



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Medicina

Departamento de Estudios Avanzados

Maestría en Ciencias de la Salud

“Formulación y caracterización de la cinética de hinchamiento de hidrogeles de gelatina con inulina y fructooligosacáridos”

TESIS

Que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias de la Salud

Presenta:

Quetzali Salazar Mireles

Comité de Tutores

Director: Dra. en C. Ma. Victoria Domínguez García

Co-director: Ph. D. Miriam Verónica Flores Merino

Asesor: M. en CS. Halina Kean Galeno

Toluca, Estado de México

2021

ÍNDICE

	No. página
Resumen	4
Summary	5
1. Antecedentes	6
1.1. Hidrogeles	6
1.1.1. Propiedad de hinchamiento	6
1.1.1.1 Cinética de hinchamiento	7
1.1.2. Propiedad de insolubilidad en agua por entrecruzamiento	8
1.1.3. Aplicaciones de hidrogeles	9
1.2. Biopolímeros	9
1.2.1. Gelatina	10
1.2.1.1. Propiedades y aplicaciones de la gelatina	11
1.2.2. Fructanos	11
1.2.2.1. Inulina	14
1.2.2.2. Fructooligosacáridos	14
1.2.2.3. Intolerancia a fructanos	15
1.2.2.4. Propiedades y aplicaciones de los fructanos	16
2. Planteamiento del Problema	18
Pregunta de investigación	19
3. Hipótesis	20
4. Objetivos	21
5. Justificación	22
6. Material y Métodos	23
6.1. Diseño de estudio	23
6.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	23
6.3. Procedimientos	23
Síntesis del sistema polimérico de gelatina tipo B grado químico y grado alimenticio con inulina y fructooligosacáridos	23
Cinética de hinchamiento	24
Modelado Matemático de la cinética de hinchamiento de hidrogeles	25
6.4. Variables de Estudio	27
6.5. Implicaciones Bioéticas	30
6.6. Recolección de Datos	30
6.7. Análisis Estadístico	30
7. Discusión y conclusiones generales	32

8.	Referencias bibliográficas	33
9.	Anexos	39
9.1.	Carta de envío del artículo	39
9.2.	Resumen del artículo	41
9.3	Carta de aceptación de capítulo	42

Resumen:

Los hidrogeles son estructuras poliméricas con alto contenido de agua que pueden ser entrecruzados por medios físicos o químicos con otras sustancias y que pueden formar redes tridimensionales sintéticas o naturales. Una de las materias primas a partir de la cual se pueden sintetizar los hidrogeles es la gelatina, que es un biopolímero proveniente de la descomposición del colágeno.

Dentro de las propiedades de mayor importancia de los hidrogeles se encuentra su capacidad de hinchamiento, que se debe a la absorción de líquidos, provocando una dilatación del material y un aumento de volumen del hidrogel sin afectar su estructura original. El contenido de agua en éstos materiales modula gran parte de sus propiedades como permeabilidad, propiedades biológicas y mecánicas. Actualmente una de las aplicaciones de los hidrogeles es como vehículos de transporte de sustancias en sitios específicos del tracto gastrointestinal.

Actualmente, la Organización Mundial de la Salud ha detectado un incremento en las consecuencias adversas de los alimentos referentes a la microbiota intestinal, además de la prevalencia de intolerancias alimentarias, que desafortunadamente carecen de métodos de diagnóstico certeros.

Los fructanos son carbohidratos de reserva energética para las plantas, que debido a sus propiedades son utilizados como excipientes en la producción de alimentos.

Esta investigación expone la formulación y caracterización de la cinética de hinchamiento de hidrogeles de gelatina con fructanos del tipo inulina y fructooligosacáridos, con la expectativa de que en un futuro los hidrogeles sintetizados puedan ser utilizados como herramienta para el diagnóstico certero de intolerancia alimentaria debida a fructanos.

Summary:

Hydrogels are polymeric structures with a high water content that can be cross-linked by physical or chemical means with other substances and can form synthetic or natural three-dimensional networks. One of the main raw materials from which hydrogels can be synthesized is gelatin, which is a biopolymer derived from the degradation of collagen.

One of the most important properties of hydrogels is their swelling capacity, which is the result of the absorption of liquids, causing dilation of the material and an increase in the volume of the hydrogel without affecting its original structure. The water content in these materials modulates a significant number of their properties like permeability, mechanical and biological properties. Currently, one application of hydrogels is as vehicles for the transport of substances in specific sites of the gastrointestinal tract.

The World Health Organization has currently detected an increase in the adverse effects of foods on the intestinal microbiota and in the prevalence of food intolerances, which unfortunately lacks accurate diagnostic methods.

Fructans are energy reserve carbohydrates for plants, which due to their properties are used as excipients in food production.

This research presents the formulation and characterization of the swelling kinetics of gelatin hydrogels with fructans of the inulin and fructooligosaccharides type, with the expectation that in the future the synthesized hydrogels can be used as a tool for the accurate diagnosis of food intolerance related to fructans.

1. Antecedentes:

1.1. Hidrogeles

Los hidrogeles se describen como estructuras poliméricas entrecruzadas a manera de red tridimensional, de alto contenido en agua, que forman materiales de consistencia elástica y blanda, con una capacidad alta de absorción y que tienen la facultad de no disolverse en líquidos (1), la estructura de los hidrogeles se forma mediante la combinación de dos o más interacciones que pueden ser de diferentes tipos como covalente, fuerzas iónicas, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y entrelazamientos físicos de cadenas de polímeros individuales (2).

En estado seco un hidrogel se define como xerogel el cual es un material sólido completamente deshidratado que al estar en contacto con un disolvente tiene la capacidad de hincharse debido a la absorción de líquido. La absorción de agua que se hace muy visible con el hinchamiento del material, se debe a los grupos (-OH, -COOH, -CONH₂, -CONH, -SO₃H), los cuáles son hidrofílicos y permiten que las estructuras poliméricas se mantengan unidas (3).

Debido a su estructura polimérica, pueden ser entrecruzados por medios físicos o químicos con otras sustancias y se pueden formar redes tridimensionales sintéticas o naturales.

Los hidrogeles físicos son el resultado de interacciones iónicas y físicas, como los enlaces de hidrógeno, enlaces de coordinación, interacciones electrostáticas e hidrofobas (2,4), estos hidrogeles generalmente están reticulados para permitir el control de la velocidad de hinchamiento (5,6).

1.1.1. Propiedad de hinchamiento

El hinchamiento se debe a la capacidad de los polímeros de absorber líquidos (principalmente agua), debido al contacto. Durante éste proceso, se adopta una configuración elongada por las cadenas que dan estructura a la red polimérica, provocando una dilatación del material (3), así mismo, es apreciable un aumento en el volumen del hidrogel, sin afectar su estructura original. Al mismo tiempo, se genera una fuerza opuesta a la fase de hinchamiento, que se

desempeña como una presión retráctil que ejercen las cadenas de la red polimérica contra el disolvente.

1.1.1.1. Cinética de hinchamiento

La capacidad de retener considerables cantidades de agua en el interior de la estructura molecular de los hidrogeles es posible por la existencia de un equilibrio entre las fuerzas osmóticas y cohesivas presentes en su cadena polimérica. Únicamente tiene un aporte al hinchamiento aquel líquido que está interceptado dentro del hidrogel como líquido libre o asociado a la estructura por medio de alguna interacción molecular y no el que queda en la superficie. Además, el contenido de agua en estos materiales modula gran parte de sus propiedades, tales como permeabilidad, propiedades biológicas y mecánicas, las cuales influyen para su aplicación.

Durante el proceso cinético de hinchamiento de un hidrogel, se produce un estado estacionario, antes y después de las condiciones del gel cuando se ha producido un cambio de volumen como resultado de la exposición a un disolvente (7), se le conoce como hinchamiento en equilibrio de un hidrogel y éste logra su punto máximo cuando se alcanza un balance entre la fuerza ejercida por la red polimérica y la fuerza del disolvente (8). En este estado estacionario se mantiene la fracción en volumen de polímero en el gel hinchado que está en equilibrio con el disolvente (9) ejerciendo un control sobre el tiempo y el porcentaje de absorción del disolvente. El estado de equilibrio es característico de cada hidrogel ya que intervienen factores como el grado de polimerización, grupos funcionales, temperatura (8,10,11), entre otros; además es un proceso reversible y se puede hacer una diferenciación de hidrogeles considerando su estado de hinchamiento en equilibrio.

El uso de una ecuación matemática que describa la relación entre la absorción de agua en función del tiempo, es una herramienta útil para describir la cinética de hinchamiento de hidrogeles. El análisis matemático del hinchamiento de los hidrogeles se basa en las leyes de difusión y ganancia de masa húmeda entre el disolvente y las redes poliméricas. Un modelo que se ha aplicado ampliamente es la ley de Fick (12,13), aplicada a los estados iniciales de hinchamiento en función del logaritmo natural del tiempo hasta valores de hinchamiento inferiores a 0.60 para explicar el mecanismo de difusión que tiene lugar en el proceso de

hinchamiento de los hidrogeles y el modelo cinético de Schott (14), que considera la velocidad de hinchamiento y el equilibrio de hinchamiento del hidrogel.

Se han publicado algunos estudios que utilizan modelos matemáticos de hinchamiento de hidrogeles, por ejemplo, Erceg *et al.* (13), sintetiza hidrogeles de poli (acrilamida-co-ácido acrílico) y realizan ensayos de hinchamiento dinámico. Por otro lado, Swee *et al.* (12), describe el hinchamiento de hidrogeles compuestos por poli ácido acrílico y poli ácido aspártico. Ambos estudios utilizaron el modelo de Schott para describir el hinchamiento del hidrogel. También, Zhu *et al.* (1), desarrollaron un hidrogel de gelatina en presencia de transglutaminasa microbiana y utilizan el mismo modelo matemático de Schott.

No obstante, es importante destacar que algunos estudios implementan otros modelos matemáticos para describir el hinchamiento, como el trabajo de Yadav *et al.* (15), que estudiaron hidrogeles de gelatina y amilopectina con el modelo de Peleg. Este modelo es el más utilizado para describir el proceso de hidratación en los alimentos. Es un modelo de dos parámetros, cuya función describe el cambio continuo de la cinética de primer orden a la cinética de orden cero. En contraste, Blanco *et al.* (16), utilizaron un análisis matemático que compara entre el método de elementos finitos y el método de diferencias finitas para estudiar el hinchamiento de hidrogeles de poliacrilamida; Chen *et al.* (17), también utilizó el modelado por elementos finitos para describir el comportamiento de hinchamiento y secado de un hidrogel de gelatina-glicerol-agua para diferentes composiciones y describió el hinchamiento poroelástico utilizando teorías lineales y no lineales.

1.1.2. Propiedad de insolubilidad en agua por entrecruzamiento.

La insolubilidad en agua de los hidrogeles, se debe a su estructura de red tridimensional o malla, originada por enlaces de dos tipos químicos o físicos (3), que resultan en dos tipos de polímeros, los entrecruzados y los no entrecruzados, respectivamente. En los polímeros entrecruzados, la entrada de líquido no puede separar indefinidamente las cadenas de la malla polimérica debido a que presentan enlaces covalentes y se alcanza un límite o grado máximo de hinchamiento (18) provocando que el polímero sea insoluble en agua.

En contraste, en los polímeros no entrecruzados, la entrada de líquido puede separar las cadenas debido a que la unión se debe a fuerzas intermoleculares de Van der Waals y fuerzas electrostáticas. El hinchamiento de un polímero no entrecruzado, después de alcanzar un grado máximo de hinchamiento puede conducir a la disolución del polímero, debido a que la

incorporación progresiva de líquido puede vencer las fuerzas de origen físico que mantienen unida la estructura de hidrogel (18).

1.1.3. Aplicaciones de los hidrogeles

Actualmente los hidrogeles tienen aplicación en diversas áreas de la industria, debido a sus características físicas (densidad de entrecruzamiento, porosidad, resistencia mecánica, grado de hinchamiento, etc.). Una utilidad de interés para los hidrogeles se presenta en el área médica, debido a que se están estudiando para ser utilizados en diversas aplicaciones como andamios en ingeniería de tejidos, biomateriales adhesivos para la cicatrización de heridas, membranas para la reconstrucción de órganos (19), como encapsulador y posteriormente como vehículo para la administración controlada de sustancias con efectos fisiológicos como pueden ser: antagonistas de fármacos, antibióticos, anticonceptivos, anticoagulantes, anticuerpos, antineoplásicos, etc. (20–23).

1.2. Biopolímeros

Los biopolímeros son moléculas poliméricas naturales producidos por fuentes biológicas como pueden ser microorganismos, plantas, algas y hongos (24). Actualmente, existen diversos métodos para producir biopolímeros que generalmente consisten en un proceso de extracción seguida de síntesis y pueden incluir procesos de filtración, granulación, hidrólisis, esterificación, policondensación, oxidación y deshidratación (25).

Los biopolímeros se utilizan en numerosas aplicaciones industriales como son el envasado de productos alimenticios, cosméticos y medicamentos (26); así mismo, algunos biopolímeros también se han utilizado en aplicaciones médicas (27,28). Estas aplicaciones pueden tener requerimientos específicos de biocompatibilidad, biodegradabilidad, sensibilidad a los cambios de pH y temperatura y a los cambios del medio físico y químico (29).

Los biopolímeros se pueden clasificar ampliamente en tres categorías según sus unidades monoméricas y su estructura (25):

- Polinucleótidos: ADN (ácido desoxirribonucleico) y ARN (ácido ribonucleico).
- Polisacáridos: celulosa, quitosano, quitina, etc.
- Polipéptidos: colágeno, gelatina, gluten, suero, etc.

Los biopolímeros también se pueden categorizar por su fuente de origen (animal, vegetal o microbiano), por su biodegradabilidad, por sus propiedades o aplicaciones.

1.2.1. Gelatina

La gelatina es un biopolímero que proviene del colágeno, la proteína más abundante en los seres humanos y el componente principal de la matriz extracelular de muchos tejidos (6). Se obtiene de la descomposición de la estructura terciaria y cuaternaria del colágeno por hidrólisis parcial y puede tener un peso molecular promedio entre 65 a 300 kDa (30).

La gelatina es una proteína lineal compuesta de una secuencia repetitiva de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos. Se compone principalmente de glicina, prolina, hidroxiprolina, alanina, arginina y ácido glutámico (31,32).

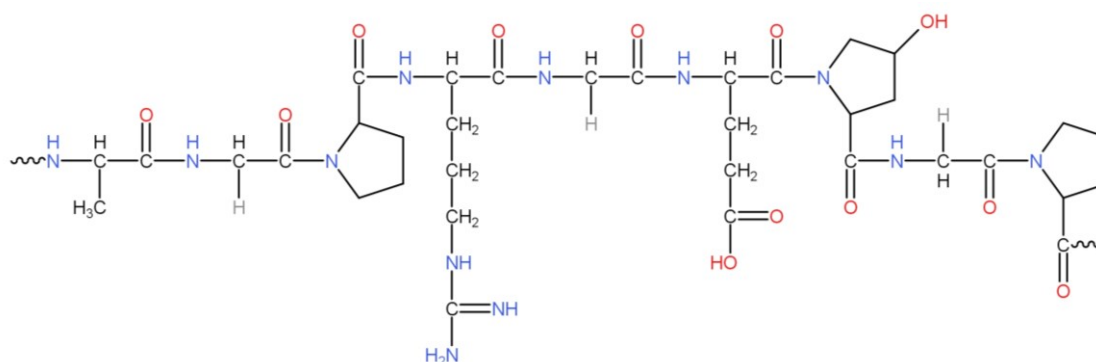


Figura 1. Estructura primaria de una gelatina con los aminoácidos previamente mencionados. (Imagen original, autor).

Debido al uso y comercialización industrial, la gelatina se extrae normalmente de materias primas con alto contenido de colágeno como la piel de cerdo o huesos y pieles de bovino (31). Se pueden obtener dos tipos diferentes de gelatina mediante el tratamiento del colágeno: la gelatina tipo A, que es el resultado de un tratamiento con un ácido y tiene un punto isoeléctrico (IEP) entre 8 y 9; y la gelatina tipo B que es el resultado de un acondicionamiento de la materia prima en una solución alcalina y tiene un IEP entre 4.8 y 5.4 (19).

1.2.1.1. Propiedades y aplicaciones de la gelatina

La gelatina tiene una longitud variable de cientos de aminoácidos, que habitualmente se ajustan entre sí, de tal forma que a temperatura ambiente cada cadena se une a varias otras a través de interacciones intermoleculares en una formación llamada matriz compleja triple. Estas cadenas de gelatina tienen átomos de hidrógeno unidos a sus lados y estas ramas de hidrógeno debido a su afinidad pueden unirse débilmente con el agua a través de enlaces de hidrógeno. Sin embargo, cuando la gelatina se calienta, estos enlaces entre las cadenas ceden y se separan, convirtiendo la sustancia química en un líquido (estado sol). A medida que el agua se enfría, se ralentiza hasta que se puede restablecer el enlace uniendo el agua a la cadena de gelatina formando un sólido (estado gel).

La utilidad de la gelatina se basa en la combinación de sus propiedades de transición reversible de gel a sol en soluciones de agua, la formación de películas, permeabilidad al agua, la capacidad para actuar como coloide protector y para productos gelificantes, además de su insolubilidad en agua fría pero completa solubilidad en agua tibia (33).

Algunas de las aplicaciones de la gelatina son como hidrogeles, principalmente en la industria alimentaria, como agente estabilizador y / o emulsionante, y en la formulación de películas y recubrimientos para conservar los alimentos (24,34), lo anterior es gracias a determinadas características que posee la gelatina, ya que también es un polímero no tóxico, es biodegradable, de bajo costo, no inmunogénico y soluble en agua (11).

Estudios recientes sobre hidrogeles a base de gelatina aptos para aplicaciones médicas (35), destacan por la incorporación de otros materiales y el uso de agentes reticulantes y se están utilizando para la liberación de sustancias y principios activos (15).

1.2.2. Fructanos

Los fructanos son polisacáridos no reductores, conformados por cadenas largas de moléculas de fructosa ligadas químicamente por enlaces glicosídicos fructosa-fructosa, y que a su vez son parte del reservorio energético en un amplio margen del reino vegetal. Entre los principales fructanos destacan la inulina y sus derivados (oligofructosa o

fructooligosacáridos). Dentro de los polisacáridos no estructurales, los fructanos ocupan el segundo lugar de abundancia en la naturaleza, después del almidón y están presentes en muchas especies de plantas del género *Cichorium* sp., *Allium* spp., y *Cynara* sp.; en hongos del género *Aspergillus* sp., y en bacterias del género *Erwinia* sp., *Zymomonas* sp. y *Bacillus* sp., entre otros (36).

Los fructanos se pueden encontrar de manera lineal, ramificada o cíclica, lo cual depende si su origen es vegetal o microbiano (37), además se definen de acuerdo al grado de polimerización máxima y al grado de polimerización promedio (38). El grado de polimerización y la posible aparición de ramificaciones vienen siendo importantes propiedades que inciden en la función de los fructanos, cuando el fructano se conforma entre 2 y 10 moléculas de fructosa se le denomina oligosacárido o fructooligosacárido, mientras que un fructano con más de 10 moléculas de fructosa es llamado inulina.

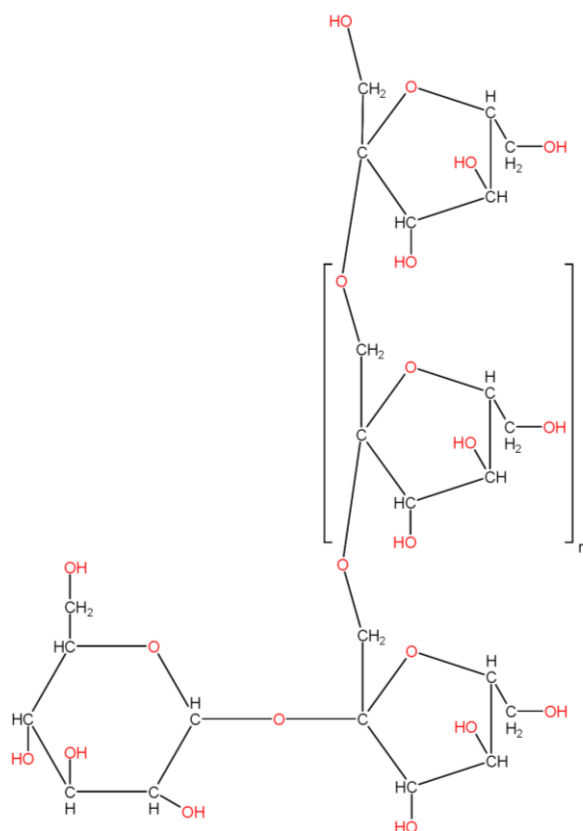


Figura 2. Estructura general de los fructanos, n - grado de polimerización de cada tipo de fructano. (Imagen original, autor).

Las plantas que almacenan fructanos se estiman en 40 000 especies y pueden contenerlos en raíces, bulbos, hojas o tubérculos. A continuación se presentan las especies más representativas de vegetales productores de fructanos, Tabla 1:

Tabla 1. Principales especies vegetales productoras de fructanos (37).

Especie representativa	Fructano
Alcachofa común (<i>Cynara scolymus</i>) Chicorea (<i>Cichorium spp.</i>) Tupinambos (<i>Helianthus tuberosus</i>)	Inulina lineal
Cebolla (<i>Allium cepa</i>) Espárrago (<i>Asparagus officinalis</i>) Agaves (<i>Agave spp</i>)	Inulina ramificada
"Pasto ovilla" (<i>Dactylis glomerata</i>) Cebada (<i>Hordeum vulgare</i>) Trigo (<i>Triticum spp</i>)	Levanos

Adicionalmente, una mayor diversidad de microorganismos tiene la capacidad de sintetizar fructanos, comprendiendo bacterias propias del tracto intestinal de mamíferos y patógenos de plantas. Distintas especies de bacterias sobresalen como microorganismos productores de fructanos, Tabla 2:

Tabla 2. Principales especies de microorganismos productoras de fructanos (37).

Gram Positivas	Gram Negativas	Mohos
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Zymomonas mobilis</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Bacillus circulans</i>	<i>Erwinia herbicola</i>	<i>Aureobasidium</i>
<i>Bacillus polymyxa</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>Calviceps</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>P. syringae pv phaseolicola</i>	<i>Fusarium</i>
	<i>Acetobacter diazotrophicus</i>	<i>Phytophthora</i>

En el humano no se puede llevar a cabo la hidrólisis de los fructanos por las enzimas digestivas presentes en la saliva y el estómago, por lo que atraviesan intactos el tracto gastrointestinal en su parte superior (38). Sin embargo, sólo es en la parte inferior del tracto

gastrointestinal, intestino grueso y colon, en donde las bacterias tienen la capacidad de hidrolizarlos y fermentarlos en su totalidad dando como resultado que los fructanos se comporten como fibra dietética (39).

1.2.2.1. Inulina

Un carbohidrato no digerible es la inulina, la cual está constituida por moléculas de fructosa unidas por enlaces β -(2 \rightarrow 1) fructosil-fructosa, teniendo un número importante de ramificaciones β -(2 \rightarrow 6) y está presente en diversas frutas, vegetales, y cereales (38).

Actualmente en la industria, la inulina se muestra como polvo blanco, inoloro y con sabor neutro. Su fuente principal es la raíz de achicoria (*Cichorium intybus*) (38), a partir de dicha materia prima de origen vegetal se obtienen inulinas con valores no mayores a 200 en su grado de polimerización y éstas son usadas en alimentos funcionales. Si estas inulinas se someten a una hidrólisis parcial se pueden obtener fructooligosacáridos u oligofructósidos, con un grado de polimerización por definición menor a 10. Adicionalmente, la inulina contiene azúcares libres (sacarosa, glucosa y fructosa), lo que le proporciona cierto dulzor (considerando a la sacarosa como un 100% de dulzor, en comparación, la inulina sólo proporcionaría el 10% de dulzor) (36) y se ofrece como alimento que contiene pocas calorías (< 2 kcal / g) (37). La inulina de alta pureza presenta menor solubilidad, a causa de una ausencia de azúcares libres casi en la totalidad de su composición (0.5 % de materia seca).

1.2.2.2. Fructooligosacáridos

Los oligofructosacáridos, oligofructosas, fructooligosacáridos o FOS por su abreviatura, son carbohidratos que contienen en su estructura una molécula de glucosa y de 2 a 4 de fructosa unidas entre sí por enlaces glucosídicos β (2 \rightarrow 1), fructosil-fructosas que pueden estar unidos o no unidas a una sacarosa terminal (40). Estos compuestos suelen identificarse debido a que son de cadena corta con un grado de polimerización de 2 a 10 monómeros de fructosa, lo cual le confiere una propiedad resistente a la hidrólisis enzimática en el aparato digestivo humano. Debido a esta propiedad de ser oligosacáridos no digestibles se denominan prebióticos (41).

Actualmente existen diferentes especies de plantas en donde se pueden encontrar los FOS de forma natural como son: agave (*Agave* spp.), yuca (*Smallanthus sonchifolius*), alcachofas

(*Helianthus tuberosus*), cebolla (*Allium cepa*) y ajo (*Allium sativum*) (37). Por otra parte, los FOS también se pueden obtener mediante la hidrólisis enzimática de la inulina presente en mayor proporción en achicoria (*Cichorium intybus*) y raíces de la planta de ornato llamada Dalia (*Dalia imperialis*) (38).

1.2.2.3. Intolerancia a fructanos

Debido a su composición estructural, el destino de los fructanos no absorbidos en el intestino es el colon, en dónde llegan a fermentarse y generan un efecto osmótico que provoca el movimiento de agua hacia la luz intestinal, a su vez, modificando la motilidad y acelerando el tránsito (42), produciendo síntomas gastrointestinales como hinchazón, espasmos abdominales, gases, dolor de estómago o incluso diarrea (43); no obstante también se presentan algunas manifestaciones generalizadas como pueden ser dolores musculares o de articulaciones, el cansancio físico y dificultad en la concentración.

En el ámbito clínico la absorción inadecuada de los fructanos ha recibido interés en los estudios de consumo de alimentos y bajo esta premisa, se ha optado por la creación de una dieta que promueva la fácil digestión y elimina toda sustancia nociva para el organismo de los pacientes, controlando el consumo de alimentos del tipo “oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos y polioles fermentables” (44,45), denominados FODMAP (por sus siglas en inglés), ya que se sabe que tienen un complejo proceso de digestión e inclusive puede llegar a ocurrir una asimilación inadecuada, además de sobrealimentar a las bacterias de la microbiota intestinal que llevan a cabo su fermentación (46), dando lugar a todos los síntomas. Lo anterior, se trata de un cuadro clínico que según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (ONUAA o más conocida como FAO, por sus siglas en inglés: *Food and Agriculture Organization*), ha aumentado considerablemente entre la población, sin embargo, aún hay dudas acerca de su diagnóstico y tratamiento, así como de los mecanismos fisiopatológicos involucrados.

La dificultad para el diagnóstico de intolerancia a fructanos reside en que la única prueba aplicada para determinar el efecto de una dieta alta en fructanos es el test de hidrógeno espirado utilizando fructosa (42). Si se obtiene un resultado positivo en ese test, se sugiere que ocurre la fermentación de fructosa no absorbida por parte de las bacterias en el colon, lo anterior debido a mala digestión, tránsito acelerado o ineficiente proceso de absorción, sin

embargo aún se carece de consenso sobre la dosis de fructosa administrada y de los parámetros de corte, además se cuestiona la reproducibilidad del test, lo cual dificulta la interpretación y afecta la credibilidad de la prueba. Adicionalmente, no existen biomarcadores validados para diagnosticar de manera puntual la sensibilidad o intolerancia a sustancias específicas en alimentos como son los fructanos (47,48).

1.2.2.4. Propiedades y aplicaciones de los fructanos

La propiedad de la inulina y de los fructanos derivados más extensivamente estudiada es su comportamiento como prebiótico, éstos se definen como componentes alimenticios que no se digieren y que influyen de manera positiva al hospedero estimulando de manera selectiva la actividad y/o el crecimiento de una cantidad acotada bacterias en el colon (49,50). Una vez que los fructanos llegan al colon, cepas bacterianas pueden fermentarlos produciendo ácidos grasos de cadena corta (42). Estos últimos promueven de forma selectiva el crecimiento de bacterias beneficiosas de la mucosa colorrectal del tipo bifidobacterias (41) y lactobacilos y como efecto opuesto la minimización de otras especies que pueden afectar el estado de bienestar (por ejemplo: *E. coli* y bacterias de la especie *Clostridium spp.*) (51).

Adicionalmente, se considera que los alimentos que contienen algún ingrediente con actividad beneficiosa selectiva y que sumado a su valor nutricional conceden un impacto fisiológico adicional, se les denomina alimentos funcionales (50). Entre otras propiedades beneficiosas de los fructanos hacia la salud, se contemplan el refuerzo de las funciones inmunológicas (52), favorecimiento al metabolismo de las grasas y de la respuesta glicémica y la mejora de la biodisponibilidad de minerales (53).

En la industria alimentaria los fructanos, principalmente la inulina, se utilizan ampliamente como ingredientes espesantes, emulsificantes, depresores del punto de congelación y sustituto de endulzantes y lípidos (54). En la industria química-farmacéutica y de procesamiento son usados como excipientes, aditivos, agentes coadyuvantes (55,56) retienen agua y estabilizan geles (57) formados a partir de efecto mecánico o térmico (58).

En el área médica, existen recientes estudios que utilizan fructanos producidos por microorganismos para su aplicación como alternativa de biomateriales de recubrimiento (59,60) y se han desarrollado algunos hidrogeles de inulina para su uso como portadores potenciales para el direccionamiento de sustancias hacia el colon (61), los hidrogeles de

inulina se han diseñado en combinación con sustancias como la soya (62) y el alginato de sodio. Hajaratul *et al.* (63), produjeron hidrogeles de alginato de sodio e inulina por el método de gelificación ionotrópica para encapsular albúmina de suero bovino (BSA), y se estudió el hinchamiento y la estabilidad de los hidrogeles en el fluido gastrointestinal simulado. Además, Tarone et al. (64), investigaron los efectos de los fructooligosacáridos (FOS) y la inulina con diferentes grados de polimerización en las propiedades reológicas, físicas y microestructurales de los sistemas estructurados a base de pectina y su rendimiento como matrices de encapsulación de polifenoles.

2. Planteamiento del Problema:

De acuerdo a la FAO y la OMS, los cambios en el consumo de alimentos, el aumento de enfermedades inflamatorias y síndromes intestinales, incluidas las infecciones, así como el síndrome del intestino irritable, ha originado el surgimiento de nuevas vías de investigación en alimentos y alternativas para examinar los aspectos funcionales y alteraciones de la microbiota intestinal relativos al efecto de los alimentos.

La ausencia de investigaciones o técnicas a nivel internacional sobre la metodología y pruebas específicas para el diagnóstico de intolerancia a los fructanos, ha promovido que se utilicen empíricamente encuestas sobre frecuencia de alimentos consumidos con las cuales se realizan suposiciones a partir de los resultados obtenidos. No existe un procedimiento que garantice la identificación del o de los fructanos involucrados en la intolerancia y tampoco existe estadística relativa a dicha intolerancia o de los efectos adversos.

En la actualidad, diversos estudios se han enfocado en examinar la evidencia científica sobre los aspectos funcionales del uso de hidrogeles de gelatina como contenedores de medicamentos u otras sustancias para su liberación en sitios específicos, por ejemplo, en la liberación de sustancias en el tracto gastrointestinal, donde son bien tolerados cuando son administrados por vía oral a los pacientes.

Derivado a lo anterior, surgió la propuesta de formular y caracterizar un hidrogel de gelatina con fructanos del tipo inulina y fructooligosacáridos y hacer la descripción de la cinética de hinchamiento de estos hidrogeles, encausado a establecer las características de un hidrogel que un futuro facilite una segura administración vía oral a pacientes con intolerancia alimentaria a fructanos (inulina, fructooligosacáridos). Con esta técnica se podría identificar qué fructano es el causante de los síntomas y signos de la intolerancia alimentaria.

En esta investigación, se sintetizaron hidrogeles de gelatina con los fructanos inulina y fructooligosacáridos a partir de sustratos grado químico y grado alimenticio y se estudió la cinética de hinchamiento de los tipos de hidrogeles sintetizados.

Pregunta investigación:

¿Existe diferencia entre la cinética de hinchamiento del hidrogel de gelatina grado químico y la cinética de hinchamiento del hidrogel de gelatina grado alimenticio si se incorpora un fructano del tipo inulina o si se incorpora un fructano del tipo fructooligosacárido?

3. Hipótesis:

Hipótesis alterna:

Existe diferencia entre la cinética de hinchamiento del hidrogel de gelatina grado químico y la cinética de hinchamiento del hidrogel de gelatina grado alimenticio, cuando se incorpora un fructano del tipo inulina o cuando se incorpora un fructano del tipo fructooligosacárido.

Hipótesis nula:

No existe diferencia entre la cinética de hinchamiento del hidrogel de gelatina grado químico y la cinética de hinchamiento del hidrogel de gelatina grado alimenticio, cuando se incorpora un fructano del tipo inulina o cuando se incorpora un fructano del tipo fructooligosacárido.

4. Objetivos:

General:

Sintetizar un hidrogel de gelatina tipo B grado químico y un hidrogel de gelatina grado alimenticio con inulina y fructooligosacáridos y caracterizar su cinética de hinchamiento.

Específicos:

Incorporar inulina y fructooligosacáridos en un hidrogel de gelatina tipo B grado químico y grado alimenticio.

Describir las características del hidrogel a través de la cinética de hinchamiento.

Comparar las características del hidrogel de gelatina tipo B grado químico contra la gelatina tipo B grado alimenticio.

5. Justificación:

Actualmente, el conocimiento sobre los hábitos de alimentación tiene una trascendencia en salud debido a que proporcionan la información necesaria para la creación de herramientas que permitan contrarrestar los problemas de nutrición en la población. Cabe mencionar que los cambios de consumo de alimentos ha provocado el aumento de enfermedades inflamatorias y alteraciones en la microbiota intestinal. Un padecimiento que se ha identificado es la intolerancia alimentaria, sin embargo, aún carece de pruebas diagnósticas para determinar la intolerancia a sustancias específicas presentes en alimentos como lo son los fructanos.

Lo anterior ha promovido la búsqueda de alternativas con fundamento científico que garanticen la identificación de las sustancias que alteran la función intestinal. Una opción reciente es el uso de hidrogeles como vehículos de transporte de sustancias para evaluar la respuesta en sitios específicos del tracto gastrointestinal, donde son bien tolerados cuando son administrados por vía oral a los pacientes.

Con base en lo anterior, en esta investigación se expone la elaboración de un hidrogel de gelatina con fructanos y se describen sus características de cinética de hinchamiento con la expectativa de que en un futuro estos hidrogeles podrían ser bien caracterizados y utilizados como herramienta para el diagnóstico certero de intolerancia alimentaria específica debida a fructanos.

6. Material y Métodos:

6.1. Diseño de Estudio

Tipo de estudio: Estudio experimental básico.

Universo: No aplica por el tipo de estudio.

Método de muestreo: No aplica por el tipo de estudio.

Tamaño de muestra: Se sintetizaron por triplicado hidrogeles con diferente tipo de fructano: inulina o fructooligosacáridos grado químico y grado alimenticio, en una solución de gelatina grado alimenticio y grado químico. Se establecieron 9 tiempos de muestreo y se obtuvo una muestra de 27 elementos para cada hidrogel.

6.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

No aplican por el tipo de estudio.

6.3. Procedimientos

1. Síntesis del sistema polimérico de gelatina tipo B grado químico y grado alimenticio con inulina y fructooligosacáridos grado químico y grado alimenticio.
2. Cinética de hinchamiento de hidrogeles.
3. Modelado matemático de la cinética de hinchamiento de hidrogeles.

Síntesis del sistema polimérico de gelatina tipo B grado químico y grado alimenticio con inulina y fructooligosacáridos

Todos los productos se adquirieron en la presentación en polvo. La gelatina tipo B grado químico (gelatina con pureza apta para aplicaciones de cultivo celular) se obtuvo del laboratorio Sigma Aldrich–Merck®, México. Se adquirió gelatina de grado alimenticio (gelatina con pureza apta para consumo) sin sabor de la marca comercial Deiman®, México. La inulina y los fructooligosacáridos (FOS) grado químico fueron productos comercializados

por Chem Cruz®, México. La inulina y FOS grado alimenticio se utilizaron de la marca comercial Oro de agave® comercializada en México.

Para obtener los hidrogeles se utilizó agua destilada como disolvente. El agua destilada se calentó en baño maría hasta llegar a una temperatura de 70° C. Posteriormente, se mezclaron 0.3 g de gelatina en polvo con 3 ml de agua destilada, para obtener una mezcla homogénea. La mezcla se agitó de forma constante con ayuda de un vórtex, posteriormente se agregaron 0.9 g de fructano en polvo y una vez más se colocó en baño maría por 5 minutos y se continuó con la agitación con vórtex para asegurar la homogeneización de los componentes.

Posteriormente se transfirieron 350 µl de la mezcla en un molde de silicón y se dejaron reposar durante 60 minutos a 25° C para su polimerización final, transcurrido el tiempo, con ayuda de una espátula se extrajeron del molde y se almacenaron en cajas Petri de vidrio a temperatura ambiente (~ 25° C). Todos los hidrogeles fueron sintetizados bajo las mismas condiciones. En la Tabla 1 se exponen los compuestos de los hidrogeles sintetizados y la nomenclatura que se utilizó para identificar cada hidrogel.

Tabla 3. Hidrogeles sintetizados a partir de gelatina, inulina y FOS.

Hidrogel	Grado de gelatina	Grado de fructano	Tipo de fructano
GelB-InQ	Químico	Químico	Inulina
GelAl-InQ	Alimenticio		
GelB-InAl	Químico	Alimenticio	
GelAl-InAl	Alimenticio		
GelB-FOSQ	Químico	Químico	FOS
GelAl-FOSQ	Alimenticio		
GelB-FOSAl	Químico	Alimenticio	
GelAl-FOSAl	Alimenticio		

Cinética de hinchamiento

Los hidrogeles se colocaron en un desecador y cada 24 horas se monitoreo el peso de cada uno de ellos. En el día 5 se observó que los hidrogeles mantuvieron un peso constante que corresponde a un estado completo de deshidratación conocido como xerogel. Posteriormente se retiraron del desecador y se registró el peso seco de cada xerogel.

A continuación se procedió a realizar el ensayo de cinética de hinchamiento, en el paso inicial, los xerogeles se colocaron en cajas Petri de vidrio, se adicionaron 25 ml de agua

destilada a temperatura ambiente, el ensayo de hinchamiento se llevó a cabo por triplicado para cada hidrogel.

Para registrar los datos de la cinética de hinchamiento, los hidrogeles se retiraron del agua destilada, se secaron superficialmente con papel absorbente, se realizó un registro gravimétrico y se volvieron a colocar en el agua destilada, éste proceso se repitió a partir del inicio del ensayo y transcurridos los 8, 16, 32, 64, 128 y 256 minutos y posteriormente a las 24, 48 y 72 horas. Se calcularon el porcentaje de hinchamiento de los hidrogeles (% H) y la relación de hinchamiento (W) a través de las siguientes ecuaciones (65,66) de proporción de hinchamiento(67) y porcentaje:

$$W = \frac{M_{húmeda} - M_{seca}}{M_{seca}} \quad (1)$$

$$\% H = W \times 100 \quad (2)$$

Modelado matemático de la cinética de hinchamiento de hidrogeles

La propiedad de hinchamiento juega un papel importante en la síntesis y caracterización de un hidrogel. De acuerdo a la literatura, para un análisis cinético simple se utiliza el modelo de cinética de Schott (10), el cuál propone que la difusión del solvente y la relajación de las macromoléculas controlan la velocidad de hinchamiento del gel (14), con base en esto, se plantea que los hidrogeles exhiben una velocidad de hinchamiento que se apega a lo contemplado en la siguiente ley.

$$\frac{dW}{dt} = k (W_{eq} - W)^2 \quad (3)$$

En donde:

W es la cantidad de solvente absorbido a un tiempo t , W_{eq} es el hinchamiento máximo cuando el hidrogel alcanza el equilibrio, y k es la constante cinética de hinchamiento.

Para realizar el modelado teórico del hinchamiento de hidrogeles a partir de los datos experimentales obtenidos, se retomó la Ecuación 3 descrita previamente y se integró entre los

límites de la condición inicial: $W = 0$ en un tiempo ($t = 0$) y $W = W_{eq}$, para llegar a la siguiente ecuación (14):

$$\frac{t}{W} = A + B t \quad (4)$$

En donde A es el recíproco de la velocidad de hinchamiento en una etapa inicial y B es la inversa del máximo hinchamiento en equilibrio (11).

$$A = \frac{1}{k (W_{eq})^2} \quad (5)$$

$$B = \frac{1}{W_{eq}} \quad (6)$$

Y para determinar los valores de A y B fue necesario graficar la proporción t / W contra el tiempo t . De tal forma que A es la ordenada al origen y B es la pendiente de cada curva en el gráfico.

Como procedimiento siguiente, el mecanismo de hinchamiento de los hidrogeles se determinó utilizando la siguiente ecuación:

$$W = \frac{M_{húmeda} - M_{seca}}{M_{seca}} = kt^n \quad (7)$$

En donde W es la proporción de hinchamiento en el tiempo t , $M_{húmeda}$ es el peso de los hidrogeles hinchados en el tiempo t y M_{seca} es el peso de los hidrogeles secos en el tiempo $t = 0$, k es la constante de hinchamiento que depende de la estructura de la red del polímero y n es el exponente de hinchamiento, que indica el mecanismo de transporte de agua.

La ecuación anterior se usó para estimar el valor n usando el 60 % de los valores de hinchamiento W (10,68), para obtener el valor de n , se graficó la relación entre $\ln W$ contra $\ln t$ y la pendiente de las líneas rectas obtenidas da el valor del exponente de hinchamiento n .

6.4. Variables de Estudio

Independientes:

Grado de gelatina.

Tipo de fructano.

Grado de fructano.

Tiempo de hinchamiento del hidrogel.

Dependientes:

Porcentaje de hinchamiento del hidrogel.

Intervinientes:

No aplican por el tipo de estudio.

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis Estadísticos
Grado de gelatina.	<p>Polvo transparente, insaboro e incoloro derivado de la hidrólisis del colágeno. Está clasificada como un producto alimenticio o producto de grado químico para la industria farmacéutica.</p> <p>Agente para la síntesis de redes poliméricas.</p>	<p>Tipo de gelatina utilizada para sintetizar hidrogeles y realizar la comparación entre gelatina grado químico caracterizada por su alto grado de pureza, apta para aplicaciones de cultivo celular y gelatina grado alimenticio con calidad para consumo.</p>	Cualitativa	Nominal	Descriptiva
Tipo de fructano.	<p>Polímeros de fructosa, tienen diferentes estructuras y longitudes de cadena, también difieren en el tipo de enlace entre las unidades de fructosa adyacentes y la posición de los residuos de glucosa. Se distinguen por el valor de su polimerización, los fructooligosacáridos son fructanos con un grado de polimerización de 2 a 10 y los que van de arriba de 10 a cientos de unidades de fructosa son del tipo inulina.</p>	<p>Tipo de fructano utilizado para sintetizar hidrogeles y realizar la comparación entre hidrogeles de inulina e hidrogeles de fructooligosacáridos.</p>	Cualitativa	Nominal	Descriptiva

Grado de fructano.	Polvo blanquecino de gusto dulce con capacidad de formar geles en presencia de agua. Se produce en la industria para ser utilizados con alimentos o con un grado de purificación adicional en la industria química.	Calidad del fructano utilizado para sintetizar hidrogeles y realizar la comparación entre fructanos grado químico caracterizado por su alto grado de pureza y fructanos grado alimenticio con calidad para consumo.	Cualitativa	Nominal	Descriptiva
Tiempo de hinchamiento del hidrogel.	Periodo durante el cual se realizan procedimientos ordenados y metódicos, que deben ser llevados a cabo para la realización exitosa de procedimientos de laboratorio	Duración total del periodo especificado para la obtención de muestras para medir el porcentaje de hinchamiento de hidrogeles.	Cuantitativa, continua.	Razón	Descriptiva
Porcentaje de hinchamiento del hidrogel.	La absorción de líquido por una estructura polimérica que se encuentra en estado vítreo y ocasiona un considerable incremento en la movilidad a nivel macromolecular, expresado en porcentaje.	Capacidad de incorporar agua en la estructura del hidrogel de gelatina.	Cuantitativa, continua.	Razón	Porcentaje, promedio, DE, ANOVA, Levene y Bonferroni.

6.5. Implicaciones Bioéticas

Todos los estudios fueron realizados bajo la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 que establece la “Clasificación y especificaciones de manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos”.

Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Centro de Investigación en Ciencias Médicas de la Universidad Autónoma del Estado de México (número de registro 2019/12) y se consideró una investigación sin riesgo debido a su carácter de estudio experimental básico.

6.6. Recolección de Datos

Se realizó una recolección de datos crudos de las variables de la investigación y con ellos se construyeron tablas para su análisis.

Los instrumentos de medición fueron previamente calibrados antes de su utilización de acuerdo a lo que se requirió en la metodología.

La magnitud de las variables de estudio, se expresó de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades (SI).

6.7. Análisis Estadísticos

Los datos obtenidos del registro de cinética de hinchamiento se analizaron por medio del software Origin Pro versión 9.0. A los porcentajes de hinchamiento calculados a partir de los datos obtenidos en cada uno de los ensayos, se les calculó la media y desviación estándar. Se construyeron las gráficas de cinética de la media de hinchamiento para cada hidrogel respetando los tiempos establecidos en el ensayo. Posteriormente, se efectuó un test de normalidad Shapiro-Wilks, con un valor de significancia de $\alpha = 0.05$.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con $\alpha = 0.05$, para identificar las diferencias entre los hidrogeles sintetizados. Los resultados obtenidos de la prueba revelan una diferencia significativa entre los porcentajes medios de hinchamiento de los hidrogeles.

Además, se realizó la prueba de Levene para evaluar la homogeneidad de las varianzas a un valor de significancia de $\alpha = 0.05$.

Finalmente, para identificar entre cuáles hidrogeles se mostraron diferencias, se aplicó la prueba de Bonferroni con $\alpha = 0.05$.

7. Discusión y conclusiones generales.

Los porcentajes de hinchamiento de los hidrogeles sintetizados presentaron una magnitud similar entre el análisis de cinética y el modelado matemático de la cinética aplicando las leyes de Fick y el modelo de Shott. En ambos ensayos coincidió que el hidrogel de mayor hinchamiento fue el de gelatina b con inulina grado alimenticio y el hidrogel de menor hinchamiento fue el de gelatina b con fructooligosacárido grado químico. Se destacó que los hidrogeles con inulina tuvieron un hinchamiento mayor que los hidrogeles con fructooligosacáridos.

El tipo de gelatina utilizado ya fuese grado químico o grado alimenticio no influyó en el porcentaje de hinchamiento alcanzado por los hidrogeles.

De la investigación plasmada en este documento se obtuvo como producto un artículo científico de investigación original y el manuscrito fue enviado a la revista Journal of Biomedical Materials Research: Parte A (Anexo 9.1).

En el Anexo 9.2 se encuentra el resumen de la tesis en inglés.

Adicionalmente un producto del trabajo durante la maestría fue la escritura de un capítulo de libro titulado “Bondades clínicas del Romero (*Rosmarinus officinalis*)” para el libro “Principios activos de plantas usadas en la medicina tradicional mexicana”. Y será publicado en este año en forma electrónica en el repositorio institucional de la Universidad Autónoma del Estado de México (Anexo 9.3).

8. Referencias Bibliográficas

1. Zhu D, Jin L, Wang Y, Ren H. Comportamiento al hinchamiento de un hidrogel de base gelatina reticulada con transglutaminasa microbiana. *J aqei* [Internet]. 2012;63(2). Available from: <http://www.eei.upc.es/3web/catA3/journal/repo/2012/V63N2/esp/02.pdf>
2. Peppas NA, Hoffman AS. 1.3.2E Hydrogels. In: *Biomaterials Science (Fourth Edition), An Introduction to Materials in Medicine*. 2020. p. 153–66.
3. Katime Amashta IA, Katime Trabanca D, Katime Trabanca O. Los materiales inteligentes de este milenio los hidrogeles macromoleculares: síntesis, propiedades y aplicaciones. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*. 2005;335.
4. Djabourov M. Architecture of gelatin gels. *Contemp Phys*. 1988;29(3):273–97.
5. Safari J, Zarnegar Z. Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design A review. *J Saudi Chem Soc* [Internet]. 2014;18(2):85–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2012.12.009>
6. Foox M, Zilberman M. Drug delivery from gelatin-based systems. *Expert Opin Drug Deliv*. 2015;12(9):1547–63.
7. Porter TL, Stewart R, Reed J, Morton K. Models of hydrogel swelling with applications to hydration sensing. *Sensors*. 2007;7(9):1980–91.
8. Rogel-Hernández E, Licea-Claverie A, Cornejo-Bravo JM, Arndt K-F. Preparación de hidrogeles anfífilicos sensibles a diferentes valores de pH utilizando monómeros ácidos con espaciadores hidrofóbicos. *Rev la Soc Química México*. 2003;47(3):251–7.
9. Flory PJ, Rehner J. Statistical mechanics of cross-linked polymer networks II. Swelling. *J Chem Phys*. 1943;11(11):521–6.
10. Jayaramudu T, Ko HU, Kim HC, Kim JW, Kim J. Swelling behavior of polyacrylamide-cellulose nanocrystal hydrogels: Swelling kinetics, temperature, and pH effects. *Materials (Basel)*. 2019;12(13).
11. Pavaloiu RD, Stoica-Guzun A, Dobre T. Swelling studies of composite hydrogels based on bacterial cellulose and gelatin. *UPB Sci Bull Ser B Chem Mater Sci*. 2015;77(1):53–62.
12. Lim SL, Tang WNH, Ooi CW, Chan ES, Tey BT. Rapid swelling and deswelling of semi-interpenetrating network poly(acrylic acid)/poly(aspartic acid) hydrogels prepared by freezing polymerization. *J Appl Polym Sci*. 2016;133(24):1–9.
13. Erceg T, Dapčević-Hadnađev T, Hadnađev M, Ristić I. Swelling kinetics and rheological behaviour of microwave synthesized poly(acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels.

- Colloid Polym Sci. 2021;299(1):11–23.
14. Schott H. Kinetics of swelling of polymers and their gels. *J Pharm Sci.* 1992;81(5):467–70.
 15. Yadav I, Shaw GS, Nayak SK, Banerjee I, Shaikh H, Al-Zahrani SM, et al. Gelatin and amylopectin-based phase-separated hydrogels: An in-depth analysis of the swelling, mechanical, electrical and drug release properties. *Iran Polym J (English Ed.* 2016;25(9):799–810.
 16. Blanco A, González G, Casanova E, Pirela ME, Briceño A. Mathematical Modeling of Hydrogels Swelling Based on the Finite Element Method. *Appl Math.* 2013;04(08):161–70.
 17. Piao Y, Chen B. Synthesis and mechanical properties of double cross-linked gelatin-graphene oxide hydrogels. *Int J Biol Macromol [Internet].* 2017;101:791–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.155>
 18. Sáez, V. Hernáez E. Liberación controlada de fármacos. Hidrogeles. *Rev Iberoam Polímeros.* 2003;4:21–91.
 19. Chato-Astrain J, Carriel V, Durand-Herrera D, García-García O, Sanchez-Porras D, Diaz-Ramos M, et al. Gelatin-crosslinked hydrogels for Tissue Engineering applications. A preliminar Study. *Actual Medica.* 2018;103(803):15–8.
 20. Vasile C, Pamfil D, Stoleru E, Baican M. New developments in medical applications of hybrid hydrogels containing natural polymers [Internet]. Vol. 25, *Molecules.* 2020. Available from: www.mdpi.com/journal/molecules
 21. Madduma-Bandarage USK, Madihally S V. Synthetic hydrogels: Synthesis, novel trends, and applications. *J Appl Polym Sci.* 2021;138(19):1–23.
 22. Hunt JA, Chen R, Van Veen T, Bryan N. Hydrogels for tissue engineering and regenerative medicine. *J Mater Chem B [Internet].* 2014;2(33):5319–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1039/C4TB00775A>
 23. Zhao X, Lang Q, Yildirim L, Lin ZY, Cui W, Annabi N, et al. Photocrosslinkable Gelatin Hydrogel for Epidermal Tissue Engineering. *Adv Healthc Mater.* 2016;5(1):108–18.
 24. Molina AB, Flórez-Castillo JM. Biopolímeros como sistemas de bioencapsulación. *ResearchgateNet [Internet].* 2020;(August). Available from: https://www.researchgate.net/profile/Jm_Florez-Castillo2/publication/343452469_Biopolimeros_como_sistemas_de_bioencapsulacion/links/5f31a0ca299bf13404b70e7d/Biopolimeros-como-sistemas-de-bioencapsulacion.pdf

25. Matmatch. Biopolymers: Properties, Processing, and Applications - Matmatch [Internet]. 2020 [cited 2021 Mar 29]. Available from: <https://matmatch.com/learn/material/biopolymers>
26. Sivakanthan S, Rajendran S, Gamage A, Madhujith T, Mani S. Antioxidant and antimicrobial applications of biopolymers: A review. *Food Res Int* [Internet]. 2020;136:109327. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109327>
27. Ambekar RS, Kandasubramanian B. Progress in the Advancement of Porous Biopolymer Scaffold: Tissue Engineering Application. *Ind Eng Chem Res*. 2019;58(16):6163–94.
28. Rojas Cortés MG, Vallejo Díaz BM, Perilla J. Biopolymers as materials for developing products in pharmaceutical applications and biomedical uses. *Ing e Investig* [Internet]. 2010 [cited 2021 Feb 24];28(1):57–71. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-56092008000100007
29. Díez-Pascual AM. Synthesis and applications of biopolymer composites. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 [cited 2021 May 29];20(9). Available from: www.mdpi.com/journal/ijms
30. Juher TF, Pérez EB. Revisión de los efectos beneficiosos de la ingesta de colágeno hidrolizado sobre la salud osteoarticular y el envejecimiento dérmico. *Nutr Hosp*. 2015;32:62–6.
31. Bello AB, Kim D, Kim D, Park H, Lee SH. Engineering and functionalization of gelatin biomaterials: From cell culture to medical applications. *Tissue Eng - Part B Rev*. 2020;26(2):164–80.
32. García Chávez R, María A, Martínez M. Estudio de las propiedades morfológicas y reológicas de una red híbrida de polímeros sintetizada a partir de tres biopolímeros: gelatina/quitosan/dextran. *Rev Iberoam Polímeros Vol Iberoam Polím*. 2010;11(112):88–109.
33. Keenan TR. Gelatin. In: *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, 10 Volume Set. 2012. p. 237–47.
34. Liu D, Nikoo M, Boran G, Zhou P, Regenstein JM. Collagen and Gelatin. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2015;6(1):527–57.
35. Aldana AA, Abraham GA. Current advances in electrospun gelatin-based scaffolds for tissue engineering applications. *Int J Pharm* [Internet]. 2017;523(2):441–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.09.044>
36. Stephen AM, Phillips GO, Williams PA. *Food Polysaccharides and Their Applications: Second Edition*. Food Polysaccharides and Their Applications: Second Edition. 2016. 1–

733 p.

37. Olvera C, Castillo E, López-Munguía A. Fructosiltransferasas, fructanas y fructosa. *Biotecnología*. 2007;14(January):327–46.
38. Madrigal L, Sangronis E. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. Vol. 57, *Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición*. Caracas, Venezuela; 2007.
39. de Vries J, Le Bourgot C, Calame W, Respondek F. Effects of β -fructans fiber on bowel function: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2019;11(1):1–17.
40. Kang S, You HJ, Lee YG, Jeong Y, Johnston T V., Baek NI, et al. Production, structural characterization, and in vitro assessment of the prebiotic potential of butyl-fructooligosaccharides. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2020 Mar 11];21(2). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31936703>
41. Illanes A. Alimentos funcionales y biotecnología. *Rev Colomb Biotecnol*. 2015;17(1):5–8.
42. Man F, Bustos Fernández LM. Síndrome de intestino irritable: ¿Un trastorno funcional? *Acta Gastroenterol Latinoam*. 2013;43(4):321–34.
43. Arasa Panisello F, García-Tornel Florensa S. Intolerancias alimentarias más comunes. *Offarm* [Internet]. 2010;29(05):91–9. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-intolerancias-alimentarias-mas-comunes-13155633>
44. Fedewa A, Rao SSC. Dietary fructose intolerance, fructan intolerance and FODMAPs. *Curr Gastroenterol Rep*. 2014;16(1).
45. Wilder-Smith CH, Olesen SS, Materna A, Drewes AM. Predictors of response to a low-FODMAP diet in patients with functional gastrointestinal disorders and lactose or fructose intolerance. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017;45(8):1094–106.
46. Zugasti Murillo A. Intolerancia alimentaria. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2009;56(5):241–50. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1575-0922\(09\)71407-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1575-0922(09)71407-X)
47. FAO E, OMS E. Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. *Estud FAO Aliment y Nutr* [Internet]. 2006;85:52. Available from: <file:///C:/Users/Acer/Documents/paty/homework1/PROBIOTICOS OPS 2006.pdf>
48. Hermiyanty, Wandira Ayu Bertin DS. La alimentación en México. Un estudio a partir de la encuesta nacional de ingresos y gastos de los hogares y de las hojas de balance alimenticio de la FAO. *J Chem Inf Model*. 2017;8(9):1–58.
49. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. Guías

- Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos [Internet]. World Gastroenterology Organisation. 2017. p. 35. Available from: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2017.pdf>
50. Wilson B, Whelan K. Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017;32:64–8.
 51. Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, Gibson GR, Rastall RA. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2019;16(10):605–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41575-019-0173-3>
 52. Gupta N, Jangid AK, Pooja D, Kulhari H. Inulin: A novel and stretchy polysaccharide tool for biomedical and nutritional applications. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2019;132:852–63. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.188>
 53. NIH | National Library of Medicines. Inulin | C228H382O191 - PubChem [Internet]. Internet | NIH Chemicals Database. [cited 2021 Feb 21]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24763>
 54. Park JK, Khan T. Other microbial polysaccharides: Pullulan, scleroglucan, elsinan, levan, alternant, dextran [Internet]. *Handbook of Hydrocolloids: Second Edition*. Woodhead Publishing Limited; 2009 [cited 2020 Mar 6]. 592–614 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1533/9781845695873.592>
 55. Bersaneti GT, Baldo C, Colabone Celligoi MAP. Immobilization of Levansucrase: Strategies and biotechnological applications. *J Chil Chem Soc*. 2019;64(1):4377–81.
 56. Moosavi-Nasab M, Layegh B, Aminlari L, Hashemi MB. Microbial production of levan using date syrup and investigation of its properties. *Int J Nutr Food Eng World Acad Sci Eng Technol* [Internet]. 2010;44(8):1248–54. Available from: <http://waset.org/publications/2614/microbial-production-of-levan-using-date-syrup-and-investigation-of-its-properties>
 57. Kip P, Meyer D, Jellema RH. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. *Int Dairy J*. 2006;16(9):1098–103.
 58. Kim Y, Faqih MN, Wang SS. Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydr Polym*. 2001;46(2):135–45.
 59. Bondarenko OM, Ivask A, Kahru A, Vija H, Titma T, Visnapuu M, et al. Bacterial polysaccharide levan as stabilizing, non-toxic and functional coating material for

- microelement-nanoparticles. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2015 Sep 30 [cited 2020 Mar 6];136:710–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.093>
60. Gomes TD, Caridade SG, Sousa MP, Azevedo S, Kandur MY, Öner ET, et al. Adhesive free-standing multilayer films containing sulfated levan for biomedical applications. *Acta Biomater*. 2018 Mar 15;69:183–95.
 61. Afinjuomo F, Fouladian P, Parikh A, Barclay TG, Song Y, Garg S. Preparation and characterization of oxidized inulin hydrogel for controlled drug delivery. *Pharmaceutics* [Internet]. 2019;11(7). Available from: www.mdpi.com/journal/pharmaceutics
 62. Florowska A, Hilal A, Florowski T, Wroniak M. Addition of Selected Plant-Derived Proteins as Modifiers of Inulin Hydrogels Properties. *Foods*. 2020;9(7).
 63. Hajaratul Najwa M, Norsyazwani Solehah N. Encapsulation of protein within alginate-inulin matrix for targeted drug delivery system. *J Phys Conf Ser*. 2020;1532(1).
 64. Tarone AG, Silva EK, Betim Cazarin CB, Marostica Junior MR. Inulin/fructooligosaccharides/pectin-based structured systems: Promising encapsulating matrices of polyphenols recovered from jabuticaba peel. *Food Hydrocoll* [Internet]. 2021;111(June):106387. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106387>
 65. Unagolla JM, Jayasuriya AC. Drug transport mechanisms and in vitro release kinetics of vancomycin encapsulated chitosan-alginate polyelectrolyte microparticles as a controlled drug delivery system. *Eur J Pharm Sci* [Internet]. 2018;114(September 2017):199–209. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.12.012>
 66. Fitrah N, Nan C, Zainuddin N, Ahmad M. Preparation and swelling study of CMC hydrogel as potential superabsorbent. *Sci Technol*. 2019;(January).
 67. Kipcak AS, Ismail O, Doymaz I, Piskin S. Good paper for swelling studies and swelling models Modeling and Investigation of the Swelling Kinetics of Acrylamide-Sodium Acrylate Hydrogel. *J Chem*. 2014;2014.
 68. Moghaddam MP, Abdi H, Javidi MH. Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A Review. *Computer (Long Beach Calif)*. 2008;7(5):41–8.

9. Anexos:

9.1 Carta de envío del artículo

← Manuscript submitted to Journal of Biomedical Materials Research: Part A - JBMR-A-21-0677, Author's Copy



JBMR-A Editorial <onbehalfof@manuscriptcentral.com>

Lun 25/10/2021 11:14 PM

Para: Usted; qsalazarm551@alumno.uaemex.mx

CC: Usted; qsalazarm551@alumno.uaemex.mx; mvfloresm@uaemex.mx; hkeang@uaemex.mx; mvdominguezg@uaemex.mx

26-Oct-2021

Manuscript number: JBMR-A-21-0677

Dear Dr. Salazar Mireles:

We are pleased to receive your manuscript entitled Formulation and swelling kinetics of gelatin hydrogels with inulin and fructooligosaccharides by Salazar Mireles, Quetzali; Flores-Meño, Miriam; Kean Galeno, Halina; Domínguez García, María Victoria. We will be sending it out for review shortly.

To track the progress of your manuscript through the editorial process using our new web-based system, simply point your browser to:

<https://mc.manuscriptcentral.com/jbmr-a>

and log in using the following user ID and password:

(User ID): bim_qsalazar@outlook.com

(Password): If you do not remember your password, please click on this link to set a new password https://mc.manuscriptcentral.com/jbmr-a?URL_MASK=27211e79f485426db7949cfa747e07ed

If you should have any specific deadlines directly related to this manuscript, please let us know as soon as possible.

Please remember in any future correspondence regarding this article to always include its manuscript ID number JBMR-A-21-0677.

This journal offers a number of license options, information about this is available here: <https://authorservices.wiley.com/author-resources/Journal-Authors/licensing/index.html>. All co-authors are required to confirm that they have the necessary rights to grant in the submission, including in light of each co-author's funder policies. For example, if you or one of your co-authors received funding from a member of Coalition S, you may need to check which licenses you are able to sign.

If you experience problems associated with the submission web site, please contact the Scholarone support staff directly using the Get Help Now link in the top right corner of the website.

Many thanks for submitting your manuscript.

Sincerely,

Journal of Biomedical Materials Research: Part A Editorial Office



**Formulation and swelling kinetics of gelatin hydrogels with
inulin and fructooligosaccharides**

Journal:	<i>Journal of Biomedical Materials Research: Part A</i>
Manuscript ID:	JBMR-A-21-0677
Wiley - Manuscript type:	Research Article
Date Submitted by the Author:	26-Oct-2021
Complete List of Authors:	Salazar Mireles, Quetzali; Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Flores-Merino, Miriam; Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química Kean Galeno, Halina; Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química Dominguez García, María Victoria; Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química
Keywords:	hydrogels, kinetics, gelatin, inulin, fructooligosaccharide

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19

**Formulation and swelling kinetics of gelatin hydrogels with inulin and
fructooligosaccharides**

Short title: Swelling kinetics of gelatin hydrogels

Quetzali Salazar Mireles¹, Miriam V. Flores- Merino², Halina Kean Galeno², Ma. Victoria
Dominguez García²

¹Facultad de Medicina. Universidad Autónoma del Estado de México.

²Facultad de Química. Universidad Autónoma del Estado de México.

qsalazarm551@alumno.uaemex.mx, mvfloresm@uaemex.mx, hkeang@uaemex.mx

*Correspondence author mvdominguezg@uaemex.mx

9.2 Resumen del artículo

Abstract

Hydrogels are materials that can incorporate different active agents into their structure. They are widely used in food, agricultural and biomedical industries. Therefore, this study reports the formulation and swelling kinetics of gelatin hydrogels with chemical and food-grade inulin and fructooligosaccharides fructans. The swelling kinetics was performed experimentally and theoretical information was analyzed by Schott's model. In the experimental results, the hydrogel with the highest degree of swelling was GelB-InAl (gelatin b and food inulin hydrogel, 306.47 ± 5.12 %), and the hydrogel with the lowest degree of swelling was GelB-FOSQ (gelatin b and chemical fructooligosaccharide hydrogel, 134.00 ± 27.74 %). In addition, hydrogels with fructooligosaccharides showed erosion after reaching equilibrium swelling. It was found that there is no significant difference between the chemical or food-grade gelatin. However, different swelling percentages were observed based on the type of fructan used; it was identified that inulin promoted a higher percentage of swelling than fructooligosaccharides. In theoretical analysis of the swelling kinetics, hydrogels were found to present Fickian and non-Fickian diffusion mechanisms. The value of the kinetic constants was mostly influenced by the equilibrium swelling reached by the hydrogels and by the swelling rate of the hydrogels in the early minutes of the experiment. Finally, it is also suggested that the synthesized hydrogels could be used in medical applications as diagnostic agents for food intolerances.

9.3 Carta de aceptación del capítulo



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Química

CARTA DE ACEPTACIÓN DEL CAPÍTULO
Toluca, Estado de México a 28 de junio de 2021.

Quetzali Salazar Mireles
Miriam Verónica Flores Merino
Halina Kean Galeno
Ma. Victoria Domínguez García
Autores

P R E S E N T E

Por medio de la presente me es grato comunicarles que el capítulo titulado "**Bondades clínicas del Romero (*Rosmarinus officinalis*)**" ha sido aceptado para ser considerado en el libro "PRINCIPIOS ACTIVOS DE PLANTAS USADAS EN LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA". El capítulo será publicado en este año en forma electrónica y estará disponible en el repositorio institucional de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Nuevamente, agradecemos su contribución y estamos en contacto para cualquier aclaración y/o duda.

"PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO"

"2021, Celebración de los 65 años de la Universidad Autónoma del Estado de México"

Dra. Ma. Victoria Domínguez García
Coordinadora del Libro
PRINCIPIOS ACTIVOS DE PLANTAS USADAS EN LA MEDICINA
TRADICIONAL MEXICANA
Profesora de Tiempo Completo
Facultad de Química