA HORMONA ÁCIDO 1,3-INDOL ACÉTICO CON ALGINATO ENTRECruzADO CON IONES Ca²⁺

En esta sección se brinda un enfoque a nivel molecular, para poder explicar la forma en que estarían dándose las interacciones una vez cargada la hormona AIA en las partículas de alginato con calcio.

Los datos relevantes de partida, en torno a entender la disposición química que tienen todos estos componentes al momento de estar en contacto; son la conformación del alginato con calcio a pH neutro y el valor $pK_a = 4.75$ (a 25°C) de la auxina ácido 1,3-indol acético. [116]

Una vez establecidos estos parámetros, se procede a desarrollar la estructura más probable a través de la mecánica molecular en el programa Spartan 14. En este programa se lograron resultados de diferentes tipos de interacción entre las moléculas de alginato entrecruzado con iones Ca^{2+} y las moléculas de la hormona AIA, obteniendo que la menor energía fue de -8265.81 kJ/mol y que correspondió a la interacción entre dos bloques guluronato del alginato con seis moléculas de la hormona AIA (tres moléculas por cada bloque G) y diez iones calcio (Ca^{2+}).

Esto indicaría que la Figura IV.36, obtenida del programa Avogadro 1.1.1 (usado para abrir esta imagen), llegaría a ser la más estable.

Asimismo, la imagen presentada a continuación, se caracteriza por presentar en gran parte interacciones vía puente de hidrógeno entre los grupos hidroxilo OH del alginato con los OH del grupo carboxilo de la hormona AIA.

Además, los grupo carboxilato de los bloques G del alginato interaccionan con los iones calcio.

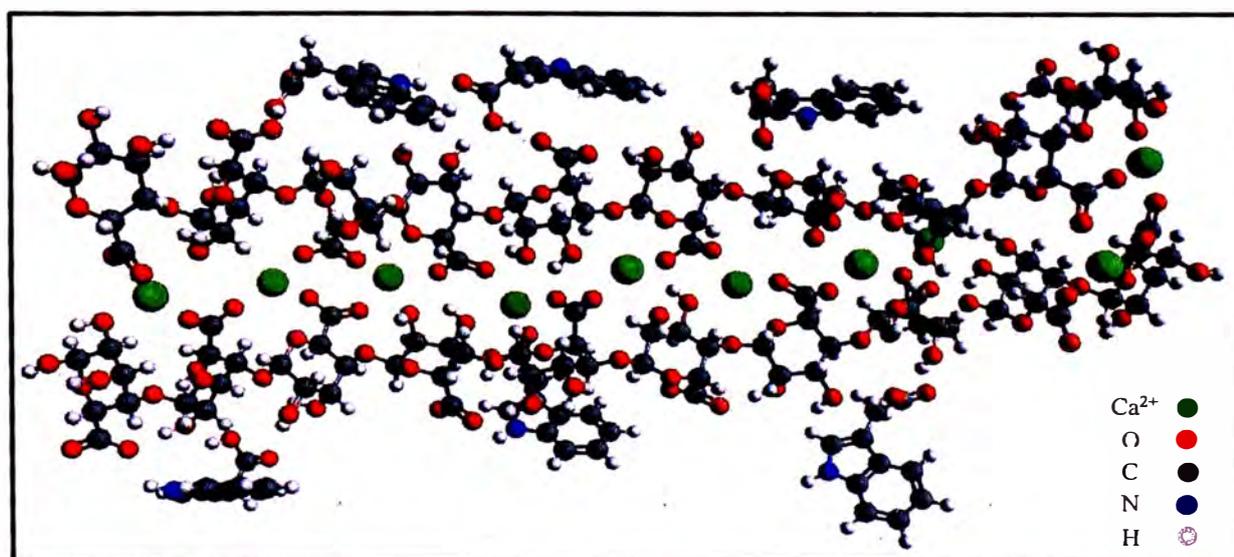


Figura IV. 36. Estructura conformada por la interacción entre la hormona AIA con alginato entrecruzado con Ca^{2+} Fuente: Propio autor

V. CONCLUSIONES

- Las técnicas que se usaron para la caracterización del alginato de partida (FT-IR y Viscosimetría), nos mostraron las características fisicoquímicas del material empleado en esta Tesis. En primer lugar, el alginato presentó bajo peso molecular (144.6 kDa) mediante viscosimetría y sus bandas obtenidas a través de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) correspondieron a los enlaces O-H, C-H, O-C-O, C-C-H, C-C y C-O, que son típicas de este biopolímero.
- A partir del diseño factorial 2^3 , se obtuvo que las matrices de alginato con un mejor perfil de liberación de la hormona ácido 1,3-indol acético, correspondieron a las partículas elaboradas M3 (3 % Alginato, 2 % CaCl_2 y 0.1 % Hormona) y M7 (3 % Alginato, 2 % CaCl_2 y 0.05 % Hormona).

- Las técnicas de caracterización utilizadas en la preparación de las partículas cargadas y sin cargar del alginato (FT-IR sólo para las matrices cargadas, SEM y TGA), nos mostraron que la hormona está presente en la matriz polimérica.

De esto, las respectivas comparaciones de los espectros FT-IR de las matrices de alginato (M3 y M7) cargadas con la hormona AIA respecto al espectro FT-IR del alginato inicial, mostraron que, los grupos funcionales O-C-O, C-C-H, O-C-H, C-O, C-C, se mantuvieron del alginato de partida. No obstante, surgieron nuevas bandas con grupos los siguientes grupos funcionales C=O y N-H; que indica la presencia la hormona AIA.

La rugosidad observada a partir de las micrografías de las partículas cargadas con la hormona AIA en comparación a las superficies lisas observadas en las micrografías de las partículas sin cargar, demuestran la apariencia de dicha hormona en la matriz polimérica.

A pesar de que todas estas técnicas mencionadas evidencian la presencia de la hormona AIA en las partículas de alginato, los ensayos termogravimétricos no nos mostraron una diferencia marcada en las temperaturas de descomposición térmica. Lo cual es debido a que se trata de dos moléculas orgánicas, que deben presentar procesos de descomposición a temperaturas similares.

- Al ajustar los resultados a los tres modelos cinéticos dados a partir de la literatura científica, se concluye que el mecanismo cinético de liberación de la hormona AIA corresponde al modelo establecido por Korsmeyer - Peppas. Esto significa que al haber obtenido la constante del mecanismo de transporte n , entre 0.16 y 0.61, dicha hormona se difunde a través de un mecanismo fickiano con ligera desviación.
- El programa Spartan 14 muestra en una primera aproximación, las interacciones biopolímero entrecruzado y hormona. Se dan entre dos bloques guluronato del alginato, seis moléculas de la hormona AIA (tres moléculas por cada bloque G) y diez iones calcio (Ca^{2+}), que corresponden a la energía de menor valor de interacción, donde probablemente predominan interacciones puente de hidrógeno entre los OH del grupo carboxilo de la hormona AIA con los grupos hidroxilo OH del alginato.

VI. RECOMENDACIONES

La importancia de esta Tesis, es que permite generar nuevas investigaciones en el campo agroindustrial, por lo cual se presentan en seguida algunas recomendaciones, tales como:

- La caracterización adicional mediante RMN - ^{13}C o RMN - ^1H , según sea el alcance de investigación que se quiera llegar; con el objeto de tener máxima precisión de la distribución exacta entre los bloques G y los bloques M del alginato.
- La ejecución de liberación de la hormona ácido 1,3-indol acético en un medio de solución hidropónica, ya que en esta, se podrá acondicionar una situación más real de lo que probablemente pueda estar pasando en sí, en un medio de cultivo. A su vez, analizar el comportamiento de desarrollo de la planta bajo evaluaciones de ciertas propiedades químicas, como el pH, temperatura, fuerza iónica, entre otras.
- El análisis de otro grupo de hormonas vegetales tales como las giberelinas o citoquininas; encontrando para estos grupos el compuesto más representativo. De esta manera, ver el efecto de las fitohormonas (a ciertas dosis), que pueden causar en determinadas plantas en estudio.
- La realización de nuevas formulaciones entre los grupos más importantes de los reguladores de crecimiento de las plantas, hasta encontrar el mejor rendimiento en sus diferentes etapas de desarrollo; para lo cual también tienen que ser examinados los efectos de temperatura, tipo de preparación, velocidad de agitación y medio de liberación.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Prakash, J. (2018). Functional importance of the plant microbiome: Implications for agriculture, forestry and bioenergy. *Cleaner Production*, 178, 877-879.
- [2] Zwanenburg, B., & Blanco, D. (2018). Strigolactones: new plant hormones in the spotlight. *Experimental Botany*, 69(9), 2205-2218.
- [3] Romero, C., Chávez, R., Molina, V., y Pazmiño, A. (2018). EFECTOS DE LAS HORMONAS VEGETALES SOBRE EL RENDIMIENTO DEL CULTIVO DE ARROZ (*Oryza sativa* L.). *AGRO-UTB*, 1(2), 43-51.
- [4] Shi, H., Zhang, S., Lin, D., Wei, Y., Yan, Y., Liu, G., Reiter, R., & Chan, Z. (2018). Zinc finger of *Arabidopsis thaliana* 6 is involved in melatonin-mediated auxin signaling through interacting INDETERMINATE DOMAIN15 and INDOLE-3-ACETIC ACID 17. *Pineal Research*, 65(2), 1-10.
- [5] Cendejas, M., Laureen, X., & Quintero, I. (2017). SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE ESFERAS POLIMÉRICAS PARA LA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS. *JÓVENES EN LA CIENCIA*, 3(2), 2696-2700.
- [6] Lopes, M., Abrahim, B., Veiga, F., Seiça, R., Mendes, L., Arnaud, P., Andrade, J., & Ribeiro, A. (2016). Preparation methods and applications behind alginate-based particles. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 14(6), 769-782.
- [7] Pietrobon, D. (2018). APLICAÇÃO DE HIDROGÉIS DE QUITOSANA/ALGINATO COM PROPRIEDADE MAGNÉTICA NA REMOÇÃO DE ÍONS Pb(II) DE SISTEMAS AQUOSOS. Tese de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.
- [8] Rivas, E., Benavides, A., Martínez, S., García, H., Medrano, J., & Vera, I. (2018). Incremento en la eficacia de la aplicación de compuestos bioactivos suelo usando alginato como agente encapsulante. Proyecto de Investigación para Tesis de Grado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Botánica.
- [9] Cuatzo, M. (2010). "EFECTO DE LAS CONDICIONES DE PROCESO EN LA CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS ENCAPSULADOS POR EL MÉTODO DE GELIFICACIÓN IÓNICA". Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas.
- [10] Caizaluiza, A. (2018). DESARROLLO DE UN SISTEMA DE LIBERACIÓN CONTROLADA BASADO EN MICROPARTÍCULAS MUCOADHESIVAS DE ALGINATO CON CLARITROMICINA Y METRONIDAZOL. Tesis de Grado. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas.

- [11] De Lima, T. (2018). APLICAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA E TITÂNIO NA MELHORIA DAS PROPRIEDADES DE FILMES DE ALGINATO DE SÓDIO PARA USO EM CURATIVOS. Tese de Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”. Facultad de Engenharia.
- [12] Wang, L., Shankar, S., & Rhim, J. (2017). Properties of alginate-based films reinforced with cellulose fibers and cellulose nanowhiskers isolated from mulberry pulp. *Food Hydrocolloids*, 63, 201-208.
- [13] Saxena, A., Bhattacharya, A., Kumar, S., Epstein, I., & Sahney, R. (2017). Biopolymer matrix for nano-encapsulation of urease – A model protein and its application in urea detection. *Colloid and Interface Science*, 490, 452-461.
- [14] Soto, M., Sánchez, V., & Trujillo, M. (2014). CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS SERIGRÁFICAS DE TiO₂/ALGINATO. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13(1), 227-236.
- [15] Andersen, T., Auk-Emblem, P., & Dornish, M. (2015). 3D Cell Culture in Alginate Hydrogels. *Microarrays*, 4(2), 133-161.
- [16] Grassi, M., Sandolo, C., Perin, D., Coviello, T., Lapasin, R., & Grassi, G. (2009). Structural Characterization of Calcium Alginate Matrices by Means of Mechanical and Release Tests. *Molecules*, 14, 3003-3017.
- [17] Donati, I., Paoletti, S., & Rehm, B. (2009). Material Properties of Alginates. *Alginates: Biology and Applications*, 13, 1-53.
- [18] Hecht, H., & Srebnik, S. (2016). Structural Characterization of Sodium Alginate and Calcium Alginate. *Biomacromolecules*, 17(6), 2160-2167.
- [19] Mørch, Y., Donati, I., Strand, B., & Skjåk-Bræk, G. (2006). Effect of Ca²⁺, Ba²⁺, and Sr²⁺ on alginate microbeads. *Biomacromolecules*, 7(5), 1471-1480.
- [20] Lee, K., & Mooney, D. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Prog Polym Sci.*, 37(1), 106-126.
- [21] Lin, C., & Metters, A. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Adv Drug Deliv Rev*, 58(12-13), 1379-1408.
- [22] Huamani, R. (2017). “MODIFICACIÓN QUÍMICA DEL ALGINATO CON CISTEÍNA Y SU APLICACIÓN PARA LA REMOCIÓN DE Pb (II) Y Cd (II) EN SOLUCIONES ACUOSAS”. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias.
- [23] Santhanes, D., Yee, L., Siang, F., & Coombes, A. (2018). Exploiting the versatility of oral capsule formulations based on high M-alginate for targeted delivery of poorly water soluble drugs to the upper and lower GI tract. *Drug Delivery Science and Technology*, 46, 384-391.

- [24] Castilhos, N., Sampaio, N., da Silva, B., Riegel, I., Grassi, M., & Silva, B. (2017). Physical-chemical characteristics and potential use of a novel alginate/zein hydrogel as the sorption phase for polar organic compounds. *Carbohydrate Polymers*, 174, 507-516.
- [25] Hung, S., Bansal, N., & Bhandari, B. (2017). Alginate gel particles-A review of production techniques and physical properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1133-1152.
- [26] Maestrelli, F., Mura, P., González, M., Cózar, M., Rabasco, A., Di Cesare, L., & Ghelardini, C. (2017). Calcium alginate microspheres containing metformin hydrochloride niosomes and chitosomes aimed for oral therapy of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Pharmaceutics*, 530(1-2), 430-439.
- [27] Costa, M., Marques, A., Pastrana, L., Teixeira, J., Sillankorva, S., & Cerqueira, M. (2018). Physicochemical properties of alginate-based films: effect of ionic crosslinking and mannuronic and guluronic acid ratio. *Food Hydrocolloids*, 81, 442-448.
- [28] Ramos, P., Silva, P., Alario, M., Pastrana, L., Teixeira, J., Cerqueira, M., & Vicente, A. (2018). Effect of alginate molecular weight and M/G ratio in beads properties foreseeing the protection of probiotics. *Food Hydrocolloids*, 77, 8-16.
- [29] Bierhalz, A., da Silva, M., Braga, M., Sousa, H., & Kieckbusch, T. (2014). Effect of calcium and/or barium crosslinking on the physical and antimicrobial properties of natamycin-loaded alginate films. *LWT – Food Science and Technology*, 57(2), 494-501.
- [30] Hariyadi, D., Purwanti, T., & Adilla, S. (2018). Influence of crosslinker concentration on the characteristics of erythropoietin-alginate microspheres. *Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 6(4), 250-259.
- [31] Zhang, B., Hu, B., Nakauma, M., Funami, T., Nishinari, K., Draget, K., Phillips, G., & Fang, Y. (2018). Modulation of calcium-induced gelation of pectin by oligoguluronate as compared to alginate. *Food Research International*.
- [32] Shi, T., Peng, H., Zeng, S., Ji, R., Shi, K., Huang, H., & Ji, X. (2017). Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. *Bioengineered*, 8(2), 124-128.
- [33] Jacome, M. (2015). “Comportamiento agronómico del cultivo de arroz *Oryza sativa* bajo riego a la aplicación de MPC microorganismos promotores de crecimiento y hormonas vegetales en la zona de Babahoyo”. Tesis de Grado. Universidad Técnica de Babahoyo. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

- [34] Beck, J., Alborn, H., Block, A., Christensen, S., Hunter, C., Rering, C., Seidl, I., Stuhl, C., Torto, B., & Tumlinson, J. (2018). Interactions Among Plants, Insects, and Microbes: Elucidation of Inter-Organismal Chemical Communications in Agricultural Ecology. *AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY*, 66(26), 6663-6674.
- [35] Youssef, S., Safwat, G., Baset, A., Shalaby, A., & El-Beltagi, H. (2018). EFECT OF PHYTOPLASMA INFECTION ON PLANT HORMONES, ENZYMES AND THEIR ROLE IN INFECTED SESAME. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(8), 5727-5735.
- [36] Suh, J., Han, S., & Wang, Y. (2018). Development of an improved sample preparation platform for acidic endogenous hormones in plant tissues using electromembrane extraction. *Journal of Chromatography A*, 1535: 1-8.
- [37] Moro, L. (2013). Regulação hormonal da biossíntese de antocianinas em framboesas (*Rubus idaeus*) no período pós-colheita. Tese de Mestrado. Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas.
- [38] Dorantes, K. (2011). Evaluación del efecto de hormonas reguladoras de crecimiento aplicando dos tipos de podas en *Pinus greggii* Engelm. en Saltillo Coahuila. Tesis de Grado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento Forestal.
- [39] Celis, L., & Gallardo, I. (2008). ESTANDARIZACIÓN DE MÉTODOS DE DETECCIÓN PARA PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL (ÁCIDO INDOL ACÉTICO Y GIBERELINAS) EN CULTIVOS MICROBIANOS. Tesis de Grado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias.
- [40] Valderrama, L. (2013). Evaluación de cepas nativas de *Azotobacter* spp como agente reductor de urea en el cultivo de caña de azúcar (*Saccharum* spp). Tesis de Maestría. Universidad del Valle. Facultad de Ingenierías.
- [41] Gurung, S., Mahato, S., Suresh, C., & Chettri, B. (2016). Impact of Foliar Application of Growth Regulators and Micronutrients on the Performance of Darjeeling Mandarin. *American Journal of Experimental Agriculture*, 12(4), 1-7.
- [42] Asami, T., & Nakagawa, Y. (2018). Preface to the Special Issue: Brief review of plant hormones and their utilization in agriculture. *Journal of Pesticide Science*, 43(3), 154-158.
- [43] Florentino, L., Silva, A., Landgraf, P., & Souza, F. (2017). Inoculação de bactérias produtoras de ácido 3-indol acético em plantas de alface (*Lactuca sativa* L.). *Revista Colombiana de Ciências Hortícolas*, 11(1), 89-96.

- [44] Bielešová, K., Pařízková, B., Kubeš, M., Husičková, A., Kubala, M., Ma, Q., Sedlářová, M., Robert, S., Doležal, K., Strnad, M., Novák, O., & Žukauskaitė, A. (2018). New fluorescently labeled auxins exhibit promising anti-auxin activity. *New Biotechnology*, 17, 1-27.
- [45] Ozdal, M., Ozdal, O., Sezen, A., Algur, O., & Kurbanoglu, E. (2017). Continuous production of indole-3-acetic acid by immobilized cells of *Arthrobacter agilis*. *3 Biotech*, 7(1), 1-6.
- [46] Goswami, D., Dhandhukia, P., Patel, P., & Thakker, J. (2014). Screening of PGPR from saline desert of Kutch: Growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiological Research*, 169, 66-75.
- [47] Ibarra, J. (2017). Estudios microbiológicos relacionados con el mejoramiento de cultivos vegetales en zonas desfavorables. Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- [48] Li, M., Guo, R., Yu, F., Chen, X., Zhao Li, H., & Wu, J. (2018). Indole-3-Acetic Acid Biosynthesis Pathways in the Plant Beneficial Bacterium *Arthrobacter pascens* ZZ21. *Molecular Sciences*, 19(2), 1-15
- [49] Hao, X., Tang, H., Wang, B., Wang, I ao, H., Wang, Y.,... & Wang, X. (2018). Gene Characterization and Expression Analysis Reveal the Importance of Auxin Signaling in Bud Dormancy Regulation in Tea Plant. *Plant Growth Regulation*, pp 1-16.
- [50] Tenorio, R., Pérez, M., Vicente, J., M i L., Dreyer, I., & Pollmann, S. (2018). Identification of Two Auxin-Regulated Potassium Transporters Involved in Seed Maturation. *Molecular Sciences*, 19(7) 7.
- [51] Taylor, B., & Hoover, B. (2018). Foliar Auxin Application Improves Adventitious Rooting of Wall Germander Cuttings. *Hort Technology*, 28(1), 17-21.
- [52] Patel, H., & Patel, M. (2018). Role of Auxins on Rooting of Different Types of Cuttings in Fig. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 7(3), 1317-1322.
- [53] Tesser, C., Letaif, M., de Araujo, J., Offringa, R., & Fett, A. (2018). Comparative adventitious root development in pre-etiolated and flooded *Arabidopsis* hypocotyls exposed to different auxins. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127, 161-168.
- [54] Mutte, S., Kato, H., Rothfels, C., Melkonian, M., Wong, G., & Weijers, D. (2018). Origin and evolution of the nuclear auxin response system. *eLIFE Sci*, 7, 1-25.
- [55] Nanda, A., & Melnyk, C. (2018). The role of plant hormones during grafting. *Journal of Plant Research*, 131(1), 49-58.

- [56] Estrella, H. (2017). CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENES QUE MODULAN LA TRANSCRIPCIÓN Y EL TRANSPORTE DE AUXINAS Y SU PAPEL EN LA RIZOGÉNESIS EN VITROPLANTAS DE *Carica papaya* L. cv. MARADOL. Tesis de Doctorado. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Posgrado en Ciencias Biológicas.
- [57] Vega, P., Canchignia, H., González, M., & Seeger, M. (2016). BIOSÍNTESIS DE ÁCIDO INDOL-3-ACÉTICO Y PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO DE PLANTAS POR BACTERIAS. *Cultivos Tropicales*, 37(1), 33-39.
- [58] Novák, O., & Floková, K. (2018). An UHPLC-MS/MS Method for Target Profiling of Stress-Related Phytohormones. *Methods Mol Biol*, 1778, 183-192.
- [59] Rosas, R. (2018). EFECTO AGUAMIEL-PULQUE Y AUXINAS-CITOCININAS EN LA INDUCCIÓN *in vitro* DE PLBs EN *Phalaenopsis* sp. Tesis de Grado. Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas.
- [60] Paul, S., Wildhagen, H., Janz, D., & Polle, A. (2017). Drought effects on the tissue- and cell-specific cytokinin activity in polar. *AoB Plants*, 10(1), 1-18.
- [61] Ramos, E., Bonilla, B., & Aguilar, M. (2018). Interacciones entre plantas y bacterias promotoras de crecimiento vegetal. *CITECSA*, 10(15), 23-31.
- [62] Jiang, K., & Asami, T. (2018). Chemical regulators of plant hormones and their applications in basic research and agriculture. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82(8), 1-36.
- [63] Jabłońska, A., Matejczyk, M., & Czerpak, R. (2016). N6-benzyladenine and kinetin influence antioxidative stress parameters in human skin fibroblasts. *Mol Cell Biochem*, 413(1-2), 97-107.
- [64] Meléndez, G., & Molina, E. (2002). *Fertilización Foliar: Principios y Aplicaciones*, San José, Costa Rica: Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo.
- [65] Yoshida, H., Tanimoto, E., Hirai, T., Miyanoiri, Y., Mitani, R., Kawamura, M.,... & Ueguchi, M. (2018). Evolution and diversification of the plant gibberellin receptor *GID 1*. *Proc Natl Sci U.S.A.*, 115(33), E7844-E7853.
- [66] Rademacher, W. (2016). CHEMICAL REGULATORS OF GIBBERELLIN STATUS AND THEIR APPLICATION IN PLANT PRODUCTION. *Annual Plant Reviews*. 49, 359-403.
- [67] Sun, D., Hussain, H., Yi, Z., Rookes, J., Kong, L., & Cahill, D. (2018). Delivery of Abscisic Acid to Plants Using Glutathione Responsive Mesoporous Silica Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 18(3), 1615-1625.
- [68] Carmoni, L., Visconti, S., Aducci, P., & Marra, M. (2018). 14-3-3 Proteins in Plant Hormone Signaling: Doing Several Things at Once. *Front Plant Sci*, 9(297), 1-8.

- [69] Kumari, V., Dubey, A., Kumar, V., Tiwari, A., & Negi, P. (2017). Effect of plant growth promoters on flowering and fruiting attributes of okra [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench]. *Crop Res*, 52(1,2 & 3), 37-40.
- [70] Phuong, N., Ha, H., Dieu, N., & Huy, B. (2017). Herbicide/Zn-Al-layered double hydroxide hybrid composite: synthesis and slow/controlled release properties. *Environ Sci Pollut Res Int*, 24(23), 19386-19392.
- [71] Ramos, E., de Oliveira, J., Fernandes, L., & Singh, B. (2015). Polysaccharides as safer release systems for agrochemicals. *Agron. Sustain. Dev*, 35(1), 47-66.
- [72] Roy, A., Singh, S., Bajpai, J., & Bajpai, A. (2014). Controlled pesticide release from biodegradable polymers. *Cent. Eur. J. Chem*, 12(4), 453-469.
- [73] Li, D., Liu, B., Yang, F., Wang, X., Shen, H., & Wu, D. (2016). Preparation of uniform starch microcapsules by premix membrane emulsion for controlled release of avermectin. *Carbohydrate Polymers*, 136, 341-349.
- [74] Sánchez, E., Meaurio, J., & Sarasua, J. (2017). Polímeros biodegradables con moléculas biológicamente activas para la prevención de infecciones en dispositivos biomédicos. *CASEIB 2017*, 139-142.
- [75] Pozas, R., & Abad, J. (2010). ADSORCIÓN DE MICOTOXINAS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS MEDIANTE BIOPOLÍMEROS. Proyecto Final de Carrera. Universitat Politècnica de Catalunya. Departamento Ingeniería Química.
- [76] Flores, F., Daza, I., Villafranca, M., Fernández, M., Morillo, E., & Undabeytia, T. (2018). Lignin and ethylcellulose in controlled release formulations to reduce leaching of chloridazon and metribuzin in light-textured soils. *Journal of Hazardous Materials*, 343, 227-234.
- [77] Ramos, E., de Oliveira, J., & Fraceto, L. (2014). Applications of Controlled Release Systems for Fungicides, Herbicides, Acaricides, Nutrients, and Plant Growth Hormones: A Review. *Advanced Science, Engineering and Medicine*, 6(4), 1-15.
- [78] Mishra, M. (2015). *Handbook of Encapsulation and Controlled Release*, Florida, U.S.A: Taylor & Francis Group, LLC.
- [79] Liu, B., Wang, Y., Yang, F., Wang, X., Shen, H., Cui, H., & Wu, D. (2016). Construction of a controlled-release delivery system for pesticides using biodegradable PLA-based microcapsules. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 144, 38-45.
- [80] Essawy, H., Ghazy, M., El-Hai, F., & Mohamed, M. (2016). Superabsorbent hydrogels via graft polymerization of acrylic acid from chitosan-cellulose hybrid and their potential in controlled release of soil nutrients. *Int J Biol Macromol*, 89, 144-151.

- [81] Li, X., Li, Q., Xu, X., Su, Y., Yue, Q., & Gao, B. (2016). Characterization, swelling and slow-release properties of a new controlled release fertilizer based on wheat straw cellulose hydrogel. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 60, 564-572.
- [82] Cortez, P. (2015). "SISTEMAS POLIMÉRICOS BIOCÓMPATIBLES PARA LIBERACIÓN CONTROLADA DE EMBELINA". Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de Mar Del Plata. Facultad de Ingeniería.
- [83] Muñoz, B. (2015). Elaboración y estudio de micropartículas de ciprofloxacino de liberación prolongada a nivel del colon. Tesis de Doctorado. Universidad de Granada. Facultad de Farmacia.
- [84] Martínez, M. (2016). Desarrollo y aplicaciones de hidrogeles para la administración y liberación modificada de fármacos. Tesis de Doctorado. Universidad de Valencia. Facultad de Farmacia.
- [85] Pundir, S., Badola, A., & Sharma, D. (2013). SUSTAINED RELEASE MATRIX TECHNOLOGY AND RECENT ADVANCE IN MATRIX DRUG DELIVERY SYSTEM: A REVIEW. *Int. J. Drug Res. Tech*, 3(1), 12-20.
- [86] Vasconcelos, I. (2016). ESTUDO DE BLENDA POLIMÉRICAS CONSTITUÍDAS POR GOMA XANTANA E POLI (ÁLCOOL VINÍLICO) RETICULADAS COM ÁCIDO CÍTRICO PARA APLICAÇÃO EM SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS. Tese de Mestrado. Universidade Federal da Paraíba. Departamento de Química.
- [87] Bonillo, A. (2017). DESARROLLO DE COMPRIMIDOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA CON UNA POLIESTERAMIDA DERIVADA DE L-ALANINA, PADAS. Tesis de Doctorado. Universidad de Granada. Facultad de Farmacia.
- [88] León, V., Rieumont, J., Bordallo, E., López, O., & García, C. (2014). Mecanismo de liberación de diclofenaco a partir de un copolímero entérico base celulosa. *Revista CENIC*, 45, 90-95.
- [89] Charkhi, A., & Claeskens, G. (2018). Asymptotic post-selection inference for the Akaike information criterion. *Biometrika*, 105(3), 645-664.
- [90] Ly, A., Marsman, M., & Wagenmakers, E. (2017). Analytic posteriors for Pearson's correlation coefficient. *Statistica Neerlandica*, 72(1), 4-13.
- [91] Quevedo, H., & Pérez, B. (2014). *ESTADÍSTICA PARA INGENIERÍA Y CIENCIAS*, México, D.F., México: GRUPO EDITORIAL PATRIA.
- [92] Barrio, M., Álvarez, J., Díaz, I. (2004). Elaboración de una tarifa con clasificación de productos para *Quercus robur* L. en Galicia basada en un modelo de volumen porcentual. *Invest Agrar: Sist Recur For*, 13(3), 506-517.

- [93] Șerban, E., Diaconu, I., Ruse, E., Eftimie, E., & Nechifor, G. (2017). STUDIES ON THE TRANSPORT OF INDOLE-3-ACETIC ACID THROUGH BULK LIQUID MEMBRANES. *Revue Roumaine de Chimie*, 62(6-7), 505-509.
- [94] Kincl, M., Turk, S., & Vrečer, F. (2005). Application of experimental design methodology in development and optimization of drug release method. *International Journal of Pharmaceutics*, 291(1-2), 165-174.
- [95] Ege, S. (2000). *Química Orgánica: Estructura y Reactividad. Tomo 2*, Barcelona, España: Editorial Reverté.
- [96] Rodríguez, C., Cañizo, A., & Subramaniam, P. (1983). INACTIVACIÓN DE LA AUXINA IAA POR NITRITO Y SU RELEVANCIA EN EL PROCESO DE INFECCIÓN DE PLANTAS FIJADORAS DE NITRÓGENO. *Anu. Cent. Edafol. Biol Apl Salamanca*, 9, 307-320.
- [97] Nissen, S., & Sutter, E. (1990). Stability of IAA and IBA in Nutrient Medium to Several Tissue Culture Procedures. *HortScience*, 25(7), 800-802.
- [98] Pérez, J. (2010). Estudios de Efectividad Biológica de Productos en el Cultivo de Melón Cantaloupe (*Cucumis melo* var. *Reticulata*) F1 Chaparral. Tesis de Grado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División de Agronomía.
- [99] Duca, D., Rose, D., & Glick, B. (2018). Indole acetic acid overproduction transformants of the rhizobacterium *Pseudomonas* sp. UW4. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 111(9), 1645-1660.
- [100] Gómez, D., & Navaza, J. (2003). Rheology of aqueous solutions of food additives Effect of concentration, temperatura and blending. *Journal of Food Engineering*, 56(4), 387-392.
- [101] Masuelli, M., & Illanes, C. (2014). Review of the characterization of sodium alginate by intrinsic viscosity measurements. Comparative analysis between conventional and single point methods. *International Journal of BioMaterials Science and Engineering*, 1(1), 1-11.
- [102] Leal, D., Matsuhiro, B., Rossi, M., & Caruso, F. (2008). FT-IR spectra of alginic acid block fractions in three species of brown seaweeds. *Carbohydrate Research*, 343(2), 308-316.
- [103] Hormaza, A., Figueroa, D., & Moreno, A. (2012). EVALUACIÓN DE LA REMOCIÓN DE UN COLORANTE AZO SOBRE TUZA DE MAÍZ MEDIANTE DISEÑO ESTADÍSTICO. *Revista de la Facultad de Ciencias*, 1(1), 61-71.
- [104] Yeung, T., Arroyo, I., McClements, D., & Sela, D. (2015). Microencapsulation of probiotics in hydrogel particles: enhancing *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* LM0230 viability using calcium alginate beads. *Food Funct*, 7(4), 1797-1804.

- [105] Lopes, T. (2016). DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE PARTÍCULAS À BASE DE BLENDA ENTRE SERICINA E ALGINATO PARA APLICAÇÃO AMBIENTAL. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química.
- [106] Fontes, G. (2013). MICROENCAPSULAMENTO DE PENICILINA G PARA TRATAMENTO PROFILÁTICO DA FEBRE REUMÁTICA. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Escola de Química.
- [107] Mendes, F. (2017). PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDOS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE PANCREATINA ENCAPSULADA EM DIFERENTES HIDROGÉIS. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Alfenas. Departamento de Química.
- [108] Algothmi, W., Murthy, N., Yu, Y., Shapter, J., & Ellis, A. (2013). Alginate-graphene oxide hybrid gel beads: An efficient copper adsorbent material. *Journal of Colloid and Interface Science*, 397, 32-38.
- [109] Wu, D., Zhao, J., Zhang, L., Wu, Q., & Yang, Y. (2010). Lanthanum adsorption using iron oxide loaded calcium alginate beads. *Hydrometallurgy*, 101(1-2), 76-83.
- [110] Kamnev, A., Shchelochkov, A., Perfiliev, Y., Tarantilis, P., & Polissiou, M. (2001). Spectroscopic investigation of indole-3-acetic acid interaction with iron(III). *Journal of Molecular Structure*, 563-564(1-3), 565-572.
- [111] Nayak, A., Pal, D., & Santra, K. (2015). Swelling and drug release behavior of metformin HCl-loaded tamarind seed polysaccharide-alginate beads. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 1023-1027.
- [112] Yang, J., Han, Y., Park, M., Park, T., Hwang, S., & Choy, J. (2007). New Inorganic-Based Drug Delivery System of Indole-3-Acetic Acid-Layered Metal Hydroxide Nanohybrids with Controlled Release Rate. *Chem. Mater.*, 19(10), 2679-2685.
- [113] González, N., El-Halah, A., Contreras, J., & Rojas, B. (2018). Estudio de la capacidad de absorción en hidrogeles semi-interpenetrados de poliacrilamida/poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalirato). *Rev. Colomb. Quim.*, 47(3), 5-12.
- [114] Sáez, V., Hernáez, E., & Sanz, L. (2004). MECANISMOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS DESDE MATERIALES POLÍMEROS. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 5(1), 55-70.
- [115] Aguilar, I. (2014). Preparación y evaluación en suelo de fertilizantes de liberación controlada (NPK) cubiertos con polímeros biodegradables. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia.
- [116] Ponce, L. (2012). "Determinación de pesticidas de carácter ácido en frutas y hortalizas mediante LC-MS/MS". Tesis de Maestría. Universidad de Almería.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: Modelos Cinéticos de Orden Cero y Primer Orden

Se describe mediante los siguientes gráficos, la cinética de liberación de la hormona AIA y su progreso en el tiempo respecto a los modelos de Orden Cero y Primer Orden, para las matrices M3 y M7; considerando los efectos de la modificación en la velocidad de agitación, cambio de temperatura, medio de liberación en agua y tamaño de preparación:

De la ecuación de Orden Cero:

$$Q_t = Q_0 + K_0 \times t \quad \dots \text{Ecuación VIII.1}$$

- VELOCIDAD DE AGITACIÓN

Se muestran las gráficas de este modelo cinético de liberación, para las matrices de alginato M3 y M7 cargada con la hormona ácido 1,3-indol acético a 130 rpm (para fines prácticos, los resultados de los coeficientes de Pearson a 200 rpm, se muestran directo en el Cuadro VIII.1).

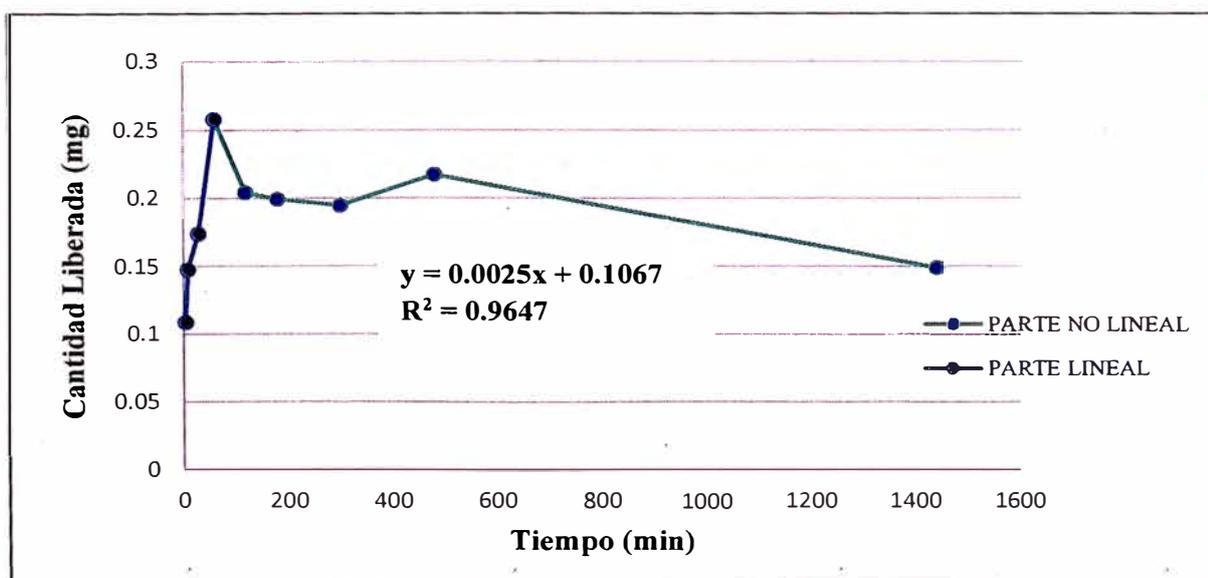


Figura VIII. 1. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M3 a 130 rpm

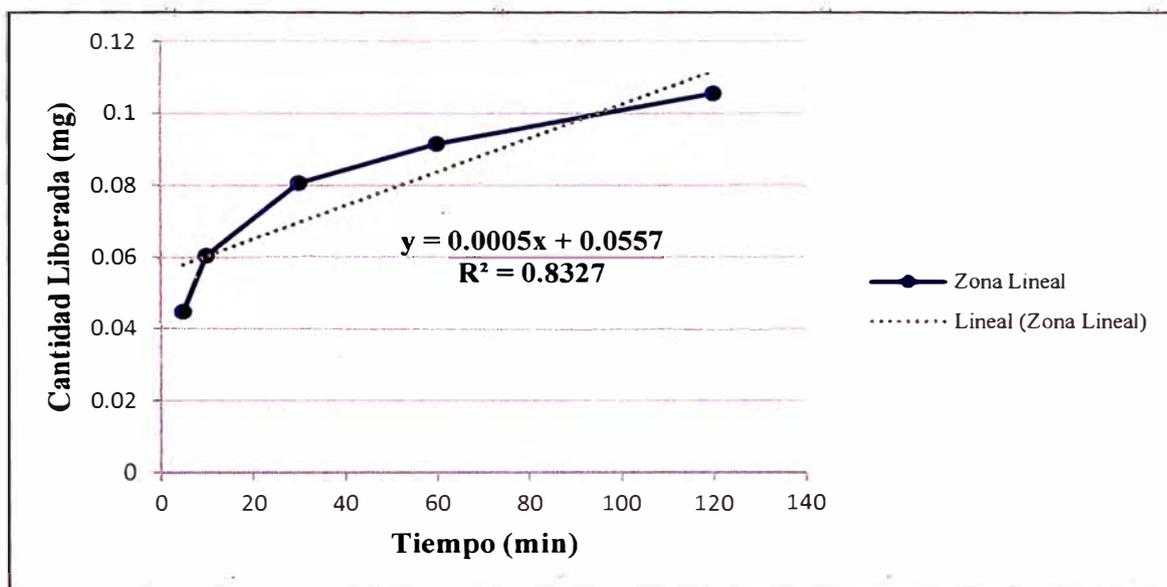


Figura VIII. 2. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M7 a 130 rpm

- MEDIO DE LIBERACIÓN

Se muestran las gráficas de este modelo cinético de liberación, para las matrices de alginato M3 y M7 cargada con la hormona ácido 1,3-indol acético a 130 rpm en agua.

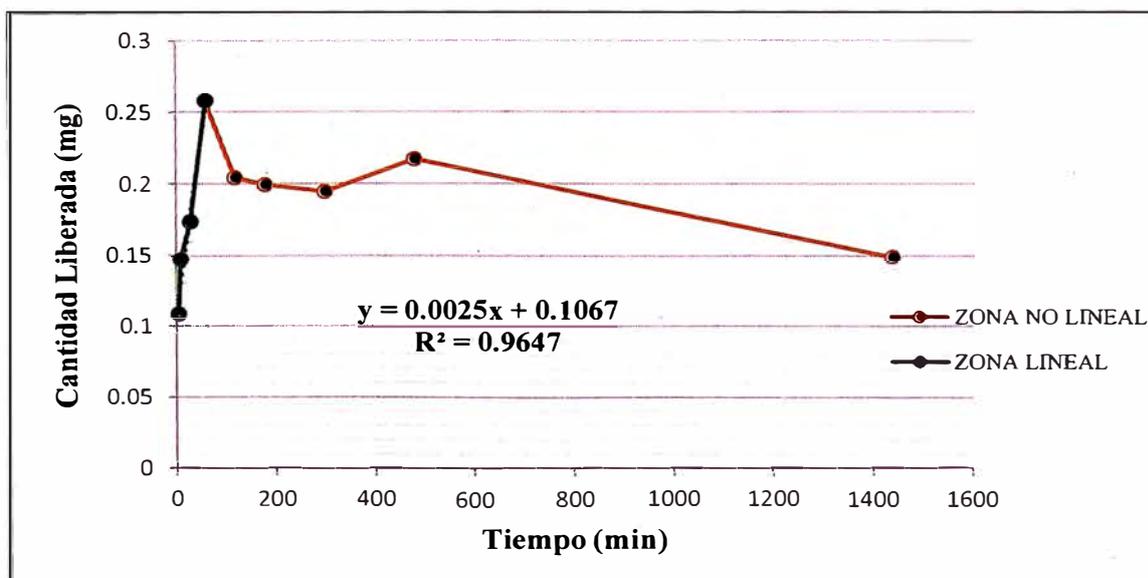


Figura VIII. 3. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M3 en agua

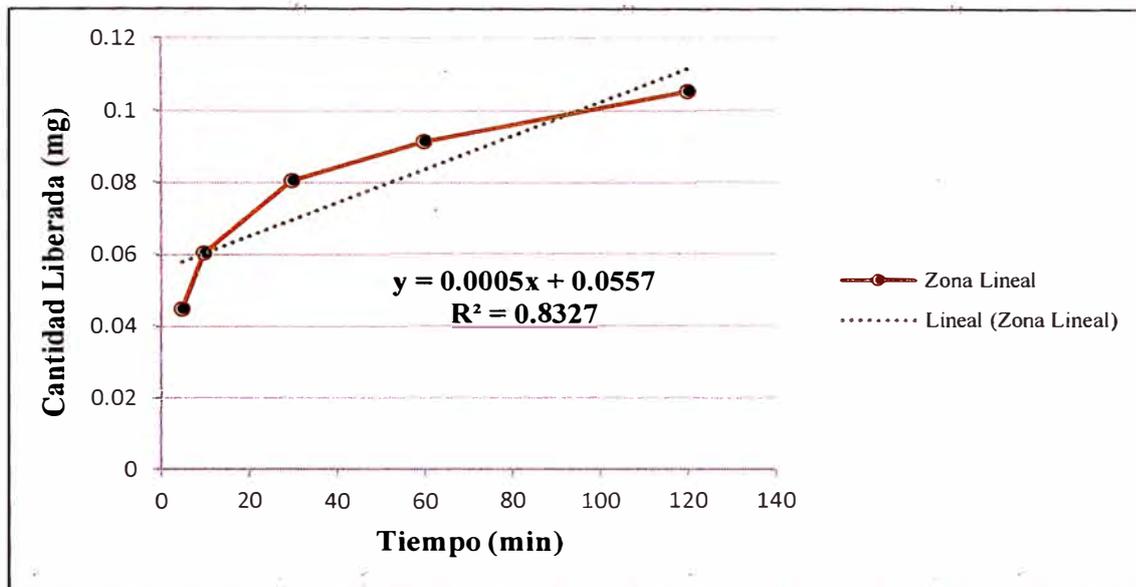


Figura VIII. 4. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M7 en agua

- TEMPERATURA

Las gráficas de este modelo cinético de liberación, para las matrices de alginato M3 y M7 cargada con la hormona ácido 1,3-indol acético a 15 °C, se muestran en seguida (los resultados de los coeficientes de Pearson a 25 °C, se manifiestan en el Cuadro VIII.1).

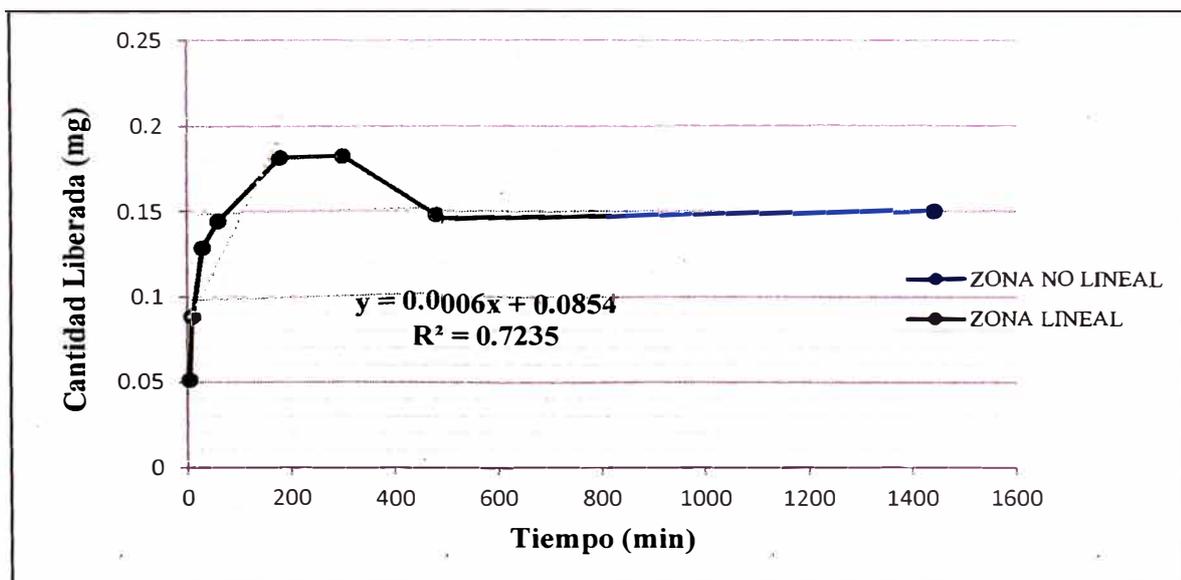


Figura VIII. 5. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M3 a 15 °C

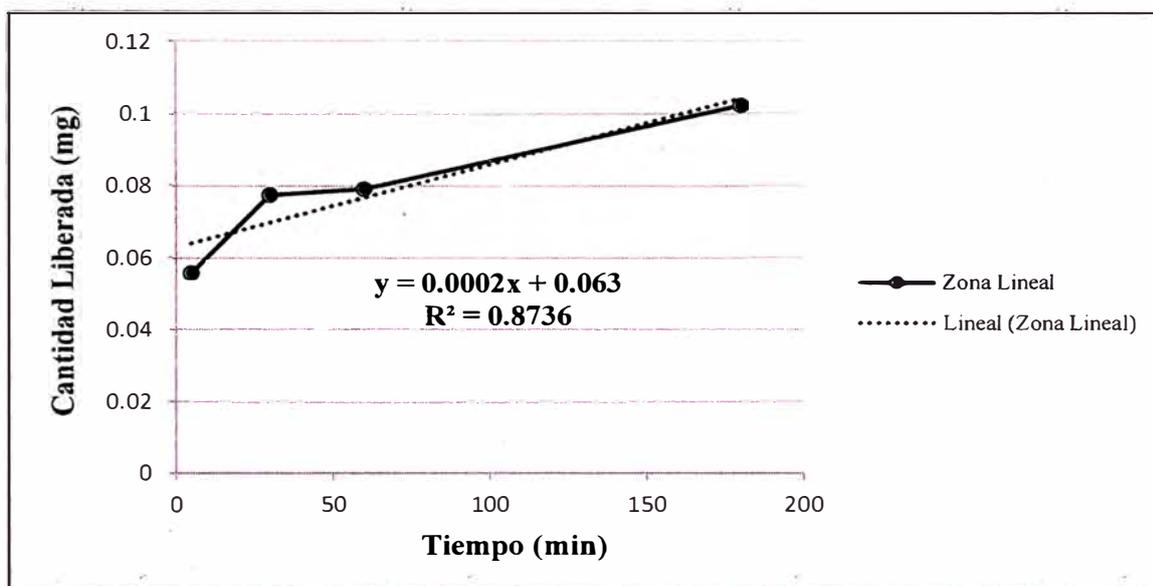


Figura VIII. 6. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M7 a 15 °C

- TIPO DE PREPARACIÓN

Para este modelo cinético de liberación, las gráficas son visualizadas para las matrices de alginato M3 y M7 cargada con la hormona ácido 1,3-indol acético mediante un tipo de preparación establecido (los resultados de los coeficientes de Pearson de la formación de partículas de menor tamaño, se observan en el Cuadro VIII.1).

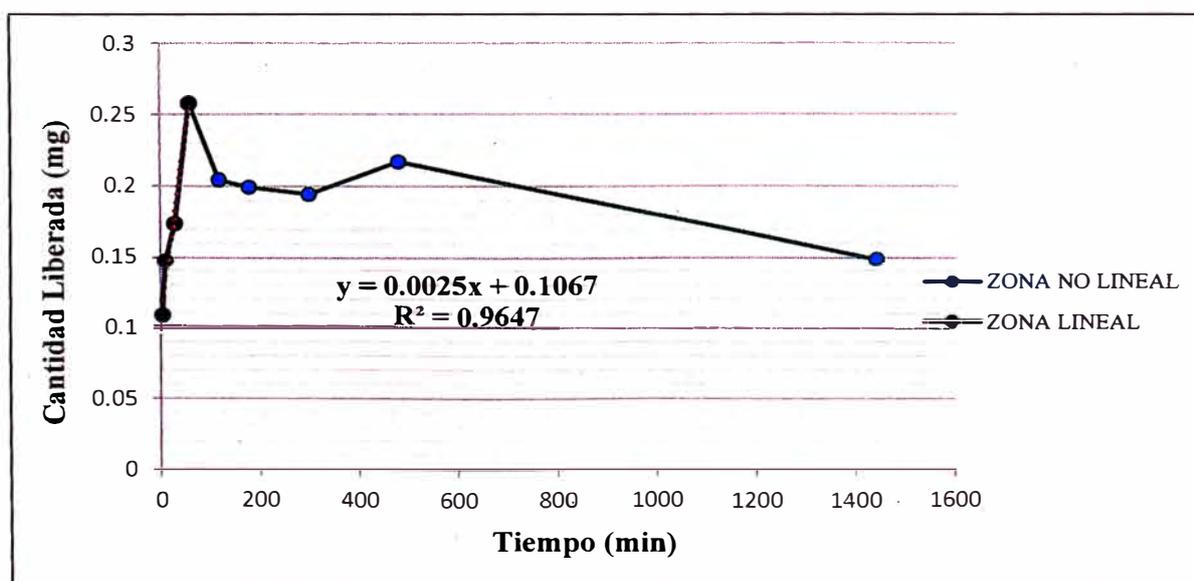


Figura VIII. 7. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M3 formación de partículas de mayor tamaño

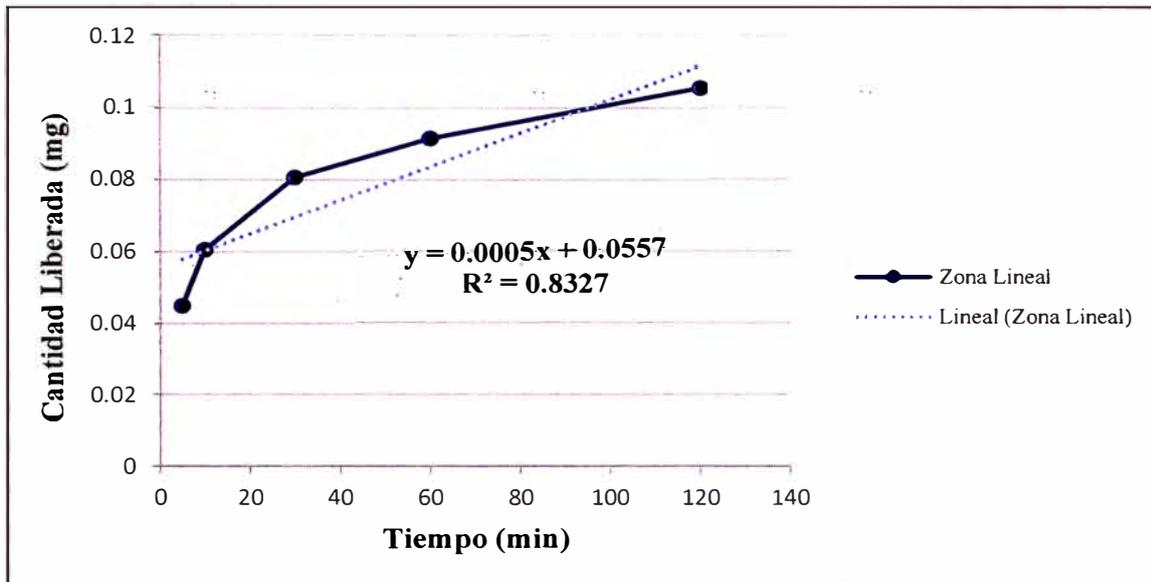


Figura VIII. 8. Modelo Lineal Q_t vs t para la matriz M7 formación de partículas de mayor tamaño

En el siguiente modelo, se tiene de la ecuación de Primer Orden:

$$\ln(Q_t) = \ln(Q_0) + K_1 \times t \quad \dots \text{Ecuación VIII.2}$$

- VELOCIDAD DE AGITACIÓN

Se muestra la gráfica del modelo cinético de liberación, para las matriz de alginato M3 cargada con la hormona ácido 1,3-indol acético a 130 rpm (para fines prácticos, los demás resultados de los coeficientes de Pearson, se ubican en el Cuadro VIII.2).

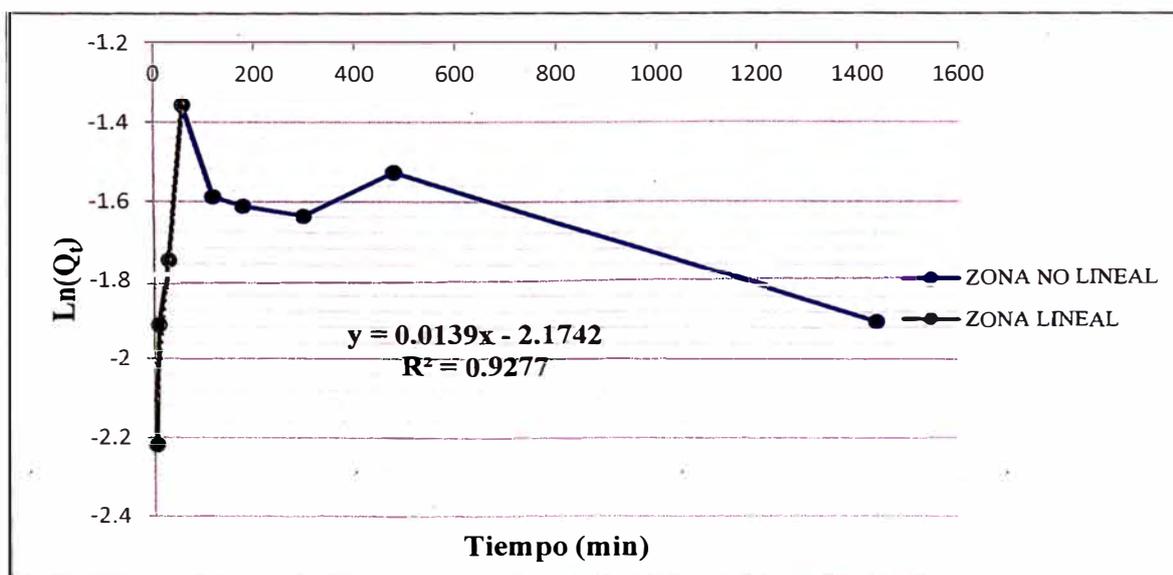


Figura VIII. 9. Modelo Lineal $\ln(Q_t)$ vs t para la matriz M3 a 130 rpm

- MEDIO DE LIBERACIÓN

Se observa la gráfica de la matriz de alginato M3 cargada con la hormona ácido 1,3-indol acético, para este modelo cinético en agua (los resultados de la matriz M7, se presentan en el Cuadro VIII.2).

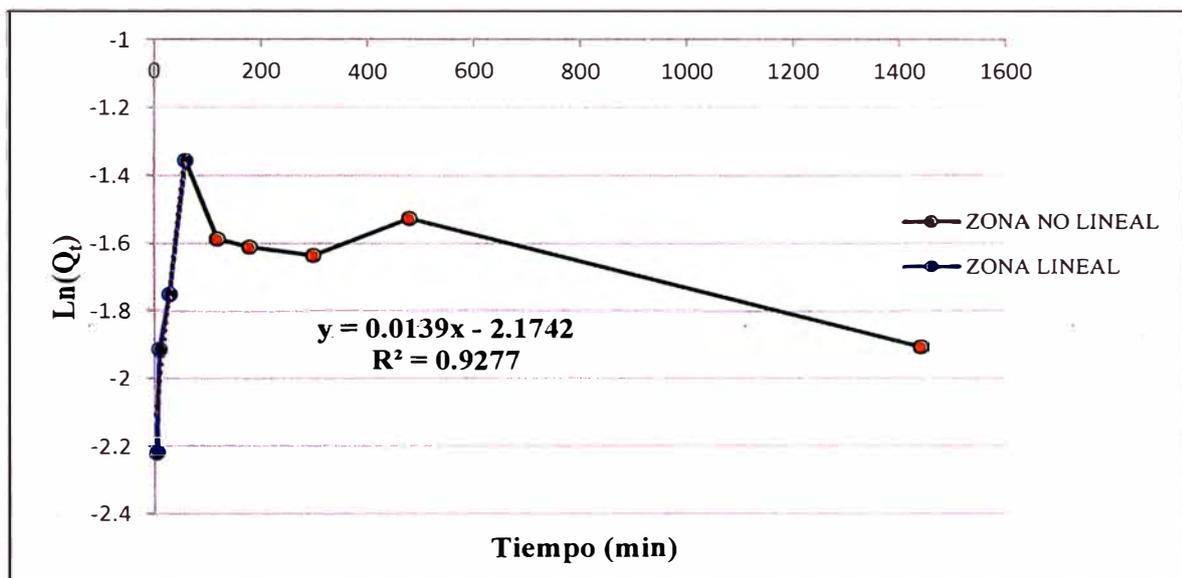


Figura VIII. 10. Modelo Lineal $\ln(Q_t)$ vs t para la matriz M3 en agua

- TEMPERATURA

La gráfica es para M3 cargada con la hormona AIA a 15 °C (los otros resultados de los coeficientes de Pearson, se manifiestan en el Cuadro VIII.2).

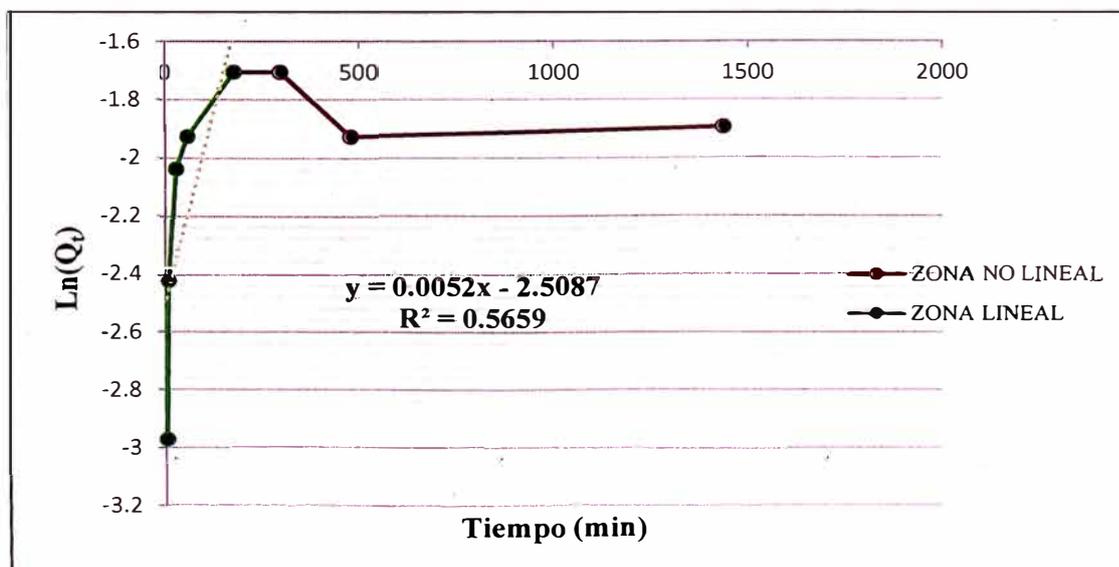


Figura VIII. 11. Modelo Lineal $\ln(Q_t)$ vs t para la matriz M3 a 15 °C

- TIPO DE PREPARACIÓN

Para este modelo cinético de liberación, la gráfica es para la matriz de alginato M3, cargada con la hormona AIA, mediante un tipo de preparación establecido (los otros resultados de los coeficientes de Pearson, se observan en el Cuadro VIII.2).

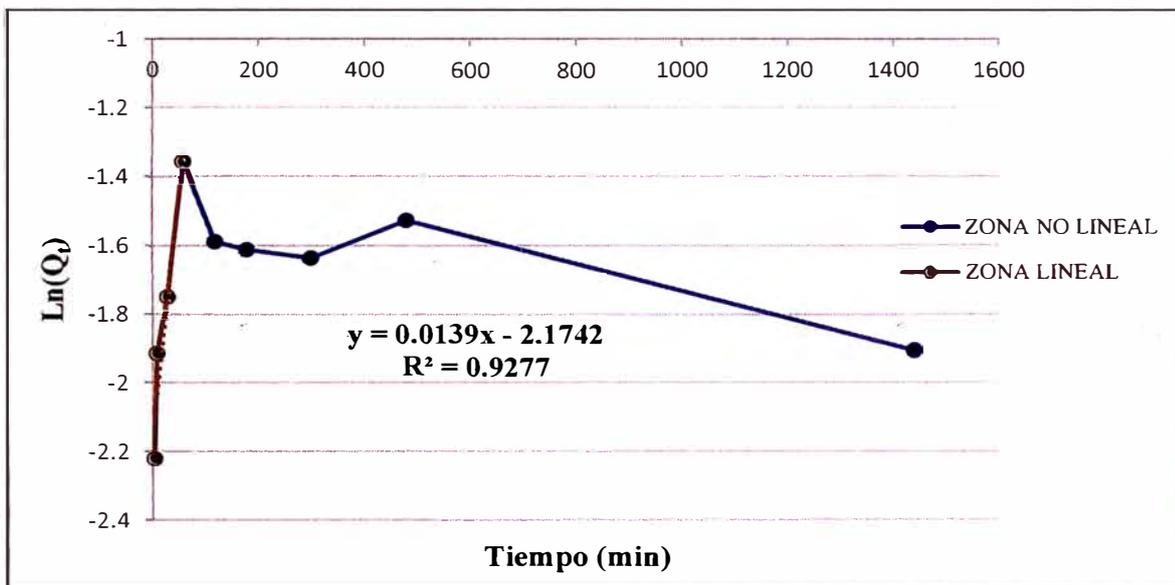


Figura VIII. 12. Modelo Lineal $\ln(Q_t)$ vs t para la matriz M3 formación de partículas de mayor tamaño

De toda la recopilación de gráficas, tanto para los modelos matemáticos de Orden Cero y Primer Orden, se hace un resumen de información en los cuadros VIII.1 y VIII.2, para poder discernir si se ajustan o no a la tendencia desarrollada de la cinética de liberación de la hormona ácido 1,3-indol acético a través del sistema polimérico.

Es importante tener en cuenta, que el estadístico de aceptación para este estudio, es el coeficiente de Pearson (R); el cual cumple con la condición de juzgar en un intervalo de confianza establecido, la probabilidad de que modelo se tiene que escoger como candidato para la explicación del mecanismo de liberación

A continuación se presentan ambos cuadros y al término de este se da una explicación detallada para los dos modelos de liberación:

Cuadro VIII. 1. Valores calculados de R de la Ecuación VIII.1 (Modelo Orden Cero) en la cinética de liberación *in vitro* de la hormona AIA bajo cuatro efectos y cantidades cargadas en la matriz de alginato

Parámetros de evaluación		Nombre de Matriz Polimérica	R
Velocidad de Agitación	130 rpm	M3	0.9822
	200 rpm	M3	0.8931
	130 rpm	M7	0.9125
	200 rpm	M7	0.7991
Medio de Liberación	Agua	M3	0.9822
	Agua	M7	0.9125
Temperatura	15°C	M3	0.8506
	25°C	M3	0.9998
	15°C	M7	0.9347
	25°C	M7	0.8040
Tipo de Preparación	Bureta	M3	0.9822
	Jeringa	M3	0.7690
	Bureta	M7	0.9125
	Jeringa	M7	0.9208

Es evidente apreciar que los valores de los coeficientes de Pearson (R), para el modelo de Orden Cero, son menores a 0.9 (dato mínimo establecido para poder evaluar la linealidad entre dos variables) en gran medida. Ello quiere decir que este modelo, no se ajusta al mecanismo de la cinética de liberación de la hormona AIA; era de esperarse, puesto que este modelo es básicamente ideal.

Cuadro.VIII. 2. Valores calculados de R de la Ecuación VIII.2 (Modelo Primer Orden) en la cinética de liberación *in vitro* de la hormona AIA bajo cuatro efectos y cantidades cargadas en la matriz de alginato

Parámetros de Evaluación		Nombre de Matriz Polimérica	R
Velocidad de Agitación	130 rpm	M3	0.9632
	200 rpm	M3	0.8454
	130 rpm	M7	0.8608
	200 rpm	M7	0.6961
Medio de Liberación	Agua	M3	0.9632
	Agua	M7	0.8608
Temperatura	15°C	M3	0.7523
	25°C	M3	0.9963
	15°C	M7	0.8943
	25°C	M7	0.7622
Tipo de Preparación	Bureta	M3	0.9632
	Jeringa	M3	0.7370
	Bureta	M7	0.8608
	Jeringa	M7	0.8582

Mientras que para el modelo de Primer Orden, los valores de R mantienen también una desviación respecto al valor mínimo de aceptación (0.9) de la linealidad. Por lo que se afirma que este modelo tampoco se ajusta a la tendencia de la cinética de liberación de la hormona AIA.