



Optimización del proceso de extracción del mucílago de *Linum usitatissimum* utilizando un diseño secuencial

Optimization of the extraction process of *Linum usitatissimum* mucilage using a sequential design

Ana Paula Castañeda-Cachay¹; Nilthon Emerson Zavaleta-Gutiérrez²; Raúl Siche¹

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

² Departamento de Minas y Metalurgia, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, Trujillo, Perú.

Received September 18, 2018. Accepted February 12, 2019.

Resumen

El objetivo de este estudio fue optimizar el rendimiento de polisacáridos y proteína, viscosidad de gel y propiedades texturales del mucílago de *Linum usitatissimum* utilizando un diseño secuencial. Los factores de estudio fueron el método de extracción (sin agitación, con agitación magnética y con ultrasonido), la temperatura (40, 55, 70 °C), tiempo de extracción (1, 2 y 3 h), pH (5,5, 7,0 y 8,5) y relación semilla:agua (1:10, 1:20 y 1:30 g/L). En la primera etapa, se utilizó un diseño de screening que permitió determinar que la temperatura (°C) y tiempo (h) de extracción fueron los factores que tienen efecto significativo sobre el proceso. Se evidenció que el método de extracción no tiene efecto significativo sobre el rendimiento y porcentaje de proteínas. En la segunda etapa, utilizando un diseño completo, se logró determinar que las condiciones óptimas de extracción del mucílago fueron: 85 a 90 °C; 4,5 a 5,0 h; pH 7,0 y relación semilla:agua de 1:20, éstas condiciones optimizan el rendimiento (9,73%), el porcentaje de proteínas (12,5%) y proporcionan un gel con una viscosidad de 1110,90 mPa.s y 159,97 g de firmeza, 568,48 g.s de consistencia, 29,52 g de cohesividad e 14,48 g.s de índice de viscosidad.

Palabras clave: superficie de respuesta; *Linum usitatissimum*; Plackett–Burman; DCCR; linaza.

Abstract

The aim of this study was to optimize the yield of polysaccharides and protein, gel viscosity and textural properties of *Linum usitatissimum* mucilage using a sequential design. The study factors were the extraction method (without agitation, with magnetic stirring and with ultrasound), temperature (40, 55, 70 °C), extraction time (1, 2 and 3 h), pH (5.5, 7.0 and 8.5) and seed:water ratio (1:10, 1:20 and 1:30 g/L). In the first stage, a screening design was used to determine that the temperature (°C) and time (h) of extraction were the factors that have a significant effect on the process. It was evidenced that the extraction method has no significant effect on the yield and percentage of proteins. In the second stage, using a complete design, it was possible to determine that the optimal conditions of extraction of the mucilage were: 85 to 90 °C; 4.5 to 5.0 h; pH 7.0 and seed ratio:water of 1:20, these conditions optimize the yield (9.73%), the percentage of proteins (12.5%) and provide a gel with a viscosity of 1110.90 mPa.s and 159.97 g of firmness, 568.48 g.s of consistency, 29.52 g of cohesiveness and 14.48 g.s of viscosity index.

Keywords: response surface; *Linum usitatissimum*; Plackett–Burman; DCCR; linseed.

How to cite this article:

Castañeda-Cachay, A.P.; Zavaleta-Gutiérrez, N.E.; Siche, R. 2019. Optimización del proceso de extracción del mucílago de *Linum usitatissimum* utilizando un diseño secuencial. *Scientia Agropecuaria* 10(1): 19-28.

* Corresponding author
E-mail: rsiche@unitru.edu.pe (R. Siche).

1. Introducción

Los polisacáridos naturales presentan una estructura química que beneficia la inhibición de corrosión en metales en condiciones extremas, es decir altas temperaturas y soluciones ácidas; esto despertó el interés del sector de los materiales para utilizar estos compuestos carbonados como inhibidores de corrosión ecológicos.

Dentro de su estructura química, los polisacáridos en general presentan un componente glucósido (fructosa, glucosa, manosa, galactosa, entre otras), y otro componente que es producto de la polimerización del ácido aspártico, ácidos grasos, entre otros, estos dos componentes son los grupos hidrofílicos e hidrofóbicos, respectivamente. Esta estructura es el principal requisito para que una sustancia sea denominada inhibidor de corrosión, el grupo hidrofílico es responsable de la interacción de protección del metal frente al medio ácido y el grupo hidrofóbico provee una capa adicional de protección (Tiu y Advincula, 2015).

Los polisacáridos son denominados inhibidores de corrosión ecológicos ya que presentan la ventaja de no emitir gases tóxicos al medio ambiente, tener un bajo costo de adquisición en el mercado y ser un recurso renovable, dándole a estos una mayor relevancia frente a los inhibidores de corrosión químicos (Hooshmand *et al.*, 2013).

El mucílago es un polisacárido natural que está constituido por una fracción neutral y la otra ácida. La primera, esta constituía por una cadena principal de β -D-xilano y arabinoxilano, donde las cadenas de arabinosa y galactosa están conectada a la posición 2 o 3 de la cadena principal. La fracción ácida está constituida por una cadena principal de α -L-ramnopiranosil y residuos del ácido D-galactopiranosilurónico con cadenas de fucosa y galactosa (Omah *et al.*, 1995). Esta estructura química es la cadena general del mucílago sin embargo su composición química depende del genotipo de la materia prima que se utiliza en la extracción y también del protocolo de extracción (Paynel *et al.*, 2013).

El protocolo general de extracción consiste en sumergir las semillas en un solvente (agua) por un tiempo determinado (Ziolkovska, 2012). Este procedimiento general ha sido variado por diferentes autores, con el propósito de aumentar el rendimiento de la extracción sin alterar la composición química del extracto.

Singer *et al.* (2011) evaluaron la influencia de cuatro protocolos de extracción sobre la composición química del extracto obtenido.

Los resultados mostraron que a una temperatura ambiente (°C), pH 9,0, relación semilla: agua (RSA) de 1:40 y tiempo de 30 minutos con precipitación por medio de etanol, se obtuvo un porcentaje de 85,9% de mucílago y tan solo un 8,6% de proteína en el extracto obtenido, mientras que a una temperatura de ebullición con los mismos parámetros anteriores hay un menor porcentaje de mucílago (61,1%) y alto contenido de cenizas (11,2%).

Cui *et al.* (1994) investigaron la influencia de los factores de extracción mediante un modelo de superficie de respuesta sobre el rendimiento, proteína y viscosidad. Demostró que la temperatura es el factor que tiene mayor efecto sobre las variables respuestas; a su vez calculó que los niveles óptimos de extracción del mucílago son: temperatura, pH y RSA de 85–90 °C, 6,5–7,0 y 1:13, respectivamente. Por otro lado Zhang *et al.* (2009) utilizaron para la extracción del mucílago una temperatura, pH, RSA, tiempo y ciclos de extracción de 70 °C, 6,0, 1:7, 60 min y 4 ciclos, respectivamente, y los compararon con los niveles óptimos de Cui *et al.* (1994) evaluando el efecto en el rendimiento y viscosidad del mucílago obtenido, los resultados mostraron que no había diferencia significativa entre los rendimientos finales obtenidos pero que se obtuvo un gel más fuerte con el método de Zhang *et al.* (2009). Por lo cual se comprueba claramente que para tener un polisacárido más puro en el momento de la extracción y con propiedades reológicas más fuerte, el uso de bajas temperaturas es lo ideal conjugándolo con el uso de mayores tiempos de extracción (Fabre *et al.*, 2015; Qian *et al.*, 2012; Ziolkovska, 2012). Otro de los factores que influye de manera significativa sobre el rendimiento y las propiedades reológicas son RSA (Ziolkovska, 2012), pH (Cui *et al.*, 1994) y también los métodos de agitación como la agitación mecánica, magnética y ultrasonido (Fabre *et al.*, 2015).

A pesar que existen estudios de extracción de *Linum usitatissimum*, hacen falta más estudios que optimicen el rendimiento y otras propiedades de interés, utilizando los resultados de estudios previos. Por lo que, el objetivo de este estudio fue optimizar el proceso de extracción de polisacáridos en *Linum usitatissimum*, utilizando un diseño secuencial (Plackett-Burman para selección de variables significativas y el Diseño Compuesto Central Rotable para la optimización final) y tres métodos de extracción (sin agitación, con agitación magnética y con ultrasonido).

2. Materiales y métodos

Materia prima

La linaza (*Linum usitatissimum*) utilizado en el proyecto de investigación procedía del Distrito Chugay de la provincia de Sánchez Carrión. La preparación de la linaza consistió en la separación de las impurezas.

Diseño de Screening: Plackett–Burman

Al tener un alto número de factores que influyen sobre la extracción del mucílago, se desarrolló un estudio discriminante llamado Plackett–Burman para determinar los factores que afectan significativamente las variables rendimiento y proteína (%).

La extracción se dividió en 3 grupos: sin agitación, con ultrasonido y con agitación magnética (Figura 1). En cada grupo se aplicó el Plackett–Burman con 4 factores y 3 puntos centrales, teniendo como factores a la temperatura, el tiempo, el pH y la relación semilla: agua (RSA).

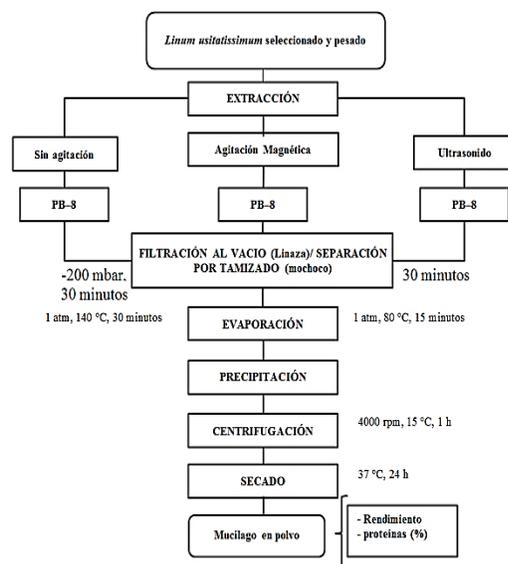


Figura 1. Diseño Experimental para la extracción de las gomas del *Linum usitatissimum*.

El diseño experimental en la extracción del mucílago se encuentra detallado en la Tabla 1, en estos ensayos se midió el

Tabla 1

Diseño experimental de la extracción del mucílago del *Linum usitatissimum*: Plackett – Burman de 8 factores

Ensayos	Matriz estadística				Factores			
					Temperatura (°C)	Tiempo (h)	pH	Semilla: agua, RSA (g/L)
1	-1	-1	-1	1	40	1	5,5	01:30
2	1	-1	-1	-1	70	1	5,5	01:10
3	-1	1	-1	-1	40	3	5,5	01:10
4	1	1	-1	1	70	3	5,5	01:30
5	-1	-1	1	1	40	1	8,5	01:30
6	1	-1	1	-1	70	1	8,5	01:10
7	-1	1	1	-1	40	3	8,5	01:10
8	1	1	1	1	70	3	8,5	01:30
9	0	0	0	0	55	2	7,0	01:20
10	0	0	0	0	55	2	7,0	01:20
11	0	0	0	0	55	2	7,0	01:20

efecto de las variables sobre el rendimiento y el porcentaje de proteínas en el polvo del polisacárido obtenido. Se utilizó un análisis de comparación de medias (prueba de Tukey) para determinar el método de agitación que beneficia el rendimiento en la extracción de polisacárido y el porcentaje de proteínas.

Optimización por Diseño Compuesto Central de Rotable (DCCR)

La temperatura y el tiempo fueron los factores que afectaron significativamente el rendimiento y el porcentaje de proteínas del mucílago obtenido, a estos ensayos se les midió su efecto y los niveles óptimos en las respuestas: rendimiento y proteína (Tabla 2).

Tabla 2

Diseño experimental DCSR de la extracción del mucílago del *Linum usitatissimum*

Ensayos	Matriz estadística		Factores	
			Temperatura (°C)	Tiempo (h)
1	-1,00	-1,00	56	1,58
2	-1,00	1,00	56	4,42
3	1,00	-1,00	84	1,58
4	1,00	1,00	84	4,42
5	-1,41	0,00	50	3,0
6	1,41	0,00	90	3,0
7	0,00	-1,41	70	1,0
8	0,00	1,41	70	5,0
9	0,00	0,00	70	3,0
10	0,00	0,00	70	3,0

Extracción del mucílago del *Linum usitatissimum*

De acuerdo al diseño estadístico se extrajo el mucílago de las semillas (Tabla 1 y 3), cumplido el tiempo se separó el extracto de las semillas con una filtración a vacío, la presión fue de 200 mbar al vacío por 30 min. El extracto se evaporó por 30 min en constante agitación y luego se precipitó con 3 volúmenes de etanol a 96 °GL, se dejó reposar la solución con el alcohol y se separó el aglomerado del alcohol mediante centrifugación (4000 rpm, 15 °C, 1 h). El mucílago extraído se secó en estufa a 37 °C hasta peso constante. Finalmente se molió para realizar las pruebas necesarias.

Análisis fisicoquímico

Se determinaron el rendimiento y el porcentaje de proteínas como respuestas del diseño Plackett–Burman. El primero mediante la ecuación 1, donde m_i es la masa de semillas o algas inicial; m_g es la masa del polvo de las gomas obtenidas.

$$Y = \frac{(m_i - m_g)}{m_i} \times 100 \quad \dots \text{(Ec. 1)}$$

Para la determinación de proteínas, se pesó aproximadamente 1 g de muestra en un tubo digestor y se le añadió 5 g de mezcla catalizadora (sulfato de potasio y sulfato de cobre) con 15 ml de ácido sulfúrico cc. Después se agitó suavemente la muestra para homogenizar el contenido y se digirió por 4 a 6 h de acuerdo a la cantidad de proteínas en la muestra. Al terminar el proceso de digestión, el producto se destiló por 1 hora aproximadamente, con una previa neutralización de la solución con NaOH al 50%. El destilado posteriormente se titula y el gasto es utilizado para el cálculo de las proteínas.

$$\%N = \frac{(G) \times N \times 0,014}{\text{peso muestra (mg)}} \times 100$$

$$\% \text{ Proteína} = \%N \times 6,25$$

Siendo: G: gasto en la titulación (ml), N: normalidad del HCl.

Propiedades reológicas

Se determinó el comportamiento de flujo de los geles de mucílago de carragenina en el reómetro THERMO SCIENTIFIC. Previamente al análisis, se realizó geles de mucílago a concentraciones de 3%, y geles de carragenina a concentraciones de 2% mediante la agitación suave y constante por una hora a 90 °C, para determinar las curvas de flujo de cizallamiento. Estas propiedades se midieron en el reómetro (THERMO SCIENTIFIC modelo HAAKE MARS 60, Alemania) utilizando el usillo cono–plato a una temperatura de 25 °C y velocidades de cizalla desde 0,01 a 100 s⁻¹.

Tabla 3

Plackett – Burman 8: desarrollado para detectar los factores significativos que envuelven la extracción del mucílago de la linaza (*Linum usitatissimum*) en tres diferentes métodos de extracción

Ensayos	Factores				Sin agitación		Agitación magnética		Ultrasonido	
	T (°C)	t (h)	pH	RSA (p/v)	Rend.	Proteína (%)	Rend.	Proteína (%)	Rend.	Proteína (%)
1	40	1	5.5	01:30	2,261	1,257	3,396	0,669	1,865	1,732
2	70	1	5.5	01:10	3,021	5,875	3,903	5,171	4,276	4,877
3	40	3	5.5	01:10	2,068	3,548	4,502	0,784	2,902	3,003
4	70	3	5.5	01:30	4,456	6,572	5,833	6,256	7,660	5,882
5	40	1	8.5	01:30	2,647	0,803	2,905	1,220	2,866	0,289
6	70	1	8.5	01:10	3,040	4,666	5,215	5,021	4,637	4,168
7	40	3	8.5	01:10	4,692	4,690	4,958	2,819	4,448	3,370
8	70	3	8.5	01:30	4,127	4,582	6,449	6,220	6,387	4,584
9	55	2	7	01:20	4,432	3,965	4,090	5,486	3,693	5,456
10	55	2	7	01:20	3,760	4,977	5,146	4,564	4,490	5,729
11	55	2	7	01:20	3,858	5,603	5,049	6,099	4,047	5,012

Análisis de textura

Se preparó gel de mucílago a concentración de 3% mediante la agitación suave y constante por una hora a 90 °C, para luego determinar su firmeza, adhesividad e índice de consistencia, utilizando texturómetro TA.HD Plus Texture Analyzer con celda de 5 kg y utilizando la probeta de extrusión – perforación (A/BE) a una velocidad, fuerza y porcentaje de compresión de 2,00 mm/s, 10 g y 100%.

Pruebas estadísticas

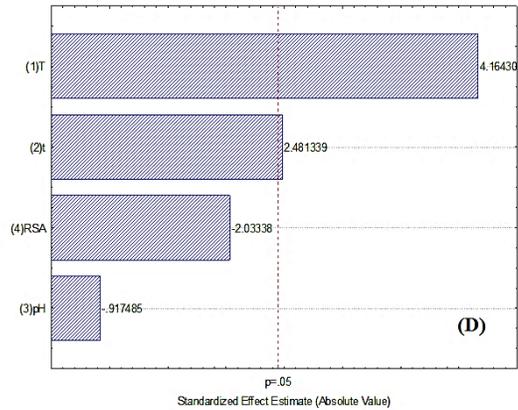
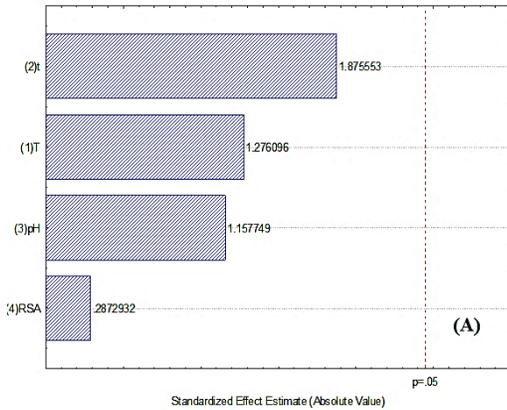
El análisis estadístico de cada uno de los diseños utilizados se realizó en Statistica 5,5, se elaboraron Diagramas de Pareto ($p < 0,05$), Coeficientes de regresión, predicciones y superficies de respuestas. Se utilizó también SPSS Statistics 19 (International Business Machines Corporation, EE.UU.) para realizar la prueba la Tukey para determinar si hay diferencia significativa entre tratamientos.

3. Resultados y discusión

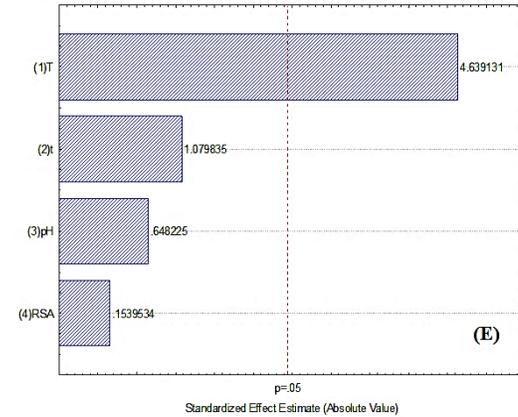
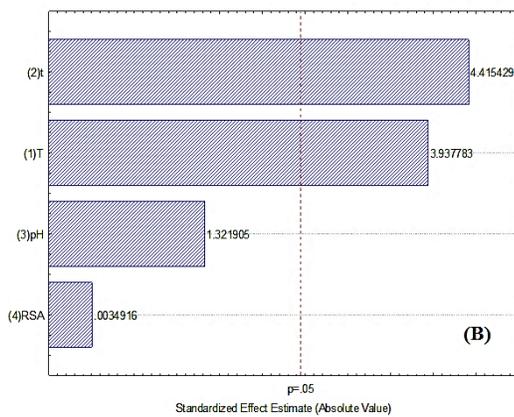
3.1 Diseño de Plackett–Burman 8 utilizado en la extracción de mucílago

La **Tabla 3** muestra los resultados que se obtuvieron en los ensayos de extracción de mucílago en los 3 métodos de extracción. Los resultados expuestos en el diagrama de Pareto (**Figura 2**) mostraron que la variable rendimiento es afectada por la temperatura y el tiempo en dos métodos de extracción (agitación magnética y ultrasonido). **Cui et al. (1994)** demostraron que la temperatura es una de las variables que afectan el rendimiento en combinación con la agitación magnética; de igual modo, **Fabre et al. (2015)** confirmaron que la temperatura y el tiempo de extracción son variables que afectan significativamente al rendimiento utilizando los métodos de agitación magnética, ultrasonido y microondas.

SIN AGITACIÓN



AGITACIÓN MAGNÉTICA



ULTRASONIDO

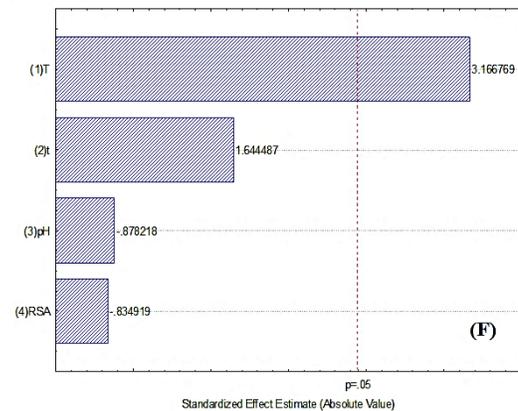
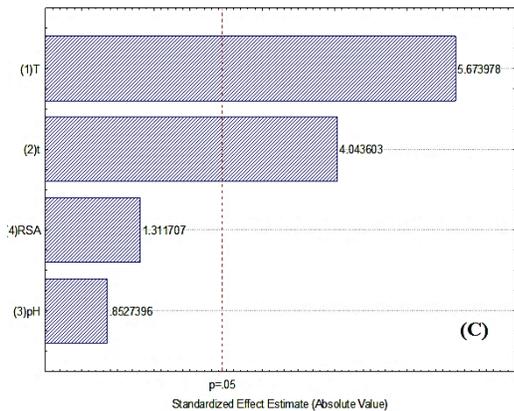


Figura 2. Diagramas de Pareto del diseño Plackett-Burman (extracción del mucílago) de los tres modos de extracción: Sin Agitación, Agitación Magnética y Ultrasonido, sobre las respuestas: rendimiento (A, B, C) y %proteína (D, E, F).

Los factores estudiados no tuvieron un efecto significativo en la extracción sin agitación (Figura 2), esto puede deberse a que la falta de movimiento en la solución provocó que el polisacárido que era extraído de la linaza se quedara aglomerado en la superficie de la semilla, formándose una capa extra alrededor de la semilla. Esto provocó que la temperatura y el tiempo no tuvieran efecto significativo sobre el

rendimiento, ya que la capa extra impedía el paso del polisacárido hacia la solución insaturada (agua).

A diferencia de la respuesta rendimiento, la temperatura tuvo efecto significativo sobre los 3 métodos de extracción con respecto al porcentaje de proteínas. Barbary (2009) concluyó que el porcentaje de proteínas aumenta cuando se incrementa la temperatura de extracción. La temperatura

influye significativamente en el porcentaje final de proteínas, debido a que el factor aumenta la energía de la molécula de proteína para que mediante difusión pueda ser extraída, ya que la proteína se encuentra en una región dentro de la semilla (endospermo) más profunda que el polisacárido (Ziolkovska, 2012).

Ziolkovska (2012) afirma que la agitación continua (entre 60 a 240 rpm) en sus primeros 20 minutos extrae con mayor eficiencia el polisacárido de la semilla; sin embargo al pasar ese límite de tiempo, los rendimientos disminuyen a pesar de la agitación. En esta investigación durante todo el tiempo de extracción señalado en la Tabla 3, la agitación ya sea magnética o ultrasónica estuvo presente continuamente; por lo que al seguir con la agitación después de pasar el tiempo óptimo, este proceso fue irrelevante desencadenando una falta de diferencia significativa entre métodos de extracción.

El contenido proteico de las muestras con los métodos de extracción no muestra diferencias significativas (Figura 3b). Fabre et al. (2015) reportaron comportamientos similares en el porcentaje de proteínas, es decir el contenido de proteína de la muestra de ultrasonido con un amplitud de 60% no tuvo una diferencia significativa con la muestra extraída usando la agitación magnética, con una confiabilidad del 68%.

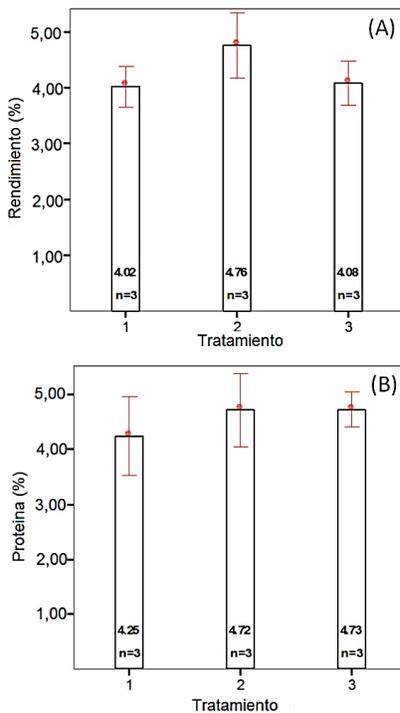


Figura 3. Análisis de comparación de medias de los tres métodos de extracción del mucílago de la linaza: 1) sin agitación, 2) agitación magnética y 3) ultrasonido.

A pesar que entre métodos de extracción no existe diferencia significativa, sino que estadísticamente éstos tienen el mismo efecto en las respuestas rendimiento y porcentaje de proteína, la Figura 3 muestra que un método fue más eficiente en extraer los polisacáridos de la linaza (rendimiento) y las proteínas dentro de la semilla (porcentaje de proteína): la agitación magnética. Fabre et al. (2015), por el contrario determinaron que el ultrasonido es el método más eficiente para la extracción del polisacárido de la linaza comparándola con la agitación magnética y el método del microondas. La diferencia radica en la metodología de Fabre et al. (2015) y la frecuencia del equipo utilizado.

3.2 Optimización de la extracción del mucílago mediante DCCR

Después del screening, se utilizó un diseño DCCR. Se tomaron como variables dependientes la temperatura y el tiempo, y como método de extracción la agitación magnética. El propósito de este diseño es proporcionar un rango de valores en donde la extracción del mucílago sea óptima. Se determinó mediante el software Statistica 5.5 modificar los rangos anteriores de temperatura y tiempo. El nuevo valor mínimo y máximo de la temperatura fue 56 y 84 °C, mientras que el tiempo 1,58 y 4,42 h. El rendimiento final de mucílago varía al modificarse las condiciones de extracción. Al utilizar diferentes cultivares el rendimiento varía de 1,79 a 3,65% a 20 °C y 12 h (Kaewmanee et al., 2014), sin embargo al utilizar una temperatura de 85 °C por 3 h con diferentes variedades de semillas se obtuvo rendimientos que van desde 5,2% a 7,9% (Cui et al., 1996). La diferencia entre estos dos rangos de rendimientos son las condiciones de extracción (temperatura y tiempo empleado) y las semillas utilizadas.

Tabla 4
Diseño DCCR tomando a las variables significativas: temperatura y tiempo, y variables respuestas rendimiento y % proteínas

	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento	Proteína (%)
1	56	1,58	4,820	2,587
2	56	4,42	6,368	6,573
3	84	1,58	6,969	9,031
4	84	4,42	9,050	1,592
5	50	3,0	5,843	6,094
6	90	3,0	8,583	12,042
7	70	1,0	5,526	5,163
8	70	5,0	7,739	10,456
9	70	3,0	7,197	8,584
10	70	3,0	7,470	8,746

La Tabla 4 muestra que los tratamientos más agresivos, es decir mayor temperatura y tiempo, producen un mayor rendimiento

en la extracción del mucílago; siendo así, que el rendimiento experimental tuvo una variación entre un rango de 4,8 a 9,05%.

Tabla 5

Coefficiente de regresión y análisis de varianza del diseño DCCR–modelo general para las dos variables respuestas

	Variables respuesta	
	Y1: Rendimiento (%)	Y2: %proteína
β_0	-2,44974	-131,644
Lineal		
β_1	0,122251**	-3,11591
β_2	1,26134**	-17,0012
cuadrática		
β_{11}	-0,00046	0,021456*
β_{22}	-0,18936*	2,30421*
interacción		
β_{12}	0,006712	0,055246
R²	98,6883%	87,92%
R² ajustada	97,486%	72,8223%

Siendo β_1 : Temperatura y β_2 : tiempo; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,0001$

La temperatura y el tiempo en forma lineal son significativos, así como también la forma cuadrática del tiempo (Tabla 5). Cui *et al.* (1994) uso también un diseño DCCR para optimizar las condiciones de extracción en el mucílago tomando como variable a la temperatura, pH y RSA (relación semilla: agua) tomando un tiempo constante; sus resultados mostraron que la temperatura y la RSA en forma lineal y en forma cuadrática son significativas en la extracción, a diferencia de la presente investigación. Los resultados obtenidos acerca de la significancia de las variables (Tabla 5) fueron previamente discriminados por el diseño de Plackett–Burman. El diseño confirmó que estadísticamente la RSA y el pH no tienen efecto significativo sobre la variable rendimiento.

En la Tabla 5 también podemos apreciar que en la interacción no es significativa, esto señala que la variable temperatura y el tiempo, no dependen una de la otra para aumentar el rendimiento de extracción en el mucílago. A su vez, los datos se han ajustado en un 97,05% al modelo.

En el caso de la variable proteína, la Tabla 4 y Figura 4 nos muestra que el porcentaje de proteína en el diseño varió desde 2,587 a 12,042%. El mayor valor dentro del rango, fue extraído a las condiciones de 90 °C y 3 h. Zhang *et al.* (2009) obtuvo un porcentaje de proteínas de 8,5% en condiciones de extracción de 70 °C y 1 h, mientras que Kaewmanee *et al.* (2014) empleó una temperatura de 20 °C y 12 h de extracción sobre siete cultivares de linaza diferente, dando como resultado un rango de proteínas de 0,89 a 1,56%. La diferencia primordial entre ambos contenidos de proteínas radica en la temperatura empleada de extracción. Sin embargo Fabre *et al.*

(2015) concluyó que el tiempo de extracción influye en el porcentaje de proteína utilizando a la agitación magnética.

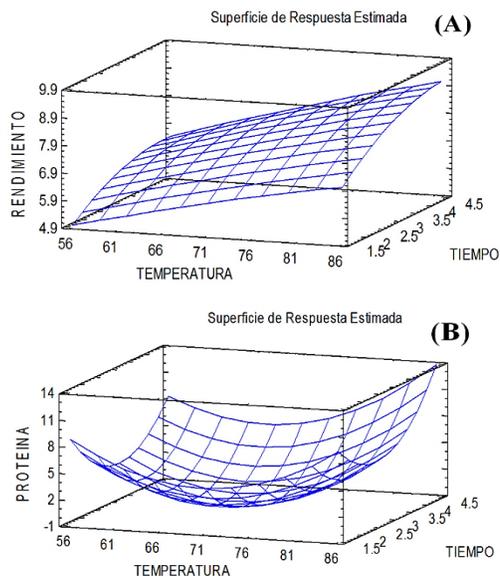


Figura 4. Efecto de la temperatura y el tiempo sobre las variables respuesta: A) Rendimiento y B) Proteína utilizando el diseño superficie respuesta.

La Tabla 5 indica que la forma cuadrática del factor tiempo y temperatura fueron significativas, mientras que la forma lineal en ambos casos no lo fueron. La interacción entre ambos factores no fue significativa, por lo que la temperatura y el tiempo no dependen el uno del otro para aumentar o disminuir el porcentaje de proteínas. Este comportamiento se pudo observar desde el estudio discriminante, en el cual la temperatura fue la única variable que tuvo un efecto significativo sobre la proteína (%).

En el caso del rendimiento los valores de maximización fueron: 89,79 °C y 4,92 h, mientras que en el porcentaje de proteínas fueron: 89,80 °C y 50 h. Por lo que teniendo en consideración ambas respuestas, los valores óptimos de temperatura y tiempo de extracción serían de 90 °C y 5 h, respectivamente, con un pH de 7,0 y relación semilla: agua de 1:20.

3.3 Propiedades reológicas y texturales de los geles de mucílago

Los polisacáridos en la actualidad se utilizan como inhibidores de corrosión, y éstos tienen requerimientos para que su efecto inhibitor sobre la superficie del metal sea efectivo; una de las propiedades necesarias en el anti-corrosivo es el de tener la habilidad de recubrir el área de la superficie del metal afectado con una firme capa protectora (Umoren and Eduok 2016).

El mucílago al ser un polisacárido tiene la capacidad de formar geles; y estos geles resisten fuerzas externas y no se deforman, a esta propiedad se le llama viscosidad, y ésta viscosidad favorece a la acción inhibidora de los polisacáridos porque hace del recubrimiento una solución viscosidad difícil de remover. Ya que se utilizará al polisacárido como inhibidor de corrosión, es necesario que la viscosidad sea alta para que la eficiencia de la inhibición sea mayor.

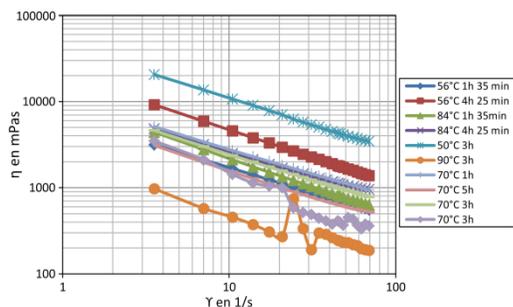


Figura 5. Efecto de la temperatura y el tiempo sobre la viscosidad aparente del gel de mucílago a una temperatura de 25 °C.

En la **Figura 5** se evidencia que un gel formado de un polisacárido extraído a una temperatura de 50 °C por 3 h presenta la mayor viscosidad (4248,25 mPa.s) a una concentración de polisacárido de 3%. **Cui et al. (1994)** determinaron que el valor óptimo de extracción es el de 85–90 °C, pH 6,5–7,0, RAS de 1:13 y 3 h, presentando este nivel óptimo una viscosidad de 125,90 mPa.s con gel al 0,1% de mucílago. **Zhang et al. (2009)** también compararon sus resultados de viscosidad después de haber extraído el mucílago a condiciones de: 70 °C, pH 6,0, RAS 1:7 y 1 h, con el gel de mucílago extraído a óptimas condiciones por **Cui et al. (1994)**. Los resultados mostraron que la temperatura de 70 °C produjo un gel con mayor viscosidad. Por lo que la temperatura de extracción del polisacárido influye en la viscosidad final del gel.

La influencia de la temperatura sobre la viscosidad del gel formado se debe a la composición química final del mucílago utilizado para realizar los geles (**Kaewmanee et al., 2014**). Los polisacáridos de alto peso molecular se degradan a altas temperaturas dando como resultado polisacáridos de bajo peso molecular o incluso monosacáridos (**Wu et al., 2010**) y esto influye en la viscosidad porque el peso molecular del polisacárido final es directamente proporcional con esta propiedad (**Qian et al., 2012**) haciendo de los geles que fueron extraídos a altas temperaturas sean los menos viscosos.

La **Tabla 6** muestra la viscosidad aparente de los tratamientos de extracción a una velocidad de cizalla de 46,16 s⁻¹. La solución al 3% del polisacárido dio como resultado que los geles formado tengan un comportamiento dilatante ($n > 1$), a diferencia del ensayo con la temperatura más alta (90 °C) y la del tiempo más prolongado (5 h) que tienen un comportamiento pseudoplástico ($n < 1$). **Cui et al. (1994)**, **Fedeniuk y Biliaderis (1994)** y **Qian et al. (2012)** desarrollaron estudios también sobre la extracción del mucílago y estudiaron el comportamiento del gel formado y sus resultados mostraron que estos tenían un comportamiento pseudoplástico a una concentración de 0,1 a 0,3% (**Tabla 6**). La diferencia recae sobre la concentración del mucílago en la dispersión.

Tabla 6
Efecto de la temperatura y el tiempo sobre la viscosidad aparente, índice de consistencia e índice de comportamiento

	T (°C)	Tiempo (h)	Viscosidad aparente (mPa.s)	K (mPa.s ⁿ)	n
1	56	1,58	704,73	12,097	2,368
2	56	4,42	178,83	0,276	2,727
3	84	1,58	809,68	766,962	1,132
4	84	4,42	1110,90	473,402	1,157
5	50	3,0	4248,25	0,337	2,234
6	90	3,0	241,91	17054,296	0,428
7	70	1,0	1176,19	25,534	1,881
8	70	5,0	621,97	1622,204	0,995
9	70	3,0	986,86	30,670	1,919
10	70	3,0	398,63	118,897	1,988

De igual manera se hizo un estudio en la textura del mucílago extraído con la finalidad de determinar a qué condiciones de extracción los geles seguirían formando una eficiente capa protectora en el metal contra la corrosión. Se realizó un estudio de compresión para determinar las diferentes propiedades texturales que presentaron los geles de mucílago extraídos a diferentes condiciones, estas propiedades fueron: firmeza, consistencia, cohesividad e índice de viscosidad (**Tabla 7**).

Tabla 7
Efecto de la temperatura y el tiempo sobre las propiedades texturales de los geles formados

	T (°C)	Tiempo (h)	Firmeza (g)	Consistencia (g.s)	Cohesividad (g)	Índice de viscosidad (g.s)
1	56	1,58	24,18	80,56	16,9	5,75
2	56	4,42	33,51	35,77	18,7	5,48
3	84	1,58	59,22	230,81	22,46	20,77
4	84	4,42	159,97	568,48	29,52	14,48
5	50	3,0	80,88	76,67	25,49	12,36
6	90	3,0	419,85	534,24	54,39	19,81
7	70	1,0	61,99	111,29	26,69	19,18
8	70	5,0	283,37	508,54	38,24	19,83
9	70	3,0	61,45	212,9	25,28	29,55
10	70	3,0	557,85	754,14	53,54	24,59

Tabla 8

Diferencias entre los métodos de extracción empleados para separar el mucilago de la linaza y sus efectos sobre el rendimiento, proteínas y viscosidad

Linaza (<i>Linum usitatissimum</i>)							
Autor	Materia prima	Procedimiento de extracción	Rendimiento (%)	Proteína (%)	Gel formado	Viscosidad	Tipo de fluido
Cui et al. (1994)	Linaza variedad Norman producida en Manitoba, Canada	Extracción acuosa a T: 85-90 °C, pH: 6,5-7,0, relación agua: semilla: 13 y tiempo de 3 h. Agitación Magnética. Precipitación alcohol 96 °GL	11,4%	8%	0,10%	131 mPa.s	Pseudo-plástico
Fedeniuk y Biliaderis (1994)	Linaza variedad Linott producida Estación de Investigación Agricultura de Canada	Extracción acuosa a T: 4 °C, pH: 7,0 y tiempo de 24 h. Agitación constante. Liofilizada	3,60%	< 1%	Solución de 0,2 M NaCl (0,1% mucilago)	Intrínseca: 6,6 dL/g	Pseudo-plástico
		Extracción acuosa a T: 80 °C, pH: 7,0 y tiempo de 2 h. Agitación Constante. Liofilizada	6%	19,70%	Solución de 0,2 M NaCl (0,1% mucilago)	Intrínseca: 4,6 dL/g	Pseudo-plástico
Zhang et al. (2009)	Linaza cultivar Vanny producida China	Extracción acuosa a T: 70 °C, pH: 6,0, relación agua: semilla: 7 y tiempo de 1 h, 4 ciclos de extracción. Agitación constante. Secado bajo presión a 50 °C.	10,64%	-	0,10%	1,66 mPa.s	-
Qian et al. (2012)	Cáscara de linaza variedad Bethune producida en Winchester, Canada	Extracción acuosa a T: 25 °C, relación agua: semilla: 8 y tiempo de 12 h, 4 ciclos de extracción. Agitación constante. Precipitación alcohol 100 °GL	9,7%	11,80%	0,3%	4,460 dL/g	Pseudo-plástico
Kaewmanee et al. (2014)	Linaza cultivar Lineal producida en Italia	Extracción acuosa a T: 25 °C, pH: 7,0, relación agua: semilla: 10 y tiempo de 12 h. Agitación constante. Precipitación alcohol 98 °GL	3,65%	1,56%	-	-	-
Fabre et al. (2014)	Linaza variedad Niagara producida en Francia	Extracción acuosa a T: 50 °C, pH: 7,0, relación agua: semilla: 25 y tiempo de 1,5 h. Agitación por ultrasonido amplitud 60%. Secado 103 °C	6,65%	12,22%	-	6,23 dL/g	-
Este trabajo	Linaza producida en La Libertad, Perú	Extracción acuosa a T: 85-90 °C, pH: 7,0, relación agua: semilla: 20 y tiempo de 4,5-5 h. Agitación Magnética. Precipitación alcohol 96 °GL	9,80%	12,5%	Solución de mucilago al 3%	1110,90 mPa.s	dilatante

Cada una de estas propiedades benefician a la inhibición de corrosión, la firmeza que es la resistencia que tiene el gel para que no haya penetración de la capa protectora, cohesividad es el grado que tienen el gel para resistir una compresión antes de romperse (Reglero, 2011).

En la [Tabla 7](#) se aprecia que, a diferencia de lo esperado, el gel que presentó las mejores características texturales es el que se extrajo en las condiciones de 70 °C por 3 h, presentando éste gel una firmeza de 557,85 g y una resistencia a la compresión de 53,54 g. Sin embargo, el disminuir precipitadamente la temperatura y el tiempo de extracción no beneficiaría el rendimiento y las proteínas (%), por lo que un gel formado por un polisacárido extraído severas (84 °C y 4,42 h) tuvo una viscosidad de 1110,90 mPa.s y propiedades texturales de firmeza, consistencia, cohesividad e índice de viscosidad de 159,97 g, 568,48 g.s, 29,52 g y 14,48 g.s, respectivamente. Por ende, tomando en cuenta no solo el rendimiento y las proteínas (%), sino la viscosidad (mPa.s) y las propiedades texturales, los parámetros de extracción

que nos permitirán tener un gel con características apropiadas para su posterior utilización serían: una temperatura de 85–90 °C, un tiempo de 4,5 – 5 h.

A pesar de que el rendimiento obtenido en este trabajo (9,8%) no es mayor que otros trabajos encontrados en la literatura ([Tabla 8](#)), queda demostrado que el mejor método de extracción es la extracción en medio acuoso y con agitación magnética, aunque en el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas entre los 3 métodos de extracción de mucilago estudiados.

4. Conclusiones

Se determinó que a una temperatura y tiempo de 85–90 °C y 4,5–5 h, respectivamente, y con un pH de 7,0 y RSA de 1:20 se extraerá un mucilago con un rendimiento (9,8%) y porcentaje de proteínas (12,5%), resultando en una alta viscosidad (1110,90 mPa.s) y satisfactorias propiedades texturales. Después del estudio discriminante (Plackett–Burman) se determinó que la temperatura y el tiempo fueron las variables que afectaron significativamente

la extracción de mucilago de *Linum usitatissimum*. No se encontraron diferencias significativas entre los 3 métodos de extracción de mucilago estudiados. Se recomienda realizar estudios reológicos más profundos para modelar el tipo de fluido que caracteriza al mucilago de *Linum usitatissimum*.

ORCID

R. Siche  <https://orcid.org/0000-0003-3500-4928>

N.E. Zavaleta-Gutiérrez  <https://orcid.org/0000-0002-9459-5986>

Referencias bibliográficas

- Barbary, O.M.; Al-Sohaimy, S.A.; El-Saadani, M.A.; Zeitoun, A.M.A. 2009. Extraction, composition and physicochemical properties of flaxseed mucilage. *J. Adv. Agric. Res. (Fac. Ag. Saba Basha)* 14: 605-622.
- Cui, W.; Kenaschuk, E.; Mazza, G. 1996. Influence of genotype on chemical composition and rheological properties of flaxseed gums. *Food Hydrocolloids* 10(2): 221-227.
- Cui, W.; Mazza, G.; Oomah, B.D.; Biliaderis, C.G. 1994. Optimization of an Aqueous Extraction Process for Flaxseed Gum by Response Surface Methodology. *LWT - Food Science and Technology* 27(4): 363-369.
- Fabre, J.F.; Lacroux, E.; Valentin, R.; Mouloungui, Z. 2015. Ultrasonication as a highly efficient method of flaxseed mucilage extraction. *Industrial Crops and Products* 65: 354-360.
- Hooshmand, S.; Sharifi, M.; Zaarei, D.; Shishesaz, M.R. 2013. Application of eco-friendly products as corrosion inhibitors for metals in acid pickling processes – A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 1(4): 652-657.
- Kaewmanee, T.; Bagnasco, L.; Benjakul, S.; Lanteri, S.; Morelli, C.F.; Speranza, G.; Cosulich, M.E. 2014. Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. *Food Chemistry* 148: 60-69.
- Oomah, B.D.; Kenaschuk, E.O.; Cui, W.; Mazza, G. 1995. Variation in the composition of water-soluble polysaccharides in flaxseed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(6): 1484-1488.
- Paynel, F.; Pavlov, A.; Ancelin, G.; Rihouey, C.; Picton, L.; Lebrun, L.; Morvan, C. 2013. Polysaccharide hydrolases are released with mucilages after water hydration of flax seeds. *Plant Physiology and Biochemistry* 62: 54-62.
- Qian, K.Y.; Cui, S.W.; Wu, Y.; Goff, H.D. 2012. Flaxseed gum from flaxseed hulls: Extraction, fractionation, and characterization. *Food Hydrocolloids* 28(2): 275-283.
- Reglero, G. 2011. Conceptos Básicos. Importancias del AS en la industria alimentaria. Universidad Autónoma de Madrid.
- Singer, F.A.W.; Taha, F.S.; Mohamed, S.S.; Gibriel, A.; El-Nawawy, M. 2011. Preparation of mucilage / protein products from flaxseed. *American Journal of Food Technology* 6(4): 260-278.
- Tiu, B.D.B.; Advincula, R.C. 2015. Polymeric corrosion inhibitors for the oil and gas industry: Design principles and mechanism. *Reactive and Functional Polymers* 95: 25-45.
- Umoren, S.A.; Eduok, U.M. 2016. Application of carbohydrate polymers as corrosion inhibitors for metal substrates in different media: A review. *Carbohydr Polym.* 140: 314-341.
- Wu, M.; Li, D.; Wang, L.; Zhou, Y.; Mao, Z. 2010. Rheological property of extruded and enzyme treated flaxseed mucilage. *Carbohydrate Polymers* 80(2): 460-466.
- Zhang, W.; Xu, S.; Wang, Z.; Yang, R.; Lu, R. 2009. Demucilaging and dehulling flaxseed with a wet process. *LWT - Food Science and Technology* 42(6): 1193-1198.
- Ziolkovska, A. 2012. Laws of flaxseed mucilage extraction. *Food Hydrocolloids* 26(1): 197-204.