



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ingeniería

Título del tema de tesis registrado

Desarrollo de un agente gelificante para la
micropropagación vegetal *in vitro* a partir de residuos de
nopal.

**Que como parte de los requisitos para
obtener el Grado de**

Doctor en Ingeniería en Biosistemas

Presenta

Arantza Elena Sánchez Gutiérrez

Dirigido por:

Genaro Martín Soto Zarazúa

Co-Director:

Sarahí Rodríguez González

Querétaro, Qro. a 04/05/2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Desarrollo de un agente gelificante para la
micropropagación vegetal in vitro a partir de residuos
de nopal

por

Arantza Elena Sánchez Gutiérrez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](#).

Clave RI: IGDCC-207399



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE INGENIERÍA
DIVISIÓN DE INVESTIGACION Y POSGRADO



Desarrollo de un agente gelificante para la micropropagación vegetal *in vitro* a partir de residuos de nopal.

Tesis

**Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctor en Ingeniería en Biosistemas**

PRESENTA

Arantza Elena Sánchez Gutiérrez

Dirigido por:

Dr. Genaro Martín Soto Zarazúa

Dr. Genaro Martín Soto Zarazúa

Director

Dra. Sarahí Rodríguez González

Co-Director

Dra. Monserrat Escamilla García

Vocal

Dr. Juan Fernando Trejo García

Suplente

Dr. Abraham Gastélum Barrios

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

05/2023

México

I. RESUMEN

A lo largo de los años, el sector agrícola ha buscado alternativas para mejorar los métodos tradicionales de propagación, la multiplicación acelerada de nuevas especies y el mejoramiento genético a través de la biotecnología del *cultivo in vitro*. Sin embargo, el uso del gelificante Agar ha aumentado y dificultado la expansión de esta biotecnología debido a su alto costo y demanda, la cual que ha llegado afectar su ecosistema. En consecuencia, las investigaciones se han enfocado en buscar sustitutos parciales o totales que se encuentren de forma natural y que sean de fácil extracción. Por ello, en este proyecto se presenta el uso de hidrocoloides de pectina y mucílago de dos especies de nopal (*O. ficus-indica* y *O. robusta*) que fueron estudiados como agentes gelificantes en medios de cultivo *in vitro*. Estos hidrocoloides fueron obtenidos mediante una hidrólisis alcalina y estudiados por FTIR para su caracterización química. Posteriormente, estos fueron utilizados en proporciones de 0.8%, 0.6%, 0.4% y 0.2% en combinación con Agar para estudiar el tiempo de gelificación, color, textura (TPA), germinación de semillas bajo luz y condiciones de oscuridad, y un estudio enológico del cultivo de *Orchidea cattleya*, incluyendo los análisis de hojas y raíces, largo de raíces y hojas, altura de plántula y ancho del tratamiento mejor diseñado. Nuestros resultados demuestran que el tratamiento compuesto por 0.4% de pectina de *O. ficus-indica* y 0.4% de Agar mejora el tiempo de germinación, el crecimiento de las plantas, el número de hojas y raíces, resultando un bioestimulante para el cultivo *in vitro* de *Orchidea cattleya*. Si bien los hidrocoloides presentados en el nopal no funcionaron como sustitutos totales del Agar, son una alternativa natural y de fácil extracción que puede ser utilizada en la industria biotecnológica para cultivo *in vitro*.

II. SUMMARY

Over the years, the agricultural sector has sought alternatives to improve traditional propagation methods, the accelerated multiplication of new species, and genetic improvement through *in vitro* culture biotechnology. However, the use of Agar gelling agents has increased and hindered the expansion of this biotechnology due to its high cost and the high demand that has affected the ecosystem. Consequently, research has tended to search for partial or total substitutes found naturally and easily extracted. This project presents the use of pectin and mucilage hydrocolloids from two species of nopal (*O. ficus-indica* and *O. robusta*) to study as a gelling agent *in vitro* culture media. These hydrocolloids were obtained by alkaline hydrolysis and studied by FTIR for their chemical characterization. Subsequently, these were used in proportions of 0,8%, 0,6%, 0,4%, and 0,2% in combination with Agar to study the gelation time, color, texture (TPA), seed germination under light and dark conditions, and a phenological study of the culture of Orchidea Cattleya, including the analyses of leaves and roots, roots and leaves length, seedling height, and width of the best-designed treatment were studied. Our results demonstrate that the treatment composed of 0,4% *O. ficus-indica* pectin and 0,4% Agar improves the germination time, plant growth, the number of leaves and roots, resulting in a bio-stimulant for the *in vitro* culture of Orchidea Cattleya. Although the hydrocolloids presented in the nopal did not function as total substitutes for Agar, they are a natural and easily extracted alternative that can be used in the biotechnology industry for *in vitro* cultivation.

III. DEDICATORIA

Para ustedes que me ven desde el cielo

IV. ÍNDICE

1. Capítulo I – Introducción	9
1.1 Antecedentes Científicos.....	9
1.2 Antecedentes Tecnológicos	10
1.3 Monitoreo tecnológico	12
1.4 Mercado	14
1.5 Problema	15
1.6 Justificación.....	16
1.7 Hipótesis.....	17
1.8 Objetivos	18
2. Capítulo II – Revisión de la literatura.....	18
2.1 Micropropagación vegetal <i>in vitro</i>	18
2.2 Medios de cultivo.....	20
2.3 Geles	21
2.4 Agentes gelificantes	22
2.5 Hidrocoloides.....	23
2.6 <i>Generalidades del género Opuntia spp.</i>	25
2.6.1 Composición Química de <i>Opuntia spp.</i>	27
2.7 Pectina hidrocoloide presente en la FDS del <i>Opuntia spp.</i>	29
2.8 Mucílago hidrocoloide presente en la FDS del <i>Opuntia spp.</i>	30
2.9 Generalidades <i>Opuntia ficus-indica</i>	32
2.10 Generalidades de <i>Opuntia robusta</i>	33
3. Capítulo III – Materiales y métodos.....	34
3.1 Descripción del área de estudio	34
3.2 Objetivo 1. Identificar, proponer y evaluar la metodología para la extracción y separación de los hidrocoloides (pectina y mucílago) presentes en pencas mermadas de dos especies de nopal (<i>O. ficus-indica</i> y <i>O. robusta</i>).....	35

3.3	Objetivo 2. Analizar y caracterizar los hidrocoloides extraídos de pencas mermadas de dos tipos de nopal (<i>O. ficus-indica</i> y <i>O. robusta</i>) para su aplicación como agentes gelificantes.	38
3.3.1	Rendimientos	38
3.3.2	Grado de Esterificación	38
3.3.3	Análisis ATR-FTIR	39
3.3.4	Diseño experimental para formulación de geles	39
3.3.5	TPA para la caracterización de geles.....	41
3.4	Objetivo 3. Definir la fórmula para el uso de los hidrocoloides extraídos como agentes gelificantes en los medios de cultivo <i>in vitro</i>	42
3.4.1	Desarrollo de medios de cultivo	42
3.4.3	Formulación resultante.....	44
4.	Capítulo IV – Resultados y discusión.....	45
4.1	Recolección de pencas	45
4.2	Rendimientos de pectina	47
3.5	Rendimientos de mucilagos.....	48
4.4	Grado Esterificación	50
4.5	Análisis ATR-FTIR	51
4.6	Gelificación de formulaciones y caracterización TPA.....	58
4.7	Medios de cultivo.....	74
4.7.1	Evaluación del mejor tratamiento.....	77
4.7.2	Análisis Estadístico del mejor tratamiento VS tratamiento control	78
5.	Conclusiones	86
6.	Bibliografía.....	88

V. FIGURAS

Figura 2.1 Esquema de las etapas de propagación <i>in vitro</i>	20
Figura 2.2 Curva de asimilación de CO ₂ de una planta CAM bien irrigada..	25
Figura 2.3 Estructura parcial del mucílago de <i>Opuntia ficus-indica</i>	32
Figura 3.1 Diagrama general de la metodología.....	34
Figura 3.2 Diagrama de extracción y separación de hidrocoloides presentes en mermas de nopal.....	35
Figura 3.3 Metodología para obtención del grado de esterificación.	39
Figura 4.1 Pencas de 1 a 2 años de edad de diferentes especies de nopal.	45
Figura 4.2 Contenido de PT en diferentes especies de <i>Opuntia spp.</i>	48
Figura 4.3 Contenido de mucílago en diferentes especies de <i>Opuntia spp.</i>	50
Figura 4.4 Análisis FTIR de pectinas de dos especies de <i>Opuntia</i> ..	54
Figura 4.5 Análisis FTIR de mucílago de dos especies de <i>Opuntia</i> ..	56
Figura 4.6 Modelado en 2D y 3D de la molécula de mucílago de <i>Opuntia</i>	57
Figura 4.7 Modelado de la estructura molecular de la pectina de <i>Opuntia</i>	58
Figura 4.8 Concentraciones para formulaciones en laboratorio..	59
Figura 4.9 Experimentación para gelificación con pectina de dos especies de <i>Opuntia</i> ..	60
Figura 4.10 Experimentación de gelificación con combinación de pectina y mucilago de dos especies de <i>Opuntia</i> ..	60
Figura 4.11 Tratamientos realizados con mucílago de dos especies de <i>Opuntia</i>	61
Figura 4.12 Tratamientos realizados con diferentes condiciones y mayor concentración.	61
Figura 4.13 Temperatura y gelificación para tratamientos realizados.	63
Figura 4.14 Colorimetría en diferentes tratamientos formulados.....	64
Figura 4.15 Crecimiento de hongos en tratamiento realizado.	65
Figura 4.16 Análisis de texturas de geles.	65
Figura 4.17 Protocolo para la micropropagación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Orchidaceae cattleya</i>	74
Figura 4.18 Germinación y crecimiento de plantas en condiciones de luz y oscuridad.....	75
Figura 4.19 Resultados de tratamientos funcionales.....	77
Figura 4.20 Evolución del mejor tratamiento.	77
Figura 4.21 Método de medición de plántulas.	78
Figura 4.22 Análisis estadístico del TC y el T3 para el número de hojas.	79
Figura 4.23 Análisis estadístico del TC y el T3 para el número de raíces.....	81

Figura 4.24 Análisis estadístico del TC y el T3 para la longitud de raíces.	82
Figura 4.25 Análisis estadístico del TC y el T3 para la altura de la plántula.	83
Figura 4.26 Análisis estadístico del TC y el T3 para la anchura de la plántula.	85
Figura 4.27 Análisis estadístico del TC y el T3 para la longitud de hojas.....	86
Figura 5.1 Aclimatación ex vitro de plántula y crecimiento.	87

VI. TABLAS

Tabla 1.1 Productos utilizados como sustitutos de agar en medios de cultivo <i>in vitro</i> actualmente comercializados.	14
Tabla 2.1 Composición del medio de cultivo MS	20
Tabla 2.2 Taxonomía del género <i>Opuntia spp.</i>	26
Tabla 2.3 Composición Química de cladodios de distintas edades.	27
Tabla 2.4 Composición química de cladodios de nopal de un mes y un año de vida. Expresado en base húmeda.	28
Tabla 2.5 Contenido de pectina en algunas especies de <i>Opuntia</i>	30
Tabla 3.1 Formulación para la sustitución parcial y total del agar con hidrocoloides de pencas mermadas de nopal.	40
Tabla 4.1 Bitácora de medidas para la recolección de dos tipos de nopales.	46
Tabla 4.2 Datos para la extracción de pectina de dos especies de nopal por triplicado....	47
Tabla 4.3 Datos para la extracción de mucilago de dos especies de nopal por triplicado.	49
Tabla 4.4 Grado de esterificación de pectina y mucilago de dos especies de <i>Opuntia</i>	50
Tabla 4.5 Respuestas de gelificación de tratamientos.....	59
Tabla 4.6 Tratamientos resultantes para caracterización.	64
Tabla 4.7 Tabla de condensación de resultados obtenidos para el estudio TPA para cada tratamiento.....	67
Tabla 4.8 Resultados de germinación a 5, 10 y 15 días en diferentes condiciones.	75
Tabla 4.9 Efecto del medio de cultivo en el porcentaje de germinación, formación de protocormos, raíces y hojas.....	76
Tabla 4.10 Tabla de respuestas fenológicas.....	78
Tabla 4.11 ANOVA para el número de hojas	79
Tabla 4.12 ANOVA para el número de raíces.....	81
Tabla 4.13 ANOVA para la longitud de raíces.	82
Tabla 4.14 ANOVA para la altura de la plántula.	83

Tabla 4.15 ANOVA para la anchura de las hojas.....	85
Tabla 4.16 ANOVA para la longitud de hojas.....	86

1. Capítulo I – Introducción

1.1 Antecedentes Científicos

Con el paso de los años el sector agrícola ha buscado alternativas para mejorar los métodos tradicionales de propagación, acelerar la multiplicación y realizar un mejoramiento genético mediante la biotecnología (Ardisana et al., 2016). Una de las técnicas biotecnológicas es la micropropagación vegetal *in vitro*, también llamada biotecnología de cultivo *in vitro* o vegetal. Esta es definida como una técnica en la cual el objetivo es clonar plantas de manera artificial en un ambiente de laboratorio dentro de un frasco (Connolly et al., 2019). Esta técnica cuenta con dos características particulares la asepsia que es la ausencia de gérmenes y el control de los factores que afectan el crecimiento reproduciendo estos en condiciones de laboratorio óptimas (Chanamé et al., 2019). Esta técnica consiste en la producción vegetal a partir de apendicés o explantes de una planta madre en un medio nutritivo solidificado. El cultivo *in vitro* es una técnica que ha sido ampliamente utilizada en aspectos para el desarrollo agrícola y la investigación vegetal, evolucionando con ello los sistemas de producción agrícola, teniendo ventajas como la reproducción de plantas en espacios reducidos, ser una fuente alterna de almacenamiento de recursos genéticos y ser una alternativa para la producción de alimentos de alta calidad para la creciente población mundial (Vala et al., 2021). Sin embargo, la técnica de cultivo *in vitro* es más costosa que los métodos tradicionales de producción de plantas, esto debido a los componentes utilizados para la elaboración del medio de cultivo (Romay et al., 2006; Gordo et al., 2012; Yabada et al., 2017). Los medios de cultivo deben de cumplir con los requerimientos nutricionales necesarios para el desarrollo de la planta y estos dependen del cultivo empleado, sin embargo, el medio Murashige & Skoog (MS) (1962), permite ser utilizado para diversas especies (Flores-Hernández et al., 2017). Eventualmente este es solidificado para proporcionar sostén al explante mediante un agente gelificante (Perales et al., 2020). El agente gelificante mayormente utilizado es el agar, esto

debido a sus características físico-químicas tales como porosidad, termo-reversibilidad, estabilidad, fuerza del gel, textura, elasticidad y transparencia (Marsuhashi, 1998; Montillo Escudero et al., 2011). El agar debido a su sobreexplotación generada por la alta demanda ha incrementado su precio, aumentando con ello un 70% el costo total del medio (Romay et al., 2006; Sánchez-Cardozo et al., 2019). Actualmente, en la inquietud por superar las limitaciones que esta biotecnología presenta las investigaciones se han enfocado en la búsqueda y desarrollo de alternativas y sustitutos al agar que no afecten el crecimiento y desarrollo de los cultivos *in vitro*. Buscando materias primas que se encuentren presentes de maneras locales, atractivas desde el punto de vista económico y que cumplan con características químicas, principalmente que el gel obtenido permita la disponibilidad del agua para las semillas. Es por ello que el estudio de los polímeros naturales de origen vegetal ha surgido como una alternativa sustentable por sus propiedades, almidones y gomas han sido investigados por su alta disponibilidad en mercados locales y bajo costo (Babbar et al., 2020), concluyendo que estos pueden ser potenciales sustitutos parciales o totales del agar y funcionar como agentes gelificantes por su composición físico-química disminuyendo hasta en un 70% los costos de esta tecnología (Gordo et al., 2012).

1.2 Antecedentes Tecnológicos

Existe una cantidad considerada de patentes relacionadas con el desarrollo de agentes gelificantes, las cuales utilizan nuevos hidrocoloides o polímeros naturales, algunas de las importantes y recientes que se pueden mencionar son las patentes de España ES2228040T3, en donde se realizó un hidrocoloide a partir de almidón como agente gelificante, viscosificador y estabilizador en productos lácteos alimenticios (Whaley *et al.*, 1998), la patente ES2120486T3 la cual presenta la elaboración de un gel en una solución acuosa a partir de goma algarrobas y una mezcla de polisacáridos (Hart *et al.*, 1992), la ES23176557T3 para la elaboración de un gel en solución inyectable para la formación de matrices de trasplante de células hecho a partir de alginato modificado (Bounhadir et al., 2009). En Estados

Unidos encontramos las patentes US7816341B2 la cual describe un gel homogéneo termorreversible a base de carragenina y una serie de productos fabricados a partir de él como cápsulas y tabletas (Sewall *et al.*, 2010), la patente US3956173A para un método mejorado para formar un gel firme y elástico basado en kappa-carragenina el cual gelifica a temperatura ambiente (Towle, 1976), la patente ES1075341U9 la cual describe el uso de un gel estéril transparente y nutritivo, formado por micro y macronutrientes, como agente gelificante goma gellan o agar, el cual sirve a la vez para dar soporte para el desarrollo de la planta como fuente de alimentación (Fontanie, 2012). La patente WO2006044342A2, protege un kit para producir un gel de alginato que tiene un proceso de gelificación retardado mediante un alginato insoluble y partículas de un ion gelificante (Melvik *et al.*, 2005). Un polisacárido gelificado que se encuentra dentro de los poros de una espuma para aplicaciones biomédicas como el cultivo celular e implantes, aplicaciones industriales alimentarias y cosméticas se patenta en US9028872B2 (Gaserod *et al.*, 2007). WO2008098109A2 el uso de hidrogeles con propiedades mecánicas mejoradas para cultivos biológicos, con base en alginato oxidado particularmente para el cultivo de folículos *in vitro* (Shea y Woodruff, 2008). La patente WO2011057131A1 la cual protege un hidrogel derivado del quitosano para uso médico que funciona como un biomaterial que actúa como una barrera de infección en la bioingeniería de tejidos (Gong *et al.*, 2010). La patente ES2275838T3 usa gelificantes e hidrocoloides orgánicos para realizar autoespumantes en la industria cosmética (Bleckmann *et al.*, 2001). ES2717178T3 protege un gel termorreversible formado por óxido de polietileno y polipropileno (Lu y Lu, 2011). La patente ES8505698A1 la cual protege el procedimiento para hacer un agente gelificante y espumante que contiene *Cassia galactomanas*, carragenano, agar o xantana además de su preparación para su uso en alimentación, agentes de floculación y espesantes (AG, 1983).

Otros usos de los agentes gelificantes en productos finales podemos encontrarlos en las patentes, con número ES2229225T3 de España, que consta de un apósito de heridas que comprende un material fibroso impregnado con un agente gelificante natural (de cascará de limón), un hidrocoloide, un alquilenglicol y agua

(Curt et al., 2005), y por último la patente con número ES1075341U9 de España se relaciona directamente con un gelificante para un objeto de decoración vegetal con condiciones asépticas donde se patenta el gel estéril transparente y nutritivo formado por micro y macronutrientes (Fontanie, 2012).

1.3 Monitoreo tecnológico

De acuerdo a la historia en 1898, Herbertland pionero del cultivo *in vitro* y padre de la técnica comenzó por decir que las plantas eran capaces de reproducir sus crecimientos a partir de células aisladas. Él propuso que en soluciones que contuvieran nutrientes de extractos vegetativos o fluidos embrionarios era posible plantar células vegetativas (Philips y Gardana, 2019). En los años 30's White y Gautheret expusieron la posibilidad de cultivar células vegetales *in vitro*, con dos características importantes, la identificación de las auxinas como reguladoras del crecimiento vegetal y la importancia de las vitaminas para el crecimiento de las plantas, estos investigadores, así como Nobecourt se consideran precursores de la técnica del cultivo de células y tejidos vegetales (Yadab et al., 2022).

Dentro de la micropropagación vegetal *in vitro* el agente gelificante más usado en los medios de cultivo es el agar, que es un polisacárido de galactosa y galactomanano obtenido de algas rojas (*Echema spp.*, *Gelidium spp.*, *Gracilaria spp.*), descubierto en Japón en 1658 por Minoya, el cual fue introducido en 1882 como medio para cultivos microbiológicos por Robert Kitch. Walter Hesse lo introdujo como agente solidificante para dar soporte al explante en un medio de cultivo semisólido adicionado con los nutrientes adecuados que permiten el crecimiento y desarrollo de tejidos vegetales (Jiménez-Mejía, 2019). Posteriormente en 1986, la carragenina fue utilizada como agente gelificante en los cultivos de tejidos vegetales, descrito por Ichi et al., (1986) los cuales plantearon que de acuerdo a sus resultados los tejidos crecieron mejor sobre este gel que cuando el medio se solidificó con agar (Rodríguez et al., 2002).

Actualmente las investigaciones buscan disminuir los costos de esta biotecnología, por ello, en Cuba el Centro de Investigaciones y Desarrollo de

Medicamentos (CIDEM) investigaron acerca del uso del Aloe vera (*Aloe barbadensis miller*) y harina de sagú (*Maranta arundinacea*) como soporte sólido en medios de cultivo para plantas medicinales. La investigación demostró que es posible la sustitución parcial o total del agar por el gel de A. vera o harina de sagú (Torres y Alfredo, 2021). Almidones de yuca (*Manihot esculenta*), maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) han sido investigados por su alta disponibilidad en mercados locales y bajo costo. El uso de almidones en el remplazo parcial de Phytigel® en el medio basa MS modificado, para cultivos de camote (*Ipomoea batatas*) y yuca (*Manihot esculenta*), fue investigado en Honduras, en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. Resultando que estos pueden remplazar hasta en un 72 % la dosis de Phytigel® en los cultivos de camote (*Ipomoea batatas*) y yuca (*Manihot esculenta*) (Perez Navarro, 2021).

El isabgol, que es la semilla de *Plantago psyllium* una especie herbácea proveniente de España y Marruecos, usadas comercialmente para la producción de mucílago para fibra dietética, en conjunto con azúcar comercial fue usado como alternativa de agar en medios de cultivo *in vitro* para plátano. Los resultados mostraron que no solo puede ser el isabgol un solidificante en medios de cultivo, sino un medio de conservación para bancos de germoplasma (Agrawal et al., 2010).




En el año 2012 en un estudio realizado en Etiopía se investigó la eficiencia del almidón de ensete (*bulba*) como agente gelificante mejorando significativamente el número de brotes y ahorrando alrededor de un 72.5 % en costos (Polo y Torres, 2021).

Para las perspectivas futuras en el desarrollo de esta biotecnología, se dirige hacia la disminución de la desigualdad de los avances obtenidos y la distribución de los beneficios (Ardisana et al., 2016). La sustitución parcial o total del agar como agente gelificante por solidificantes que puedan ser usados con mayor eficiencia, de fácil extracción y adquisición (Gordo et al., 2012). Además de mejorar la producción vegetal real en espacios reducidos y los recursos derivados para enfrentar los desafíos futuros con micropropagación líquida sin el riesgo de contaminación del cultivo.

1.4 Mercado

En el mercado se pueden encontrar agentes gelificantes como el agar-agar, phytigel®, gelrite® o gellam gum, natugel®, la agarosa, el alginato y el isabgol, y gomas que han sido combinadas para ser sustitutos del agar como la goma guar, cassia, xantana y goma katira que funcionan como agentes espesantes, gelificantes, espumante y estabilizantes (Tabla 1.1).

Tabla 1.1 Productos utilizados como sustitutos de agar en medios de cultivo *in vitro* actualmente comercializados.

Gelificante / Hidrocoloide	Composición Química	Categoría	Aplicación	Imagen	Costo
Phytigel / Gelrite/ Gellam gum	Producto de la fermentación de varias especies de <i>Pseudomonas</i>	Heteropolisacáridos secretados por bacterias del género <i>Sphingomonas</i>	Medio de cultivo de tejidos vegetales. Sustituto de agar		250g \$1995.00
Natugel	Alga marina <i>Kappaphycus alvarezii</i>	Aumento de viscosidad y consistencia	Agentes formadores de geles, utilización en diferentes áreas de investigación	-	-
Agarosa	Constituido por unidades repetidas de una molécula llamada agarobiosa	Polisacárido de las algas de los géneros <i>Gellidium</i> y <i>Gracillaria</i>	Geles que permitan separar moléculas de ADN mediante electroforesis, cultivos celulares y en microbiología.		100g \$4963.20
Alginato	Polímeros orgánicos derivados del ácido algínico.	Polisacárido aniónico de algas marrones	Gelificante y para hacer esferificaciones		454g \$1488.00

Isubgol	Proviene del mucílago de las semillas de <i>Plantago ovata</i>	Cascarás de semillas de <i>Plantago Ovata</i> , ricas en fibra con alto contenido en mucílagos	Agente gelificante, diurético, pérdida de peso.		220gr \$476.4
Guar	Galactosa (unida por α 1-6) y manosa (unidas por β 1-4)	Harinas de semillas <i>Cyamopsis tetragonolobus</i>	Estabilizante, espesante y emulsificante. Gelificante junto con el isubgol.		227g \$199.00
Cassia	Galactosa (unida por α 1-6) y manosa (unidas por β 1-4)	Semilla <i>Senna</i> <i>btsifolia</i>	Espesante y gelificante en combinación con agar.		150g \$203.31
Xantana	Cadena de D-glucopiranosilo unido enlace β 1-4, ramificación de trisacáridos de D-manopiranosilo y de ácido D-glucopiranosilurónico	Fermentación Exudado de la bacteria <i>Xanthomonas campestris</i> B-1459	Estabilizante, espesante, emulsificante, agente para dar cuerpo y agente espumante y gelificante.		250g \$256.00
Agar	Agarosa (galactos) y agarpectina (anhidrogalactosa parcialmente esterificada con ácido sulfúrico)	Extracto de algas <i>Gelidium cartilagineum</i> , <i>Gracilaria confervoides</i> y <i>Peteroclaia capillacea</i>	Estabilizante, espesante, emulsificante y gelificante.		75g \$6588.00
Goma Katira	D-galactosa, ácido D-galacturónico y L-ramnosa en proporción molar 2:1:3	Extracto de planta Exudado de <i>Cochlospermum religiosum</i>	Emulsificante o espesante y gelificante.		100g \$13737.6

Elaboración propia (Capote Rodríguez, et al., 2002).

1.5 Problema

El problema radica principalmente en el alto costo del agente gelificante agar en los medios de cultivos para la implementación de la micropropagación vegetal *in vitro*. Esto debido a la sobre explotación de su fuente de origen el alga marina (*Gelidium spp.*), su proceso de cultivo y extracción que es complejo e incluye varios químicos. Por ello, es importante la búsqueda de alternativas que puedan encontrarse de manera local, de fácil acceso y extracción es una de las soluciones planteadas y probadas por diferentes investigadores, para reducir costos en la producción de plantas *in vitro* con compuestos que puedan sustituir a los gelificantes que son el 90% del costo del medio de cultivo. Estos sustitutos que permiten el crecimiento y propagación del cultivo seleccionado de manera inocua, que cuentan con característica similares como la alta temperatura de gelificación (37 °C), la textura lo que incorpora su baja adhesividad (g·s), alta firmeza (g), y la transparencia que en conjunto los hacen una alternativa costeable.

1.6 Justificación

Los componentes del nopal han sido estudiados en numerosas investigaciones por sus propiedades ya que poseen nutrientes esenciales para el ser humano como son la fibra dietaria, vitamina C y A, calcio, potasio, magnesio, clorofila, carotenoides, compuestos fenólicos y antioxidantes (Globalmedia, 2017). La fibra dietaria del nopal ha sido la que mayores beneficios ha contribuido a distintas industrias, entre ellas: la farmacéutica, construcción, agrotecnológica, bioenergética y la biotecnológica (Samaniego, 2006; Romay *et al.*, 2006; Ponce *et al.*, 2015).

La fibra dietaria es fuente rica en hidrocoloides (pectina y mucílago), llamados así por su gran capacidad para captar y retener agua. La pectina se compone principalmente por ácido D-galacturónico y es definida como una sustancia de bajo metoxilo como un fluido no newtoniano (Alcantar *et al.*, 2022). El mucílago compuesto por arabinosa, galactosa, xilosa, ramnosa y ácido galacturónico clasificado como un mucilago ácido (Vargas-Solano *et al.*, 2018). Esto son hidrocoloides que tienen la capacidad de gelificar y forman geles en combinación

con la solución indicada (Otero *et al.*, 2021). Además, el mucílago presente en algunas semillas presente como una capa húmeda, ha logrado demostrar que facilita la germinación y la protege de daños externos (Mascot-Gómez *et al.*, 2020; Villa-Uvidia *et al.*, 2020). Recientemente los hidrocoloides del nopal han sido utilizados como agentes espesantes, estabilizantes, encapsulantes y humectantes en diferentes investigaciones. No obstante, no han sido usados como agentes geleficantes.

Además, actualmente alrededor de 60 mil toneladas de nopal son desperdiciadas, donde destacan el *Opuntia ficus-indica* usado para la producción de nopal verdura y el *Opuntia robusta* usado para producción de tuna. Esto debido al alto costo para remover el material podado, las malas prácticas agrícolas y el no cumplimiento de las normas NMX-FF-068-SCFI-2006 para la producción de hortaliza fresca y la norma mundial CODEX STAN 185-1993 para la calidad de venta (Snadoval-Trujillo *et al.*, 2019). A pesar de las diversas aplicaciones que se les han atribuido a las mermas del nopal, solo se aprovecha el 5 % de estas mermas. Lo cual muestra que existen propiedades, compuestos y elementos contenidos en las mermas de nopal que se demanda investigar, para su aplicación en diferentes industrias con el objetivo de explotar estos residuos (Mejía-López, 2020).

Por lo anterior, el presente trabajo plantea mediante el aprovechamiento de mermas de nopal investigar, caracterizar y determinar si los hidrocoloides obtenidos, funcionan como un agente gelificante que de soporte a los medios de cultivo en la micropropagación *in vitro* y permita el desarrollo de las plantas, siendo una alternativa costeable, encontrada de manera local y que logra revalorizar las mermas de poda de nopal que en conjunto sea una alternativa al uso del agar.

1.7 Hipótesis

Los hidrocoloides (pectina y mucílago) presentes en mermas de nopal (*Opuntia ficus-indica* u *Opuntia robusta*) producen un soporte sólido por sus propiedades reológicas como agente gelificante en los medios de cultivo de micropropagación vegetal *in vitro*, sin afectar las condiciones para el desarrollo de especies vegetales,

teniendo como características la asepsia, alto poder gelificante, baja viscosidad y alta transparencia que en conjunto lo hacen una alternativa al uso del agar.

1.8 Objetivos

Objetivo general:

Desarrollar y evaluar un agente gelificante para los medios de cultivo *in vitro* a partir de hidrocoloides presentes en mermas de nopal (*O. ficus-indica* y *O. robusta*).

Objetivos específicos:

1. Identificar, proponer y evaluar la metodología para la extracción y separación de los hidrocoloides (pectina y mucilago) presentes en pencas mermadas de dos especies de nopal (*O. ficus-indica* y *O. robusta*).
2. Analizar y caracterizar los hidrocoloides extraídos de pencas mermadas de dos tipos de nopal mediante un FTIR (*O. ficus-indica* y *O. robusta*) para su aplicación como agentes gelificantes.
3. Definir la fórmula para el uso de los hidrocoloides extraídos como agentes gelificantes en los medios de cultivo *in vitro*.

2. Capítulo II – Revisión de la literatura

2.1 Micropropagación vegetal *in vitro*

La regeneración de plantas mediante inducción *in vitro* ya sea por callegénesis u organogénesis indirecta, es llamada micropropagación. El término “cultivo *in vitro* de tejidos”, significa cultivar dentro de un frasco en un ambiente artificial, donde el desarrollo de tejidos y su crecimiento son el objetivo principal (Huerta-Olalde, 2022). Un explante es un fragmento de una planta madre, el cual es tomado para realizar la micropropagación, de la cual obtendremos descendencia de calidad uniforme,

plantas genéticamente iguales denominadas clones. Las yemas vegetativas de las plantas suelen ser los explantes más usados en la propagación *in vitro*, además pueden ser usados segmentos de tallo, raíces o semillas. El cultivo *in vitro* tiene base en la división mitótica de las células vegetales y su totipotencialidad, que es la capacidad de las plantas de generar un individuo idéntico a partir de una célula simple. Comúnmente este tipo de reproducción es llamado reproducción asexual.

Las células vegetales *in vitro* son crecidas en medios de cultivo solidificados con agar, y están adicionados con hormonas vegetales (auxinas y citosinas) que son las dos principales fitohormonas del crecimiento vegetal, las cuales inciden el crecimiento y desarrollo de la planta. Estos pueden dividirse dando dos tipos de respuesta la organogénesis o embriogénesis directa e indirecta (Marangelli, 2022). Donde la organogénesis indirecta se define por ser una des diferenciación celular la cual va acompañada de un crecimiento tumoral denominada callo, que tienen la capacidad de generar órganos o embriones somáticos y la organogénesis directa es donde se forman directamente órganos o embriones somáticos (Höxtermann, 1997).

El procedimiento consiste en inocular un pedazo de tejido u órgano vegetal (explanete) previamente tratado mediante agentes desinfectantes como hipoclorito de sodio o calcio y cloruro mercurioso, en un medio de cultivo gelificado que se incubaba bajo condiciones controladas de luz que van de 0 a 12.00 Lx, temperatura de 25 a 28 °C y humedad pH 5.2 a 6.5, que en conjunto dan como resultado el desarrollo del explante el cual provoca la formación de una masa celular denominada callo que producirá embriones u órganos. Se identifican seis etapas en el proceso de micropropagación: 1) selección y preparación de la planta madre, 2) desinfección de las yemas o semillas, 3) introducción del material seleccionado *in vitro*, 4) embriogénesis somática (de un embrión cigótico inmaduro a un estado de corazón y un estado torpedo para pasar a un embrión cigótico maduro), 5) la multiplicación de los brotes y 6) el enraizamiento y la aclimatación (Figura 2.1) (Castillo, 2004).

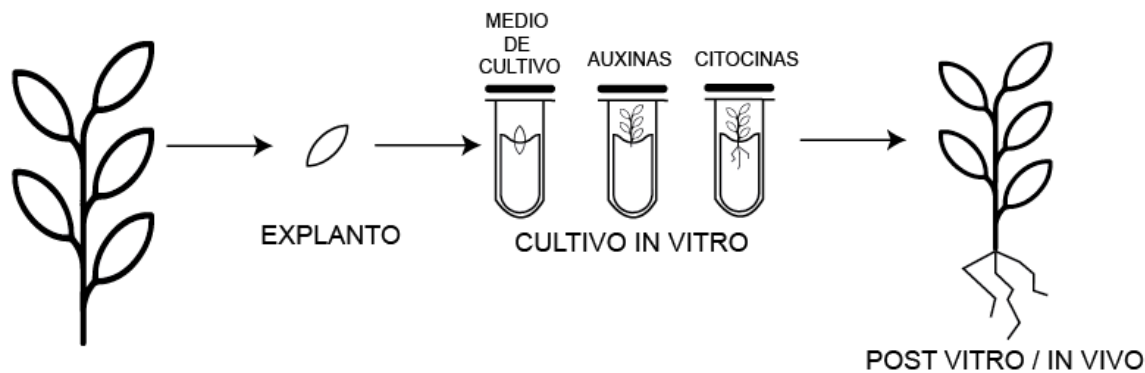


Figura 2.1 Esquema de las etapas de propagación *in vitro* a partir de un explante. Modificado a partir de Lindsey y Jones, 1989.

2.2 Medios de cultivo

El material nutritivo en el que crecen los microorganismos funge como medio de crecimiento. Los medios de cultivo se encuentran compuestos por macronutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S) y micronutrientes (Fe, Zn, B, Mn, Cu, Ni, Co, Al, Mo, I), además de sustancias orgánicas como azúcares, aminoácidos, vitaminas, auxinas, citocininas y giberelinas. Partiendo de una mezcla de componentes líquida se modifica su consistencia para tener un medio semisólido con productos como albúmina, gelatina y el más usado el agar. La concentración usual del agar es de 0.6 % a 0.8 %, si se utiliza una concentración más baja (0.4 %) el medio nutritivo permanece sin gelificar, sobre todo cuando el pH es bajo y si la concentración es elevada (1.0 %) queda muy sólido, haciendo difícil la inoculación (Pierik, 1990). Además, es necesario controlar el pH, luz (25 a 35 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \text{ s}$) con un fotoperiodo de 12 a 16 h de luz y temperatura (25 °C) para el éxito del cultivo (Gómez, 2019).

El medio más utilizado para los cultivos *in vitro* es el Murashige y Skoog (MS) (Tabla 2.1), ya que contiene 19 nutrientes esenciales para la mayoría de plantas, incluyendo los briófitos, así como los micro y macronutrientes básicos necesarios para el crecimiento de varias especies de plantas, este medio además se caracteriza por tener una elevada concentración salina.

Tabla 2.1 Composición del medio de cultivo MS

Macronutrientes	
NH₄NO₃	1.65 g/l
KNO₃	1.9 g/l
MgSO₄·7H₂O	0.37 g/l
CaCl₂aq	0.33 g/l
KH₃PO₄	0.17 g/l
Micronutrientes	
KI	0.83 mg/l
H₃BO₃	6.2 mg/l
MnSO₄·4H₂O	22.3 mg/l
ZnSO₄·7H₂O	8.6 mg/l
Na₂MoO₄·2H₂O	0.25 mg/l
CuSO₄·5H₂O	0.025 mg/l
Hierro	
Na₂EDTA	37.3 mg/l
FeSO₄·7H₂O	27.8 mg/l
Vitaminas	
Inositol	100
Ácido Nicotínico	0.5
Prioxina HCl	0.5
Tiamina HCl	0.1
Glicina	2

(Hernández *et al.*, 2017).

2.3 Geles

El gel es definido como un coloide de polímeros sólidos, el cual está formado por una estructura llamada red macromolecular tridimensional en donde un líquido (fase dispersa) es atrapado formando un sólido (fase continua) y esto conforma un sistema semisólido difásico (Coach, 2011). Existen diferentes tipos de geles, hidrogeles, organogeles, xerogeles, lipogeles, geles monofásicos, bifásicos, elásticos, no elásticos, orgánicos, físico, químico y termorreversibles. Sin embargo, el tipo de componentes y la interacción de las moléculas en la estructura de red dará las propiedades al sistema final. Para la formación de un gel es necesario la adición del agente gelificante, proceso que es comúnmente llamado gelación (Andrade, et al., 2021). La gelación que es una reacción de las sustancias en cuestión puede ser inducida física (calor, presión) o químicamente (ácido, iónica, enzimática). Sin

embargo, existen factores importantes para la formación de un gel que son las temperaturas y presión altas, un pH bajo sin cambios, alta fuerza iónica, presencia de iones o una enzima, calidad solvente, concentración del agente gelificante y masa molar, los cuales pueden afectar la inestabilidad del gel (Nishinari, 1993).

Las características reológicas más importantes de un gel son su viscosidad relacionada con su viscoelasticidad, el tamaño de la partícula y el coeficiente de difusión de las partículas en suspensión usando la dispersión de Rayleigh para su medición (Romero, 2015).

2.4 Agentes gelificantes

Los agentes espesantes o gelificantes tienen la capacidad de formar geles o soluciones viscosas y son conocidos como: gomas, hidrocoloides, mucílagos, o aún polisacáridos solubles en agua (Lozano et al., 2018). Los agentes gelificantes en general son llamados hidrocoloides y son moléculas de alto peso molecular con características hidrofílicas, con propiedades coloidales, que al combinarse con el solvente apropiado puede formar geles, y se encuentran compuestos por dos fases (sólido-líquida) (Martín et al., 2013). Crean una estructura coloidal de aspecto sólido, constituido en la fundamental por una fase líquida dispersa embebida en la estructura coloidal -fase sólida-, esto ayuda a evitar que ocurra la separación de fases de las emulsiones (Brizuela, 2018), son muy variados en cuanto a su procedencia desde la modificación de polisacáridos naturales hasta las naturales obtenidas de exudados y semillas de plantas terrestres o algas.

Los almidones, celulosa, goma guar, goma algarrobo, pectina, alginina, carragenina, xantana, goma arábiga son las principales gomas que se emplean en la industria cosmética, de construcción, farmacéutica, etc. como agentes gelificantes o viscosantes (Velasco y Forero, 2018). Sin embargo, las investigaciones se han inclinado en la búsqueda de formulaciones de mezclas que den como resultado nuevas gomas con mejores efectos sinérgicos para ser

comercializadas. En estas investigaciones se ha tenido como resultado diversas propiedades debido a la estructura molecular única de cada goma.

El agente gelificante agar es catalogado como un polisacárido natural no soluble en agua fría pero disolvente en agua caliente, no ramificado y con un alto peso molecular, el cual es extraído de algas rojas *Rhodoficeas* del género *Gelidium spp.* Con un tamaño de partícula de 98 % pasa por un poro de 250 μm , con una humedad de < 10 %, cenizas < 5 %, pH 0.3 % max., con un contenido de sulfato entre 0.84 % \pm 0.15 %, con una firmeza de 141.208 g, con un punto gelificación entre los 32-38 °C, resultando un gel fuerte >750 g/cm^3 (Laboratorio Britania S.A., 2018) ó 1521 \pm 54.5 g/cm^2 (Xiao *et al.*, 2018), con un color claro < 0.300 y termorreversible que sólo se licúa si la temperatura llega a 85 °C y una adhesividad de 0.311 g·s con agar al 2 % (Sánchez-Cardozo *et al.*, 2019). La reología que es el estudio de la deformación y comportamiento de la materia, menciona que formar un gel y la termoreversibilidad son propiedades reológicas del agar, esto debido a la interacción de las doble hélices que forma, en donde tiene la capacidad de retener moléculas de agua en sus intersticios.

2.5 Hidrocoloides

La palabra hidrocoloides deriva del término griego *hydro*, que significa agua, y *kolla*, pegamento (Bolívar, 2020). Estos son definidos como sustancia heterogéneas poliméricas formados principalmente polisacáridos y algunas proteínas. Los hidrocoloides forman unidades de glicosil, compuestas por cadenas lineales o ramificadas de unidades de azúcar (Whistler y Be Miller, 1993). Los hidrocoloides pueden ser sintéticos como la celulosa o naturales de origen vegetal, animal, algas e incluso sintetizados por microorganismos. Estos son definidos como compuestos hidrofílicos ya que al entrar en contacto con agua forman dispersiones microscópicas viscosas o geles, es decir que atrapan el agua dentro de su estructura ramificada y polimérica. De esta manera, generan diferentes texturas, viscosidad y elasticidad, propiedades que son aprovechadas en la industria de los

alimentos, farmacéutica y en el campo de la investigación en general. Los hidrocoloides son polímeros de cadena larga que se disuelven o dispersan en agua para dar un efecto viscoso o espesante, esta propiedad es común en todas las gomas y es la razón básica de sus usos (Malone et al., 2003). El valor del uso de los hidrocoloides en diferentes industrias y mayormente en la alimentaria, está basada en sus características organolépticas, en donde resaltan sus características físicas que los sentidos pueden percibir como el olor, color, textura y sabor (OCETIF, 2019), además de sus propiedades químicas, que son el producto de la interacción de moléculas del polisacárido con las moléculas del ambiente (generalmente con las moléculas del agua que abundan en el medio) y sus funcionalidades. En estado sólido los polisacáridos que tienen una fuerte afinidad por el agua, tienen regiones amorfas donde sus moléculas en cadena están desorganizadas, consecuentemente en estas regiones se tienen numerosas posiciones para enlaces de hidrógeno disponibles, las cuales pueden hidratarse fácilmente (Whistler y Be Miller, 1993). Dentro de la hidratación de las moléculas de los polisacáridos se encuentra la etapa intermedia, la cual se identifica por ser un estado transitorio de disolución de la molécula polimérica en donde el polisacárido soluble continua hidratándose hasta llegar a ser monodisperso en donde su encuentra rodeado de moléculas de agua parcialmente inmobilizadas, y un menor número de segmentos que no han sido solvatados se unen a otras cadenas de polisacáridos (Díaz *et al.*, 2004), es sabido que esta etapa de gel intermedio se encuentra presente en muchos polisacáridos. Por esto, es importante estudiar las propiedades físicas de los geles, ya que estas dependen del grado de hidratación o del grado de unión interpolisacárido de las cadenas de moléculas (Mesbahi et al., 2005).

El principal uso de los hidrocoloides en diferentes industrias como la alimentaria y farmacéutica, es su capacidad para modificar la reología de los sistemas. Las características reológicas del comportamiento de los hidrocoloides, pone especial atención en las interacciones que desarrolla con el solvente elegido. Estrechamente relacionado con el esfuerzo y deformación de los materiales, medidas mediante un reómetro en donde el material es sometido a diferentes tipos de deformaciones controladas. Entre las principales propiedades reológicas está la viscosidad definida

como una medida de la resistencia a la deformación del fluido, para fluidos no newtonianos esta depende de la temperatura, presión y rapidez de la deformación medida con un viscosímetro (Méndez-Sánchez, et al., 2009). Otras propiedades importantes son la estabilidad, la suspendabilidad, la acción emulsificante y la gelación.

2.6 Generalidades del género *Opuntia* spp.

El género *Opuntia* spp. son plantas de la familia de las *Cactaceae*, dicotiledóneas, fanerógama, angiosperma, perenne con un mecanismo de fotosíntesis C4 o Metabolismo Ácido de las Crasuláceas (CAM) (Mondragón, 2002). El metabolismo CAM, consiste en fijar el CO₂ por la noche con el uso de la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC), donde el producto de la reacción de cuatro carbonos es acumulado en las vacuolas; posteriormente, durante el día el CO₂ es asimilado en los cloroplastos por el ciclo C3 (Taiz y Zeiger, 2002; Larcher, 2003; Andrade *et al.*, 2007). Esto permite que este tipo de plantas ahorren grandes cantidades de agua y poder crecer y desarrollarse en condiciones hostiles donde viven. La fotosíntesis CAM consiste en cuatro fases cuando existen las condiciones climáticas ideales, en caso de no haberlas la fase II y IV llegan a ser omitidas (Figura 2.2).

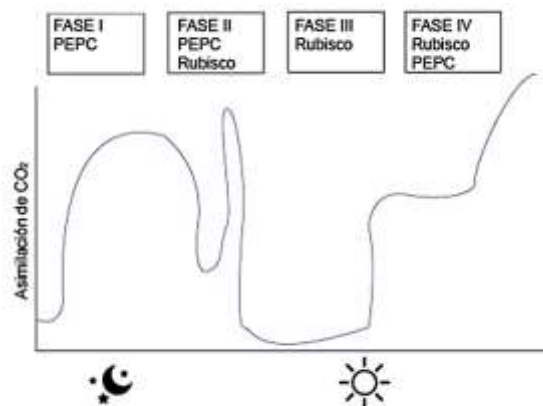


Figura 2.2 Curva de asimilación de CO₂ de una planta CAM bien irrigada. Se muestran las cuatro fases típicas de la fotosíntesis CAM con las enzimas fijadoras de CO₂ correspondientes (Andrade et al., 2007; Alanis, 2002).

Dentro del territorio mexicano encontramos entre 100 a 150 de especies de *Opuntia spp.*, de la cuales veinticuatro son de producción para alimento en donde se encuentra el nopal forrajero (15), nopal tunero (6) y nopal verdura (3), siendo este último el mayormente producido con tres variedades: *Opuntia ficus-indica*, *Opuntia robusta*, *Nopalea cochenillifera* (CONABIO, 2015).

El nombre de *Opuntia* deriva de la antigua ciudad griega, que creció alrededor de la ciudad de Opus en Grecia (Robledo, 2004), con la siguiente descripción taxonómica (Tabla 2.2). El *Opuntia spp.* es conocida comúnmente chumbera, nopal, higo de las Indias o tuna. Su estructura se describe como una planta erecta, arbustiva o rastrera, generalmente espinosas con tronco bien definido, con varios tallos llamados cladodios o pencas, en forma de globo, cilíndrica o aplanada, carnosos, leñosos y ramificables que llegan a alcanzar una altura de 3 a 5 m, cuenta con areolas que son las unidades básicas meristemáticas, en donde nacen las espinas y por consecuencia las flores aunque no todas las especies poseen esta cualidad, las características de los nopales se encuentran estrechamente relacionadas con el entorno de aridez en el que han evolucionado (Mondragón, 2002; Vela, 2015.).

Tabla 2.2 Taxonomía del género *Opuntia spp.*

Taxonomía del nopal	
<i>Opuntia</i>	
Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Caryophyllidae</i>
Orden	<i>Caryophyllales</i>
Familia	<i>Cactaceae</i>
Subfamilia	<i>Opuntioideae</i>
Tribu	<i>Opuntieae</i>
Género	<i>Opuntia</i>

(EcuRed, 2012)

Es reconocido que el género *Opuntia spp.* es cultivado con diferentes propósitos durante su proceso de maduración, la cual consta de cuatro etapas: comenzando por el cladodio inmaduro, verde sazón, intermedio, maduro y sobremaduro. Aunque suele dividirse por años comenzando por aquellos que tienen seis meses o menos llamados renuevos o nopalitos, de uno a tres años

llamados pencas y más de cuatro años son tallos suberificados (Cepeda *et al.*, 2008). Las características físicas que cambian en esta evolución integran el peso, diámetro, profundidad de receptáculo floral, contenido de pulpa, firmeza, la acidez, el pH y contenido de minerales y vitaminas (Tabla 2.3).

Tabla 2.3 Composición Química de cladodios de distintas edades.

Estado de madurez y años	Peso kg	Diámetro Min-Max (cm)	Pulpa (%)	pH	Fibra cruda	Proteína	Grasa	Ceniza	Vitamina C	Extracto no nitrogenado
Inmaduro Verde	86	42-44	44	5.2	*	*	*	*	12	*
Sazón- 0.5 años-nopalitos	102	47-49	57	6.1	8.0	9.4	1.00	21.0	18	60.6
Intermedio- 1 año-penca	105	49-53	63	6.2	12.0	5.4	1.29	18.2	18	63.1
Maduro- 2 años-penca	112	50-54	65	6.3	14.5	4.2	1.40	13.2	26	66.7
Maduro- 3 años-penca	108	49-53	75	6.0	17.0	3.7	1.33	14.2	42	63.7
Sobre Maduro- 4 años-tallos suberificados	+110	+53	*	*	*	*	*	*	*	63.9

(Porcentaje en materia seca) (Cepeda *et al.*, 2008; Mondragón, 2002; Pimienta, 1990).

El nopal es producido en el centro y norte del Altiplano, el noroeste, el Bajío, el Eje Neovolcánico y el valle de Tehuacán-Cuicatlá, debido a su gran distribución es una planta de importancia agroeconómica en México (Hollis, 1995). *Opuntia ficus-indica* variedad copena V1, copena F1 (cultivados) y de *Opuntia ficus-indica* (silvestre) son los utilizados para la producción de nopal o nopalito y son conocido como nopal manso.

2.6.1 Composición Química de *Opuntia spp.*

En general se reportan para *Opuntia spp.* los siguientes componentes: humedad, proteína, grasa, fibra, cenizas, sales minerales como el calcio, sodio,

fósforo y hierro, carbohidratos tanto monosacáridos, disacáridos y polisacáridos y vitamina (A, B, B2, B6 C y K) que se ven afectados con la edad (Tabla 2.4). Muñoz de Chávez et al. (1995) mencionan que los nopales del género *Opuntia spp.* tienen un alto contenido de agua (90.1 %), bajo contenido de lípidos, hidratos de carbono y proteína, así como un alto contenido en fibra. Los nopalitos son ricos en minerales como el calcio y el potasio (93 y 166 mg/100g), con un abajo contenido de sodio (2 mg/100 g) y cantidades moderadas de carotenoides (30 µg/ 100 g) y de vitamina C (11 mg/ 100 g) (Cepeda et al., 2008).

Tabla 2.4 Composición química de cladodios de nopal de un mes y un año de vida. Expresado en base húmeda.

Componente	Cladodio de un mes	Cladodio de un año
Humedad (%)	92.57	94.33
Proteína (x6,25) %	0.94	0.48
Grasa (%)	0.17	0.11
Fibra (%)	0.30	1.06
Cenizas (%)	0.08	1.60
Carbohidratos (%)	5.96	2.43
Vitamina C (mg/100g*)	37.27	23.11
Ca %	0.042	0.339
Na %	0.0018	0.0183
K %	0.00098	0.145
Fe %	0.0792	0.322

(Chávez, 2007)

Una característica importante del nopal es su alto contenido de fibra, 1-2 g / 100 g de nopal fresco. La Fibra Dietaria (FD) es definida como sustancias de origen vegetal, compuesta de celulosa, hemicelulosa, sustancias pécticas, almidón, inulina, lignina, gomas y mucílagos. La FD es dividida en fibra insoluble, que en su mayoría no se disuelve en agua y no es metabolizada y la fibra soluble, la cual aproximadamente es el 0.17 g/100g de nopal fresco (Valdivia y Urdaneta, 2006). La fibra dietaria soluble (FDS) se encuentra formada por componentes como inulina, pectinas, gomas y fructo oligosacáridos y mucílagos, estos son capaces de captar agua y formar geles viscosos, llamados polisacáridos no almidón o estructurales. Esta incluye polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas a la planta, que promueve efectos fisiológicos benéficos, entre los que se incluyen el laxante, la disminución del colesterol plasmático y/o de la glucemia (Álvarez y Sánchez, 2006; Cruz et al. 2015; Tapia et al. 2017; Pérez y Perales, 2017).

Los polisacáridos son biomoléculas formadas por la unión de una gran cantidad de monosacáridos unidos mediante enlaces glucosídicos. Los polisacáridos son clasificados en, polisacáridos de reserva y estructurales, donde los primeros se distinguen por ser una forma de almacenamiento de azúcares. Los segundos que son los llamados polisacáridos estructurales, se identifican por ser un glúcido que participa en la construcción de estructuras orgánicas. Estos polisacáridos estructurales (pectina y mucílago) son llamados hidrocoloideos debido a su capacidad de retención de agua. La pectina de nopal representa el 0.6 % en tejido fresco, y por cada planta de nopal se produce 3 % de pectina y 1 % de mucílago (Sosa, 2019).

2.7 Pectina hidrocoloide presente en la FDS del *Opuntia spp.*

La pectina es un polisacárido que tiene la capacidad de formar geles muy viscosos, es localizada en la pared celular primaria (piel) y en la lámina media de las células de ciertos frutos o vegetales (la manzana, vegetales como los cítricos, la fresa, el membrillo y la zanahoria, entre otros), actualmente es utilizada para dar ciertas características de textura a los alimentos. De acuerdo a su estructura química es definida como el polímero de ácido metil D-galacturónico conformado por largas cadenas de α -D- (1 \rightarrow 4) ácido galacturónico unidas a residuos de *L ramnosa* con cadenas laterales de azúcares neutrales (Agüero et al., 2019). Las pectinas pueden ser clasificadas de acuerdo a su grado de esterificación (GE), alto GE (> 50 %) y bajo GE (< 50 %) mediante el método descrito por Yu *et al.*, (1996). Las pectinas de alto GE gelifican bajo condiciones ácidas, mientras que las de bajo GE forman geles iónicos o en presencia de calcio en donde este logra un acoplamiento de cadenas formando una estructura llamada caja de huevo (Churascón *et al.* 2016). Factores como el pH y la concentración de sólidos son factores que influyen en la velocidad, la temperatura de gelificación y la textura de ambos tipos de geles (Braccini y Pérez, 2010).

El contenido de pectina en el nopal es alto y tiene más rendimiento cuando el estado de madurez es mayor, además que entre menor temperatura para su extracción será mayor su rendimiento. El contenido de pectina en cladodios de nopal puede variar de 5.32 % a 14.19 %. El grado de esterificación de la pectina del nopal es inferior al 50 %, es decir, que pertenece a un tipo de pectina de bajo metoxilo con valores entre los 28.74 % a 29.25 % dependiendo de factores como el estado de madurez, la temperatura y el tiempo de extracción (Espinosa et al., 2011) (Tabla 2.5).

La calidad de la pectina obtenida tiene una relación directa con parámetros como el grado de esterificación para determinar si es alto o bajo (Ferreira, 1976). Los sólidos solubles sirven para determinar la cantidad de azúcares mediante el método refractométrico (Gamboa, 2009). La refractometría se basa en los cambios de refracción que sufre una sustancia cuando otra es disuelta en ella, y se usa la tabla de índice de refracción y grados Brix a distintas temperaturas. Si no se tiene acceso al material, el estudio de composición e identificación de azúcares reductores y no reductores, mediante el reactivo de Fehling. La acidez libre para el conteo de ácidos grasos no saturados, entre mayor sean estos valores mayores será su calidad (Less, 1984). La cantidad de pectina pura se determina por el porcentaje de ácido anhidrouónico y galacturónico (Schultz, 1965). Se ha concluido que la mayor calidad de pectina se obtiene con pencas de 12 meses, a una temperatura de 80 °C, con tiempo de extracción de 30 min (Espinoza y Arellano, 2011; Ruales, 2015).

Tabla 2.5 Contenido de pectina en algunas especies de *Opuntia*.

Especie	Pectina Total (%)		Protopectina (%)		Pectina Soluble (%)	
	PH	PS	PH	PS	PH	PS
<i>Opuntia ficus Indica V1</i>	1.91	13.84	0.097	3.56	1.418	10.28
<i>O. robusta</i>	3.30	26.61	0.653	5.26	2.64	23.87
<i>O. megacantha</i>	0.80	5.06	0.586	3.43	0.279	1.63
<i>O. steptacantha</i>	0.97	6.59	0.605	4.38	0.365	2.21
<i>O. amyloacea</i>	1.40	9.58	0.685	4.69	0.715	4.89

*PS= peso húmedo, PH= Peso húmedo. (Goycoolea y Cárdenas, 2003).

2.8 Mucílago hidrocoloide presente en la FDS del *Opuntia spp.*

El hidrocólido mucílago de *Opuntia spp.* ha sido altamente estudiado, presenta especies químicas de pentaheteroglicano determinado como un heteropolisacarido fibroso (Saag *et al.*, 1975; McGarvie y Parolis, 1981; Trachtenberg y Fahn, 1981; Trachtenberg y Mayer, 1982; Gibson y Nobel, 1986; Saenz *et al.*, 1992; Forni *et al.*, 1994). Es de naturaleza viscosa y forman parte de las fibras solubles, entre sus propiedades se encuentran su capacidad para retener agua y formar suspensiones coloidales lo que lo lleva a tener una función laxante (Dugarte *et al.*, 2020), se localiza en los espacios extracelulares (Bayar *et al.*, 2016, González *et al.*, 2014). Esta conformado de 30,000 subunidades son la arabinosa (35-40 %), galactosa (20-25 %), ramnosa (7-8 %), xilosa (7-8 %) y ácidos urónicos (19-31 %), y las moléculas de tienen numerosas cargas negativas de la unión Ca^{2+} (Figura 2.3) (Dugarte *et al.*, 2020)., conjuntamente con calcio, magnesio y potasio por ello este tipo de mucílago es catalogado como ácido (Villa-Uvidia *et al.*, 2020). La composición de sustancia del mucílago depende del grado de maduración del nopal, a mayor maduración, mayor es la cantidad de celulosa y lignina, y menor la de mucílagos y gomas (Torres *et al.*, 2005).

Algunos investigadores han referido al mucílago como una pectina o pectinoide debido a la presencia de D-ácido galacturónico en su cadena principal (Goycoolea y Cárdenas, 2003). El mucílago tiende a funcionar como estabilizador y a formar suspensiones (González, 2010) y debido a su nula capacidad para gelificar debido que al entrar en contacto con el agua se hincha y forma soluciones viscosas y geles no adherentes y al bajo contenido de este azúcar ácido (<15 %) se le ha dado una identidad propia, diferente a las pectinas (≈50 % de galacturónico) (Rodríguez, 2012). En la formación de geles no adherentes del mucílago en su estructura interna la cual es capaz de absorber agua se forman estructuras reticulares lineales con un mecanismo de hinchamiento a nivel molecular (Dugarte *et al.*, 2020).

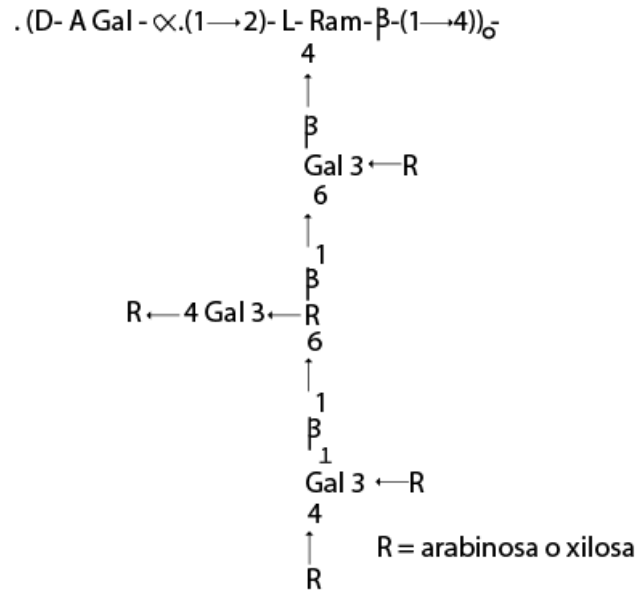


Figura 2.3 Estructura parcial del mucílago de *Opuntia ficus-indica* (McGravie & Parolis, 1981).

El mucílago presente en cladodios tiene un rendimiento de 1.2 % (Cepeda *et al.*, 2008), sin embargo, se tiene registro de un rendimiento de porcentaje del 0.8235 % respecto a una hoja de nopal (Vargas *et al.*, 2019). Un estudio llevado menciona que el de contenido de mucílago en cladodios puede variar de 3.78 % a 8.5 % (Peña-Valdivia *et al.* 2006).

El mucílago tiene la capacidad de formar soluciones con un alto grado de viscosidad y elasticidad cuando se mezcla con agua, así como la formación de geles cuando es extraído de nopal maduro. Este presenta una composición química similar al de las pectinas, siendo el resultado del aumento del peso molecular con la edad de maduración (López, 2016).

2. 9 Generalidades *Opuntia ficus-indica*

En el trabajo de Espinosa-Sánchez *et al.*, (2014) se concluyó que *O. ficus-indica* podría ser considerada como la forma domesticada de *O. megacantha*, debido a que la única diferencia es la presencia de espinas, debido a que su mejoramiento genético se remota a la época prehispánica (Kiesling, 1998). Los tallos son de color verde medio y poseen dos clases de espinas reunidas en gloquidos (especie de

cojincillo) en las areolas, unas largas y duras y otras, cortas y finas con aspecto veloso, conocidas como penepes. Las flores en forma de corona nacen en las areolas en los bordes de los segmentos, y pueden ir de un color amarillo a rojo y solo florecen una vez al año. Específicamente para esta especie de *Opuntia* los recuentos cromosómicos muestran que tanto la forma inerte como la espinosa tiene $2n=8$, ambas octaploides (Sosa y Acosta 1966). El *Opuntia ficus-indica* la variedad Copena V1 se encuentra entre las variedades de mayor importancia agroeconómica, ya que tanto sus frutos como sus tallos pueden ser consumidos. Los tallos sirven como forraje o como verdura. Los criterios de selección para su venta van desde el color, el tamaño y la ausencia de deformaciones visuales por los productores al momento de la cosecha (Díaz *et al.*, 2015).

2.10 Generalidades de *Opuntia robusta*

Opuntia robusta, también llamado nopal camueso o taponá. Fue descrita por J.C. Wendl. y publicado en Cat. Hort. Herrenh., en el año 1835. Es endémico del altiplano meridional de México y su distribución se encuentra en los estados del centro del país. Tiene una altura de 1 a 1.5 m de alto, con un tronco bien definido, ramificado desde la base y grueso llegando a medir hasta 2.5 m de espesor y de crecimiento erguido (CONABIO, 2015). Sus pencas van de un color verde claro a azulado, tiene una epidermis provista de pelos y cerosa. Con aréolas ovadas, ligeramente hundidas, de 7 a 8 series, distantes de 4 a 5.5 cm, variables de tamaño; glóquidas amarillentas pardas, setosas, delgadas de 1 a 18 mm de largo. Espinas de tamaños variables hasta 5 cm de largo y de 5 a 6 por areola largas, de color blanco, semi-erectas y de consistencia flexible. Flores tanto unisexuales como hermafroditas de 5 a 7 cm de largo y 8 cm de diámetro en la antesis, amarillo intenso (AFDP, 2008). Sus frutos son comestibles ya que son muy dulces, es por ellos que su producción se inclina a la tuna llamada tuna camuesa o taponá, su piel de color rojo vino y en algunos casos morada y contiene una gran cantidad de semillas (Vazquez *et al.*, 2010).

3. Capítulo III – Materiales y métodos

A continuación, se muestra el diagrama general de la metodología (Figura 3.1).



Figura 3.1 Diagrama general de la metodología.

3.1 Descripción del área de estudio

El presente proyecto se llevó a cabo en el Laboratorio de Gestión Industrial de la Universidad Autónoma de Querétaro, campus Amazcala, Facultad de Ingeniería. El trabajo de campo para la recolección de la materia prima se llevó a cabo con asociaciones privadas, Xata y la Asociación de Productores de Nopal Colón, dedicadas al cultivo y comercialización de nopal (*O. ficus-indica* y *O. robusta*), localizadas en los municipios de Corregidora, Colón y Tolimán respectivamente en el estado de Querétaro.

Las materias primas recolectadas fueron mermas de poda de cultivos, las cuales tenían un año de edad y no cumplían con las normas para ser comercializadas como forraje para animales, ni como alimento para el ser humano.

3.2 Objetivo 1. Identificar, proponer y evaluar la metodología para la extracción y separación de los hidrocoloides (pectina y mucilago) presentes en pencas mermadas de dos especies de nopal (*O. ficus-indica* y *O. robusta*).

La metodología utilizada para la extracción y separación de los hidrocoloides pectina y mucilago presentes en mermas de nopal de las especies de *O. ficus-indica* y *O. robusta* se tomó de Gooycolea et al. (2007), además, se realizaron adaptaciones tomando como base las recomendaciones dadas para la optimización de rendimiento documentadas por González et al. (2014) (Figura 3.2).

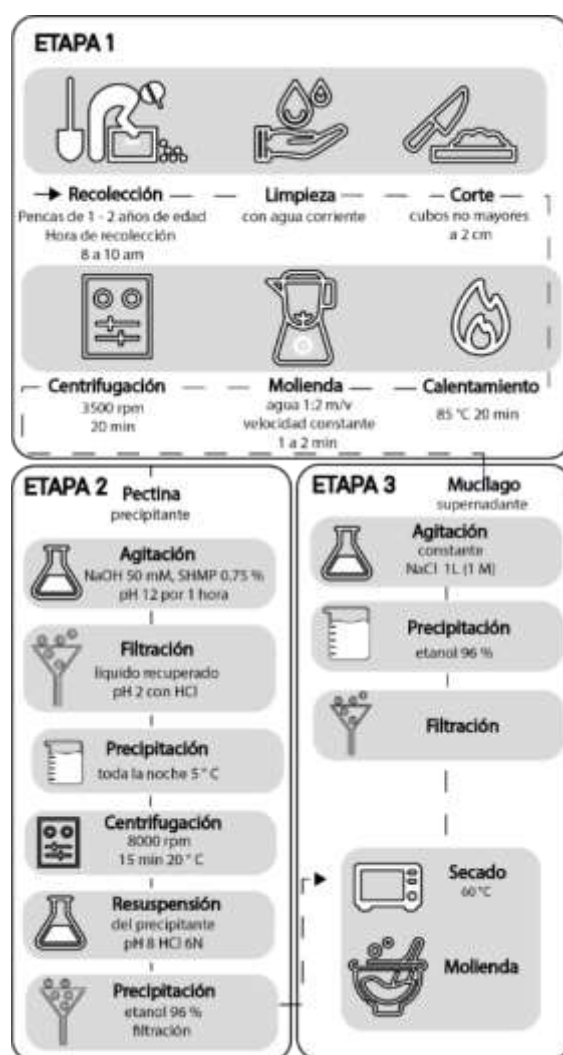


Figura 3.2 Diagrama de extracción y separación de hidrocoloides presentes en mermas de nopal.

A continuación, se describe cada una de las etapas, de la metodología de extracción y separación de hidrocoloides.

Etapa 1: Recolección y limpieza de la materia prima

El material vegetal fue recolectado entre las 8 y 10 am, posteriormente fue pesado por primera ocasión en fresco realizando anotaciones de los datos en la bitácora. Para la limpieza de la materia prima se utilizó una tina con agua corriente 1 L y 1 mL de NaClO por 15 s, en donde fueron remojadas las pencas, posterior pasaron a ser desespinaados con cuchillo. La materia prima fue cortada en trozos de 2 cm, se realizó un segundo pesado del material para mantener un control de rendimientos.

Posteriormente, se realizaron cortes uniformes (2 ± 0.5 cm) de las pencas con un cuchillo casero. 300 g de penca mermada y cortada fueron pesados, para ser utilizados como materia prima del experimento. Los 300 g de penca mermada y cortada fueron colocados en un vaso de precipitado en una relación 1:2 (m/v) con agua destilada. Durante 20 min. los vasos de precipitados con agua y las pencas fueron colocados en un plato caliente a 85 °C. Pasados los 20 min. se quitaron las muestras del plato caliente y se dejaron enfriar a temperatura ambiente, el pH fue ajustado a 7 – 7.5 (con NaOH 3N 3 mL).

Posteriormente, fue usada una licuadora casera para moler la muestra, con una velocidad constante durante 3-4 min y con nivel 3, sin agregar agua. Posterior, la suspensión se centrifugó a 3500 rpm por 20 min a 23 °C para inducir la separación de la parte líquida y sólida, también llamadas parte sobrenadante (mucílago) y precipitante (pectina).

Etapa 2: Separación de pectina

Para la separación del material precipitante (pectina), primeramente, fue separado del material sólido y colocado en vasos de precipitados. El material recolectado fue mezclado con una suspensión conteniente de NaOH 50mM y sodio de hexametáfosfato 0.75 % (50 g/ 1 L) (pH 12) para ser agitado durante una hora, esto con la intención de iniciar la purificación y separación de la pectina. Posteriormente la suspensión fue filtrada con una tela de algodón, al líquido recuperado se ajustó pH 2 (HCl 6N) y se agitó por 10 min.

Para promover la precipitación de la pectina la muestra se llevó a refrigeración 5 °C durante toda la noche. Al día siguiente la pectina precipitada fue recolectada mediante una centrifugación (8000 rpm por 15 min a 20 °C). Posteriormente, para la obtención de pectina purificada, el precipitante fue pesado y resuspendido en agua con pH ajustado a 8 (HCl 0.325), después esta solución se mantuvo en agitación constante durante una hora.

Por último, a la solución agitada le fue agregado etanol (96 %) para obtener la suspensión de la pectina (300 g de muestra / 7 L de etanol), para la mayor obtención de la pectina se dejó reposar (5 h aprox.). Para la recuperación de esta se filtró en una bomba de vacío (Chemker 300 presión 300A, AC110V, 60Hz. con una manguera de alta y filtro Whatman 1), además de utilizar cucharas para su recuperación.

El material recolectado (pectina purificada) se secó en estufa a 60 °C. Por último, se molió en mortero y fue pesada para realizar el estudio del rendimiento, posterior fue envasada a temperatura ambiente en frascos de color ámbar.

Etapa 3: Separación de mucílago.

El líquido conteniente del mucílago es recuperado mediante una decantación y separado del residuo sólido. Al líquido recuperado se le agregó 1 L de solución de cloruro de sodio y es agitado constantemente durante 20 min. Posteriormente, se agregó etanol hasta la precipitación del mucílago, el cual es observado notoriamente en la solución realizada.

Para la recuperación de este es necesario la esperar de 10 a 16 h, para su total suspensión. El mucílago suspendido es recuperado con cuchara y colocado en recipientes de aluminio para pasar a su secado. Por último, el material se colocó en estufa de secado a una temperatura constante de 60 °C por 16 h en donde se obtuvo una muestra dura que paso a ser molida en mortero y envasada a temperatura ambiente en frascos color ámbar.

3.3 Objetivo 2. Analizar y caracterizar los hidrocoloides extraídos de pencas mermadas de dos tipos de nopal (*O. ficus-indica* y *O. robusta*) para su aplicación como agentes gelificantes.

3.3.1 Rendimientos

Los rendimientos de pectina y mucílago extraídos se calcularon de acuerdo al método de Seggiani y col. (2009), utilizando la Ec. (1).

$$\%R = \frac{P \text{ ó } M (g)}{PS (g)} \times 100 \quad (\text{Ec.1})$$

%R (Porcentaje de Rendimiento), P (Pectina), M (Mucílago), PS (Peso promedio de Pencas en Base Seca).

3.3.2 Grado de Esterificación

Para obtener el grado de esterificación (GE) de las pectinas recuperadas, el método de titulación propuesto por Santos et al., (2020) por triplicado fue utilizado. Se obtuvo un promedio de cada muestra y se usó la Ec. (1) para conseguir el porcentaje de grado de esterificación y con esto tener la caracterización adecuada de los hidrocoloides (Figura 3.3).

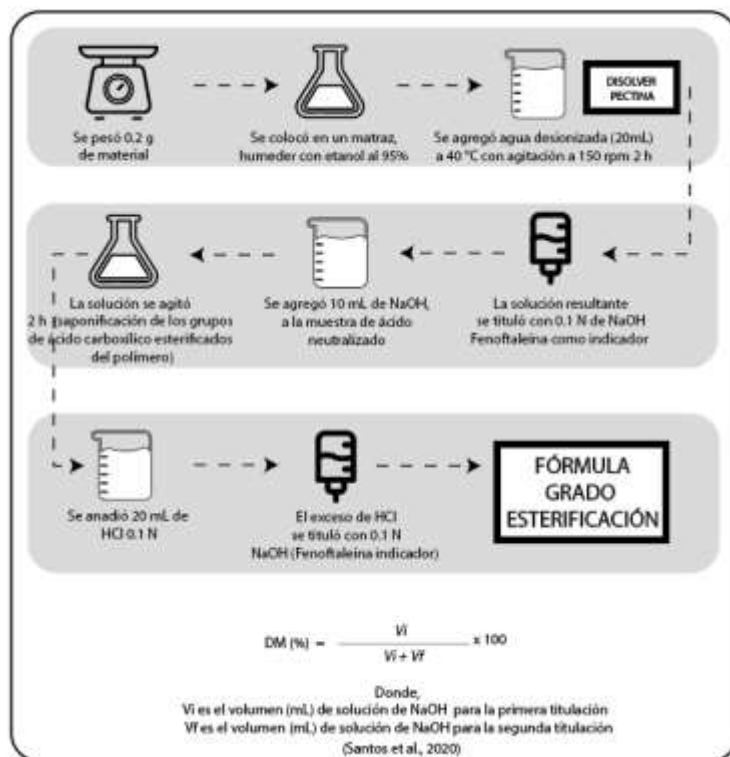


Figura 3.3 Metodología para obtención del grado de esterificación.

3.3.3 Análisis ATR-FTIR

Fue utilizado un análisis FTIR o método de transmisión (muestra laminada) de lectura directa, para determinar los grupos funcionales presentes en las pectinas y mucílagos extraídos de las dos especies de nopal. Con un espectro IR de onda entre los $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$, fueron recorridas con un tensor de espectro Bruker 27 (Ettlingen, Germany) con una resolución nominal de 4 cm^{-1} , usando un accesorio de reflexión total atenuada (ATR) con un diamante de cristal.

3.3.4 Diseño experimental para formulación de geles

Obtenidos los resultados de caracterización de las sustancias extraídas se realizó el siguiente diseño experimental para la sustitución parcial y total del agar como soporte sólido en medios de cultivo *in vitro* por diferentes porcentajes de mucílago y agar de dos especies de *Opuntia* (*O. robusta* y *O. ficus-indica*) (Rodríguez & Sosa,

2006). Se realiza un diseño experimental totalmente aleatorizado con 18 tratamientos y 3 repeticiones (56 tratamientos). Los tratamientos empleados corresponden a combinaciones de los productos vegetales (agar, mucilago y pectina) que se prueban como soporte sólido solos y en combinación como sustitutos parciales o totales con el agar bacteriológico, este último tomado como tratamiento control (Tabla 3.1).

Tabla 3.1 Formulación para la sustitución parcial y total del agar con hidrocoloides de pencas mermadas de nopal.

TRATAMIENTOS	AGAR %	MUCILAGO %	PECTINA %
TC	0.8	0.0	0.0
T1	0.0	0.0	0.8 OFI
T2	0.2	0.0	0.6 OFI
T3	0.4	0.0	0.4 OFI
T4	0.6	0.0	0.2 OFI
T5	0.0	0.8 OFI	0.0
T6	0.2	0.6 OFI	0.0
T7	0.4	0.4 OFI	0.0
T8	0.6	0.2 OFI	0.0
T9	0.0	0.0	0.8 OR
T10	0.2	0.0	0.6 OR
T11	0.4	0.0	0.4 OR
T12	0.6	0.0	0.2 OR
T13	0.0	0.8 OR	0.0
T14	0.2	0.6 OR	0.0
T15	0.4	0.4 OR	0.0
T16	0.6	0.2 OR	0.0
T17	0.0	0.4 OFI	0.4 OFI
T18	0.0	0.4 OR	0.4 OR

Para la elaboración del gel del tratamiento control (TC) se realizó la siguiente metodología. Los materiales necesarios fueron: Agar Bacteriológico, Medio MS, sacarosa 30 g / L, cajas Petri, KOH (hidróxido de potasio), Calcio, agua destilada. pH metro. Posteriormente se colocó la mitad del volumen deseado de agua destilada en un elmeyer ($V_i: 150 \text{ mL}/2 = 75 \text{ mL}$), se añadieron 30 g / L de sacarosa ($0.15 \text{ L} = 4.5 \text{ g}$) y se mantuvo en constante agitación hasta su disolución. Se añadió agua destilada hasta alcanzar el volumen final que se requería. Al alcanzar el volumen final pasamos a ajustar el pH en un valor entre 5.7 y 5.8 con KOH (hidróxido de potasio) y NaOH. Ajustado el pH añadimos a la solución 7 o 8 g / L de agar (1.05

g de agar en el caso de 7 g/L) y la solución fue calentada hasta 75 ° C con agitación constante y mantenido así durante 20 minutos, para posteriormente pasar a ser repartida en cajas Petri, las cuales se dejaron enfriar a temperatura ambiente hasta su gelificación. Para los geles de pectina y agar la metodología fue misma mencionada anteriormente, solo modificando el paso de pH, en el cual el este fue necesario tenerlo en un rango de 3.5 posterior a la mezcla de todas las sustancias con volumen final y antes del calentamiento hasta la ebullición.

Para las formulaciones donde fue usado mucilago la metodología fue la siguiente: Se colocó la mitad del volumen deseado de agua destilada en un Erlenmeyer (25 mL) y fueron añadidos 30 g / L de sacarosa (0.15 L = 4.5 g) mantenidos en agitación constante hasta su disolución. La mezcla de polisacáridos (agar y mucilago) se pusieron en agitación magnética durante 10 min con el agua restante para alcanzar el volumen final, posteriormente fueron calentados hasta 75 ° C con agitación y mantenido así durante 20 minutos. Después de esto, se agregó la cantidad adecuada de iones de calcio a las soluciones calientes para proporcionar la fuerza iónica deseada. Se pueden obtener buenos geles con un 30% de sólidos solubles, sin embargo, la cantidad de calcio para formar geles depende de la cantidad de sólidos solubles. Por ejemplo: para 30% de sólidos solubles se requieren 40-100 mg de calcio y para 45% de sólidos solubles 20-40 mg de calcio (Medina-Torres et al., 2003). Para terminar las muestras se vertieron en cajas Petri, enfriadas a 25 °C o temperatura ambiente esperando su gelificación.

Para descartar los tratamientos que no gelificaron, se realizó una prueba cualitativa en donde las cajas Petri fueron inclinadas y aquellos tratamientos que no se derramaron fueron caracterizados para posterior uso como medios de cultivo y soporte sólido para plantas.

3.3. 5 TPA para la caracterización de geles

Los geles que no fueron descartados por análisis cualitativo por no gelificar, fueron llevados al *Texture Analyzer TPA* para la medición de sus propiedades de compresión para los componentes de los sistemas de los geles realizados fue llevado a cabo con un *Brookfield's CT3 Texture Analyzer*. Las muestras realizadas fueron colocadas en la plataforma del analizador de textura y compresión con una plataforma de 36 mm y una velocidad de 1 mm/s y una profundidad de 5 mm y una carga de celda de 5g de sensibilidad uniaxial para experimentos de compresión y su relación con el stress y la memoria. La prueba utilizada fue esférica, seguida por la medición de parámetros mecánicos que incluyeron: primer ciclo de dureza, segundo ciclo de dureza, cohesividad, fuerza adhesiva, adhesividad, elasticidad y gomosidad de cada uno de los geles realizados.

Los tratamientos resultantes fueron analizados, para obtener una mejor caracterización y ser comparados con el tratamiento control, marcando con ellas diferencias en los medios de cultivo, la germinación y desarrollo de la plántula. El experimento fue realizando por triplicado, seleccionando el gel de manera aleatoria, llevando a cabo un análisis ANOVA de una variable y una prueba TUKEY-KRAMER para cada una de ellas.

3.4Objetivo 3. Definir la fórmula para el uso de los hidrocoloides extraídos como agentes gelificantes en los medios de cultivo *in vitro*.

3.4.1 Desarrollo de medios de cultivo

Para el desarrollo de los medios de cultivo y germinación de semillas, fueron seleccionados los medios que gelificaron y pudieron ser medidas sus propiedades mecánicas: primer ciclo de dureza, segundo ciclo de dureza, cohesividad, fuerza adhesiva, adhesividad, elasticidad y gomosidad.

Se seleccionó la *orquídea catleya* para caracterizar el funcionamiento de los medios de cultivo seleccionados, por medio de una germinación asimbiótica. Este tipo de germinación necesita que el medio de cultivo tenga todos los nutrientes orgánicos y e inorgánicos y azúcares disponibles para la germinación y desarrollo de la plántula. Por ello se usó el medio Murashige y Skoog (1962), adicionado con agua de coco y

carbón activado nutrientes orgánicos. Para el desarrollo de los medios de cultivo se tomó como base la siguiente metodología propuesta por Flores-Escobar (2008). Se colocaron 100 mL de agua destilada a la cual se le quitaron de 15 a 20 mL, posteriormente se agregaron 10 mL de agua de coco y 2 g de sacarosa, posterior se agregó el medio MS (.221 g) y el carbón activado (0.2 g) el cual tiene la capacidad de atrapar compuestos de desecho que exudan las plantas al gel, además que promueve una lenta liberación de nutrientes. Posteriormente se agregó el agua faltante para completar 100ml, y fue llevado a agitación continua para mezclar por 10 min. Posteriormente, el pH de la solución se colocó en 5.5 – 6, se agregó el agar (8 g) (el cual fue sustituido por las formulaciones que gelificaron), fue importante recordar medir el pH 3.5 si era pectina y agregar calcio si era mucilago, para la correcta gelificación. Posterior se llevaron a agitación continua durante 10 min y calentados a 75 ° C durante 20 minutos. Posteriormente cada tratamiento fue depositado en los tubos de ensayo los cuales fueron autolavados 1.06 kg cm⁻² y 121 °C por 15 min en conjunto con el material a utilizar para la colación de las semillas en los medios de cultivo.

3.4.2 Medio de cultivo y desarrollo de plántula

Cada tratamiento tuvo 3 repeticiones y cada repetición consistió de un tubo de ensayo con al menos 2 semillas. Para la desinfección de semillas se llevó a cabo la siguiente metodología, dentro de una campana de flujo laminar fueron llevados los instrumentos necesarios previamente esterilizados (tijeras, agua destilada, vasos de precipitados, mechero, semillas, guantes y pinzas). Posterior dentro de la campana de flujo laminar se esterilizaron las semillas, para ello se preparó una solución del 1 a 1.5% de concentración de cloro, se tomó 20 cc aforando a 100 cc con agua destilada y se sacudió por un tiempo corto. Con la intención de que la semilla no formara grumos y toda ella tuviera contacto con la solución y lograr una buena esterilización se realizaron tres vacíos durante 2 min., El vacío consistió en colocar las semillas en 5 mL de la solución de cloro preparada anteriormente dentro de un frasco, y se procedió a sacudirlo rigurosamente. Posteriormente, pasamos a

la cámara de flujo laminar en donde las semillas fueron colocadas en un filtro estéril dentro de una caja de Petri, realizando tres cambios de agua esterilizada cada tres minutos para la eliminación total del cloro; finalmente las semillas fueron tomadas con pizas y colocadas en los diferentes tubos de ensayo, los cuales posteriormente pasaron por el mechero para ser esterilizados y etiquetados.

Los tubos de ensayo fueron colocados de acuerdo al estudio de dos variables de condiciones de germinación, la mitad de los tubos fueron colocados en condiciones de ausencia de luz y la otra mitad en condiciones de luz (25 ± 1 ° fotoperiodos de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad con intensidad $41 \mu\text{Mm}^2\text{s}^{-1}$ proveniente de una lámpara de luz fluorescente de marca Phillips ® 30 watt.).

A los datos de cada variable se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey (≤ 0.05).

3.4.3 Formulación resultante

El estudio de las formulaciones resultantes consistió en experimentos separados: Germinación de las semillas, generación de raíces y crecimiento de plántula. El porcentaje de germinación fue considerado cuando se observó que el embrión hizo el rompimiento de la testa. El número de semillas germinadas fue contabilizado 5 y 10 días después de su puesta en condiciones de germinación (luz y oscuridad). Para el desarrollo de raíces y crecimiento de plántula todos los tubos fueron colocados después de diez días a condiciones de fotoperiodos de 16 h de luz y 8 horas de oscuridad observados diariamente. Después de 10 días los mejores tratamientos fueron seleccionados para evaluar el desarrollo fenológico de las plantas, donde las variables evaluadas fueron el número de hojas, número de raíces, longitud de la raíz, altura de la plántula, ancho de la hoja y longitud de la hoja. A los datos de cada variable se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey (≤ 0.05).

Posteriormente, para el desarrollo de la plántula se realizó un estudio ex vitro, en donde la planta fue sustraída del tubo de ensayo después de tres meses de estar en condiciones de fotoperiodos. La planta fue sustraída y colocada en envases de

plástico con sustrato de orquídeas, enraizados y desinfectante para su aclimatación ex vitro y desarrollo en condiciones habituales de luz.

4. Capítulo IV – Resultados y discusión.

4.1 Recolección de pencas

Las pencas recolectadas son diferenciadas por sus características físicas, tales como color, forma, tamaño, forma de las espinas, color de fruto y tamaño del fruto. A continuación, la Figura 4.1 nos muestran lo anterior mencionado.



a) *Opuntia ficus-indica*

b) *Opuntia robusta*

Figura 4.1 Pencas de 1 a 2 años de edad de diferentes especies de nopal.

De la producción total por hectárea de nopal la merma generada es alrededor de 4.5%, lo que equivale a 450 kg con un precio de \$9.35 x kg, lo que se asemeja a un total de \$4,207.5 (SMATTCOM, 2020), generando una pérdida en los agricultores nopalersos. Para las características físicas de las pencas recolectadas podemos decir que, el peso de la penca de nopal para venta nacional es de 1.6 kg y para exportación de 1.2 kg. Las pencas que recolectamos de nopal mermadas tuvieron entre 1 a 2 años de edad, con un peso promedio de 1.1 kg; concordando con lo

reportado por Lefsih y col. (2015). Las pencas de *O. ficus-indica* tuvieron las siguientes medidas: una media de 28.27 ± 2.62 cm de alto y 16.2 ± 2.81 cm de ancho debido a su forma ovalada. A diferencia de la especie *O. robusta* que tuvieron las siguientes medidas: un promedio de 22.1 ± 3.6 cm de alto y 19.6 ± 3.4 cm de ancho debido a su forma casi redonda, y concertando Valdez y col. (2008) y Galicia-Villanueva y col. (2017) tienen un peso que oscila entre 1.08 ± 1.12 kg (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Bitácora de medidas para la recolección de dos tipos de nopales.

UE	<i>Opuntia ficus-indica</i>		<i>Opuntia Robusta</i>	
	Largo	Ancho	Largo	Ancho
1	21	11.5	24	23
2	28	19	23	23.5
3	29	17	28	28
4	28	19.5	29	26
5	35	19	20	20.5
6	28	19	17	17.5
7	27	19	26	21.5
8	28	14	15	11
9	32	15.5	12.5	16.5
10	30	19	22	23
11	26.5	18	20	19.5
12	29	13.5	23	18
13	30	14.5	21.5	16.5
14	34	19	24	20
15	31	10	21.5	16
16	33	13	21	15
17	25	18	24	17.5
18	29	20	25	18
19	28	11.5	23	16.5
20	29	18	21.5	17.5
21	28.5	15	28	20
22	29	19	26	16
23	30	18	24	15
24	29	19	23	18
25	28	15.5	21.5	19
26	29	19.5	26	22
27	26.5	19	21.5	19
28	27	18	23	18

29	30	18.5	21.5	17
30	28	15	18	17.5
PROM				
	28.85	16.81	22.45	18.88
DES.ESTAN				
	2.63	2.81	3.63	3.48

4.2 Rendimientos de pectina

Las cactáceas como los nopales pueden desarrollarse en condiciones hostiles de clima o terreno debido a que ahorran grandes cantidades de agua por su Metabolismo ácido de crasuláceas (CAM), el cual permite la formación de polisacáridos estructurales como la pectina (Cárdenas et al., 2019).

Como resultados obtuvimos que el rendimiento de Pectina Total (PT) en base seca obtenido a partir de pencas mermadas de *O. ficus-indica* fue de 0.58 ± 0.14 %, y para la especie *O. robusta* fue de 1.25 ± 0.18 % (Tabla 4.2). Con los resultados obtenidos determinamos la siguiente hipótesis: Existe una diferencia entre en el rendimiento de pectina respecto a la especie de nopal, con una $p < 0.0075$ de acuerdo con Tukey-Kramer.

Tabla 4.2 Datos para la extracción de pectina de dos especies de nopal por triplicado.

UE	Pectina	Especie
1	0.64	OFI
2	0.68	OFI
3	0.42	OFI
PROM	0.58	DES.ESTAN 0.14
4	1.26	OR
5	1.43	OR
6	1.06	OR
PROM	1.25	DES.ESTAN 0.18

De acuerdo a los resultados obtenidos, concordamos con Tripodo et al., 2013, el cual menciona que la pectina de nopal representa un rendimiento que va desde el 0.6 %. Podemos referir que para obtener 68 gramos de pectina de nopal

necesitaríamos alrededor de 10 kg de pencas mermadas, usando un medio alcalino en presencia de un agente secuestrante.

Con los resultados obtenidos, podemos mencionar que el tiempo de secado con la misma temperatura 60 °C de las muestras fue diferente, esto relacionado con el contenido de humedad de cada una de las muestras: 3.30 h para *O. ficus indica* y 16 h, lo que sugiere, que *O. robusta* contiene un mayor porcentaje de humedad 95%, concordando con Torres et al., (2016). Se propone que para disminuir el tiempo de secado se sugiere aumentar la temperatura para el secado, sin embargo, debemos estudiar si esto no altera las características y propiedades mecánicas de los componentes. Concluyendo que a menor rendimiento menor tiempo de secado.

El contenido y rendimientos de pectinas en húmedo y seco en diferentes especies de nopal va de 0.13 a 2.14 % en base húmedo que equivale a 1.00 a 23.87 % en peso seco, tomando en cuenta variables como especie, estado de madurez, temperatura y método de extracción (Villareal et al.,1963) (Figura 4.2).

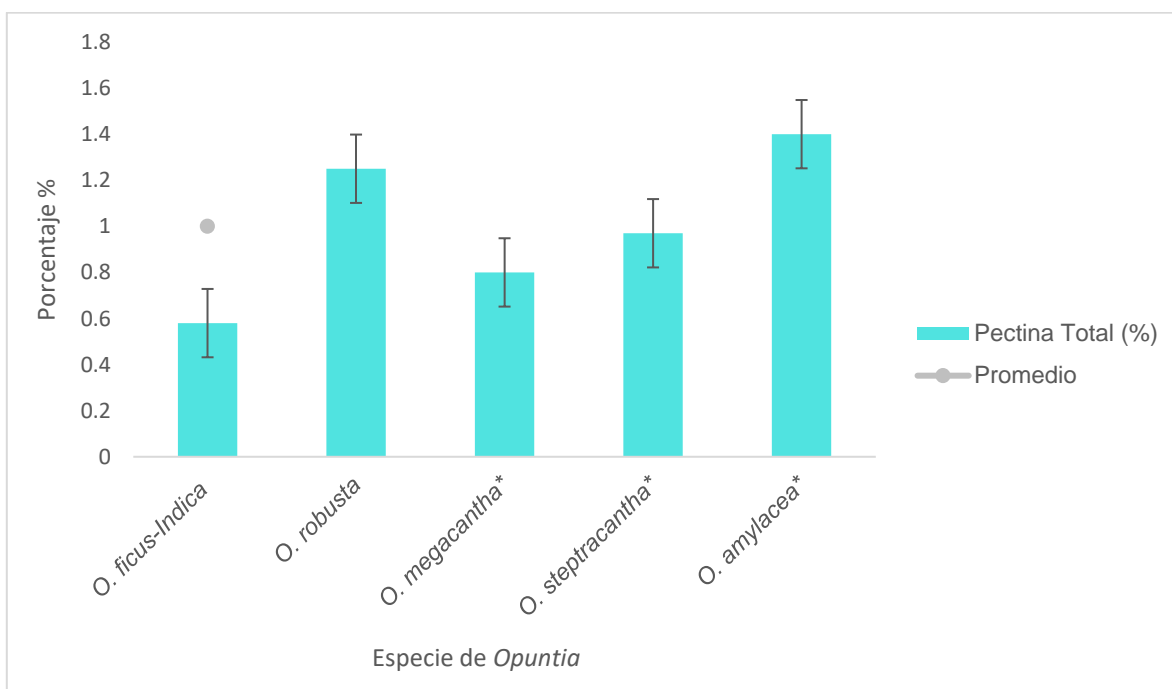


Figura 4.2 Contenido de PT en diferentes especies de *Opuntia spp.* El rendimiento reportado para *O. ficus-indica* y *O. robusta* es el obtenido en este estudio (Ros et al., 1996; Bayar et al., 2017; Bayar et al., 2018).

3.5 Rendimientos de mucilagos

Los rendimientos obtenidos con la metodología mencionada en el presente trabajo fueron de: *O. ficus-indica* fue de $0.97 \pm 0.05\%$ y para *O. robusta* de $1.5 \pm 0.09\%$ con una diferencia significativa ($p < 0.000524$) (Tabla 4.3). En el presente trabajo se mejoraron los rendimientos obtenidos por autores como Rodríguez-González et al., (2011) un rendimiento en peso seco máximo de 0.5 – 0.6%, este se incrementó en un 0.3 % para *O. ficus-indica*, sin embargo, un estudio menciona un rendimiento máximo de mucílago de 6.91% (Felkai-Haddache et al., 2015). Para el tiempo de secado al igual que la pectina fue de: 3.30 h para *O. ficus-indica* y 16 h para *O. robusta*.

Tabla 4.3 Datos para la extracción de mucílago de dos especies de nopal por triplicado.

UE	Mucilago	Especie	
1	0.92	OFI	
2	1.02	OFI	
3	0.98	OFI	
PROM	0.97	DES. ESTAN	0.05
4	1.5	OR	
5	1.68	OR	
6	1.57	OR	
PROM	1.5	DES. ESTAN	0.09

Como se observa en la Figura 4.3 los rendimientos dependen de la especie, sin embargo, el porcentaje de rendimientos de *O. robusta* sobresale por ser el mayor. (Figura 4.3). Actualmente, la mayoría de los estudios sobre el contenido de mucílago se realizan en *O. ficus-indica*, sería recomendable comenzar a estudiar en otras especies con mayor contenido de fibra soluble donde están presentes los compuestos, en *O. robusta* el contenido de fibra soluble es de (17.63 %), por lo tanto, su contenido de hidrocoloides es mayor (Bernardino-Nicanor et al., 2018) (Du Toit et al., 2018). Con el estudio realizado comprobamos que lo mencionado anteriormente es una verdadera hipótesis. *O. robusta* es una variedad de Nopal que no ha sido domesticado para su venta, es un nopal mayormente encontrado de manera silvestre.

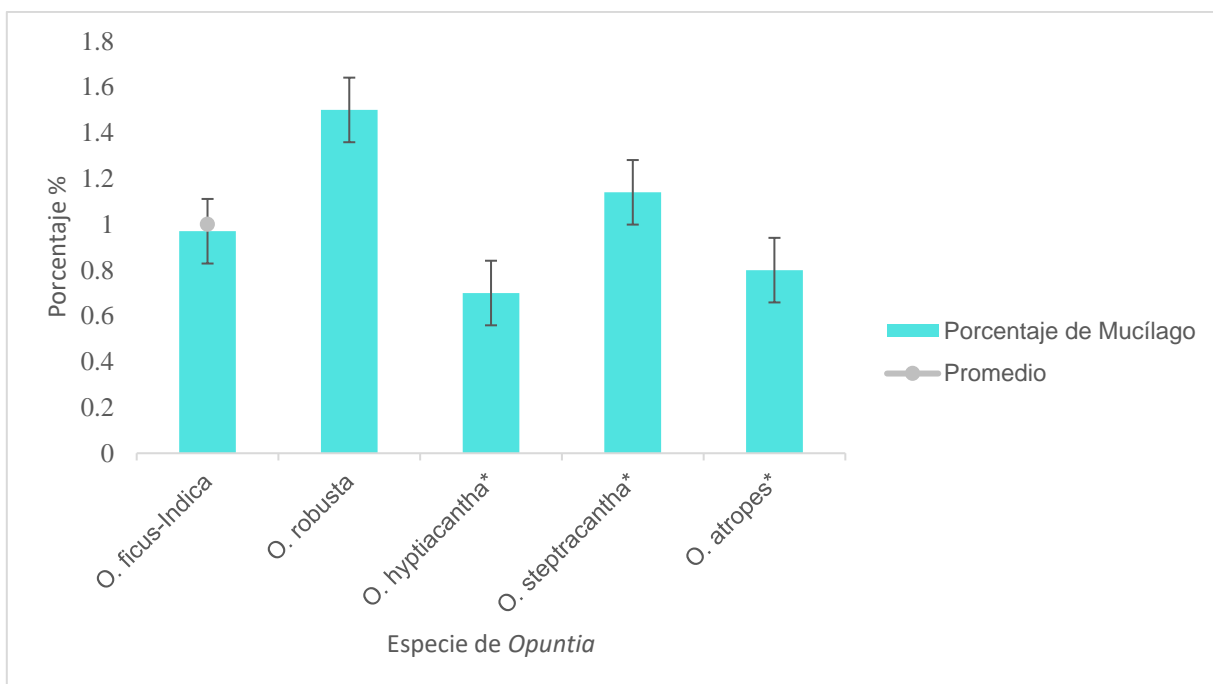


Figura 4.3 Contenido de mucílago en diferentes especies de Opuntia spp. (Felkai-Haddache et al., 2015; Vásquez et al., 2018; López-Palacios et al. 2019).

4.4 Grado Esterificación

En el estudio del grado de esterificación algunas pectinas pueden estar parcialmente acetilados (Turquois et al., 1999), debido a esto pueden ser clasificadas en pectinas de alto o bajo grado de esterificación. Los hidrocoloides extraídos fueron clasificados depende su %. Como LDM o pectina de bajo grado de esterificación los mucílago, es decir, que formara un gel iónico en presencia de calcio o cationes divalentes. Como HDM o pectina de alto grado de esterificación las pectinas extraídas, en donde es necesario el control pH. La pectina extraída puede ser comparada con aquella que es usada comercialmente, la cual es obtenida de cáscara de naranja y tiene un GE de 70.49% (Ramírez-Gavidia et al., 2020) (Tabla 4.4).

Tabla 4.4 Grado de esterificación de pectina y mucilago de dos especies de Opuntia.

Muestra	Sustitución Fórmula	Resultado	Clasificación
OFI-P	$DM (\%) = \frac{4.5 \text{ ml}}{4.5 \text{ ml} + 1.4} \times 100$	71.42%	HDM

OFI-M	$DM (\%) = \frac{0.4 \text{ ml}}{0.4 \text{ ml} + 2.8} \times 100$	12.5%	LDM
OR-P	$DM (\%) = \frac{3.9 \text{ ml}}{3.9 \text{ ml} + 2.8} \times 100$	58.2%	HDM
OR-M	$DM (\%) = \frac{0.2 \text{ ml}}{0.2 \text{ ml} + 2.6} \times 100$	7.14%	LDM

La importancia del presente estudio es relacionada con la importancia que tiene la pectina en las características biomecánicas del gel, tal como la porosidad, rigidez o relajación, permeabilidad y elasticidad, las cuales son factores de gran importancia para el desarrollo vegetal (Rascón-Chu et al., 2016). Además, el GE se vincula con propiedades del gel como la velocidad para la solidificación del gel, en donde, los grupos carboxilos de los ácidos galacturónicos presentarán un grado variable de esterificación con metanol y a su vez pueden estar parcial o completamente neutralizados por iones de sodio, potasio o amonio.

Pectinas de alto metoxilo (HDM) son caracterizadas por tener 50% de los grupos carboxilos del ácido galacturónico del polímero se encuentran esterificados con metanol. A mayor GE es mayor la temperatura de gelificación, el pH es entre 2.8 y 3.5 y un contenido de sólidos solubles (azúcar) entre 60 y 70% (Rankes, 2000).

Pectinas de bajo metoxilo (LDM) son caracterizadas por formar geles en presencia de iones, a diferencia de la HDM el pH puede ser neutro y la concentración de sólidos no influye en la formación del gel, sin embargo, si influyen en la textura final, la cual se forma con base en una estructura reticular de pectinatos de calcio (Hui, 1996).

4.5 Análisis ATR-FTIR

El ATR-FTIR fue utilizado como herramienta de caracterización, debido a que este ha sido utilizado por años como instrumento para el estudio de los azúcares. Las muestras de pectina y mucilago liofilizadas fueron colocadas en la celda de ATR sin ninguna preparación ni dilución, se utilizó para procesar los espectros el programa ORIGIN. La espectroscopia FTIR se ha aplicado ampliamente para determinar si los grupos funcionales dentro de una estructura polimérica extraída de la parte

precipitante concuerdan con la espectroscopia de pectina. De acuerdo con la extracción alcalina realizada en este estudio y comparada con la realizada por Goycoolea & Cárdenas (2003), Cárdenas et al., (2008) y Bayar et al., (2017), el análisis FTIR muestra las siguientes vibraciones.

PECTINA FTIR

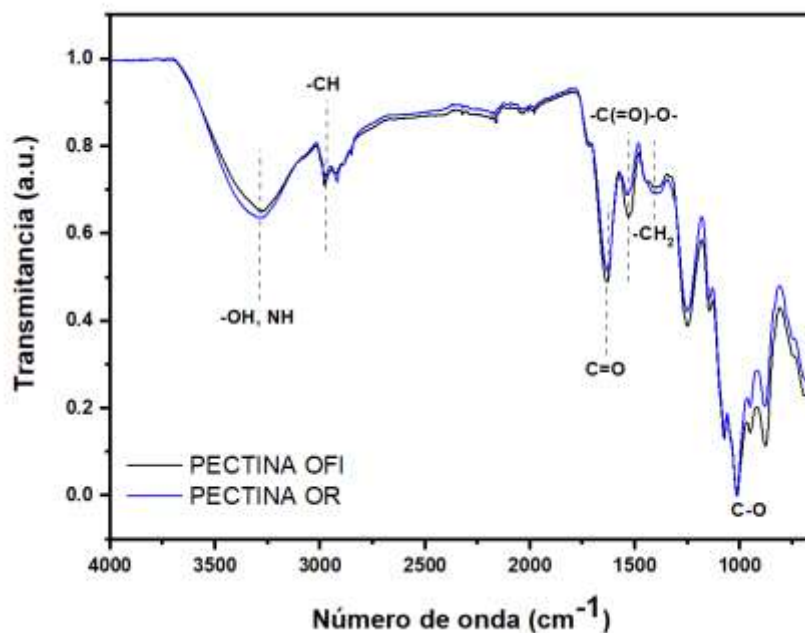
El FTIR de pectina se realizó con la intención de confirmar el tipo de extracto obtenido. De acuerdo a los resultados y comparados con la estimación del grado de esterificación, se confirmó que el precipitante puede ser llamado pectina, ya que su patrón de transmitancia concordó con los espectros de una pectina comercial. Fueron localizados los principales grupos químicos en la longitud de onda 1200 y 850 cm^{-1} la cual es considerada como la región de huella digital para los carbohidratos, lo que sugiere, que el extracto es una pectina, en ambas especies estudiadas. Para comprobar y estimar su HDM en el número de onda 1650 cm^{-1} se localizaron los grupos carboxilo libres y en el número de onda 1800 cm^{-1} los grupos esterificados. Sin embargo, el número de onda 1630 cm^{-1} está vinculada con el estiramiento de los iones carboxilato y la relativa banda éster, que es más intensa en pectinas de alto grado de esterificación, como en este caso.

En la Figura 4.4, se realiza una descripción de la vibración molecular relacionado con el número de onda.

Se observó una primera vibración en el número de onda 3283 cm^{-1} involucrados en los enlaces de hidrógeno intermoleculares e intramoleculares del polímero de ácido galacturónico, relacionada con las vibraciones de estiramiento de los grupos OH, NH del alcohol y el ácido carboxílico. Una banda que une el éster metílico del ácido galacturónico debido a la extensión de los grupos hidroxilo se localizó en el número de onda 2968 cm^{-1} , correspondiente a la absorción de la extensión O-CH₃. La vibración localizada en 1720 cm^{-1} se relacionó con el estiramiento de los grupos carboxilo esterificados con metilo C=O. El estiramiento antisimétrico y COO-simétrico característico de las sales de ácidos carboxílicos fueron localizados entre las bandas 1600 a 1400 cm^{-1} .

El número de onda 1530 cm^{-1} mostró la presencia de anillos aromáticos, además, indicó la presencia de grupos carboxilo que en algunos casos pueden ser originados a partir de compuestos fenólicos, (Wang et al., 2015). Otras de las vibraciones que se localizaron entre 1250 a 1140 cm^{-1} relacionados al estiramiento del éter C-O-C (Canteri et al., 2012). Además, se encontró alcoholes secundarios C-O- y estiramiento C-O- del H en los alcoholes cíclicos (Bayar et al., 2017). Con el espectro obtenido confirmamos la hipótesis: Las mermas de nopal contienen pectina de alto grado de esterificación, las cuales forman geles.

a)



b)

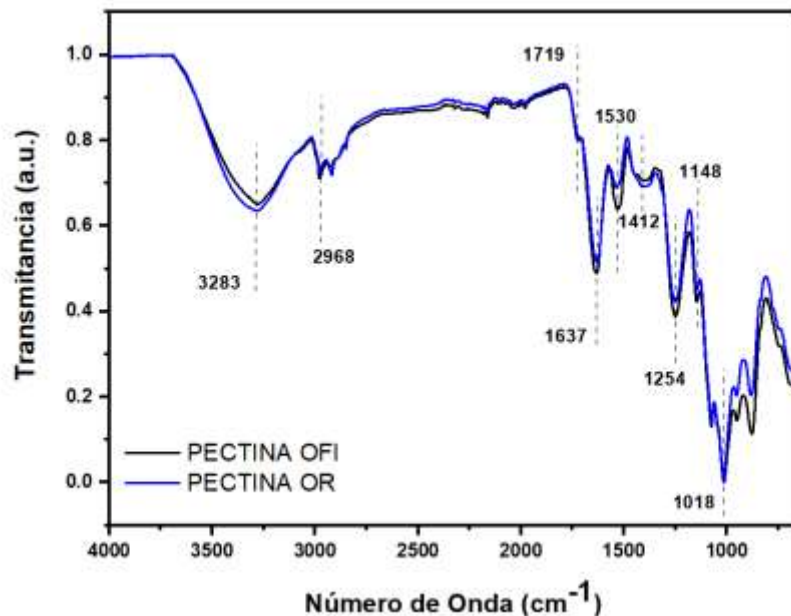


Figura 4.4 Análisis FTIR de pectinas de dos especies de *Opuntia*. a) Vibración de grupos funcionales, b) Vibración en el número de onda.

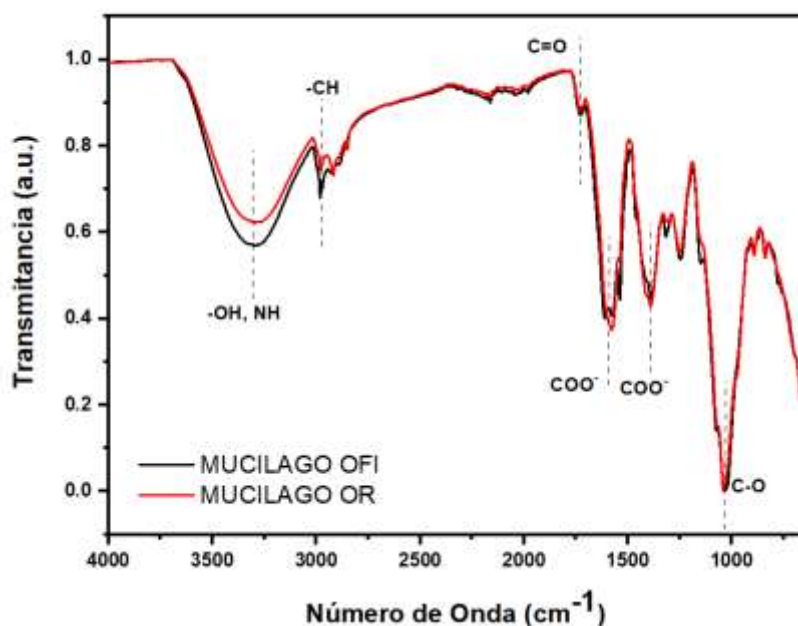
MUCÍLAGO FTIR

Para confirmar la identidad del extracto supernadante, se encontró que los espectros del extracto exhibieron similitudes en su patrón de transmitancia con el de los estándares comerciales de mucílago de *Opuntia* (Figura 4.5).

El análisis FTIR del mucílago de *O. ficus indica* y *O. robusta* realizado en este estudio, comparado con el realizado en otras especies como *O. jonostle*, *O. streptacantha*, *O. tomentosa*, *O. atropes* y *O. hyptiacantha* muestra que los grupos funcionales presentes en todos los mucílagos de nopal son: bandas de absorción a 3500-3200 cm⁻¹ que representan los grupos ácido carboxílico -OH involucrados en el enlace intermolecular como lo menciona Contreras-Padilla (2016). En la vibración 2975-2919 cm⁻¹ puede apreciar una banda que está relacionada con el estiramiento de los grupos -CH pertenecientes a los grupos piranosa, luego una banda de

absorción más suave a 2850 cm^{-1} que está relacionada con el estiramiento de los grupos $-\text{CH}_2$ de los grupos piranosa del grupo carboxílico (Monroy et al., 2017). Se muestra la falta de una vibración de onda a 1749 cm^{-1} la cual está ligada al bajo grado de esterificación, como lo menciona Rodríguez-González et al., (2014) que indica que los grupos carboxilo están libres y disponibles para interactuar con moléculas de agua y esto se traduce en su alta capacidad para absorber agua; así como si los carboxilos libres se mezclan con Ca^{2+} en presencia de agua, pueden formar redes estructurales viscosas. Sin embargo, para *O. robusta* y *O. atropes* se puede identificar una ligera vibración a 1730 cm^{-1} relacionada con el estiramiento $\text{C}=\text{O}$. Además, se encontraron dos bandas a 1593 y 1388 cm^{-1} relacionadas con el estiramiento COO^- simétrico y asimétrico, lo que confirma el bajo grado de esterificación del mucílago. Finalmente, se encontró una banda a 1030 cm^{-1} , debido a la vibración de las moléculas de $\text{C}-\text{O}$ atribuida al estiramiento de los alcoholes cíclicos secundarios. Las bandas por debajo de 1000 cm^{-1} corresponden a β -D-glucosa y por debajo de 800 cm^{-1} se atribuyen a vibraciones de los grupos $\text{N}-\text{H}$ y $\text{O}-\text{H}$ (Zhao et al., 2007).

a)



b)

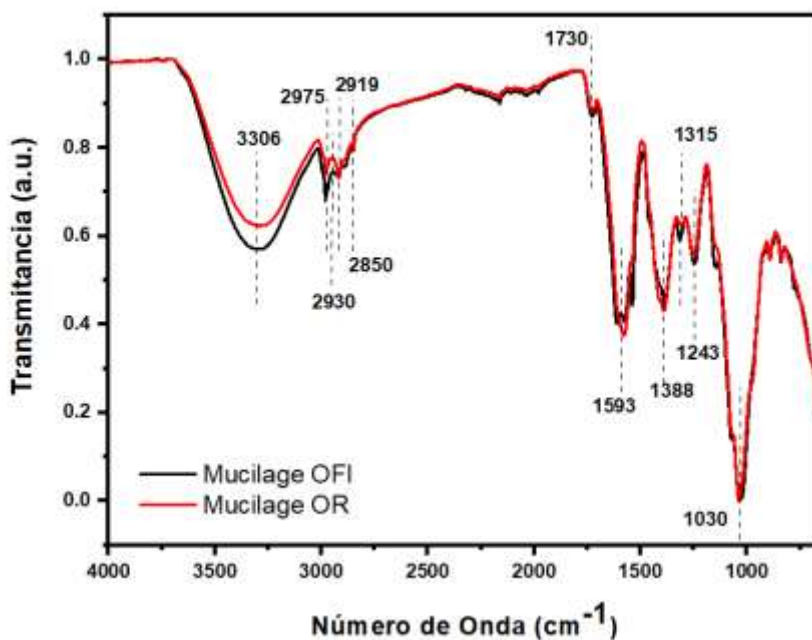


Figura 4.5 Análisis FTIR de mucílago de dos especies de *Opuntia*. a) Vibración de grupos funcionales, b) Vibración en el número de onda.

4.5.1 Modelado de molécula

MUCÍLAGO

De acuerdo a las vibraciones obtenidas en el FTIR, deducimos que la estructura química del mucílago está considerada como una sustancia amorfa, la cual es caracterizada por que sus moléculas están distribuidas de forma igual de aleatoria que en la fase líquida, pero son inmóviles, es decir, estas no siguen una estructura, la cual suele ser compleja como lo había mencionado (De Andrade et al., 2021). En general, existen dos azúcares que forman las moléculas de un mucílago, pero en ocasiones podemos encontrar cinco o más. Como se observa en el modelado de la estructura química general del mucilago en la Figura 4.6 esta corresponde a polisacáridos heterogéneos con un alto contenido en galactosa, manosa, glucosa y derivados de osas (principalmente ácidos). Sin embargo, es bien sabido que las gomas y mucílagos difieren de la pectina en que las unidades de galactosa se alternan con glucosa y polisacáridos (Dugarte et al., 2020). El mucílago de *Opuntia*

es distinguido como un mucilago ácido, el cual es representado por tener derivados de ácidos de osas como ácidos carboxílicos, ésteres, anhídridos de ácido y amidas, los cuales le dan la característica más importante, relacionada con la capacidad de absorción de agua para la formación de disoluciones altamente viscosas y geles no adherentes. Esto mediante una estructura interna reticular que aloja agua, mediante el hinchamiento a nivel molecular.

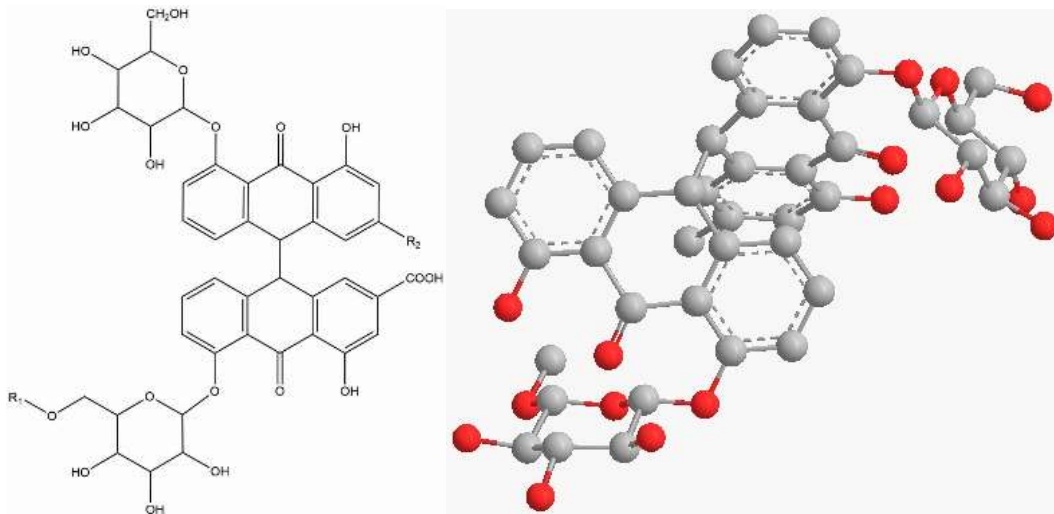


Figura 4.6 Modelado en 2D y 3D de la molécula de mucilago de *Opuntia* (Elaboración propia).

PECTINA

La estructura química de las pectinas se encuentra compuesta por una mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Al igual que el mucílago la pectina tiene la propiedad de absorber una gran cantidad de agua. A continuación, en la Figura 4.7 se muestra la estructura principal de la pectina extraída, en donde se observa la homogalacturona es una cadena lineal de 1,4- α D-ácido galactorónico (AgalD), en el cual algunos de los grupos carboxilos están metil esterificados, encontrando con ello esteres metílicos y estéres-o-acetilos. Debido a que dentro de sus moléculas encontramos polisacáridos pépticos, oligosacáridos lineales y ramificados como rhamnogalacturona-I, rhamnogalacturona-II, α -L-Arabinofuranosil (Araf) y β -D-Galactopiranosil, la pectina extraída tiene características de importancia industrial para actividades inmunológicas, ingrediente funcional en la industria de alimentos, fuente de fibra dietética y aplicaciones en la industria farmacéutica,

cosmética. Y recientemente su aplicación como membranas biopoliméricas cicatrizantes, intolerancia a la glucosa y para evitar el crecimiento de cáncer de próstata (Chasquil et al., 2008).

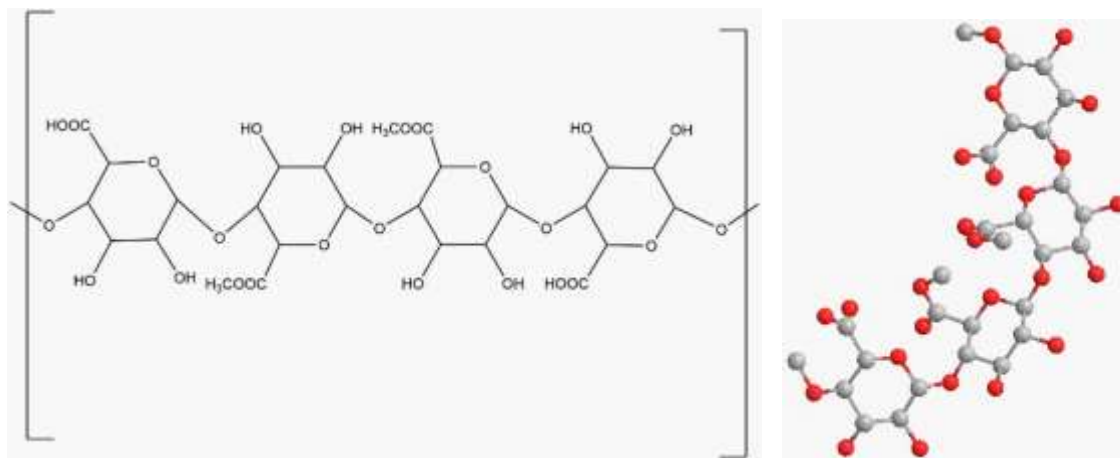


Figura 4.7 Modelado de la estructura molecular de la pectina de *Opuntia* (Elaboración propia).

4.6 Gelificación de formulaciones y caracterización TPA

Primeramente, se realizó un descarte mediante una observación cualitativa de aquellos tratamientos los cuales no gelificaron, esto con la intención de descartar y llegar a la formulación indicada y final para la elaboración del medio de cultivo. A continuación, se muestra la tabla en donde las variables cualitativas y cuantitativas estudiadas fueron: facilidad de derrame o soporte estables, color, temperatura de gelificación y tiempo de gelificación y pH inicial, el experimento fue realizado por triplicado variables de importancia para el desarrollo y germinación de plántulas de manera *in vitro* (Tabla 4.5) (Fig. 4.8).

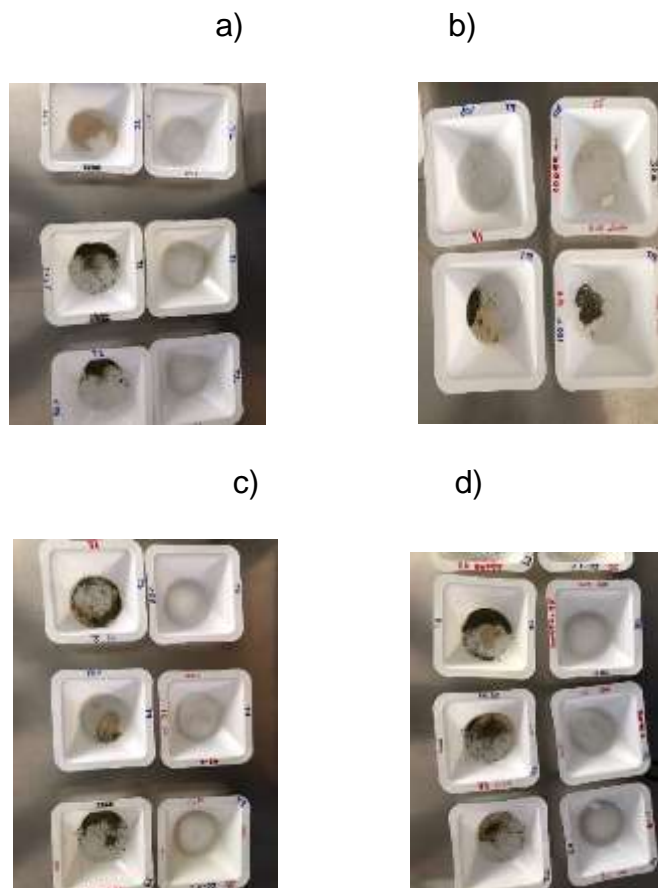


Figura 4.8 Concentraciones para formulaciones en laboratorio. a) Formulación para el tratamiento control, b) Formulación de mucílagos y pectinas, c) Formulación de mucílagos, d) Formulación de pectinas.

Tabla 4.5 Respuestas de gelificación de tratamientos.

TRAT	FACILIDAD DE DERRAME			SOPORTE ESTABLE			COLOR			TIEMPO DE GELIFICACIÓN Min.			TEMP. DE GELIFICACIÓN °C			PH INICIAL
TC				x	x	x	T	T	T	7.3	7.3	7.3	90	90	90	5.8
T1	x	x	x				To	To	To							3.7
T2	x	x	x				To	To	To							3.7
T3				x	x	x	To	To	To	10	10	10	80	80	80	5.2
T4				x	x	x	T	T	T	8	8	8	90	90	90	5.6
T5	x	x	x				A	A	A							5.7
T6	x	x	x				T	T	T							5.6
T7				x	x	x	T	T	T	15	15	15	75	75	75	5.5
T8				x	x	x	T	T	T	10	10	10	75	75	75	5.6
T9	x	x	x				To	To	To							3.7
T10	x	x	x				To	To	To							3.7
T11				x	x	x	Tr	Tr	Tr	8	8	8	90	90	90	5.7
T12				x	x	x	Tr	Tr	Tr	7	7	7	90	90	90	5.7
T13	x	x	x				A	A	A							5.8
T14	x	x	x				T	T	T							5.8
T15				x	x	x	T	T	T	20	20	20	75	75	75	5.7
T16				x	x	x	T	T	T	20	20	20	75	75	75	5.7
T17	x	x	x				Tr	Tr	Tr							3.7
T18	x	x	x				Tr	Tr	Tr							3.7

*Las abreviaciones de color hace referencia a: Tr, Transparente con residuos, To, Transparente opaco, Transparente, A, ámbar.

A continuación, en la Figura 4.9 se muestra de manera visual la gelificación y colorimetría del experimento realizado con pectina. En la Figura 4.10 se muestra la experimentación realizada en combinación con ambos hidrocoloides del nopal, con la intención de descartar el tratamiento.

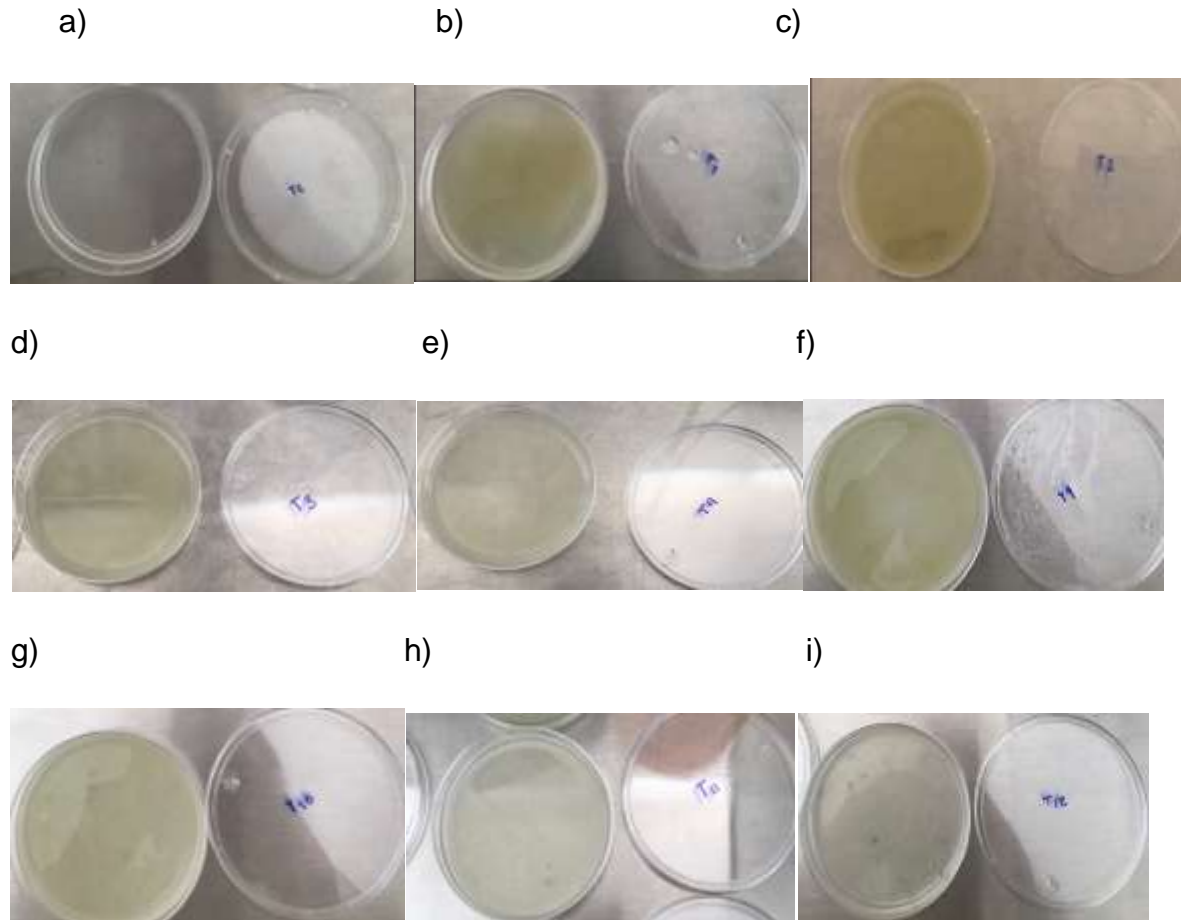


Figura 4.9 Experimentación para gelificación con pectina de dos especies de *Opuntia*. a) TC, b) T1, c) T2, d) T3, e) T4, f) T9, g) T10, h) T11, i) T12.

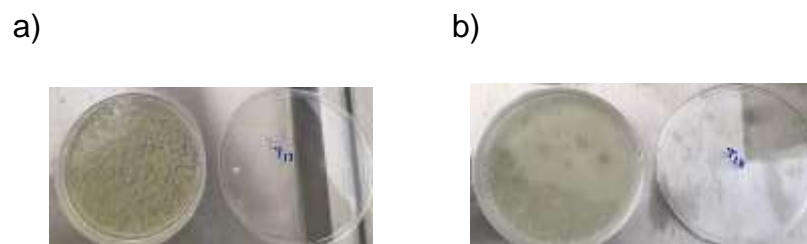


Figura 4.10 Experimentación de gelificación con combinación de pectina y mucilago de dos especies de *Opuntia*. a) T17, b) T18.

En la Figura 4.11 se observan los tratamientos realizados con mucilago de dos especies de nopal. Además, en la Figura 4.12 se realizaron tratamientos con mayor concentración el T19 compuesto por OFIM 3.335 g + CaCl₂ 0.276 g + Sacarosa 1.5 g a 60° C y refrigeración por 17 h a 10 °C y el T20 compuesto por ORM 3.335 g + CaCl₂ 0.276 g + Sacarosa 1.5 g a 60° C y refrigeración por 17 h a 10 °C, sin obtener buenos resultados.

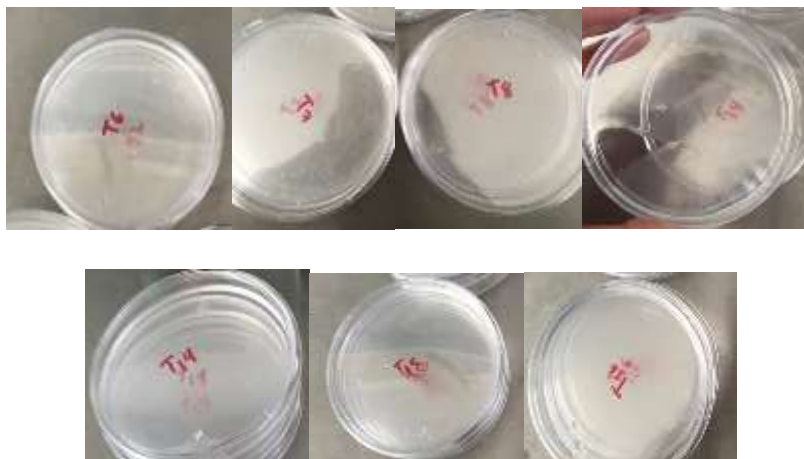


Figura 4.11 Tratamientos realizados con mucilago de dos especies de *Opuntia*.



Figura 4.12 Tratamientos realizados con diferentes condiciones y mayor concentración.

Como observamos en la tabla anterior 10 tratamientos fueron descartados (T1, T2, T5, T6, T9, T10, T13, T14, T17 y T18) estos tratamientos no son deseables por su facilidad de derrame y falta de soporte estable lo que es vital para el desarrollo de la plántula y germinación de las semillas en la técnica *in vitro*. Los tratamientos mencionados tienen en común que a sustitución del agar es total, es decir, totalmente mucilago o totalmente pectina en proporción de 0.8 %. De igual manera los tratamientos que no formaron soporte estable son formulaciones en donde se

hizo una sustitución parcial del agar en proporciones de 6 % del respectivo hidrocoloide (pectina o mucílago) + 2 % de agar. Lo que da como resultado que los hidrocoloides pectina o mucilago de pencas mermadas de nopal no son sustitutos totales del agar. Sin embargo, los tratamientos con soporte estable tienen en común una sustitución parcial del agar en proporciones de 4 % agar + 4 % hidrocoloide o mayor en proporciones de 6 % agar + 2 % hidrocoloide, sin importar si este último es mucílago o pectina, estos gelifican. Los hidrocoloides de nopal al ser combinados con la sustancia correcta y con el tratamiento adecuado de extracción estos llegan a formar geles de diferentes características (Rodríguez & Sandoval, 2003). Tanto el mucílago como la pectina con el tratamiento realizado no forman sistemas coloidales, sin embargo, al hacer la combinación con el agar en proporciones de 2%, 4% y 6% se permite formar un efecto sinérgico de ambos polímeros que modifican sus propiedades mecánicas y funcionales lo que permite formar sistemas coloidales que en este caso pueden ser usados para el cultivo de plantas in vitro (Mejía, 2022). Sin embargo, esto también se relaciona con que ambas sustancias tienen propiedades de retención de agua lo cual es una de las principales características de un gel.

Los mejores tiempos de gelificación los observamos en los tratamientos T3, T4, T11, y T12, los cuales tiende a concluirse que a mayor temperatura de calentamiento la gelificación se dará en menor tiempo (Figura 4.11), esto debido a la formación de un gel termorreversible los cuales se dan por cambio de temperaturas lo cual repercute en el agente activante el cual produce un cambio significativo en la estructura (Lorenzo, 2012). Los hidrocoloides al interactuar con el agua la retienen mediante enlaces de hidrógeno directos y la formación de puentes de hidrógeno entre las cadenas de polisacáridos y el agua, provocando un cambio de estructura molecular (Nieto, 2014). Sin embargo, en esta tesis proponemos para trabajos a futuro estudiar el modelo de hidratación de los polisacáridos el cual está relacionado, pero con la velocidad de hidratación de las moléculas, el azúcar disponible y el pretratamiento de calentamiento como se observó en los experimentos (Castañeda-Ovando, 2020). La histéresis del agar gelificante se define por la diferencia entre su temperatura de gelificación (38°C) y de fusión

(85°C) (Hickson & Polson, 1968). En la Figura 4.13, podemos observar los gráficos de relación de temperatura y tiempo para los geles formulados. Muestra un tiempo menor para gelificar cuando la temperatura está más cerca de la ebullición. Así, se ha comprobado que la temperatura de gelificación está influenciada por el grado de metoxilación del C6 de las agarobiosas presentes en el agar y la forma de puente de unión (Armisen & Gaiatas, 2009).

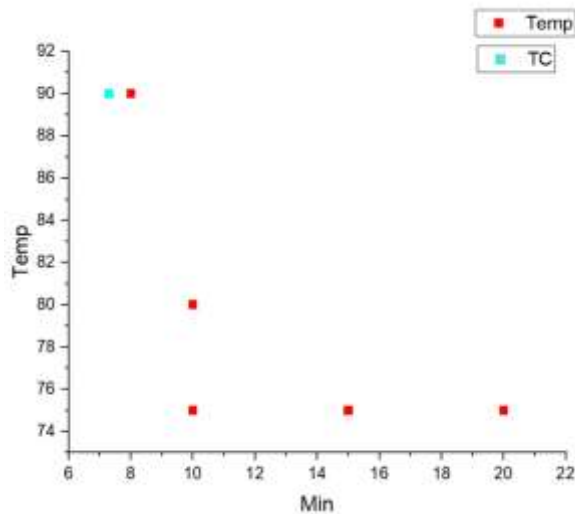


Figura 4.13 Temperatura y gelificación para tratamientos realizados.

Para la gama de colores observamos que la escala va de transparente a color ámbar haciendo referencia a las siguientes tonalidades. Sin embargo, la transparencia del agar (TC) lo hace un medio de alta pureza por su gran visibilidad en el crecimiento de bacterias (Ramírez, 2021). El agar identificado como un gel incoloro e insípido es una variable importante porque para los medios de cultivo *in vitro* es vital ver la germinación y crecimiento de la planta (Öztürk-Kerimoğlu, 2021). Los geles elaborados con agar, agarosa y pectina a menudo tienen pequeños cambios de color casi imperceptibles (Matsushima et al., 2002). Transparente (T) en donde se percata la ausencia de color el cual es identificable para el TC, Transparente con residuos (Tr) en donde se logra observar residuos de los hidrocoloides agregados, es decir que estos no fueron disueltos en su mayoría dejando ver partes visibles de estos en los geles. Posteriormente tenemos el Transparente opaco (To) en donde él se logra ver un color amarillo que puede nublar la vista para el desarrollo de las

plántulas, y por último tenemos el color Ámbar (A), en donde el color amarillo nubla por completo el gel, dificultando la vista para el desarrollo de plantas (Figura 4.14).



Figura 4.14 Colorimetría en diferentes tratamientos formulados.

Para finalizar los tratamientos con mejores condiciones y gelificaciones fueron seleccionados en donde nueve tratamientos fueron analizados para su caracterización (T3, T4, T7, T8, T11, T12, T15 y T16). Se establece que los tratamientos seleccionados esta formado por formulaciones con contenidos iguales o menores de agar (Tabla 4.6).

Tabla 4.6 Tratamientos resultantes para caracterización.

Tratamiento	Formulación 0.8%	Caracterización
TC	100 agar	TPA
T3	50 agar / 50 OFIP	TPA
T4	80 agar / 20 OFIP	TPA
T7	50 agar / 50 OFIM	TPA
T8	80 agar / 20 OFIM	TPA
T11	50 agar / 50 ORP	TPA
T12	80 agar / 20 ORP	TPA
T15	50 agar / 50 ORM	TPA
T16	80 agar / 20 ORM	TPA

Las formulaciones fueron realizadas debido a que la textura mayormente utilizada es la textura muy blanda (0,8 g / 500 ml), debido a la intención de uso tuvo en el proyecto (medios de cultivo *in vitro*) y siguiendo los pasos de dispersión, hidratación y disolución del agar. Existen otros tipos de textura y de eso depende los g de agar a utilizar, textura blanda 1,5 g / 500 ml, textura dura 5 g / 500 ml, textura muy dura 7 g / 500 ml (Porto-Muiños, 2017).

Además, se dejaron algunos tratamientos en resguardo con la intención de analizar posibles usos futuros, en donde se observó el crecimiento de hongos y patógenos indicios que estos medios sirven para el crecimiento de bacterias y usos farmacológicos y de investigación (Figura 4.21).



Figura 4.15 Crecimiento de hongos en tratamiento realizado.

4.6.1 Analizador de Textura TPA para propiedades mecánicas.

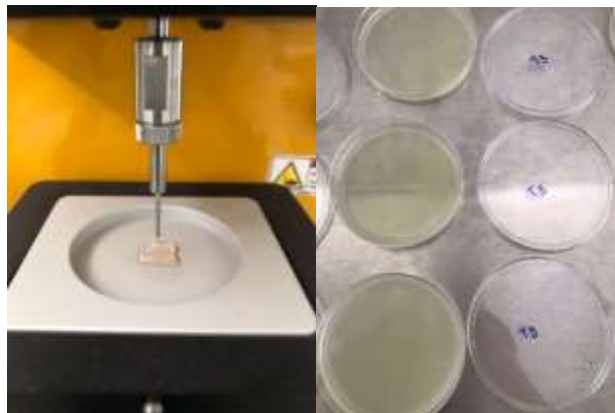


Figura 4.16 Análisis de texturas de geles.

Dentro de los polisacáridos naturales como la pectina y el mucílago los grupos hidroxilo, grupos carboxilo, acetatos, o éster sulfúrico o fosfórico se encuentran presentes lo que se ven reflejados en las propiedades mecánicas del gel final. Estas propiedades son analizadas mediante un TPA (Perfil de análisis de textura) (Figura 4.16), el cual permite obtener siete parámetros texturales muy bien correlacionados con la evaluación sensorial y de funcionamiento de las formulaciones realizadas.

En la Tabla 4.7 encontramos la media y la desviación estándar para cada uno de los tratamientos realizados. Además, se observa que aquellos tratamientos con mayor porcentaje de agar en su formulación mantienen una dureza que sobre pasa el tratamiento control, con una cohesividad estable al igual que su adhesividad y elasticidad. Sin embargo, presentan una fuerza adhesiva alta, al igual que la gomosidad. Ambas características no son ideales para el desarrollo de medios de cultivo. Sin embargo, fueron probados. Se menciona que la gelificación del agar ocurre solo por su contenido de agarosa que se produce exclusivamente por enlace de hidrógeno (Armisen & Gaiatas, 2009), las moléculas de agar se convirtieron de espiral aleatoria en doble hélice al principio cuando la solución de agar se enfrió, luego se reunió la doble hélice y generó el gel duro con gel con más enfriado (Zhang et al., 2014). Si bien, el agar no necesita otra sustancia para gelificarse, la sustitución parcial de esta en el presente proyecto fue exitosa, pues se crearon "geles físicos" y geles con presencia de cationes. Geles físicos significa que estos geles acuosos se formaron por la agregación de las moléculas de polímero a través de enlaces de hidrógeno, y la reversibilidad es la característica principal. En el caso de los geles formados con cationes nos encontramos ante geles totalmente irreversibles que no se funden por calentamiento.

Los geles diseñados y formulados crearon redes internas con diferentes características que fueron estudiadas con el siguiente TPA. A continuación, se muestra análisis estadístico detallado para cada una de las variables a estudiadas.

Tabla 4.7 Tabla de condensación de resultados obtenidos para el estudio TPA para cada tratamiento.

Tratamiento	Dureza	Dureza Ciclo 2	Cohesividad	Fuerza Adhesiva	Adhesividad	Gomosidad	Elasticidad
Unidad de medida	G	G	N	g/cm ²	Mj	G	mm
TC	96.33 ± 0.07 ^e	30.16 ± 1.41 ^e	0.35 ± 0.16 ^a	5.0 ± 0.70 ^c	0.05 ± 0.03 ^a	64.40 ± 0.88 ^b	1.87 ± 0.04 ^a
T3	72.0 ± 0.86 ^f	23.0 ± 3.53 ^f	0.11 ± 0.03 ^d	5.33 ± 1.06 ^c	0.09 ± 0.04 ^a	32.36 ± 1.13 ^d	1.48 ± 0.21 ^c
T4	163.33 ± 0.70 ^c	41.50 ± 1.06 ^d	0.29 ± 0.16 ^a	6.33 ± 3.01 ^c	0.05 ± 0.03 ^a	52.2 ± 9.26 ^b	1.52 ± 0.12 ^c
T7	44.33 ± 1.44 ^h	15.0 ± 0 ⁱ	0.30 ± 0.27 ^a	3.0 ± 1 ^d	0.05 ± 0.04 ^a	19.76 ± 4.45 ^e	1.03 ± 0.27 ^f
T8	225.33 ± 2.82 ^b	99.66 ± 0.70 ^a	0.33 ± 0.13 ^a	6.83 ± 0.70 ^b	0.10 ± 0.06 ^a	145.53 ± 14.56 ^a	1.53 ± 0.01 ^d
T11	54.16 ± 0.35 ^g	17.83 ± 0.28 ^h	0.27 ± 0.05 ^a	4.0 ± 0.5 ^{cd}	0.06 ± 0.01 ^a	37.5 ± 0.92 ^c	1.59 ± 0.13 ^c
T12	133.66 ± 3.21 ^d	71.50 ± 0.5 ^c	0.28 ± 0.14 ^{ad}	5.5 ± 1.32 ^c	0.06 ± 0.01 ^a	110.4 ± 35.63 ^a	1.47 ± 0.14 ^c
T15	33.83 ± 3.88 ⁱ	20.33 ± 1.44 ^g	-0.20 ± 0.55 ^c	4.5 ± 1.32 ^c	0.11 ± 0.05 ^a	-18.7 ± 0.49 ^b	1.20 ± 0.11 ^e
T16	333.16 ± 2.47 ^a	60.83 ± 0.70 ^b	0.18 ± 0.005 ^b	10.6 ± 1.41 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	150.03 ± 6.29 ^a	1.73 ± 0.08 ^b

Valores con distintos superíndices presentan diferencias significativas. TC: 100agar, T3: 50 agar/50ofip, T4: 80agar/20ofip, T7: 50agar/50ofim, T8: 80agar/20ofim, T11: 50agar/50orp, T12:

80agar/20orp, T15: 50agar/50orm, T16: 80agar/20orm.

a) DUREZA

La dureza es la propiedad relativa a la fuerza requerida para deformar el alimento o para hacer penetrar un objeto en él, lo cual es importante para la penetración de semillas o partes de la plántula en el gel o medio de cultivo. Además, la dureza es definida como la fuerza mínima en g/cm² a declinar sobre la estructura del Agar. Este es un control fisicoquímico para caracterizar la dureza del agar. Los resultados de dureza permitieron denominar a estos agares “medios blandos” (<36 g/cm²), “medios semiduros” (70 a 200 g/cm²), “medios duros” (>200 g/cm²) (Qiao et al., 2022).

El TC tiene una media de 96.3 GPa de dureza tratamiento conformado por un 100% agar. el T11, T15, T3 y T7 se encuentra por debajo de esta media, podemos decir

que la sustitución parcial del agar en porciones del 0.4 %, es decir, 0.4 % del total mucilago o pectina de cualquier especie de nopal más 0.4 % de agar, disminuye la dureza del gel. Sin embargo, el único tratamiento que tiene una dureza menor a 50 GPa es el T15, el cual está constituido por 0.4 % agar y 0.4 % mucilago de la especie *robusta*, lo que nos indica que el mucílago de esta especie suele brindarle menores características de dureza. Los tratamientos que se encuentran por encima de la media son T12, T4, T16 y T8, tratamientos en donde se disminuye la proporción de hidrocoloides de nopal. en estos últimos la proporción es de 0.6 % agar más 0.2 % del hidrocoloide de nopal. Se observa, que el tratamiento T16 seguido del tratamiento T8, los cuales están compuestos por 0.6 % agar y 0.2 % mucilago de su respectiva especie son los que más dureza aportan al gel, es decir, su uso puede ser llevado a áreas como la industria de alimentos. Realizando la prueba ANOVA de una vía con una F de 24.08, además de la prueba Tukey Kramer se observa que todas las medias de los tratamientos son diferentes, rechazando con ello la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alterna donde todos los tratamientos son diferentes.

De acuerdo al método utilizado se lograron activar las características gelificantes de la pectina, esto debido a la conveniente ebullición lenta y progresiva en donde esta se hidrató correctamente, obteniendo con ello la gelificación durante el proceso de enfriado. Cuando el agar es combinado en mismas proporciones la dureza tiende a estar en el rango para generar un soporte estable (30 – 180 GPa). Al utilizar el agar en mayor proporción con la pectina de *Opuntia spp.* la dureza incrementa a niveles entre los 130 a 165 GPa. Y cuando el agar es combinado en mayor proporción con mucilago de *Opuntia spp.* la dureza incrementa en niveles mayores a los 220 GPa. Según el análisis realizado, la formulación de mucílago para su gelificación contiene una concentración de calcio, en donde el calcio interactúa de manera iónica con los grupos carboxílicos del ácido galacturónico que forman cadenas, es decir, la concentración de calcio utilizada influyó en incrementar la dureza de la solución influyendo así en la conformación de la cadena al disminuir la participación de puentes de hidrógeno durante la formación de gel (Braccini y Pérez, 2001; Rascón-Chu et al., 2015). Además, se indica que la pectina de *Opuntia spp.* tiene menores

características para brindar dureza en los geles, lo que facilitaría la absorción de nutrientes y agua por parte de las semillas.

b) DUREZA CICLO 2

El TC tiene una dureza en el ciclo dos (C2) de 30.1 g. Las muestras que resultan por debajo de este son el T11, T15, T3 y T7 formulaciones compuestas por porcentajes de 0.4 % hidrocoloide de nopal y 0.4 % agar. Lo que se vincula con la sustitución parcial del agar, lo cual ofrece características con menor grado de dureza tanto en el primer ciclo como el segundo. Sin embargo, la gelificación se mantiene dando un soporte estable. Los tratamientos T12, T16, T4 y T8 son los tratamientos que resultan con mayor dureza en el ciclo dos, estos son los que se encuentran conformados por 0.6 % agar y 0.2 % del respectivo hidrocoloide de nopal. Concordando con el factor dureza las métricas se mantienen. El T8 resulta con ser el que mayor dureza mantiene, a comparación del T16 que a pesar que en el factor dureza era uno de los de mayor grado, esta tiene una disminución importante. Se Realizo un ANOVA de una vía con nivel 0,5, las medias de las poblaciones tienen una diferencia significativa del valor F 6,94. Y una comparación de medias con Tukey, resultando en que todas las medias son diferentes.

c) COHESIVIDAD

La cohesividad es la propiedad relativa al grado de deformación de un producto antes de romperse, lo cual es importante para mantener un soporte estable en la planta. La relación entre las áreas de fuerza positiva de la segunda compresión a la primera compresión se conoce como cohesividad, esto determina qué tan homogéneo es y cuánto se puede deformar antes de romperse. Para un medio de cultivo estable y funcional, la cohesión puede oscilar entre 0,35 y 0,42 N (Singh et al., 2013). El TC dentro del factor de cohesividad tiene una media de 0.35 N. El T15 resulto el que menor grado de cohesividad reportada, esto debido a que como se había mencionado el hidrocoloide mucilago de la especie *O. robusta* es el que menor grado de dureza

aporta (50 GPa) y esto repercute en la baja cohesividad. Es importante mencionar que un grado menor de cohesividad en un agente gelificante es una cualidad de mejor calidad. Además, el grado de metilación tiene un papel importante en la firmeza y cohesión de los tejidos vegetales, la reducción del grado de metilación tiene como consecuencia un aumento de la cohesión, como sucede en el mucilago (Gilabert, 2001). Podemos ver que ninguno de los tratamientos o formulaciones realizadas llega a tener la alta cohesividad que maneja el TC, es decir, las formulaciones realizadas mejoran esta característica para el agente gelificante agar, tomando como base que una baja cohesividad mejor calidad para el agente gelificante, el rango máximo de cohesividad aceptable para los medios de cultivo es de 0.40 N (Maldonado y Singh, 2008). Sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos, podemos observar que la sustitución parcial del agar por hidrocoloides de nopal disminuye la cohesión de los geles, esto podría atribuirse a que los poros de las estructuras esqueléticas porosas tienden a ser más grandes y menos densos. atributo que indica una unión interna del gel realizado, permitiendo con ello un mejor movimiento de las moléculas de agua lo que permite una mejor absorción de esta para la germinación de las semillas en los medios de cultivo de tejidos (Banerjee et al., 2013; Zhang et al., 2014). Además, se realizó un ANOVA con un valor f de 0.70, lo que muestra que no existe una diferencia significativa entre los tratamientos, debido a que estas son menores al TC. El uso de un estadístico Tukey nos muestra que a pesar que las medias se acercan a la media del TC no existe diferencia significativa con valor p 0.5.

d) FACTOR FUERZA ADHESIVA

La fuerza adhesiva es definida como la presión en grs/cm² de superficie, que resiste un gel, lo cual es impórtate para mantener un soporte estable a temperatura ambiente en los medios de cultivo. El agar es considerado un adhesivo vegetal en su estado húmedo, debido a que las moléculas de agua también tienen la capacidad

de pegarse a muchos tipos de sustancias. El TC tiene una fuerza adhesiva de 5 g/cm², refiriéndose esto a una fuerza adhesiva media, sin llegar a ser un pegamento (Moreno et al., 2022). Además, se menciona que la fuerza adhesiva debe estar en un parámetro de 5 a 15 g/cm² para mantener la estabilidad sin ser una cualidad negativa (Arham et al., 2018). Resultando con el análisis el T16 supera por el doble al TC dándonos como referencia que agregar el mucilago de la especie *O. robusta* en proporciones de 0.6 % agar y 0.2 % incrementa la fuerza, relacionado con las variables anteriores vemos que este tratamiento tiende a tener una mayor dureza lo que repercute en la fuerza. Vinculando lo anterior a que, es posible deducir, que la fuerza adhesiva depende de la relación entre los contenidos de amilosa y amilopectina, es decir, a mayor contenido de amilosa, puede significar una mayor fuerza adhesiva (Oroño, 2006). En lo que se infiere que mezclar agar y mucilago tiene a crear un sólido duro y fuerte. Resultando que esta formulación podría servir como referencia para productos como alimentos o productos en la industria de la construcción que necesitan una fuerza adhesiva de mayor grado. Además, se realizó un ANOVA de una vía el cual nos indica que las medias de los tratamientos no son diferentes con un valor F de 1.15, esto debido a la comparación por grupos realizada. Además, se realizó una prueba Tukey para comparación de medias, confirmando que no existen diferencias significativas.

e) FACTOR ADHESIVIDAD

La adhesividad es definida como una propiedad física, relacionada con la fuerza y el trabajo necesarios para resistir la fuerza de atracción de una superficie. Es una característica que depende la industria y el uso del gel puede ser deseada o no, por ejemplo desea pegar dos superficies juntas, adherencia de los recubrimientos y películas o la sujeción de cintas adhesivas y médicas. También puede ser indeseable, ya que es un problema importante en la industria alimentaria, especialmente en las industrias de panadería y confitería, donde puede causar considerables dificultades durante el procesado. La adhesividad tiene parámetros

de 0 a 0,12 MJ a local en el rango de bajo. Sin embargo, la mayoría de los hidrogeles duros existentes tienen una adhesión superficial débil, o los hidrogeles altamente adhesivos tienen una baja resistencia mecánica. Sigue siendo un desafío de larga data desarrollar hidrogeles con propiedades altamente mecánicas y adhesivas (Zheng et al., 2020). El TC tiene una media de adhesividad de 0.05 Mj la cual se cataloga como una baja adhesividad. Los tratamientos T7 y T4, muestran una media similar al TC, lo que se vincula con el uso de la especie *O. ficus-indica*, la cual nos indica que esta especie no aporta mayor adhesividad a la formulación. El tratamiento T15 resulta con una mayor adhesividad. Sin embargo, el valor del T15 no es un valor que afecte de manera continua el crecimiento y desarrollo de las plántulas. Los valores de los tratamientos entran en los rangos de 0.5 a 0.11, lo que nos refiere que todas las formulaciones tienen propiedades mucho-adhesivas, abriendo la posibilidad para su uso en la industria farmacéutica (Sánchez-Cardos, 2018). Además, se realizó un ANOVA de una vía, el cual nos indica que no existe una diferencia significativa debido a su comparación entre grupos. Sin embargo, en su análisis individual vemos que si existe una diferencia mínima. Además, se realizó un análisis Tukey para la comparación de medias muestra que estas no se encuentran alejadas de manera extrema de la media del TC.

f) FACTOR GOMOSIDAD

La gomosidad es una propiedad mecánica, definida como el producto de dureza por cohesividad. En la cual el agar TC es definida como una gelatina o producto gelatinoso. los parámetros pueden variar desde menos de 4 hasta más de 150 g, dependiendo y ligado a la fuerza y cohesividad y al material (López-Ramírez et al., 2020), para agar el rango máximo es de 274,46 g (Diop et al., 2022). El TC tiene una media para el factor gomosidad de 64.40 (g) referido como un valor que tiene falta de pastosidad en la muestra (Maldonado y Singh 2008)., El T16 sobre pasa este valor, lo que nos indica que el mucilago de la especie *O. robusta* al ser combinado en proporciones menores con el agar genera una especie de goma que le brinda una característica particular a la formulación. El T15 en donde el agar es combinado en proporciones

del 0.4 % agar más 0.4 % mucílago brinda una característica totalmente diferente bajando la gomosidad hasta el punto de desaparecerla, teniendo el mismo resultado con combinaciones similares de la especie *O. ficus-indica*. Coincidiendo que, si la formulación tiene una proporción de hidrocoloide de nopal ya sea mucilago o pectina igual a la proporción de agar, la gomosidad es baja respecto al TC. Lo que beneficia al agente gelificante ya que menor gomosidad, mejor calidad de agente gelificante. Y de manera contraria a menor proporción de hidrocoloide de nopal y mayor proporción de agar la gomosidad resulta mayor, lo cual brinda características diferentes para su uso en producto de índole alimentaria. Además, se realizó un ANOVA, el cual confirma una diferencia significativa entre los tratamientos, ($p < 0.05$) con un valor F 7.67.

g) FACTOR ELASTICIDAD

La elasticidad propiedad de la textura relativa a la rapidez de recuperación de la deformación después de la aplicación de una fuerza y al grado de dicha recuperación. El agar es catalogado como un material reversible, es decir que adquiere rigidez y en pocos casos elasticidad, por esta característica es ocupado en la industria de materiales de impresión bucal. El agar se clasifica como un material reversible, es decir que adquiere rigidez y en pocos casos elasticidad, por esta característica se utiliza en la industria de materiales de impresión oral, los parámetros pueden variar de 0 a 2 Kpa (Teng et al., 2018). El TC tiene una elasticidad de 0.79 Kpa, lo cual se refiere a una elasticidad entre el rango mencionado, valor conveniente para la reproducción de plantas *in vitro*, debido a que al ser una elasticidad alta podría afectar el desarrollo y crecimiento de planta por su dificultad para ser retirado de la planta, se observa que cualquier tratamiento baja esta propiedad, es decir disminuye el valor, lo que resulta en que los hidrocoloides presentes en las mermas de nopal mejorar la calidad del medio de cultivo. El T7 y T15 las cuales las formulaciones se encuentran con una sustitución parcial del 0.4 % mucilago (del respectivo nopal) + 0.4 % agar, tienden a ser las que

menor valor tienen. Podemos decir que el mucílago contiene un alto contenido de agua lo que hace que la viscosidad se eleve y la elasticidad disminuya. Se realizó un ANOVA de una vía en donde a pesar que no existe una diferencia significativa, se observa en el análisis individual que los tratamientos tienen valores relativamente bajos a comparación del TC. Además, un análisis TUKEY de las medias, en donde se observa que todas las medias son más bajas que el TC.

4.7 Medios de cultivo

Los tratamientos seleccionados para el desarrollo de plantas *in vitro* fueron el T3, T4, T7, T8, T11, T12, T15, T16. Tratamientos seleccionados por su caracterización TPA la cual pudo ser comparada con el TC (Figura 4.17).



Figura 4.17 Protocolo para la micropropagación *in vitro* de semillas de *Orchidae cattleya*.

En la tabla 4.8 podemos ver que se realizó la incubación de los medios de cultivo para la germinación de semillas, tomando como referencia dos variables con luz y sin luz, esto debido a la diferencia encontrada en las referencias sobre las condiciones de mantenimiento para germinación de semillas *in vitro*, alcanzando los siguientes resultados a 5, 10 y 15 días después de su colocación en condiciones óptimas. El tratamiento T3 y T11 presentan una germinación en menor cantidad de días que el TC, sin importar las condiciones de luz u oscuridad. Además, se observa que el TC se mantiene en germinación a los 15 días, sin que las plántulas generen un crecimiento. Sin embargo, en el T3, T11 y T12 se observa que las semillas germinan y comienzan su crecimiento después de 5 días de evaluación lo que indica una bioestimulación por parte del complemento formulado. El tratamiento T3 tiene un mayor crecimiento a partir de 10 días sin importar las condiciones en las que estas se encuentren

Tabla 4.8 Resultados de germinación a 5, 10 y 15 días en diferentes condiciones.

TRATAMIENTO	CONDICIONES DE LUZ			CONDICIONES DE OSCURIDAD		
	5	10	15	5	10	15
TC	X	G	G	X	G	G
T3	G	C	C	G	C	C
T4	X	X	X	X	X	X
T7	X	X	X	X	X	X
T8	X	X	G	X	X	G
T11	G	C	X	G	C	X
T12	X	G	C	X	G	C
T15	X	X	X	X	X	X
T16	X	X	X	X	X	X

*G= GERMINO, C= CRECIMIENTO DE PLÁNTULA, X= Nula germinación o crecimiento TC: 100agar, T3: 50 agar/50ofip, T4: 80agar/20ofip, T7:50agar/50ofim, T8: 80agar/20ofim, T11: 50agar/50orp, T12: 80agar/20orp, T15:50agar/50orm, T16:80agar/20orm.



Figura 4.18 Germinación y crecimiento de plantas en condiciones de luz y oscuridad.

El efecto del medio de cultivo en la germinación asimbiótica de semillas de *Orchidaceae Cattleya* en los nueve tratamientos evaluados, fue, en promedio del 53.33 % (Tabla 4.9). E decir que hubo una diferencia significativa entre los tratamientos, mostrando que algunos de ellos como el T7, T8, T15 y T16 los cuales están compuestos en diferentes proporciones por agar y mucílago no dieron una respuesta positiva a ninguna de las variables estudiadas, descartando con ello la hipótesis planteada "El mucilago del *Opuntia ficus-indica* u *Opuntia robusta* extraído de pencas mermadas sirve como agente gelificante en los medios de cultivo *in vitro*" (Figura 4.18). Sin embargo, con el estudio realizado rescatamos que las formulaciones planteadas en los tratamientos seleccionados conformados con mucílago y agar tienen la factibilidad de formar geles y soportes estables, los cuales pueden ser utilizados en otras industrias como la cosmética, médica o alimentaria por sus características mecánicas.

Tabla 4.9 Efecto del medio de cultivo en el porcentaje de germinación, formación de protocormos, raíces y hojas.

	Porcentaje de germinación	Formación de protocormos	Formación de raíces	Formación de hojas
TC	50	-	-	-
T3	100	66.66	66.66	33.33
T4	33.33	33.33	16.66	16.66
T7	-	-	-	-
T8	-	-	-	-
T11	66.66	66.66	66.66	16.66
T12	16.66	16.66	-	-
T15	-	-	-	-
T16	-	-	-	-
Prom.	53.33	45.8275	49.99333333	16.66
Des. estan	28.67596764	21.65015401	23.57022604	0

*Evaluación realizada a los 15 días cultivo.

Los tratamientos seleccionados por su capacidad de germinación, formación de procormos, raíces y hojas son los tratamientos 3, 4, 11 y 12. Los cuales se encuentran formados por pectina y agar en proporciones del 50 % y 20 %. Dando como resultado una afirmación positiva para la hipótesis "La pectina del *Opuntia ficus-indica* u *Opuntia robusta* extraído de pencas mermadas sirve como agente gelificante en los medios de cultivo *in vitro*". Al comparar la respuesta obtenida en

los diferentes tratamientos, observamos que el T3 resulta ser una opción mejorada del TC, bioestimulando la germinación, formación de protocormos, raíces y hojas en el desarrollo *in vitro* de *Orchidae Cattleya* (Figura 4.19).



Figura 4.19 Resultados de tratamientos funcionales.

4.7.1 Evaluación del mejor tratamiento

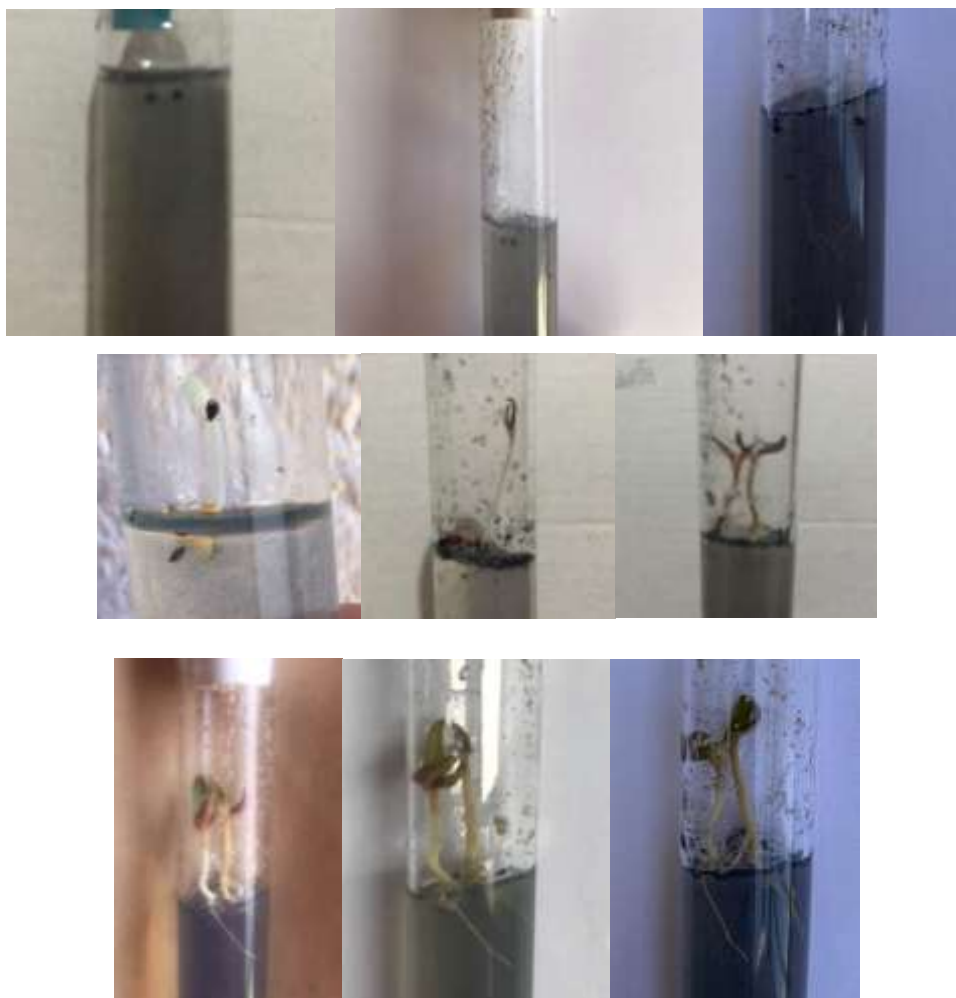


Figura 4.20 Evolución del mejor tratamiento.

El tratamiento T3 conformado por 50 % agar + 50 % OFIP, resulta un producto novedoso y bioestimulante para las semillas, el cual comparado con el TC mejora desde la germinación hasta el desarrollo de la plántula, disminuyendo tiempos. Existen estudios donde el crecimiento *in vitro* de *Orchideas* se evalúan desde 27 días teniendo una respuesta de germinación del 62.43 % hasta después de 4 semanas de su siembra (Ruíz et al., 2008; Salazar-Mercado, 2012) (Figura 4.20).

4.7.2 Análisis Estadístico del mejor tratamiento VS tratamiento control

Para finalizar la comprobación de hipótesis se realizó un estudio fenológico del mejor tratamiento (T3) vs el TC, en donde las variables evaluadas fueron el número de hojas (NH), número de raíces (NR), longitud de la raíz (LR), altura plántula (AP), ancho de la hoja (AH) y longitud de la hoja (LH) después de 4 semanas de su siembra *in vitro* (Tabla 4.10), esto con ayuda de un milímetro y el uso de hojas milimétrica para establecer medidas exactas (Figura 4.21).

Tabla 4.10 Tabla de respuestas fenológicas.

VARIABLE	TC			T3		
NH	2	1	1	4	4	3
NR	1	1	1	6	5	3
LR	1.5	1.6	1.5	2.5	2.7	2.4
AP	4.2	4.0	3	6.16	6.2	5.55
AH	.5	.4	.5	.6	.7	.7
LH	1.1	1.0	1.19	1.8	1.6	1.2



Figura 4.21 Método de medición de plántulas.

NÚMERO DE HOJAS (NH)

El TC tiene un promedio 1.33 con una varianza de 0.33, en comparación con el T3 que tiene un promedio de 3.66 con una varianza 0.33 ambas con un nivel de significancia de 0.05 obtenemos una suma de cuadrados total (SST) de 9.5, mientras que la varianza del tratamiento queda en 8.16 y la varianza del error en 1.33 y con una F calculada de 24.5 y una F tablas de valor crítico 7.70 (Tabla 4.11), por lo tanto, sabemos que F calculado es mayor que F de tablas aceptando la H_1 la cual es referida a que existe una diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 4.22). En donde el T3 se observa como bioestimulador para el crecimiento y generación de pantas, vinculando esto a una mayor síntesis de azúcares mediante la fotosíntesis, debido a la cantidad de estos presentes en la pectina del *Opuntia ficus-indica* (Botero et al., 2008) y a la gran cantidad de agua presente en el gel del T3 que puede ser absorbida debido a que tiene una menor dureza que el TC ($72.0 \leq 96.33$).

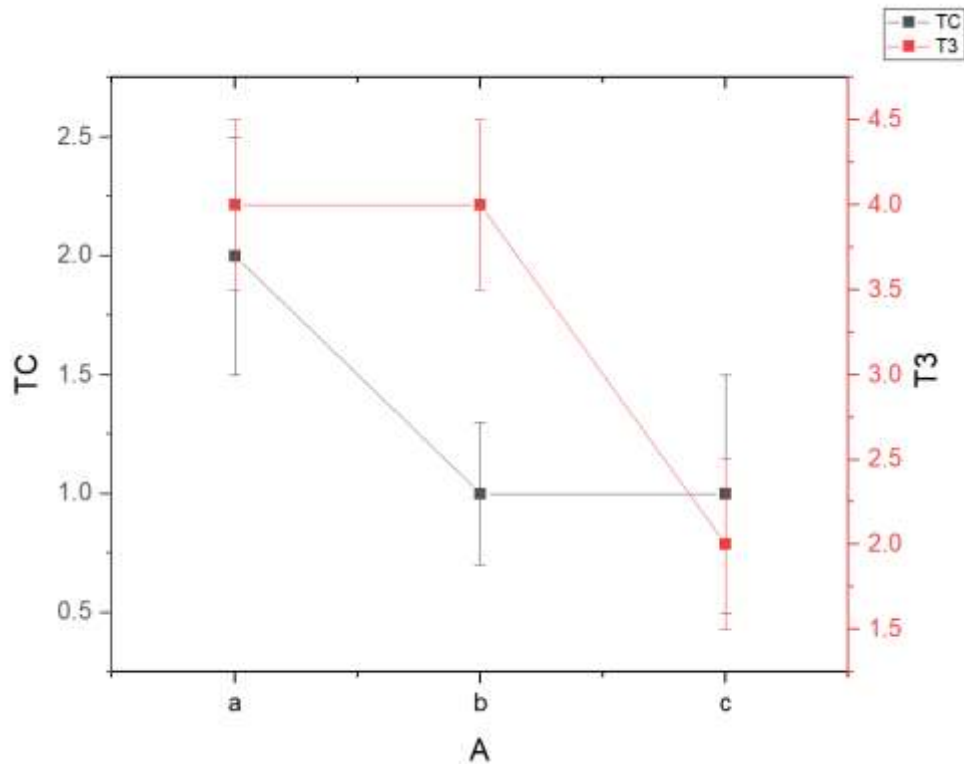


Figura 4.22 Análisis estadístico del TC y el T3 para el número de hojas.

Tabla 4.11 ANOVA para el número de hojas

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	3	4	1.33	0.33333
Columna 2	3	11	3.66	0.33333

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	8.167	1	8.167	24.5	0.00776	7.7086474
Dentro de los grupos	1.333	4	0.333		26	
Total	9.5	5				

NÚMERO DE RAÍCES (NR)

El TC tiene un promedio 1 con una varianza de 0, en comparación con el T3 que tiene un promedio de 4.25 con una varianza 2.25 ambas con un nivel de significancia de 0.05 obtenemos una suma de cuadrados total (SST) de 26, mientras que la varianza del tratamiento queda en 19.25 y la varianza del error en 6.75 y con una F calculada de 14.25 y una F tablas de valor crítico 6.60 (Tabla 4.12), por lo tanto, sabemos que F calculado es mayor que F de tablas aceptando la H_1 la cual es referida a que existe una diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 4.23). Se observa que el crecimiento de raíces en el T3 de manera bioestimulante formando raíces primarias y laterales, en donde la raíz primaria creció hasta 2.5 cm buscando agua y nutrientes los cuales son proporcionados en el gel, podemos vincular la respuesta bioestimulante para el crecimiento de raíces a la gran cantidad de nutrientes presentes no solo por la presencia de pectina, si no del agua de coco y el carbón activado. Sin embargo, estos últimos estuvieron presentes en el TC sin obtener la misma respuesta.

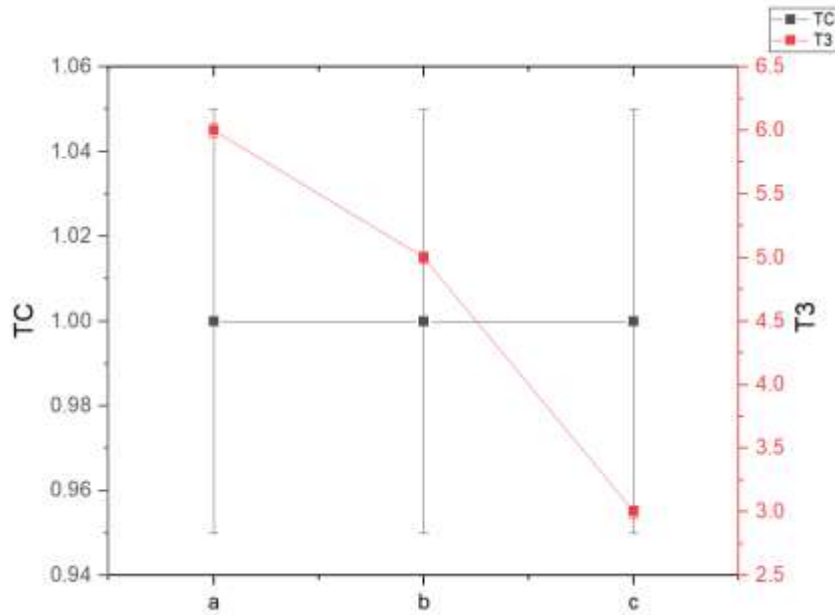


Figura 4.23 Análisis estadístico del TC y el T3 para el número de raíces.

Tabla 4.12 ANOVA para el número de raíces

RESUMEN				
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	3	1	0
Columna 2	4	17	4.25	2.25

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	19.25	1	19.25	14.25	0.01	6.60
Dentro de los grupos	6.75	5	1.35			
Total	26	6				

LONGITUD RAÍCES (LR)

El TC tiene un promedio 1.53 con una varianza de 0.003, en comparación con el T3 que tiene un promedio de 2.53 con una varianza 0.023 ambas con un nivel de significancia de 0.05 obtenemos una suma de cuadrados total (SST) de 1.55, mientras que la varianza del tratamiento queda en 1.5 y la varianza del error en 0.05 y con una F calculada de 112.5 y una F tablas de valor crítico 7.70 (Tabla 4.13), por

lo tanto, sabemos que F calculado es mayor que F de tablas aceptando la H_1 la cual es referida a que existe una diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 4.24). La longitud de las raíces puede relacionarse con el contenido de flavonoides en la pectina que mejoran la disponibilidad del óxido nítrico, el cual afecta directamente a las células madres responsables del crecimiento de la raíz de las plantas (Abraján, 2008; Muñoz, 2014).

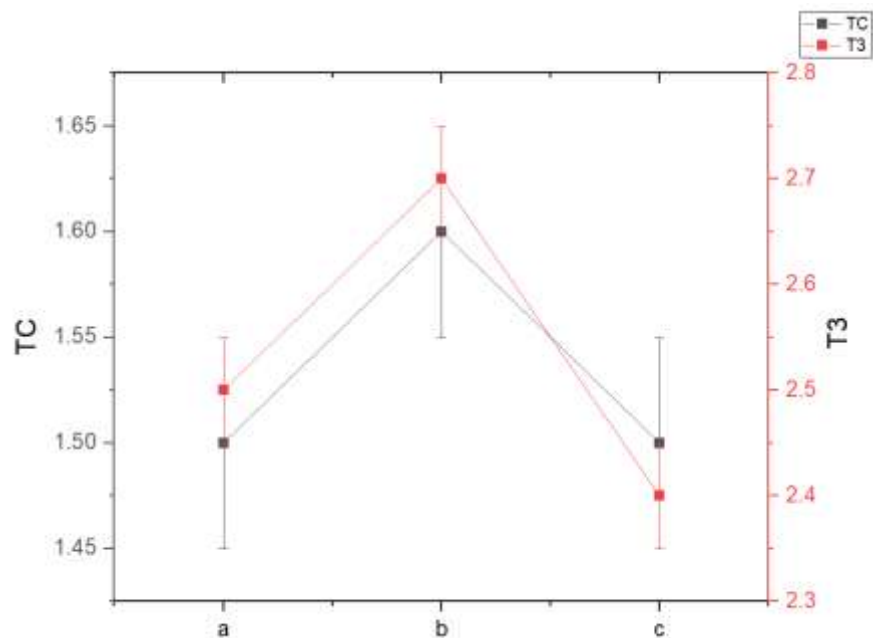


Figura 4.24 Análisis estadístico del TC y el T3 para la longitud de raíces.

Tabla 4.13 ANOVA para la longitud de raíces.

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Columna 1	3	4.6	1.53	0.003		
Columna 2	3	7.6	2.53	0.02		

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.5	1	1.5	112.5	0.00	7.70
Dentro de los grupos	0.05	4	0.013			
Total	1.55	5				

ALTURA PLÁNTULA (AP)

El TC tiene un promedio 3.73 con una varianza de 0.41, en comparación con el T3 que tiene un promedio de 5.97 con una varianza 0.13 ambas con un nivel de significancia de 0.05 obtenemos una suma de cuadrados total (SST) de 5, mientras que la varianza del tratamiento queda en 1 y la varianza del error en 4 y con una F calculada de 27.48 y una F tablas de valor crítico 7.70 (Tabla 4.14), por lo tanto, sabemos que F calculado es mayor que F de tablas aceptando la H_1 la cual es referida a que existe una diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 4.25). De acuerdo a la experimentación podríamos decir que un factor importante para el crecimiento de las plantas fueron los fotoperiodos de luz en los que se mantuvieron, ya que esto proporción mayor número de horas luz haciendo que estas crecieran de manera más rápida. Además, podemos vincular el crecimiento de las plántulas con la disponibilidad de nutrientes y agua presentes en la formulación realizada, debido a la baja dureza que facilita la movilidad y absorción de estos por las raíces (Paredes et al., 2022).

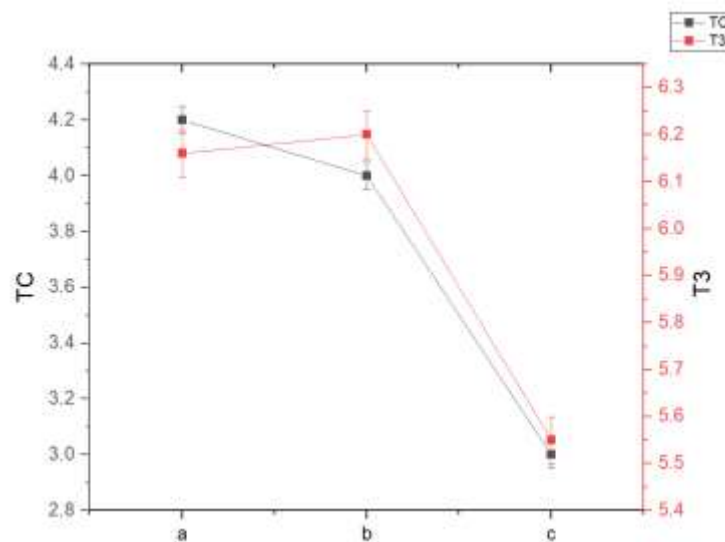


Figura 4.25 Análisis estadístico del TC y el T3 para la altura de la plántula.

Tabla 4.14 ANOVA para la altura de la plántula.

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Columna 1	3	11.2	3.73	0.41
Columna 2	3	17.91	5.97	0.1327

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7.50	1	7.50	27.48	0.00	7.70
Dentro de los grupos	1.09	4	0.27			
Total	8.59	5				

ANCHO HOJA (AH)

El TC tiene un promedio 0.46 con una varianza de 0.003, en comparación con el T3 que tiene un promedio de 0.66 con una varianza 0.003 ambas con un nivel de significancia de 0.05 obtenemos una suma de cuadrados total (SST) de 5, mientras que la varianza del tratamiento queda en 1 y la varianza del error en 4 y con una F calculada de 18 y una F tablas de valor crítico 7.70 (Tabla 4.15), por lo tanto, sabemos que F calculado es mayor que F de tablas aceptando la H_1 la cual es referida a que existe una diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 4.26). El tamaño de las hojas está determinado por la diferencia de temperatura entre la planta y el entorno durante el día y la noche. Sin embargo, a pesar que vemos una diferencia entre los tratamientos, analizando los datos por separado la diferencia entre ellas no suele ser grande.

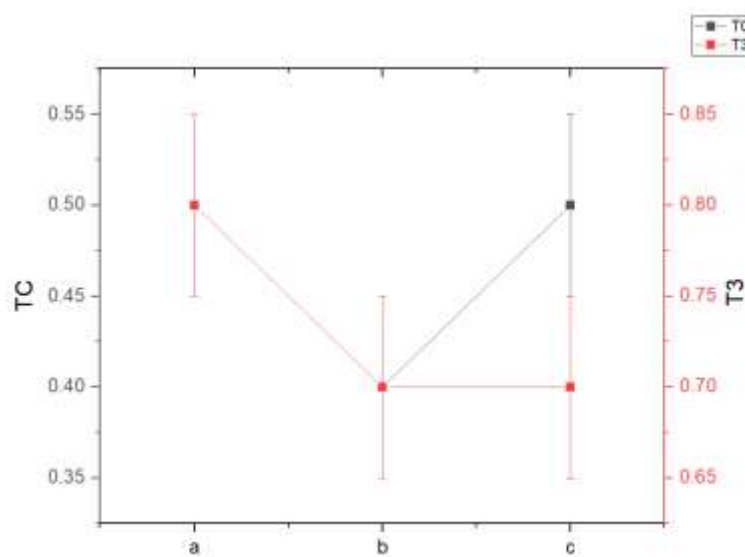


Figura 4.26 Análisis estadístico del TC y el T3 para la anchura de la plántula.

Tabla 4.15 ANOVA para la anchura de las hojas.

RESUMEN						
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>		
Columna 1	3	1.4	0.46	0.00		
Columna 2	3	2	0.66	0.00		

ANÁLISIS DE VARIANZA						
<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.06	1	0.06	18	0.01	7.70
Dentro de los grupos	0.01	4	0.00			
Total	0.07	5				

LONGITUD HOJA (LH)

El TC tiene un promedio 1.09 con una varianza de 0.009, en comparación con el T3 que tiene un promedio de 1.53 con una varianza 0.09 ambas con un nivel de significancia de 0.05 obtenemos una suma de cuadrados total (SST) de 5, mientras que la varianza del tratamiento queda en 0.28 y la varianza del error en 0.20 y con una F calculada de 5.58 y una F tablas de valor crítico 7.70 (Tabla 4.16), por lo tanto, sabemos que F calculado es mayor que F de tablas aceptando la H_1 la cual es referida a que existe una diferencia significativa entre los tratamientos (Figura 4.27). Al igual que la variable anterior la longitud de las hojas pueden vincularse con los fotoperiodos establecidos y la gran cantidad de luz recibida. Analizando de manera individual los datos se observa una poca diferencia entre los tratamientos, concluyendo que el T3 no es bioestimulador ni catalizador en estas dos últimas variables estudiadas.

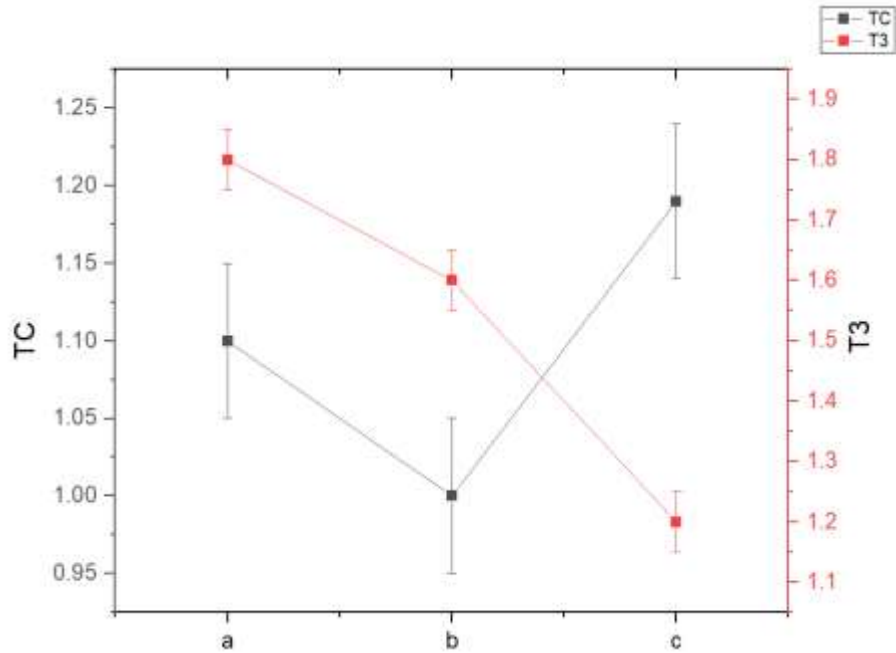


Figura 4.27 Análisis estadístico del TC y el T3 para la longitud de hojas.

Tabla 4.16 ANOVA para la longitud de hojas.

RESUMEN					
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza	
Columna 1	3	3.29	1.09	0.00	
Columna 2	3	4.6	1.53	0.09	

ANÁLISIS DE VARIANZA							
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	0.28	1	0.28	5.58	0.07	7.70	
Dentro de los grupos	0.20	4	0.05				
Total	0.49	5					

5. Conclusiones

A pesar, que la sustitución de agar se ha realizado durante varios años, el uso de pectina de nopal no había sido probado para el tema de la biotecnología. Con los resultados obtenidos y confirmando la hipótesis propuesta, se observa un camino hacia la innovación tecnológica con materia prima desechada que puede ser aprovechada y revalorizada para su uso en industrias con potencial económico

mayor que para los fines anteriormente propuestos. Además, se propone abrir líneas de investigación con el uso del producto formulado para la micropropagación *in vitro* de diferentes especies y plantas de importancia económica. Es importante estudiar a profundidad los componentes bioestimulantes en las variables de número de hojas, número de raíces, altura de la plántula y la longitud de raíces, para confirmar el tipo de flavonoides, nutrientes o contenido de agua en el gel realizado. A pesar, de solo poder rescatar una plántula para su crecimiento *ex vitro* a continuación se muestra los resultados obtenidos a 6 meses de producción *in vitro* (Figura 5.1).



Figura 5.1 Aclimatación *ex vitro* de plántula y crecimiento.

6. Bibliografía

- Abraján Villaseñor, M. A. (2008). Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago del nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- Alcantar, N. A., Banta, S., Cak, A. D., Chen, X., DelRe, C., Deravi, L. F., ... & Wilson, C. J. (2022). Bioinspired Green Science and Technology Symposium in NYC. *Matter*, 5(7), 1980-1984.
- Al-Mayahi, A. M. W., & Ali, A. H. (2021). Effects of different types of gelling agents on in vitro organogenesis and some physicochemical properties of date palm buds, *Showathy cv. Folia Oecologica*, 48(1), 110-117. doi: 10.2478/foecol-2021-0012
- Andrade, A. F., Egito, M. S., Vilela, W. T., Costa, R. M. P. B., Rolim-Neto, P. J., Silva, R. M. F., ... & Bezerra, R. P. (2021). Wound healing gel based on *Chlorella vulgaris* extract characterization. *Biointerface Res Appl Chem*, 12, 4463-4475.
- Arceo-Martinez, M. T., Jiménez-Mejía, R., Salgado-Garciglia, R., Santoyo, G., Lopez-Meza, J. E., & Loeza-Lara, P. D. (2019). *In vitro* and in vivo anti-fungal effect of chitosan on post-harvest strawberry pathogens. *Agrociencia (Montecillo)*, 53(8), 1297-1311.
- Ardisana, E. F. H., Álvarez, S. P., Macías, R. M., & Gaínza, B. M. (2016). Perspectivas futuras e impacto social de las biotecnologías vegetales. *Alternativas*, 17(2), 44-51.
- Arham, R., Salengke, S., Metusalach, M., & Mulyati, M. T. (2018). Optimization of agar and glycerol concentration in the manufacture of edible film. *International Food Research Journal*, 25(5), 1845-1851. <http://www.ifrj.upm.edu.my>
- Armisen, R., & Gaiatas, F. (2009). Agar. *Handbook of Hydrocolloids*, 82–107. doi:10.1533/9781845695873.82
- Asharuddin, S. M., Othman, N., Altowayti, W. A. H., Bakar, N. A., & Hassan, A. (2021). Recent advancement in starch modification and its application as water treatment agent. *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101637. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101637>
- Babbar, A., Jain, V., Gupta, D., Singh, S., Prakash, C., & Pruncu, C. (2020). Biomaterials and fabrication methods of scaffolds for tissue engineering applications. In *3D Printing in Biomedical Engineering* (pp. 167-186). Springer, Singapore.
- Banerjee, S., Ravi, R., & Bhattacharya, S. (2013). Textural characterisation of gellan and agar based fabricated gels with carrot juice. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1), 255–261. doi:10.1016/j.lwt.2013.02.011
- Bayar, N., Bouallegue, T., Achour, M., Kriaa, M., Bougatef, A., & Kammoun, R. (2017). Ultrasonic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal: Optimization of experimental conditions and evaluation of chemical and functional properties. *Food Chemistry*, 235, 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.029>
- Bayar, N., Friji, M. & Kammoun, R. (2018). Optimization of enzymatic extraction of pectin from *Opuntia ficus indica* cladodes after mucilage removal. *Food Chemistry*. 241, 127-134. 10.1016/j.foodchem.2017.08.051.

- Bernardino-Nicanor, A., Montañez-Soto, J. L., Conde-Barajas, E., Negrete-Rodríguez, M. D. L. L. X., Teniente-Martínez, G., Vargas-León, E. A. & González-Cruz, L. (2018). Spectroscopic and structural analyses of *Opuntia Robusta* mucilage and its potential as an edible coating. *Coatings*, 8(12), 466.
- Bleckmann, A., Rainer Kropke, R. & Riedel, H. Preparados autoespumantes o espumados que llevan gelificantes inorganicos e hidrocoloides organicos. 2001.
- Botero, L. R., Jaramillo, M. A., Ramirez, Ó. O. O., Fernández, T. S., & Restrepo, E. O. (2008). Avances en la propagación asimbiótica *in vitro* de orquideas con especial énfasis en el género *Cattleya*. In Avances en la propagación asimbiótica *in vitro* de orquideas con especial énfasis en el género *Cattleya*. Tendencias De La Investigación En Ingeniería Ambiental.
- Braccini, I., & Pérez, S. (2001). Molecular Basis of Ca²⁺-Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited. *Biomacromolecules*, 2(4), 1089–1096. doi:10.1021/bm010008g
- Canteri, M. H., Moreno, L., Wosiacki, G., & Scheer, A. D. P. (2012). Pectina: da matéria-prima ao produto final. *Polímeros*, 22, 149-157. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282012005000024>
- Cárdenas, Y., Ríos-Silva, M., Huerta, M., López, M., Bricio-Barrios, J., Ortiz-Mesina,
- Cardozo, J. A. S., Pardo, R. Y. R., Carvajal, M. X. Q., & Gonzalez, L. A. A. (2019). Evaluación de mezclas de agentes gelificantes como potenciales sustitutos del agar bacteriológico: una aproximación mediante diseño de mezclas/Evaluating gelling-agent mixtures as potential substitutes for bacteriological agar: an approach by mixture design. *Dyna*, 86(208), 171. DOI:10.15446/dyna.v86n208.72964
- Cardozo, J. A. S., Pardo, R. Y. R., Carvajal, M. X. Q., & Gonzalez, L. A. A. (2019). Evaluating gelling-agent mixtures as potential substitutes for bacteriological agar: An approach by mixture design. *DYNA. Revista de la Facultad de Minas*, 86(208).
- Carranza-Álvarez, C., Trinidad-García, K. L., Reyes-Hernández, H., Castillo-Pérez, L. J., & Fortanelli-Martínez, J. (2021). Efecto de extractos orgánicos naturales sobre la micropropagación de *Jacks. ex Andrews* (Orchidaceae). *Biotecnia*, 23(1), 5-12. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v23i1.805>
- Castañeda-Ovando, A., González-Aguilar, L. A., Granados-Delgadillo, M. A., & Chávez-Gómez, U. J. (2020). Goma guar: un aliado en la industria alimentaria. *Pádi Boletín Científico De Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI*, 7(14), 107-111. <https://doi.org/10.29057/icbi.v7i14.4988>
- Chanamé, C. M. (2019). Propagación *in vitro* de babaco (*Vasconcellea x heilbornii*) del distrito de Luya, región Amazonas. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 2(1), 45-51.
- Chandra, M. V., & Shamasundar, B. A. (2014). Texture Profile Analysis and Functional Properties of Gelatin from the Skin of Three Species of Fresh Water Fish. *International Journal of Food Properties*, 18(3), 572–584. doi:10.1080/10942912.2013.845787
- Chandra, M. V., & Shamasundar, B. A. (2014). Texture Profile Analysis and Functional Properties of Gelatin from the Skin of Three Species of Fresh Water Fish. *International Journal of Food Properties*, 18(3), 572–584. doi:10.1080/10942912.2013.845787
- Chasquibol Silva, Nancy; Arroyo Benites, Edmundo; Morales Gomero, Juan Carlos Extracción y caracterización de pectinas obtenidas a partir de frutos de la biodiversidad peruana *Ingeniería Industrial*, núm. 26, 2008, pp. 175-199 Universidad de Lima Lima, Perú. <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337428492010.pdf>

- Chirug, L., Nagar, E. E., Okun, Z., & Shpigelman, A. (2021). Effect of flavonoid structure and pH on iron-mediated pectin interaction. *Food Hydrocolloids*, 116, 106654. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106654>
- Connolly, M., Zhang, Y., Brown, D. M., Ortuno, N., Jorda-Beneyto, M., Stone, V. & Johnston, H. J. (2019). Novel polylactic acid (PLA)-organoclay nanocomposite bio-packaging for the cosmetic industry; migration studies and *in vitro* assessment of the dermal toxicity of migration extracts. *Polymer Degradation and Stability*, 168, 108938.
- Contreras-Padilla, M., Rodríguez-García, M. E., Gutiérrez-Cortez, E., Valderrama-Bravo, M. C., Rojas-Molina, J. I. & Rivera-Muñoz, E. M. (2016). Physicochemical and rheological characterization of *Opuntia ficus mucilage* at three different maturity stages of cladode. *European Polymer Journal*, 78, 226-234. doi.org/10.1016.
- Contreras-Padilla, M., Rodríguez-García, M. E., Gutiérrez-Cortez, E., del Carmen Valderrama-Bravo, M., Rojas-Molina, J. I., & Rivera-Muñoz, E. M. (2016). Physicochemical and rheological characterization of *Opuntia ficus mucilage* at three different maturity stages of cladode. *European Polymer Journal*, 78, 226-234. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2016.03.024>
- Court, A. D., Hislop, A. B. & Queen, D. Aposito para heridas. 1994.
- de Andrade Vieira, É., Alcântara, M. A., Dos Santos, N. A., Gondim, A. D., Iacomini, M., Mellinger, C., & de Magalhães Cordeiro, A. M. T. (2021). Mucilages of cacti from Brazilian biodiversity: Extraction, physicochemical and technological properties. *Food Chemistry*, 346, 128892. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128892>
- Diamalt AG. Procedimiento para preparar agentes gelificantes y espesantes a base de galactomananas de cassia. 1983.
- Diop, C. I. K., Beltran, S., Jaime, I., & Sanz, M. T. (2022). Adjustable Gel Texture of Recovered Crude Agar Induced by Pressurized Hot Water Treatment of *Gelidium sesquipedale* Industry Waste Stream: An RSM Analysis. *Foods*, 11(14), 2081.
- Diop, C. I. K., Beltran, S., Jaime, I., & Sanz, M. T. (2022). Adjustable Gel Texture of Recovered Crude Agar Induced by Pressurized Hot Water Treatment of *Gelidium sesquipedale* Industry Waste Stream: An RSM Analysis. *Foods*, 11(14), 2081. <https://doi.org/10.3390/foods11142081>
- Diop, C.I.K.; Beltran, S.; Jaime, I. & Sanz, M.-T. Adjustable Gel Texture of Recovered Crude Agar Induced by Pressurized Hot Water Treatment of *Gelidium sesquipedale* Industry Waste Stream: An RSM Analysis. *Foods* 2022, 11, 2081. <https://doi.org/10.3390/foods11142081>
- Diop, C.I.K.; Beltran, S.; Jaime, I. & Sanz, M.-T. Adjustable Gel Texture of Recovered Crude Agar Induced by Pressurized Hot Water Treatment of *Gelidium sesquipedale* Industry Waste Stream: An RSM Analysis. *Foods* 2022, 11, 2081. <https://doi.org/10.3390/foods11142081>
- Dobrąnszki, J., & da Silva, J. A. T. (2011). Adventitious shoot regeneration from leaf thin cell layers in apple. *Scientia Horticulturae*, 127(3), 460-463. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.11.003>
- Du Toit, A., De Wit, M. & Hugo, A. (2018). Cultivar and Harvest Month Influence the Nutrient Content of *Opuntia* spp. Cactus Pear Cladode Mucilage Extracts. *Molecules*. 23(4), 916. doi.org/10.3390/molecules23040916 Robusta mucilage and its potential as an edible coating. *Coatings*, 8(12), 466-476. doi.org/10.3390/coatings8120466
- Felkai-Haddache, L., Hocine, R., Dulong, V., Mamou-Belhabib, K., Picton, L., Madani, K. & Rihouey, C. (2015). Conventional and Microwave-Assisted Extraction of Mucilage from *Opuntia ficus-indica*

Cladodes: Physico-Chemical and Rheological Properties. Food Bioprocess Technology. 9(3), 481-492. 10.1007/s11947-015-1640-7

Felkai-Haddache, L., Hocine, R., Dulong, V., Mamou-Belhabib, K., Picton, L., Madani, K. & Rihouey, C. (2015). Conventional and Microwave-Assisted Extraction of Mucilage from *Opuntia ficus-indica* Cladodes: Physico-Chemical and Rheological Properties. Food Bioprocess Technology. 9(3), 481-492. 10.1007/s11947-015-1640-7

Ferrera Lorenzo, N. (2012). Aprovechamiento integral del residuo sólido de la obtención de Agar-Agar y su aplicación en el campo de la Energía y el Medio Ambiente.

file:///C:/Users/Nitro/Downloads/Dialnet_OptimizacionDeLasCondicionesDeExtraccionDePectinaA-6583454%20(5).pdf

Flores-Escobar, G., Legaria-Solano, J. P., Gil-Vásquez, I., & Colinas-León, M. T. (2008). Propagación *in vitro* de *Oncidium stramineum* Lindl., una orquídea amenazada y endémica de México. Revista Chapingo. Serie Horticultura, 14(3), 347-353.

Flores-Hernández, L. A., Robledo-Paz, A., & Jimarez-Montiel, M. J. (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento *in vitro* de orquídeas. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(6), 1315-1328. Recuperado en 13 de abril de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342017000601315&lng=es&tlng=es.

Flores-Hernández, L. A., Robledo-Paz, A., & Jimarez-Montiel, M. J. (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento *in vitro* de orquídeas. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(6), 1315-1328. Recuperado en 23 de agosto de 2022, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342017000601315&lng=es&tlng=es.

Fontaine, A. S. Objeto de decoración vegetal con condiciones asépticas. 2011. Food Chemistry. 235, 275-282. 10.1016/j.foodchem.2017.05.029

Gallegos-Villela, R. R., Larrea-Zambrano, F. D., Goyes-Lopez, C. E., Perez-Sanchez, J. F., Suarez-Dominguez, E. J., & Palacio-Perez, A. (2021). Effect of natural additives on concrete mechanical properties. *Cogent Engineering*, 8(1), 1870790. <https://doi.org/10.1080/23311916.2020.1870790>

Gangotri, W., Jain-Raina, R., & Babbar, S. B. (2012). Evaluation of guar gum derivatives as gelling agents for microbial culture media. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(5), 2279-2285. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1027-0>

Gaserod, O., Andersen, T., Melvik, E. J., Dornish, M. & Riley, P. J. Gelled composite. 2006.

Gilabert, J., P. (2001). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón. *Servei de Publicacions Universitat de Lleida*. 54-98.

Gómez Castelán, A. V. S., Espinoza-Castañeda, M., Castañeda Briones, M. T., Valladares Rodríguez, M. R., & Flores Valverde, E. (2019). Evaluación de un consorcio microbiano en la remoción de Cr (VI) en agua sintética. https://revistatediq.azc.uam.mx/Docs/revista_tendencias_2019.pdf.

Gong, G., Pai, S. S. & Sershen, S. R. Polysaccharide based hydrogels. 2009.

Gordo, D. A. M., Gonzalez, O. C., & Pacheco, J. C. (2012). Sustancias utilizadas como agente gelificante alternativas al agar en medios de cultivo para propagación *in vitro*. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 3(2), 49-62. <https://doi.org/10.22490/21456453.972>

- Gordo, D. A. M., Gonzalez, O. C., & Pacheco, J. C. (2012). Sustancias utilizadas como agente gelificante alternativas al Agar en medios de cultivo para propagación *in vitro*. Revista de Investigación Agraria y Ambiental, 3(2), 49-62. <https://doi.org/10.22490/21456453.972>
- Goycoolea, F. M., & Cárdenas, A. (2003). Pectins from *Opuntia* spp.: A Short Review. Journal of the Professional Association for Cactus Development. 5(1), 17-29. https://www.researchgate.net/publication/228769966_Pectins_from_Opuntia_spp_A_short_review
- Hart, R. J., Marrs, W. M White, J. A. & Dea, L. C. M. Agente gelificante. 1992
- Hernández-Becerra, E., de los Angeles Aguilera-Barreiro, M., Contreras-Padilla, M., Pérez-Torrero, E., & Rodríguez-García, M. E. (2022). Nopal cladodes (*Opuntia Ficus Indica*): Nutritional properties and functional potential. Journal of Functional Foods, 95, 105183. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105183>
- Hickson, T. G. L., & Polson, A. (1968) 'Some physical characteristics of the agarose molecule'. Biochimica et Biophysica Acta, 165; 43±58. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(68\)90186-4](https://doi.org/10.1016/0304-4165(68)90186-4)
<http://dx.doi.org/10.15446/dyna.v86n208.72964>
- Huerta-Olalde, A. M., Hernández-García, A., López-Gómez, R., Fernández-Pavía, S. P., Zavala-Páramo, M. G., & Salgado-Garciglia, R. (2022). *In vitro* selection of blackberry (*Rubus fruticosus* 'Tupy') plants resistant to *Botrytis cinerea* using gamma ray-irradiated shoot tips. Plant Biotechnology, 22-0312.
- Hurler, J., Engesland, A., Poorahmary Kermany, B., & Škalko-Basnet, N. (2011). Improved texture analysis for hydrogel characterization: Gel cohesiveness, adhesiveness, and hardness. Journal of Applied Polymer Science, 125(1), 180–188. doi:10.1002/app.35414
- Jan-Egil Melvik, J. E., Dornish, M., Onsoyen, E., Berge, A. B. & Svendsen, T. Self-gelling alginate systems and uses thereof. 2004.
- Lele, V., Ruzauskas, M., Zavistanaviciute, P., Laurusiene, R., Rimene, G., Kiudulaite, D., Tomkeviciute, J., Nemeikstyte, J., Stankevicius, R. & Bartkiene, E. (2018). Development and characterization of the gummy–supplements, enriched with probiotics and prebiotics. CyTA–Journal of Food, 16(1), 580-587. <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1433721>
- Liu, Y., Tang, T., Duan, S., Qin, Z., Zhao, H., Wang, M., ... & Dong, Y. (2020). Applicability of rice doughs as promising food materials in extrusion-based 3D printing. Food and Bioprocess Technology, 13(3), 548-563. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02415-y>
- López Velasco, D. M., & Sabogal Forero, O. J. (2018). Gomas empleadas en la industria de alimentos.
- López-Escamilla, A. L., López-Herrera, M., & Loaiza-Alanís, C. (2016). Efecto de diferentes agentes gelificantes en la germinación y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Echinocactus platyacanthus* link et otto (cactaceae). Polibotánica, (42), 153-166. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.42.8>
- López-Palacios, C., Reyes-Agüero, J. A., Peña-Valdivia, C. B. & Aguirre-Rivera, J. R. (2019). Physical characteristics of fruits and seeds of *Opuntia* sp. as evidence of changes through domestication in the Southern Mexican Plateau. Genetic Resources and Crop Evolution. 66 (2), 349-362. doi: 10.1007/s10722-018-0712-8
- López-Ramírez, A. M., & Duarte-Sierra, A. (2020). Avocado jelly: Formulation and optimization of an avocado gel using hydrocolloids. International Journal of Gastronomy and Food Science, 21, 100234. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100234>

- Lu, S. & Lu, J. Composiciones de hidrogel inversamente termorreversible. 2011.
- M., & Trujillo, X. (2019). The Comparative Effect of Nopal and Mucilage in Metabolic Parameters in Rats with a High-Fructose Diet. *Journal of Medicinal Food*. 22(5), 538-541. 10.1089/jmf.2018.0124.
- Madera-Santana, T. J., Herrera-Méndez, C. H., & Rodríguez-Núñez, J. R. (2018). An overview of the chemical modifications of chitosan and their advantages. *Green Materials*, 6(4), 131-142. <https://doi.org/10.1680/jgrma.18.00053>
- Maldonado, S. & Singh, J. C. (2008). Efecto de gelificantes en la formulación de dulce de yacón. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, vol. 28, núm. 2, abril-junio, 2008, pp. 429-434
- Maldonado, Silvina; Singh, Judith del Carmen. Efecto de gelificantes en la formulación de dulce de yacón. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, vol. 28, núm. 2, abril-junio, 2008, pp. 429-434. Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, Brasil
- Mao, B., Divoux, T., & Snabre, P. (2016). Normal force controlled rheology applied to agar gelation. *Journal of Rheology*, 60(3), 473-489. <https://doi.org/10.1122/1.4944994>
- Marangelli, F., Pavese, V., Vaia, G., Lupo, M., Bashir, M. A., Cristofori, V., & Silvestri, C. (2022). *In Vitro* Polyploid Induction of Highbush Blueberry through De Novo Shoot Organogenesis. *Plants*, 11(18), 2349.
- Mascot-Gómez, E., Flores, J., López-Lozano, N. E., & Yáñez-Espinosa, L. (2020). Seed germination of Southern Chihuahuan desert cacti: Effect of mucilage, light and phytohormones. *Flora*, 263, 151528. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151528>
- Matsushima, R., Ogiue, A., & Kohno, Y. (2002). Humidity-Sensitive Color Changes of Ionic Dyes in Solid Thin Film of Sugar Gel. *Chemistry Letters*, 31(4), 436–437. doi:10.1246/cl.2002.436
- Mejía Alcántara, A. Análisis de la propiedades funcionales y fisicoquímicas de mezclas goma de mezquite-mucilago de nopal. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/112923>
- Mejía-López, M. P., de Oca, E. R. M., & Juantorena-Ugás, A. (2020). Energía renovable en traspatio: ¿ Una alternativa en México?. *Bioagrocencias*, 13(1).
- Mercado, S. A. S., & Jaimes, Y. M. O. (2022). Implementation of organic components to the culture medium to improve the *in vitro* propagation of *Cattleya warscewiczii* and *Cattleya gaskelliana*. *South African Journal of Botany*, 148, 352-359. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.002>
- Monrroy, M., García, E., Ríos, K. & García, J. R. (2017). Extraction and Physicochemical Characterization of Mucilage from *Opuntia cochenillifera* (L.) Miller. *Journal of Chemistry*. 1-9. doi.org/10.1155/2017/4301901.
- Moreno Quintero, María E, Gutiérrez Barbuena, Julio C, Gutiérrez R, Betzabeth G, & Sánchez Pérez, Franmis Y. (2020). Dextrina y pectina extraídas de desechos de origen vegetal y su uso como aditivo para pegamento. *Revista Boliviana de Química*, 37(2), 85-93. Recuperado en 03 de junio de 2022, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602020000200003&lng=es&tlng=es.
- Mpatani, F. M., & Vuai, S. A. H. (2019). Performance of low-cost Agar from *Gracilaria salicornia* on tissue culture of *Pleurotus HK-37*. *The Scientific World Journal*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2565692>
- Munawar, S., Mustafa, G., Khan, M. S., & Joyia, F. A. (2020). Role of biotechnology in climate resilient agriculture. In *Environment, climate, plant and vegetation growth* (pp. 339-365). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-49732-3_14

- Muñoz Quintana, M. E. (2014). Extracción de pectina del exocarpo y endocarpo de la pitahaya (*Hylocereus triangularis*) para uso agroindustrial (Bachelor's thesis).
- Dugarte, N., Franklin A. Molina & Mario A. García. (2020). Aplicaciones de los mucílagos en el sector agro-alimentario. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 70 – 76 pp. Vol. 30, No. 1. <https://www.revcitecal.iiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/95/79>
- Nazki, I. T., Wani, M. A., Din, A., & Slathia, D. (2018). *In Vitro* Propagation of Ornamentals for Maximising Livelihood Security. In *Sustainable Agriculture Reviews* 27 (pp. 243-270). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75190-0_9
- Nieto, M. I., Santacruz, I., & Moreno, R. (2014). Consolidación de materiales cerámicos por gelificación de polisacáridos. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, 34(1), 02-27.
- Oñoro, J. (2005). Adhesivos. *El reto de unir todo con todo*, 8, 6-14.
- Otálora, M. C., Wilches-Torres, A., & Castaño, J. A. G. (2021). Extraction and Physicochemical Characterization of Dried Powder Mucilage from *Opuntia ficus-indica* Cladodes and Aloe Vera Leaves: A Comparative Study. *Polymers*, 13(11), 1689. <https://doi.org/10.3390/polym13111689>
- Otero, P., Carpena, M., Garcia-Oliveira, P., Echave, J., Soria-Lopez, A., García-Pérez, P. & Prieto, M. A. (2021). Seaweed polysaccharides: Emerging extraction technologies, chemical modifications and bioactive properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-29.
- Öztürk-Kerimoğlu, B. (2021). A promising strategy for designing reduced-fat model meat emulsions by utilization of pea protein-agar agar gel complex. *Food Structure*, 29, 100205. doi:10.1016/j.foostr.2021.100205
- Pandya, Y. H., Bakshi, M., & Sharma, A. (2022). Agar-agar extraction, structural properties and applications: A review. www.thepharmajournal.com
- Paredes, J. E. M., Castillo-González, A. M., Valdéz-Aguilar, L. A., Avitia-García, E., & del Rosario García-Mateos, M. (2022). Efecto de diferentes relaciones de luz azul: roja en el crecimiento de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Biotecnica*, 24(1), 87-96.
- Paredes, J. E. M., Castillo-González, A. M., Valdéz-Aguilar, L. A., Avitia-García, E., & del Rosario García-Mateos, M. (2022). Efecto de diferentes relaciones de luz azul: roja en el crecimiento de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Biotecnica*, 24(1), 87-96. <https://doi.org/10.18633/biotecnica.v24i1.1475>
- Perales A., L., Santos Díaz, M. D. S., Gómez Aguirre, Y. A., Ramos Gómez, M. S., & Pérez Molphe Balch, E. (2020). Análisis *in vitro* de la acumulación de metales pesados en plantas de la familia Asparagaceae tolerantes a la baja disponibilidad de agua. *Nova scientia*, 12(24), 0-0.
- Pérez Navarro, O., González Suárez, E., & Ley Chong, N. (2021). Procedimiento estratégico de desarrollo de procesos agroindustriales complementado con asimilación tecnológica. *Centro Azúcar*, 48(1), 47-58.
- Phillips, G. C., & Garda, M. (2019). Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55(3), 242-257.
- Pierik, R. L. M. (1997) *In Vitro* Culture of Higher Plants, 3rd edn. Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic. [https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=eUWe9894KzWC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Pierik,+R.+L.+M.+\(1987\)+In+Vitro+Culture+of+Higher+Plants,+3rd+edn.+Dordrecht,+The+Netherlands,+Kluwer+Academic&ots=cdERAhChgD&sig=HmXWmNkFbIAQLzamqr6X0Vykz2g#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=eUWe9894KzWC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Pierik,+R.+L.+M.+(1987)+In+Vitro+Culture+of+Higher+Plants,+3rd+edn.+Dordrecht,+The+Netherlands,+Kluwer+Academic&ots=cdERAhChgD&sig=HmXWmNkFbIAQLzamqr6X0Vykz2g#v=onepage&q&f=false)

- Polo, A. S. L., & Torres, J. K. B. (2021). Efecto de las diferentes concentraciones de almidón de cascara de papa (*solanum tuberosum* L.), yuca (*manihot esculenta* c.) y camote (*ipomoea batatas*) como agente gelificante en la micropropagación *in vitro* de segmentos nodales de aguaymanto (*physalis peruviana* L.).
- Porto, M.S.L. 2017. Ficha técnica agar-agar en polvo. <https://www.tendaecoloxica.com/pdf/690563.pdf>
- Qiao, D., Shi, W., Luo, M., Hu, W., Huang, Y., Jiang, F., Xie, F. & Zhang, B. (2022). Increasing xanthan gum content could enhance the performance of agar/konjac glucomannan-based system. *Food Hydrocolloids*, 107845. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107845>
- Quintero Ramírez, M., Mujica Niño, A., Linarez Arellano, M., Toyo Díaz, M., & Acosta González, Y. (2021). Efecto gelificante del agar de *Gracilaria debilis* en la elaboración de una compota de níspero (*Manilkara zapota*). *Revista chilena de nutrición*, 48(2), 195-202. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182021000200195>
- Quintero Ramírez, M., Mujica Niño, A., Linarez Arellano, M., Toyo Díaz, M., & Acosta González, Y. (2021). Efecto gelificante del agar de *Gracilaria debilis* en la elaboración de una compota de níspero (*Manilkara zapota*). *Revista chilena de nutrición*, 48(2), 195-202.
- Quiroz, M., Varnero, M. T., Cuevas, J. G., & Sierra, H. (2021). Cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) in areas with limited rainfall for the production of biogas and biofertilizer. *Journal of Cleaner Production*, 289, 125839. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.125839>
- Ramírez-Gavidia, T. C., González-Colmenares, N. M., Guerrero-Pernía, E. K. (2020). Pectina de residuos de naranja aplicando el principio de las 3R. *Aibi revista de investigación, administración e ingeniería*. 8(2), 84-91.
- Rascón-Chu, A., Martínez-López, A. L., Carvajal-Millán, E., Martínez-Robinson, K. G. & Campa-Mada, A. C. (2016). Gelificación iónica de pectina de bajo grado de esterificación extraída de manzanas inmaduras de raleo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 39, núm. 1, pp. 17-24.
- Reyes-Buendía C, Corrales-García JJE, Peña-Valdivia CB, et al. Sopa de elote (*Zea mays*) tipo crema con mucílago de nopal (*Opuntia* spp.) como espesante, sus características físicas y aceptación sensorial. *TIP Rev Esp Cienc Quim Biol*. 2020;23(1):1-14. doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.257
- Rodríguez González, Horacio, & Hechevarría Sosa, Isabel. (2006). Gel de Aloe vera (L.) N.L. Burm. y harina de sagú como soporte sólido de medio de cultivo para plantas medicinales. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 11(1) Recuperado en 03 de mayo de 2022, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962006000100007&lng=es&tlng=es.
- Rodríguez, E., & Sandoval, A. (2003). Hidrocoloides naturales de origen vegetal. Investigaciones recientes y aplicaciones en la industria de alimentos. *Tecnura*, 7(13), 4-13. <https://doi.org/10.14483/22487638.6179>
- Rodríguez-González, F., Pérez-González, J., Muñoz-López, C. N., Vargas-Solano, S. V., & Marín-Santibáñez, B. M. (2021). Influence of age on molecular characteristics and rheological behavior of nopal mucilage. *Food Science & Nutrition*, 9(12), 6776-6785. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2629>
- Rodríguez-González, S., Martínez-Flores, H. E., Órnelas-Nuñez, J. L., & Garnica-Romo, M. G. (2016). Optimización de la extracción del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*). In XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. 22(12).

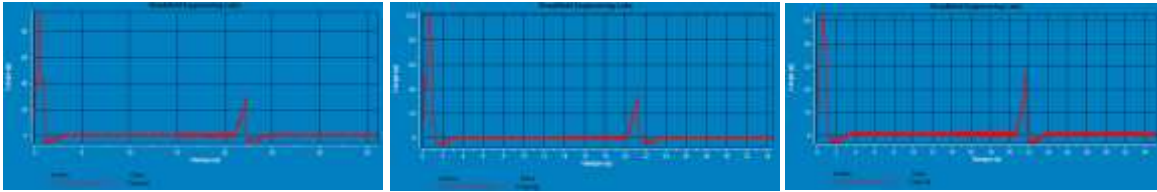
- Romay, G., Matehus, J., Gerstl, A., Rueda, R., & Santana, M. A. (2006). Almidón modificado de yuca como sustituto económico del agente solidificante para medios de cultivo de tejidos vegetales. *Interciencia*, 31(9), 686-689. Recuperado en 23 de agosto de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000900012&lng=es&tlng=es.
- Romay, G., Matehus, J., Gerstl, A., Rueda, R., & Santana, M. A. (2006). Almidón modificado de yuca como sustituto económico del agente solidificante para medios de cultivo de tejidos vegetales. *Interciencia*, 31(9), 686-689. Recuperado en 23 de agosto de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442006000900012&lng=es&tlng=es.
- Ros, J. M., Henk, A. S. & Voragen, A. G. J., (1996). Extraction, characterization, and enzymatic degradation of lemon peel pectins. *Carbohydrate research*. 282, 271-284. 10.1016/0008-6215(95)00389-4Get rights and content.
- Ruíz, BC, Laguna, CA, Iglesias, ALG, Damon, A, Marín, HTNJ, Azpíroz, RHS, & Moreno, MJL. (2008). Germinación *in vitro* de semillas de *Encyclia adenocaula* (La Llave & Lex.) Schltr (Orchidaceae). *Phyton (Buenos Aires)*, 77, 203-215. Recuperado en 27 de mayo de 2022, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572008000100017&lng=es&tlng=es.
- Saag, L. M. K., Sanderson, G. R., Moyna, P., & Ramos, G. (1975). Cactaceae mucilage composition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26(7), 993-1000. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740260716>
- Salazar-Mercado, S. A. (2012). Germinación asimbiótica de semillas y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Cattleya mendelii* Dombroin (Orchidaceae). *Acta Agronómica*, 61(1), 69-78.
- Sánchez-Cardozo, J., & Díaz-Barrera, L. E. (2019). Evaluación de sustratos elaborados a partir de residuos celulósicos para la propagación de flores ornamentales y hortalizas. *Bioagro*, 31(1), 45-54.
- Sánchez-Gutiérrez, A. E., Soto-Zarazúa, G. M., & Rodríguez-González, S. (2022). *Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica*. www.riit.com.mx
- Sandoval-Trujillo, S. J., Ramírez-Cortés, V., & Hernández-Bonilla, B. E. (2019). Alternativas de producción del nopal en el Estado de México.
- Santos, E. E., Amaro, R. C., Bustamante, C. C. C., Guerra, M. H. A., Soares, L. C., & Froes, R. E. S. (2020). Extraction of pectin from agroindustrial residue with an ecofriendly solvent: Use of FTIR and chemometrics to differentiate pectins according to degree of methyl esterification. *Food Hydrocolloids*, 107, 105921. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105921>
- Sepúlveda, E., Sáenz, C., Aliaga, E., & Aceituno, C. (2007). Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of arid environments*, 68(4), 534-545. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.08.001>
- Sewall, C. J., Riley, C. J. & Blakemore, W., R. Homogeneous, thermoreversible gel containing reduced viscosity carrageenan and products made therefrom. 2003.
- Sharifi, A., Moshtaghi, N., & Bagheri, A. (2010). Agar alternatives for micropropagation of African violet (*Saintpaulia ionantha*). *African Journal of Biotechnology*, 9(54), 9199-9203. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Shea L. D. & Woodruff, T. Hydrogel compositions. 2007.

- Singh, B., Singh, J., & Kaur, A. (2013). Cost effective plant regeneration protocol for rough lemon (citrus jambhiri lush) using gum konda-gogu as gelling agent in plant tissue culture media. *Journal of Cell & Tissue Research*, 13(1). www.tcrjournals.com
- SMATTCOM. (2020). Consulta precios y comercializa Nopal en Smattcom. [En línea]. Disponible en: <https://smattcom.com/blog/el-nopal-en-smattcom>. Fecha de consulta: 21 de marzo del 2021.
- Soukoulis, C., Gaiani, C., & Hoffmann, L. (2018). Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Current Opinion in Food Science*, 22, 28-42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.004>
- Sun, J., Ren, F., Chang, Y., Wang, P., Li, Y., Zhang, H., & Luo, J. (2018). Formation and structural properties of acid-induced casein–agar double networks: Role of gelation sequence. *Food Hydrocolloids*, 85, 291-298. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.07.030>
- Taheri, A., & Jafari, S. M. (2019). Gum-based nanocarriers for the protection and delivery of food bioactive compounds. *Advances in colloid and interface science*, 269, 277-295. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.04.009>
- Teng, J., Shen, L., Yu, G., Wang, F., Li, F., Zhou, X., He, Y. & Lin, H. (2018). Mechanism analyses of high specific filtration resistance of gel and roles of gel elasticity related with membrane fouling in a membrane bioreactor. *Bioresource technology*, 257, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.02.067>
- Thakur, G., Mitra, A., Pal, K., & Rousseau, D. (2009). Effect of flaxseed gum on reduction of blood glucose and cholesterol in type 2 diabetic patients. *International journal of food sciences and nutrition*, 60(sup6), 126-136. <https://doi.org/10.1080/09637480903022735>
- Torres, J., Hernández, O., Arce, G. & Vizuet, J. (2016). Secado de nopal (*Opuntia ficus*) utilizando secador solar con sistema de reflectores. *Revista de energía química y física*. 3(6), 39-46.
- Torres, V., & Alfredo, A. (2021). Evaluación de dosis de aloe vera como enraizante natural en esquejes de café robusta (*coffea canephora*) en el centro de apoyo Manglaralto (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2021).
- Towle, G. A. Preparation of gels based on carrageenan. 1974.
- Tripodo, M. M., Lanuzza, F., Mondello, F., Occhiuto, F., & Galati, E. M. (2013). Enzymatic extraction of pectin from *Opuntia ficus-indica* Cladodes. *Acta Horticulturae*. 1067, 393-397. [10.17660/ActaHortic.2015.1067.54](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1067.54)
- Vala, R. M., Sharma, M. G., Patel, D. M., Puerta, A., Padrón, J. M., Ramkumar, V., ... & Patel, H. M. (2021). Synthesis and *in vitro* study of antiproliferative benzyloxy dihydropyrimidinones. *Archiv der Pharmazie*, 354(6), 2000466.
- Vargas-Solano, S. V., Rodríguez-González, F., Martínez-Velarde, R., Morales-García, S. S., & Jonathan, M. P. (2022). Removal of heavy metals present in water from the Yautepec River Morelos México, using *Opuntia ficus-indica* mucilage. *Environmental Advances*, 7, 100160.
- Vasquez, R., Ruesga, L, D'addosio, R, Páez, G, & Marín, M. (2008). Extracción de pectina a partir de la cáscara de plátano (Musa AAB, subgrupo plátano) clon Hartón. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 25(2), 318-333.
- Villareal, F., Rojas, P., Arellano, V. & Moreno, J. (1963). Estudio químico sobre seis especies de nopales (*Opuntia spp.*). *Ciencia Mx*. 22, 59-65.

- Villa-Uvidia, D. N., Osorio-Rivera, M. Á., & Villacis-Venegas, N. Y. (2020). Extracción, propiedades y beneficios de los mucílagos. *Dominio de las Ciencias*, 6(2), 503-524. <https://www.dominiodelasciencias.com/ojs/index.php/es/article/view/1181/html>
- Wan, Z., Brown, P. J. B., Elliott, E. N., & Brun, Y. V. (2013). The adhesive and cohesive properties of a bacterial polysaccharide adhesin are modulated by a deacetylase. *Molecular Microbiology*, 88(3), 486–500. doi:10.1111/mmi.12199
- Wang, Q., Shi, Y., Yang, F., & Yang, S. (2018). Quantitative photoacoustic elasticity and viscosity imaging for cirrhosis detection. *Applied Physics Letters*, 112(21), 211902. doi:10.1063/1.5021675
- Wang, T., Park, Y. B., Cosgrove, D. J., & Hong, M. (2015). Cellulose-pectin spatial contacts are inherent to never-dried Arabidopsis primary cell walls: evidence from solid-state nuclear magnetic resonance. *Plant physiology*, 168(3), 871-884. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00665>
- Wang, W., Ma, X., Jiang, P., Hu, L., Zhi, Z., Chen, J., Ding, T. & Liu, D. (2016). Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. *Food Hydrocolloids*, 61, 730-739. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.019>
- Whaley, J. K., Kasica Jamie, J. J., Senkeleski Jeffrey, L., Foss W. & Heigis, J. R. Composicion hidrocoloidal para su uso como agente gelificante, viscosificador y estabilizador. 1998.
- Yadav, P. D., Gupta, N., Potdar, V., Mohandas, S., Sahay, R. R., Sarkale, P., ... & Abraham, P. (2022). An *in vitro* and in vivo approach for the isolation of Omicron variant from human clinical specimens. bioRxiv.
- Yadava, P., Abhishek, A., Singh, R., Singh, I., Kaul, T., Pattanayak, A., & Agrawal, P. K. (2017). Advances in maize transformation technologies and development of transgenic maize. *Frontiers in plant science*, 7, 1949. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01949>
- Yadava, P., Abhishek, A., Singh, R., Singh, I., Kaul, T., Pattanayak, A., & Agrawal, P. K. (2017). Advances in maize transformation technologies and development of transgenic maize. *Frontiers in plant science*, 7, 1949. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01949>
- Zdunek, A., Pieczywek, P. M., & Cybulska, J. (2021). The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 1101-1117. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12689>
- Zhang, D., Yang, F., He, J., Xu, L., Wang, T., Feng, Z.-Q. & Zheng, J. (2019). Multiple Physical Bonds to Realize Highly Tough and Self-Adhesive Double-Network Hydrogels. *ACS Applied Polymer Materials*. doi:10.1021/acsapm.9b00889
- Zhang, X., Liu, X., Xia, K., & Luan, J. (2014). Preparation of oxidized agar and characterization of its properties. *Carbohydrate Polymers*, 112, 583–586. doi:10.1016/j.carbpol.2014.06.005
- Zhao, M., Yang, N., Yang, B., Jiang, Y. & Zhang, G. (2007). Structural characterization of water-soluble polysaccharides from *Opuntia monacantha* cladodes in relation to their anti-glycated activities. *Food Chemistry*. 105(2007), 1480–1486. 10.1016/j.foodchem.2007.05.031
- Zheng, Z., Bian, S., Li, Z., Zhang, Z., Liu, Y., Zhai, X., Pan, H. & Zhao, X. (2020). Catechol modified quaternized chitosan enhanced wet adhesive and antibacterial properties of injectable thermo-sensitive hydrogel for wound healing. *Carbohydrate Polymers*, 249, 116826. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116826>

ANEXOS

TC



Tratamiento CT V1.6 (M) **BR 0205** **Resistal Engineering Labs, Inc.**

Especificación		Medida	
Temperatura	1000	1000	1000
Velocidad	1000	1000	1000
Humedad	1000	1000	1000
Presión	1000	1000	1000
Alcance	1000	1000	1000

Parámetro	Unidad	Medida	Medida
Temperatura	°C	1000	1000
Velocidad	mm/min	1000	1000
Humedad	%	1000	1000
Presión	MPa	1000	1000
Alcance	mm	1000	1000

Parámetro	Unidad	Medida	Medida
Temperatura	°C	1000	1000
Velocidad	mm/min	1000	1000
Humedad	%	1000	1000
Presión	MPa	1000	1000
Alcance	mm	1000	1000

Tratamiento CT V1.6 (M) **BR 0205** **Resistal Engineering Labs, Inc.**

Especificación		Medida	
Temperatura	1000	1000	1000
Velocidad	1000	1000	1000
Humedad	1000	1000	1000
Presión	1000	1000	1000
Alcance	1000	1000	1000

Parámetro	Unidad	Medida	Medida
Temperatura	°C	1000	1000
Velocidad	mm/min	1000	1000
Humedad	%	1000	1000
Presión	MPa	1000	1000
Alcance	mm	1000	1000

Parámetro	Unidad	Medida	Medida
Temperatura	°C	1000	1000
Velocidad	mm/min	1000	1000
Humedad	%	1000	1000
Presión	MPa	1000	1000
Alcance	mm	1000	1000

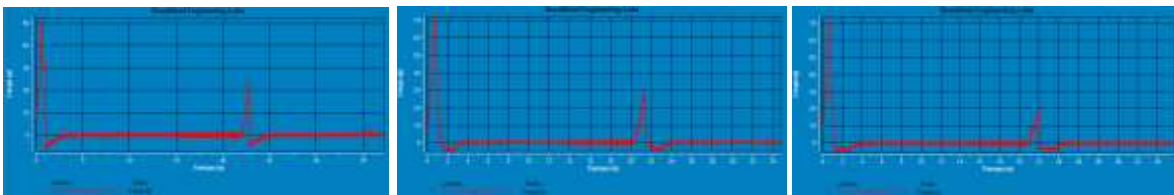
Tratamiento CT V1.6 (M) **BR 0205** **Resistal Engineering Labs, Inc.**

Especificación		Medida	
Temperatura	1000	1000	1000
Velocidad	1000	1000	1000
Humedad	1000	1000	1000
Presión	1000	1000	1000
Alcance	1000	1000	1000

Parámetro	Unidad	Medida	Medida
Temperatura	°C	1000	1000
Velocidad	mm/min	1000	1000
Humedad	%	1000	1000
Presión	MPa	1000	1000
Alcance	mm	1000	1000

Parámetro	Unidad	Medida	Medida
Temperatura	°C	1000	1000
Velocidad	mm/min	1000	1000
Humedad	%	1000	1000
Presión	MPa	1000	1000
Alcance	mm	1000	1000

T3



TeksturPro CT V1-A-BUILD MFC000VE Broeksted Engineering Labs, Inc.

Demographic Statistics

Demographic	Count	Percentage
Gender	1	100%
Age Group	1	100%
Education	1	100%
Income	1	100%
Language	1	100%
Activity	1	100%
Other	1	100%

Means List

Variable	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum
TC	83.0000	26.28688	57.0000	109.0000
T3	65.33333	12.00347	50.0000	80.66667
T4	129.0000	55.3805	70.0000	188.0000
T7	34.33333	18.08545	10.0000	58.66667
T8	158.66667	58.04596	100.0000	217.33333
T11	58.50000	8.26136	40.0000	77.00000
T12	167.0000	32.04684	100.0000	214.0000
T15	33.83333	18.536	10.0000	57.66667
T16	328.16667	27.71432	280.0000	376.33333

Summary Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum
TC	3	83.0000	26.28688	57.0000	109.0000
T3	3	65.33333	12.00347	50.0000	80.66667
T4	3	129.0000	55.3805	70.0000	188.0000
T7	3	34.33333	18.08545	10.0000	58.66667
T8	3	158.66667	58.04596	100.0000	217.33333
T11	3	58.50000	8.26136	40.0000	77.00000
T12	3	167.0000	32.04684	100.0000	214.0000
T15	3	33.83333	18.536	10.0000	57.66667
T16	3	328.16667	27.71432	280.0000	376.33333

TeksturPro CT V1-A-BUILD MFC000VE Broeksted Engineering Labs, Inc.

Demographic Statistics

Demographic	Count	Percentage
Gender	1	100%
Age Group	1	100%
Education	1	100%
Income	1	100%
Language	1	100%
Activity	1	100%
Other	1	100%

Means List

Variable	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum
TC	83.0000	26.28688	57.0000	109.0000
T3	65.33333	12.00347	50.0000	80.66667
T4	129.0000	55.3805	70.0000	188.0000
T7	34.33333	18.08545	10.0000	58.66667
T8	158.66667	58.04596	100.0000	217.33333
T11	58.50000	8.26136	40.0000	77.00000
T12	167.0000	32.04684	100.0000	214.0000
T15	33.83333	18.536	10.0000	57.66667
T16	328.16667	27.71432	280.0000	376.33333

Summary Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum
TC	3	83.0000	26.28688	57.0000	109.0000
T3	3	65.33333	12.00347	50.0000	80.66667
T4	3	129.0000	55.3805	70.0000	188.0000
T7	3	34.33333	18.08545	10.0000	58.66667
T8	3	158.66667	58.04596	100.0000	217.33333
T11	3	58.50000	8.26136	40.0000	77.00000
T12	3	167.0000	32.04684	100.0000	214.0000
T15	3	33.83333	18.536	10.0000	57.66667
T16	3	328.16667	27.71432	280.0000	376.33333

TeksturPro CT V1-A-BUILD MFC000VE Broeksted Engineering Labs, Inc.

Demographic Statistics

Demographic	Count	Percentage
Gender	1	100%
Age Group	1	100%
Education	1	100%
Income	1	100%
Language	1	100%
Activity	1	100%
Other	1	100%

Means List

Variable	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum
TC	83.0000	26.28688	57.0000	109.0000
T3	65.33333	12.00347	50.0000	80.66667
T4	129.0000	55.3805	70.0000	188.0000
T7	34.33333	18.08545	10.0000	58.66667
T8	158.66667	58.04596	100.0000	217.33333
T11	58.50000	8.26136	40.0000	77.00000
T12	167.0000	32.04684	100.0000	214.0000
T15	33.83333	18.536	10.0000	57.66667
T16	328.16667	27.71432	280.0000	376.33333

Summary Statistics

Variable	Count	Mean	Standard Deviation	Minimum	Maximum
TC	3	83.0000	26.28688	57.0000	109.0000
T3	3	65.33333	12.00347	50.0000	80.66667
T4	3	129.0000	55.3805	70.0000	188.0000
T7	3	34.33333	18.08545	10.0000	58.66667
T8	3	158.66667	58.04596	100.0000	217.33333
T11	3	58.50000	8.26136	40.0000	77.00000
T12	3	167.0000	32.04684	100.0000	214.0000
T15	3	33.83333	18.536	10.0000	57.66667
T16	3	328.16667	27.71432	280.0000	376.33333

ANOVA variable dureza.

ANOVAOneWay (15/06/2022 13:55:14)

Notes

Input Data

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
tc	3	0	83	26.28688	15.17674
t3	3	0	65.33333	12.00347	6.93021
t4	3	0	129	55.3805	31.97395
t7	3	0	34.33333	18.08545	10.44164
t8	3	0	158.66667	58.04596	33.51285
t11	3	0	58.5	8.26136	4.7697
t12	3	0	167	32.04684	18.50225
t15	3	0	33.83333	18.536	10.70177
t16	3	0	328.16667	27.71432	16.00087

ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	8	209901.12963	26237.6412	24.08248	4.20219E-8
Error	18	19610.83333	1089.49074		
Total	26	229511.96296			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.
 Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.
 At the 0.05 level, the population means are significantly different.

ANOVA variable dureza en un segundo ciclo.

ANOVAOneWay (15/06/2022 14:16:24)

Notes

Input Data

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
tc	3	0	30.16667	3.05505	1.76383
t3	3	0	23	5	2.88675
t4	3	0	41.5	8.26136	4.7697
t7	3	0	15	3.4641	2
t8	3	0	89.66667	44.63556	25.77035
t11	3	0	17.83333	0.28868	0.16667
t12	3	0	61.5	17.32772	10.00417
t15	3	0	19	3.27872	1.89297
t16	3	0	70.83333	20.25669	11.6952

ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	8	17451	2181.375	6.94132	3.29976E-4
Error	18	5656.66667	314.25926		
Total	26	23107.66667			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.
 Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.
 At the 0.05 level, the population means are significantly different.

ANOVA variable cohesividad.

ANOVAOneWay (15/06/2022 14:27:14)

Notes

Input Data

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
tc	3	0	0.35667	0.12503	0.07219
t3	3	0	11.06667	18.99485	10.96668
t4	3	0	0.29333	0.16042	0.09262
t7	3	0	0.30667	0.27025	0.15603
t8	3	0	15.18333	25.82213	14.90841
t11	3	0	1.33333	1.87663	1.08347
t12	3	0	2.24667	3.25054	1.8767
t15	3	0	1.61667	3.40227	1.9643
t16	3	0	4.62333	7.68742	4.43833

ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	8	695.38705	86.92338	0.70323	0.68523
Error	18	2224.9214	123.60674		
Total	26	2920.30845			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.
 Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.
 At the 0.05 level, the population means are not significantly different.

ANOVA variable adhesividad.

ANOVAOneWay (15/06/2022 15:15:54)

Notes

Input Data

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
tc	3	0	0.05333	0.02082	0.01202
t3	3	0	0.09	0.04583	0.02646
t4	3	0	0.05333	0.03512	0.02028
t7	3	0	0.05	0.04359	0.02517
t8	3	0	0.10333	0.06658	0.03844
t11	3	0	0.06	0.01732	0.01
t12	3	0	0.06	0.01	0.00577
t15	3	0	0.11	0.05568	0.03215
t16	3	0	0.06667	0.01528	0.00882

ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	8	0.01274	0.00159	1.03614	0.44594
Error	18	0.02767	0.00154		
Total	26	0.04041			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.
 Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.
 At the 0.05 level, the population means are not significantly different.

ANOVA variable gomosidad.

ANOVAOneWay (16/06/2022 09:56:10)

Notes

Input Data

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
tc	3	0	27.35667	0.88636	0.51174
t3	3	0	11.96667	10.19281	5.88482
t4	3	0	32.4	9.26337	5.34821
t7	3	0	7.7	6.3	3.63731
t8	3	0	52.6	26.18626	15.11864
t11	3	0	15.76667	0.92376	0.53333
t12	3	0	47.46667	25.65158	14.80994
t15	3	0	-5.56667	14.23599	8.21915
t16	3	0	61.76667	4.56326	2.6346

ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	8	12268.7199	1533.58999	7.67545	1.7575E-4
Error	18	3596.4846	199.8047		
Total	26	15865.2045			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.
 Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.
 At the 0.05 level, the population means are significantly different.

ANOVA variable elasticidad.

ANOVAOneWay (16/06/2022 10:40:41)

Notes

Input Data

Descriptive Statistics

	N Analysis	N Missing	Mean	Standard Deviation	SE of Mean
tc	3	0	0.79	0.04	0.02309
t3	3	0	0.65333	0.21079	0.1217
t4	3	0	0.69333	0.12097	0.06984
t7	3	0	0.61333	0.07095	0.04096
t8	3	0	0.66333	0.01528	0.00882
t11	3	0	0.69667	0.13051	0.07535
t12	3	0	0.65	0.14933	0.08622
t15	3	0	0.49667	0.11547	0.06667
t16	3	0	0.76667	0.08505	0.0491

ANOVA

Overall ANOVA

	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob>F
Model	8	0.17692	0.02211	1.58172	0.19912
Error	18	0.25167	0.01398		
Total	26	0.42859			

Null Hypothesis: The means of all levels are equal.
 Alternative Hypothesis: The means of one or more levels are different.
 At the 0.05 level, the population means are not significantly different.