



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Facultad de Ingeniería Química

**Uso de Residuos Cítricos para la Obtención de
Ácido Galactorónico y Aplicaciones**

**TESIS PROFESIONAL
para obtener el Título de
INGENIERO QUIMICO**

PRESENTA

Fernando de Jesús Reyes Páez

ASESOR DE TESIS

Ing. Virgilio Ledesma Yturry



Morelia, Michoacán

Agosto 2014

Índice

Resumen	7
Abstract.....	8
1 Introducción	9
1.1 Justificación.....	10
1.2 Objetivo General	11
1.3 Objetivos Particulares	12
1.4 Hipótesis	12
2 Marco Teórico	13
2.1 Partes de la Naranja donde se Encuentra la Pectina.....	15
2.2 Clasificación de las Sustancias Pécicas	16
2.3 Composición Química y Estructura de la Pectina	16
2.4 Pectinas de Alto Metoxilo.....	17
2.5 Pectinas de Bajo Metoxilo	19
2.6 Propiedades Fisicoquímicas de las Pectina	21
2.7 Enzimas necesarias para la Obtención de Ácido Galacturonico	25
2.8 Aplicaciones de las Pectinas	27
2.9 Aplicaciones del Ácido Galacturonico	28
3 Desarrollo del Trabajo	30
3.1 Materiales, Reactivos y Equipo.....	30
3.1.1 Materias primas empleadas para la extracción.	30
3.1.2 Materiales utilizados para la extracción.	30
3.1.3 Equipos Utilizados	30
3.2 Proceso de Secado de la Materia Prima	30
3.2.1 Método de Secado	31

3.3 Preparación para la obtención de la Pectina	32
3.4 Proceso de Obtención de la Pectina	32
3.5 Proceso de Obtención de Ácidos Galacturónicos.....	34
3.5.1 Método de Extracción	35
4 Análisis y Discusión de Resultados.....	37
4.1 Caracterización y comparación de la pectina obtenida	48
4.1.1 Humedad.....	48
4.1.2 Determinación del peso equivalente y de la acidez libre.	49
4.1.3 Determinación del contenido de metoxilo.	49
4.1.4 Determinación del tiempo de asentamiento y del grado o poder de gelificación.	49
4.2 Caracterización de Ácido Galacturónico Obtenido	50
4.3 Análisis de la Pectina Obtenida.....	56
4.4 Análisis del Ácido Galacturónico Obtenido	56
5 Conclusiones	58
5.1 Alcances	59
6 Referencias.....	61

Índice de Tablas

Tabla 1: Experimentos Preliminares.....	32
Tabla 2: Experimentación.....	34
Tabla 3: Longitudes de onda característicos en el espectro infrarrojo la pectina.....	41

Tabla 4: Prueba Seleccionada.....	42
Tabla 5: Comparación de cáscara húmeda y cáscara seca.....	45
Tabla 6: Determinación de Humedad.....	46
Tabla 7: Resultados de caracterización de Pectina.....	49
Tabla 8: Pruebas para ácido galacturónico.....	51

Índice de Figuras

Figura 1: Estructura de Pectina.....	17
Figura 2: Pectina de Alto Metoxilo.....	19
Figura 3: Pectina de Bajo Metoxilo.....	20
Figura 5: Efecto directo de la pectinlasi.....	26
Figura 6: Efecto de la poligalacturonasa sobre la pectinlasi y efecto de la poligalacturonasa sobre la pectina previamente demetoxilada por la pectinesterasa.....	26
Figura 6: Secado de la Cascara de Naranja.....	31
Figura 7: Secador solar.....	31
Figura 8: Prueba 1.....	37
Figura 9: Prueba 2.....	38
Figura 10: Prueba 3.....	38
Figura 11: Prueba 4.....	39
Figura 12: Prueba 5.....	39

Figura 13: Prueba 6.....	40
Figura 14: Pectina comercial de alto metoxilo.....	40
Figura 15: Mezcla de cáscara y agua en la parrilla.....	42
Figura 16: Pulpa obtenida de separar liquido rico en pectina de la pulpa restante.....	43
Figura 17: Mezcla de líquido rico en pectina con alcohol.....	43
Figura 18: Pectina Húmeda.....	44
Figura 19: Pectina en proceso de secado.....	44
Figura 20: Pectina seca y molida.....	44
Figura 21: IR de pectina producida a partir de cascara sin pretratamiento....	45
Figura 22: IR de pectina producida con cascara pretratada (Tabla 5).....	46
Figura 23: Espectro infrarrojo de la pectina de la prueba seleccionada.....	47
Figura 24: Análisis de la Prueba seleccionada.....	47
Figura 25: Humedad.....	48
Figura 26: IR de Ácido Galacturonico Comercial.....	50
Figura 27: Análisis del IR del Ácido Galacturonico Comercial.....	50
Figura 28: Molécula de Ácido Galacturonico.....	51
Figura 29: Prueba 1 de Ácido Galacturonico.....	52
Figura 30: Prueba 2 Ácido Galacturonico.....	52
Figura 31: Prueba 3 Ácido Galacturonico.....	53

Figura 32: Prueba 4 Ácido Galacturonico.....	53
Figura 33: Prueba 5 Ácido Galacturonico.....	54
Figura 34: Prueba 6 Ácido Galacturonico.....	54
Figura 35: Prueba 7 Ácido Galacturonico.....	55
Figura 36: Prueba 8 Ácido Galacturonico.....	55

Resumen

El presente estudio va dirigido al aprovechamiento integral de residuos de la industria citrícola y de venta de jugos en Morelia, enfocado a la búsqueda de compuestos potenciales como la pectina y ácido galacturónico que otorgan una utilidad a la industria de los alimentos.

Para la extracción de pectina se estudió el tratamiento y análisis de las cáscaras de naranja como materia prima, empleando el proceso de obtención de material gelificante mediante la experimentación en laboratorio basado en métodos de hidrólisis ácida, determinando parámetros adecuados como la temperatura, pH y tiempo que influyen en la calidad evidenciada en el contenido de metoxilo y grado de esterificación dando como resultado su capacidad de gelificación así como su posterior conversión al ácido galacturónico.

Este estudio permitió confirmar que es favorable la utilización de cáscaras de naranja para la extracción de pectina en condiciones óptimas generando rendimientos aceptables con características reológicas de interés para la industria.

Mostro la viabilidad de utilizar procesos químicos para a partir de la pectina obtenida, generar el ácido galacturónico.

Palabras Clave: Residuos, Pectina, Ácido Galacturónico, Hidrólisis Ácida.

Abstract

The present study is aimed at the comprehensive utilization of waste from the citrus industry and selling juices in Morelia, focused on finding potential compounds such as pectin and galacturonic acid which give a useful food industry.

For the extraction of pectin treatment and analysis of orange peels as raw material was studied, using the process of obtaining gelling material through laboratory experimentation methods based on acid hydrolysis, determining suitable as temperature, pH and time parameters influencing the quality evidenced methoxyl degree of esterification and resulting gelation ability and their subsequent conversion to galacturonic acid. This study confirmed that favors the use of orange peels for pectin extraction optimally generating acceptable returns with rheological characteristics of interest to the industry. Also showed the feasibility of using chemical processes from the pectin obtained, generating the galacturonic acid.

Keywords: Waste, Pectin, Galacturonic Acid, Acid Hydrolysis.

1. Introducción

Hoy en día es necesario el procesamiento de materiales de desecho para disminuir el impacto ambiental, siendo útil la inversión de capital en el tratamiento del mismo, esta evolución toma en manifiesto el aprovechamiento integral de subproductos considerados como residuos buscando posibles compuestos que puedan otorgarle un valor agregado.

Las cáscaras de naranja es uno de los residuos principal de los comercios que venden frutas o jugos, la cual, no puede emplearse en la elaboración de compostas y termina como alimento de bovinos y el resto sólo se desecha y se descompone al aire libre. Sin embargo, de éstas cáscaras se pueden obtener productos de alto valor agregado como las pectinas, que por su capacidad para formar geles son de gran importancia en la producción de gelatinas, mermeladas y helados, en la industria farmacéutica e incluso en la producción de plásticos. La mayoría de la pectina utilizada en el país, proviene de importaciones. En todo el país hay un gran consumo de naranja que origina una alta producción de residuos de cáscaras, convirtiendo este desecho en materia prima para la investigación de nuevos conocimientos en el área de los biopolímeros para cobijar la demanda de pectina en el país.

La pectina es un hidrocoloide fundamental en el procesamiento de los alimentos ya que crea y modifica la textura de compotas, jaleas y mermeladas.

La extracción de pectina a partir de cáscaras de naranja ofrece beneficios tanto ambientales como económicos. En este trabajo de investigación se presenta un diseño general para la extracción de pectina, que será

caracterizada analizando variables como contenido de humedad, peso equivalente, acidez libre, contenido de metoxilo y grado de esterificación para brindar un estudio completo y detallado de sus propiedades y definir la cantidad de pectina presente en la cáscara de naranja. La pectina debe presentar características óptimas en su grado de esterificación y carboxilos libres para competir en los mercados nacionales.

Estudios recientes señalan el uso del ácido galacturónico como posible absorbente de metales pesados en agua, de ahí la importancia de su obtención a partir de los residuos cítricos ya que tendría un gran impacto ambiental, tanto del hecho de evitar la proliferación de estos desechos así como su posible aprovechamiento para el tratamiento de dichas aguas.

1.1 Justificación

En el procesamiento industrial de los alimentos y en especial de las frutas, uno de los principales problemas es la generación de residuos orgánicos que en la mayoría de los casos se convierten en un problema sanitario para quien los produce y para toda la comunidad, en la medida en que son cantidades proporcionalmente grandes, inestables, permiten la proliferación de insectos, hongos, bacterias (vectores biológicos) y olores, los cuales pueden convertirse en fuente de contaminación para los alimentos y para los consumidores.

Los subproductos de la industria de zumos de fruta, bagazos de manzana y albedos cítricos (toronja, limón, naranja) constituyen básicamente las fuentes industriales de pectina.

Nuestro país no produce las suficientes materias primas empleadas en la industria de alimentos, la industria farmacéutica y otras; como la pectina de donde se deriva el ácido galacturónico, tal situación crea una dependencia tecnológica y económica de los países que producen estas materias primas.

Sabiendo de antemano la alta demanda de pectina que se requiere para los diversos productos alimenticios y demás aplicaciones, surge la necesidad de desarrollar un proceso experimental a escala de laboratorio, que vislumbre de manera clara el procesamiento de pectina a partir de las cáscaras de naranja, para definir por caracterización del producto extraído, si la pectina obtenida cumple con los parámetros estándar requeridos a nivel internacional y así posibilitar el desarrollo e implementación de industrias piloto para este procesamiento.

Este proyecto aporta información nueva en las investigaciones realizadas en ambiental en el Programa de Ingeniería Química. Información que sirve de plataforma para impulsar nuevos trabajos que enriquezcan el conocimiento en esta área en el Programa. Teniendo en cuenta que la pectina es utilizada tanto en la industria química, como de alimentos, esta investigación fomenta e incentiva el desarrollo de investigaciones de tipo multidisciplinarias entre los programas de ingeniería química, ingeniería ambiental e ingeniería de alimentos.

1.2 Objetivo General

- ❖ Extraer y caracterizar la pectina a partir de la cáscara de naranja con el fin de proponer un diseño general para la obtención de ácido galacturónico.

1.3 Objetivos Particulares

- ❖ Analizar el comportamiento del producto de acuerdo al método elegido (hidrolisis acida), modificando las variables como: Temperatura y pH con el fin de determinar las condiciones más favorables y eficientes para el proceso.
- ❖ Caracterizar la pectina obtenida determinando el contenido de humedad, contenido de metoxilo y grado de esterificación.
- ❖ Conocer la posibilidad de un método alternativo para la producción de la pectina al ácido galacturónico sin tener medios enzimáticos de por medio.

1.4 Hipótesis

Lograr la producción de pectina siendo competente con la comercializada en el mercado local, y a su vez sirva como intermediario para el ácido galacturónico.

Poder realizar la hidrólisis ácida a la molécula de pectina para la posterior obtención de ácido galacturónico sin que la molécula sea afectada por la dicha hidrólisis.

Hacer un beneficio ecológico-social al utilizar los desechos cítricos de establecimientos locales, y así evitar la contaminación generada por dichos residuos.

2. Marco Teórico

Las sustancias pécticas son un grupo complejo de polisacáridos localizados en la lamela media y la pared primaria de las células vegetales. Contribuyen a la llamada textura de las frutas, los vegetales y los productos procesados. (1)

Esta inicialmente presente como protopectina insoluble la cual se transforma en pectina soluble durante el proceso de maduración de las frutas. Si la fruta experimenta una maduración excesiva, puede producirse una descomposición molecular debido a la acción de las enzimas pectonolíticas las cuales producen pectinas de cadena más corta con menores propiedades gelificantes y viscosantes. El resultado final depende de la actividad combinada de las enzimas poligalacturonasa (PGE) y pectinmetilesterasa (PME) que atacan las uniones 1-4 alfa de los esteres metílicos de los grupos carboxilo esterificados con metanol.

La pectina fue descubierta por Vauquelin en 1806 pero fue realmente caracterizada por Braconnot en 1825, quien la escribió como **“el principal agente gelificante en las frutas”** y le dio el nombre de **pectina**. En 1952 Joslyn hizo una buena revisión crítica de la literatura existente hasta el momento sobre las pectinas. Fishman, M.L. y Jen, J.J. hicieron una publicación en la cual se considera la pectina como el componente más importante de la pared celular al tiempo que se adentra en el conocimiento de su papel como agente nutricional y de gelificación en los alimentos. (2,3)

Los avances recientes en la química de los carbohidratos han llevado necesariamente a profundizar en el conocimiento de la posición de las uniones de las unidades de ácido urónico, como es el caso de las pectinas, empleando métodos como la cromatografía de gases, la espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear en cantidades tan pequeñas como 200 a 500 microgramos. (4)

Kerr, W.L. y Wicker, L. desarrollaron un proyecto de investigación para profundizar en el comportamiento e interacción de las moléculas de agua y

los protones con las pectinas. Los resultados indican que los protones del agua interactúan con las pectinas por medio de procesos de intercambio químico, de forma diferente dependiendo del pH y la clase de pectina, proceso en el cual el agua está ligada o inmovilizada por las pectinas. (5)

En los últimos años la investigación sobre pectinas y pectinasas se ha desarrollado mucho, especialmente en el conocimiento de la estructura química de las pectinas, su modo de acción y la estructura tridimensional de varias enzimas que la atacan, así como de la clonación de los genes que intervienen en la acción de degradación o modificación de las pectinas.

Las sustancias pecticas están conformadas por varias unidades de ácido D-galacturónico. La pectina es sintetizada dentro del aparato de Golgi. El polímero es transportado dentro de las vesículas a la membrana celular en donde se fusiona con ésta y expulsa su contenido. La pectina se encuentra especialmente en la pared primaria, la cual está constituida por dos fases: una fase microcristalina fibrilar y una matriz amorfa no cristalina en la cual se encuentra inmersa la fase cristalina. (6,7)

La fase cristalina está compuesta por celulosa, cuyas estructuras adyacentes se unen por puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo de las moléculas originando una estructura cristalina denominada microfibrilla. Por otra parte la matriz en la cual se encuentra inmersa la celulosa está compuesta por dos tipos de polímeros: pectinas y hemicelulosas. Algunos de los grupos hidroxilo de los carbonos 2 y 3 pueden estar acetilados. (8,9)

La calidad y la cantidad de pectina útil que presentan las frutas dependen de la especie y del tipo de fruta, de la cantidad que la fruta contiene naturalmente, del estado de maduración de la fruta en el momento de la cosechada, de las condiciones de manejo y de la actividad enzimática después de la recolección y desde luego, al ser extraída. Dependen también de la parte de la fruta que se utilice y de la tecnología empleada en el proceso de separación. En la fruta sin madurar la mayor cantidad de material péctico es insoluble en agua, la cantidad y la solubilidad aumentan con la madurez; esto ocasiona cambios en la turgencia del fruto. (10)

Los materiales más empleados para la extracción comercial de las pectinas cítricas son la lima y limón, y en menor grado, la naranja. Estos materiales cítricos generalmente provienen de la extracción de jugo y el aceite esencial y contienen una alta proporción de pectina de características aceptables. La pulpa de manzana, proviene de la extracción del jugo de manzana, empleada para la extracción, produce una pectina más oscura que la pectina cítrica, de color pardusco pero con propiedades funcionales esencialmente iguales. (11)

2.1 Partes de la Naranja donde se Encuentra la Pectina

En la naranja la parte a considerar es el albedo, tejido esponjoso, blanco y celulósico y es el mismo que forma el corazón y eje central del fruto. Este tejido está constituido, principalmente, por celulosa, hemicelulosa y pectinas (entre 18-30%), además de hidratos de carbono solubles, así como una buena porción de Vitamina C.

Otra gran parte de las pectinas están disueltas en el zumo que le confieren viscosidad y cuerpo. Esta viscosidad dependerá del grado de polimerización de las pectinas, del pH y de las sales existentes. Los valores de sólidos en suspensión varían entre los 100 y los 400mg / 100ml. La pectina total se puede separar en tres fracciones:

- La pectina soluble en agua, que es la que tiene casi todos los grupos carboxílicos eterificados con metanol (metoxilados). (Es la pectina de alto metoxilo)
- La pectina que ha sufrido la hidrólisis de una gran proporción de los grupos de ester metílico. En presencia del ion calcio del agua es insoluble en agua (pectina de bajo metoxilo)
- Una fracción de pectina a la celulosa en forma insoluble (protopectina), pero puede extraerse con bases fuertes. Y en algunas pectinas se encuentran azúcares como la galactosa, arabinosa y ramnosa.

2.2 Clasificación de las Sustancias Pécicas

En el lenguaje de las sustancias pécticas se distinguen varios términos de uso corriente que se definen así: (12, 13, 14)

Sustancias Pécticas: Es un grupo de polisacáridos complejos y de alto peso molecular presentes en la plantas, que están formados por unidades de ácido anhidrogalacturónico y en las cuales los grupos carboxilo pueden estar parcialmente esterificados con metanol o formando sales con una base.

Protopectina: Es la sustancia péctica insoluble en agua pero que por medio de una hidrólisis controlada puede originar pectina o ácidos pectínicos.

Ácidos Pectínicos: Son polímeros de ácido galacturónico con un grado de esterificación muy bajo, no significativo. En condiciones apropiadas de concentración, sólidos solubles y acidez pueden formar geles con azúcar.

Pectinas: Son los ácidos pectínicos solubles en agua y que contienen los grupos carboxílicos del ácido poligalacturónico parcialmente esterificados con metanol y son capaces de formar geles en condiciones apropiadas. Pueden encontrarse en forma de ácidos y sus sales de amonio, potasio o sodio.

2.3 Composición Química y Estructura de la Pectina

La estructura de la pectina es importante para determinar la fuerza y flexibilidad en las paredes celulares de las plantas. En cuanto a su composición, podemos definir las pectinas como polímeros que constan fundamentalmente por cadenas de unidades de ácido poli- α -D-galacturónico unidas por enlaces glicosídicos, interrumpidos por la presencia de residuos de ramnosa mediante enlaces 1,2; esto corresponde a una masa promedio de 50,000 a 150,000.

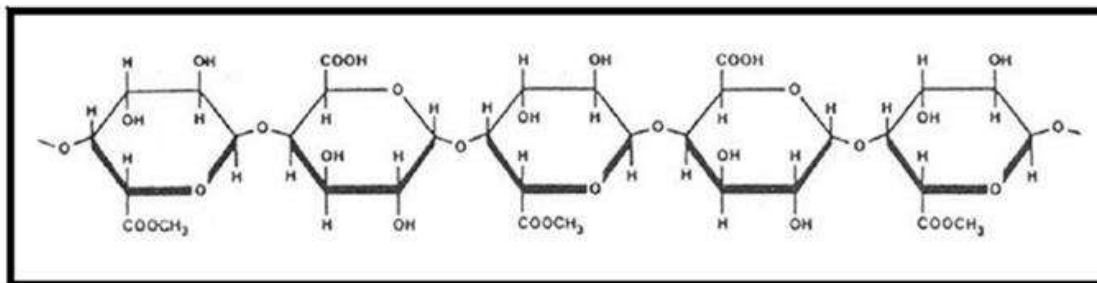


Figura 1: Estructura de Pectina

Los grupos carboxilo de las unidades de ácido galacturónico están parcialmente esterificados por metanol, lo cual define el contenido de metoxilo en una pectina dependiendo de la fuente y el modo de extracción.

Las pectinas de las frutas, y en general de los materiales vegetales, varían en el contenido de metoxilo y el poder de gelificación, así como también en la presencia y composiciones de otros grupos químicos como amidas y etoxilo. El contenido de metoxilo en las pectinas comerciales se encuentra entre el 8 y 11%, pueden formar geles con un contenido de 65% de sólidos solubles (azúcar). También varían en la longitud de la cadena y los elementos involucrados en sí vista del contenido de metoxilo, o sea del número de grupos carboxilo esterificados con metanol, se distinguen dos tipos de pectina: pectinas de alto metoxilo y pectinas de bajo metoxilo

2.4 Pectinas de Alto Metoxilo

Son aquellas en las cuales más del 50% de los grupos carboxilo del ácido galacturónico del polímero se encuentra esterificado con metanol. Estas pectinas son capaces de formar geles en condiciones de pH entre 2,8 y 3,5 y un contenido de sólidos solubles (azúcar) entre 60% y 70%, en promedio 65%.

En términos generales y teóricamente, una pectina puede contener un 16% de metoxilo, pero en la práctica se ha encontrado que contiene alrededor del 14%. Por esta razón se ha fijado el 7% de metoxilo (50% de esterificación con metanol) como la línea divisora para diferenciar las categorías de pectina sobre la base del contenido de metoxilo. (15)

Las pectinas de alto metoxilo pueden subdividirse en dos grupos: las de gelificación rápida, o sea de menor a cinco minutos y tienen un grado de esterificación (GE) con metanol entre 68% y el 75%. El otro grupo es de gelificación lenta, es decir gelifican después de cinco minutos y tienen 60-68% de esterificación con metanol. (1)

Es necesario anotar que para que un proceso de gelificación ocurra, primero debe asegurarse la disolución total de la pectina, la cual está negativamente cargada por la disociación de los grupos carboxilo del ácido galacturónico. Por eso es muy importante ajustar y mantener el pH para poder controlar el grado de disociación, que disminuye la repulsión entre las cadenas y hace posible que ocurran los fenómenos subsiguientes, tal como la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo dando como resultado la estabilización de los agregados en forma de gel. El azúcar tiene un efecto deshidratante que permite el acercamiento entre las cadenas del polímero en un medio en que el contacto del metoxilo con el agua es mínimo.

La formación del gel con pectinas de alto metoxilo requiere de un pH de 3.5 o más ácido y un mínimo de 55% y hasta un 85% de sólidos solubles. Solo con estas condiciones se podrá formar un gel. Si la pectina se usa en condiciones diferentes ella no se comportará como agente gelificante sino como espesante. La presencia o ausencia de iones calcio no afecta el proceso de gelificación de pectinas de alto metoxilo.

En la formación del gel con pectinas de alto metoxilo se sabe que a pH 3,0 cerca del 90% de los grupos ácidos están en forma disociada y son por lo tanto capaces de formar puentes de hidrógeno con grupos ácidos o hidroxilos de cadenas adyacentes. Estas zonas de unión pueden considerarse como "cristalinas" mientras que las partes de la molécula que no presentan

uniones entrecruzadas están en solución. Sabiendo que en un gel con pectinas de alto metoxilo la mitad está en solución y la mitad no.

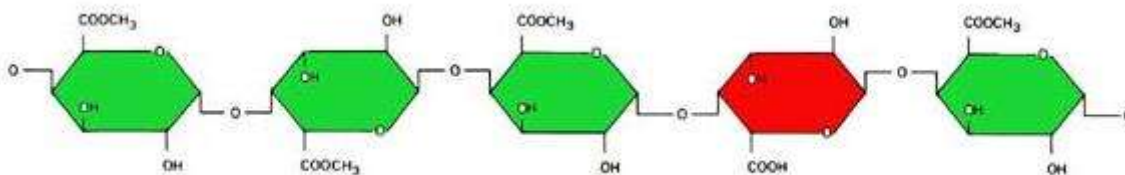


Figura 2: Pectina de Alto Metoxilo

2.5 Pectinas de Bajo Metoxilo

Son aquellas en las cuales menos del 50% de los grupos hidroxilo están esterificados con metanol. Para la formación del gel se requiere la presencia de cationes divalentes, generalmente se emplea calcio. En este caso la formación del gel ocurre por la generación de enlaces de dichos cationes con moléculas de pectina adyacentes obteniéndose una red tridimensional por los grupos carboxilo de la pectina. (1)

En este caso los geles se pueden obtener entre pH 1.0 a pH 7.0 o aun superior; el pH no afecta la textura del gel ni el intervalo de solidos solubles y puede fluctuar entre 0% y 80% pero la presencia de calcio (40-100mg). Este es el factor predominante en la formación del gel. Si no hay calcio no se produce gelificación, aunque también se puede emplear magnesio en este proceso. La cantidad de calcio necesaria depende de la cantidad de solidos solubles así: para 30% de solidos solubles se requieren 40-100 mg de calcio y para 45% de solidos solubles 20-40 mg de calcio. Aunque se pueden obtener buenos geles con un 30% a 32% de solidos solubles, la presencia de azúcar entre 10% y 20% disminuye la sinéresis y por lo tanto, además de permitir la formación de un gel, alarga la vida de la mermelada o jalea. (16)

Esta categoría de pectinas de bajo metoxidos cada vez ha sido más aceptada entre el consumidor, debido al hecho a que por su comportamiento permite

tener un producto como el tradicional pero con mucho menos calorías, además lleva calcio adicionado, aunque la cantidad agregada del mismo es baja de todas maneras es un micronutriente adicional en el producto final.

Las preparaciones de jaleas y mermeladas exigen un balance adecuado de fruta, azúcar, ácido y pectina esto requiere una fruta bien sávida debido a que la proporción alta de azúcar tiende a enmascarar el sabor natural de la fruta. Algunas frutas tienen suficiente pectina para lograr el gel, aunque otras requieren la adición de pectina en la formulación. (17)

La tendencia moderna de disminuir la ingesta de grasas se ha venido acentuando cada vez más. En el logro de este propósito la oferta de reemplazadores de grasas ha aumentado en el mercado. Estos productos varían de acuerdo al tipo de sustancias que los componen. Aquellos basados en los carbohidratos incluyen celulosa, dextrinas, gomas, pectinas y fibra vegetal. Los que se fundamentan en las proteínas incluyen proteína aislada de soya, proteína en micropartículas y proteína de suero lácteo modificado. Los que se basan en los substitutos de las grasas incluyen mono y di glicéridos y olestra. De todos estos productos sólo la olestra puede emplearse para freír alimentos. (18)

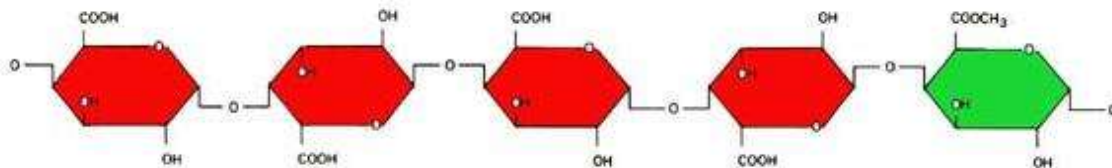


Figura 3: Pectina de Bajo Metoxilo

2.6 Propiedades Fisicoquímicas de las Pectina

Podemos citar las siguientes:

Solubilidad: El agua es el mejor solvente para las pectinas aunque también es soluble en formamida, dimetilformamida y glicerina caliente. La pectina es además insoluble en solventes orgánicos y en soluciones de detergentes cuaternarios, polímeros, proteínas y cationes polivalentes; estos agentes se emplean para precipitar la pectina de las soluciones después de un proceso de hidrolisis por tratamiento de la materia prima. La pectina debe estar completamente disuelta para que sea utilizada en su totalidad y no forme geles irregulares, y se debe comenzar a disolver sin permitir la formación de grumos los cuales son difíciles de romper después de formados. (19,20)

La mayor parte de los procesos que sufre la pectina durante su empleo tienden a degradarla. La máxima estabilidad es a un pH 4. La presencia de azúcar en la solución tiende a protegerla y las temperaturas elevadas aumentan la velocidad y el grado de deterioro. Las pectinas de alto contenido de metoxilo son estables a pH 5-6 a temperatura ambiente. (21)

La protopectina es insoluble en agua, los ácidos pectínicos son solubles y su solubilidad disminuye al aumentar su peso molecular y al disminuir el número de grupos ácidos esterificados con metanol y disminuye al aumentar el tamaño de las partículas. Las pectinas se comportan en forma similar, por eso es necesario controlar las condiciones de humedad y de tamaño de partícula de la pectina para poder garantizar su estabilidad desde el punto de vista físico y microbiológico, y su comportamiento en el momento de emplearla para hacer geles o en otros usos, por ejemplo viscosante (Trabajo posterior bioquímica).

Acidez: Las sustancias pécticas son neutras en su estado natural, en solución tienen carácter ácido el cual depende del medio y del grado de esterificación. El pH de las soluciones de pectina varía entre 2.8 y 3.4 como función del grado de esterificación. La pectina tiene una constante de disociación

aparente de 0.1 a 10.0×10^{-4} a 19°C y la del ácido monogalacturónico es de 3.25×10^{-4} a 19°C .

Rotación óptica: Las soluciones de pectina son ópticamente activas. La rotación específica de las pectinas es de $+230^{\circ}$ pero se ha encontrado que la pureza aumenta este valor; así el pectato de naranja con el 95,5% de pureza tiene una rotación óptica de $+300^{\circ}$ y el pectato con el 92,5% de pureza tiene $+277^{\circ}$ de rotación específica. (22)

El $[\alpha]_D^{20}$ para el ácido monogalacturónico es de $+51,9^{\circ}$. Las soluciones de pectina son birreflejantes o de doble refracción. (23)

Viscosidad: Las pectinas forman soluciones viscosas en agua, esta propiedad depende del grado de polimerización de la pectina, el pH, la temperatura, la concentración y la presencia de electrolitos. En las pectinas con alto grado de esterificación la viscosidad por efecto de su presencia aumenta al aumentar el peso molecular, los grupos laterales y la concentración de la pectina en solución.

El calcio y otros iones polivalentes aumentan la viscosidad de las soluciones de pectina.

La viscosidad de las soluciones de pectina puede emplearse como un medio para determinar el peso molecular de la pectina o para evaluar el efecto espesante de la misma. En el primer caso la viscosidad debe medirse en un medio acuoso libre de calcio a un pH estable.

Poder de gelificación y geles de pectina: Las pectinas tienen la capacidad de formar geles. Los geles de pectina-ácido-azúcar se forman con pectinas de alto metoxilo en un medio con pH controlado entre 2.8 y 3.5 y una concentración promedio de azúcar de 65%. Se considera que a un pH de 3.4 por lo menos un 40% de los ésteres metílicos están desesterificados y por lo tanto será difícil lograr la formación de un gel estable con presencia de concentraciones de 65% de azúcar. Un exceso en la concentración de azúcar puede producir cristalización durante el almacenamiento.

En el caso de las pectinas de bajo metoxilo, los geles son bastante menos rígidos y se puede trabajar con mucho menos sólidos solubles, no dependen tanto del pH, de hecho se pueden obtener buenos geles a valores de pH entre 2.5 y 6.5, pero requieren calcio en una concentración adecuada que varía entre 0.01 y 0.1% en peso de base húmeda. Una mayor concentración de calcio puede conducir a una sinéresis excesiva. Además se debe asegurar que la sal de calcio que se use sea perfectamente soluble en el medio y que esté solubilizada antes de adicionar la pectina. Pueden emplearse otros iones divalentes. (24)

En el caso de las pectinas de bajo metoxilo, la presencia de iones de calcio es suficiente para la formación del gel porque entre los grupos COOH se forman puentes de calcio colocados en todas direcciones originando una especie de red. Esto las hace muy útiles, para lograr formar alimentos basados en geles y que contengan pocas calorías y además sean una fuente adicional de calcio bioutilizable. (22,25)

En el caso de los geles formados por pectinas de alto metoxilo, la molécula de pectina constituye un agregado por medio de puentes de hidrogeno después de la deshidratación, por adicción de azúcar que causa el encogimiento, seguido por la disociación de los grupos carboxilo por efecto de la adición de ácido. La fase líquida queda en la red tridimensional que se forma. (24,26)

Un gel de pectina puede considerarse como un sistema en el cual el polímero está en una forma intermedia disuelto-precipitado. Segmentos de la cadena molecular están juntos por cristalización limitada para formar una red tridimensional en la cual el agua, el azúcar y otros solutos se mantienen. Los factores que influyen de manera más importante la solubilidad de la pectina son la temperatura, la composición molecular o tipo de pectina, el pH, la presencia de azúcar y otros solutos así como la presencia y cantidad de iones calcio.

El mecanismo de gelificación que tiene lugar se conoce como “egg box”, o “caja de huevos” denominado así porque la adsorción se realiza sobre los centros activos por acomplejamiento, interacción iónica o precipitación.

Velocidad y tiempo de asentamiento: La velocidad de asentamiento se incrementa al aumentar las concentraciones de azúcar y ácido, dentro de ciertos límites. (27)

Tiempo y temperatura de cocción: Una pectina con un grado de esterificación del orden de 75% forma geles a los 10 minutos a 85°C, mientras que una con una esterificación entre 60 y 65% tomara 20 minutos a 65°C para asentarse convenientemente. (26)

Cuando se enfría una solución de pectina, la agitación térmica de las moléculas disminuye y así se aumenta la tendencia a formar la red o gel. Esta temperatura de gelificación tiene un límite por encima del cual no ocurre la gelificación. Por debajo de este límite, las pectinas de bajo metoxilo gelifican casi instantáneamente mientras que las de alto metoxilo requieren un cierto tiempo para hacerlo.

Las sales y los iones: La presencia de sales tampones en el medio para gelificación, disminuye la velocidad de formación de dicho gel; con este fin algunas pectinas comerciales contienen citrato de sodio. (26)

Longitud de las cadenas: Determina la consistencia del gel y está por lo tanto está estrechamente relacionada con el poder gelificante. El poder de gelificación se expresa en grados SAG. Un grado SAG se define como la cantidad de sacarosa en gramos que un gramo de pectina es capaz de gelificar en condiciones específicas. Así, una pectina de 150 °SAG significa que un gramo de pectina es capaz de gelificar 150 gramos de azúcar para formar un gel de firmeza adecuada a un pH de aproximadamente 3.0 y con un 65% de sólidos solubles. (29)

Acción de las bases: La adición de hidróxido de sodio permite obtener primero las sales ácidas, luego los pectinatos neutros y después ocurre el fenómeno de desmetoxilación o sea rompimiento de los ésteres metílicos. Los grupos éster pueden ser separados de la molécula aun a baja temperatura, sin despolimerización. Aun a baja temperatura se puede observar la ruptura de los enlaces glicosídicos a pH superior a 5.5. Como esta

reacción ocurre cerca del grupo carboxílico esterificado, los pectatos son más estables a la degradación alcalina o neutra que los pectinatos.

Acción en los ácidos: Solubilizan la protopectina, por esta razón se emplea medio ácido controlado en los procesos de extracción de la pectina; aceleran la separación de los metoxilos, si su efecto se continúa se afectan los enlaces glicosídicos α 1 – 4 y se pueden romper, y a un pH fuertemente ácido, temperaturas altas y tiempos largos, se presenta la descarboxilación con formación de CO_2 y furfural. A bajas temperaturas predomina la saponificación y a altas temperaturas la despolimerización. (26) (30)

Acción de las enzimas: Sobre las pectinas pueden actuar la pectinmetil esterasa (PME) y la poligalacturasa (PG). La primera ataca los grupos carboxilo esterificados con metanol liberando los grupos ácidos y el metanol, y la PG ataca las uniones de ácidos galacturónicos disminuyendo el peso molecular, cambiando así todas las propiedades que dependen de estas características.

2.7 Enzimas necesarias para la Obtención de Ácido Galacturónico

La pectina es un polisacárido constituido principalmente por la unión de muchas moléculas de *ácido galacturónico* (el derivado ácido de la galactosa) parcialmente metoxilado (es decir, con los grupos OH^- del ácido reemplazados por CH_3 , denominados metilos). La figura 5 muestra los puntos de ataque (la unión química que se rompe) de las diversas pectinasas. La pectinliasa actúa sobre la pectina; las pectinesterasas remueven los grupos CH_3 , por lo que se las denomina *enzimas desmetoxilantes*, y la poligalacturonasa actúa solamente si la pectina ha sido previamente desprovista de los metilos por acción de las pectinesterasas.

Acción de las pectinasas sobre la pectina

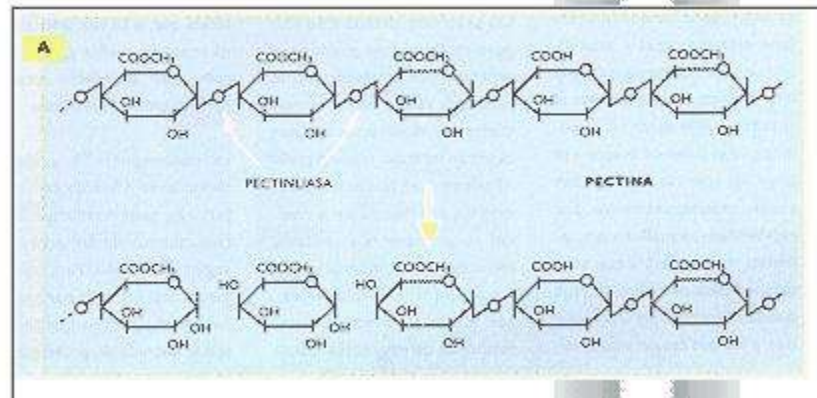


Figura 5: Efecto directo de la pectiniliasa.

Se observa como rompen los enlaces con el Oxigeno sin embargo este polímero no está desmetoxilado por lo antes se requiere el ataque de la pectinesterasa.

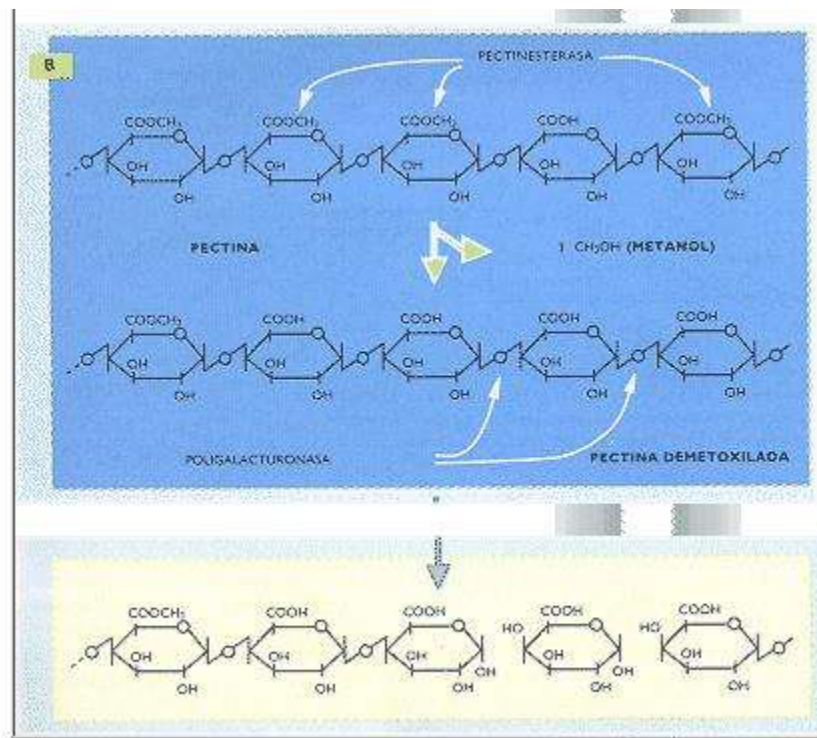


Figura 6: Efecto de la poligalacturonasa sobre la pectiniliasa y efecto de la poligalacturonasa sobre la pectina previamente demetoxilada por la pectinesterasa

2.8 Aplicaciones de las Pectinas

La principal aplicación de las pectinas en la industria de alimentos es la fabricación de mermeladas con 30 a 45% en peso de la pulpa de fruta utilizándose como agente gelificante en pudines, estabilizante en emulsiones y suspensiones, agente viscosante en bebidas, agente estabilizante en helados, postres fríos, en soluciones para recubrir salchichas y carnes enlatadas. (31,32)

La pectina cítrica modificada (MCP) fabricada a partir de la pectina cítrica que se encuentra en el mercado, permite obtener una pectina de bajo peso molecular rica en galactosa la cual tiene propiedades especiales. Dentro de ellas se ha encontrado la capacidad para retardar la metástasis del cáncer, por combinación en una proteína llamada galactenina que se encuentra en la pared de las células cancerosas, impidiendo la formación de agregados de las mismas y su adherencia a las células normales. (33)

La fibra soluble entre la cual figura la pectina, puede alternar la velocidad de emulsificación de los lípidos de la dieta en el medio medianamente ácido del estómago y, en consecuencia, puede reducir la velocidad de asimilación de los lípidos a nivel gástrico. (34)

En la industria farmacéutica la pectina se emplea en la formulación y preparación de formas farmacéuticas de liberación prolongada. Hoy se pueden encontrar tabletas de pectina con contenidos de 500 mg a 1 g, las cuales están disponibles para el público especialmente en las tiendas naturistas y los establecimientos que se dedican a ofrecer productos de la denominada medicina alternativa.

Se sabe que la biodisponibilidad del hierro no hémico aumenta con adición a la dieta de pectina de bajo peso molecular y alto grado de esterificación. (35)

En el caso de los niños de corta edad (alrededor de los tres años) que sufren del síndrome de intestino corto, se ha observado que la absorción de nitrógeno y el tiempo de tránsito de estómago al recto aumentan cuando la

alimentación entera se complementa con pectina y además no presenta efectos que compliquen la ya difícil situación del menor debido al síndrome. (36)

En el campo farmacéutico las pectinas se emplean por su acción protectora y reguladora del sistema gastrointestinal, su acción desintoxicante, anticolesterol, inmunológica, antihemorrágica y cicatrizante. Prolongan la acción terapéutica al aumentar los tiempos de liberación del o los principios activos.

También se ha investigado su uso como antioxidante sanguíneo y para controlar los niveles sanguíneos de glucosa en plasma y como anticancerígeno. (37,38)

En muchas legislaciones del mundo como el Code of Federal Regulations, la pectina está considerada como segura (GRAS). Este mismo código establece que la pectina corresponde a un grupo de polisacáridos complejos de alto peso molecular compuesto de unidades de ácido galacturónico parcialmente metilado, que los ácidos no esterificados pueden estar como ácidos libres o como sales de amonio, potasio o sodio y, en algunos casos, en forma amidas. En la actualidad se propone adelantar la revisión de toda una serie de compuestos entre los cuales figuran las pectinas, especialmente en lo referente al grado de sustitución con grupos amida y el contenido de ácido galacturónico. (12)

En metalurgia se emplea mezclada con otras gomas para sustituir los aceites empleados para dar dureza al acero, y en la industria de barnices, fibras y explosivos, se emplean como agente viscosante, abrillantador y adhesivo.

2.9 Aplicaciones del Ácido Galacturónico

Los ácidos poligalacturónicos son polisacáridos gelificantes que constituyen una fracción homogénea de las pectinas que se localizan en la matriz extracelular de los tejidos suaves de las frutas, y normalmente exhiben un

grado de esterificación variable. La mayoría de las estructuras consisten en residuos de ácidos poli-(1-4)-galacturónico parcialmente metilados.

Los oligogalacturónidos son oligosacáridos lineales de unidades de ácido D-galacturónico unidos por enlaces del tipo $\alpha(1-4)$. El anillo piranósido del ácido D-galacturónico aparece en la conformación de silla $4C_1$ correspondiente a su forma más estable.

Es frecuente que los residuos de ácido galacturónico se encuentren metilados determinando un mayor o menor grado de esterificación en la pectina. La hidrólisis ácida ofrece la ventaja frente a la enzimática de que no es necesaria la purificación de la enzima, pero los oligogalacturónidos obtenidos por la hidrólisis química son expuestos a condiciones drásticas, lo que puede alterar la estructura química de algunos oligogalacturónidos.

Las sustancias pépticas son consideradas adsorbentes de bajo costo, especialmente cuando son obtenidas de forma cruda. Existen reportes en la literatura sobre el uso de pectinas o sustancias que contienen pectinas como eficientes adsorbentes de iones metálicos. Se ha estudiado la adsorción de los iones Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} por pectinas de manzana, remolacha y cítrico demostrando que la pectina de manzana tiene una gran afinidad por el Co^{2+} , la pectina de remolacha por los iones Cu^{2+} y Cd^{2+} mientras que la pectina de cítrico muestra preferencia por los iones Ni^{2+} , Zn^{2+} y Pb^{2+} siendo el orden de selectividad de los iones metálicos por la pectina es $Pb^{2+} \gg Cu^{2+} > Co^{2+} > Ni^{2+} \gg Zn^{2+} > Cd^{2+}$. También se ha estudiado la adsorción de Cd^{2+} por gel de pectina procedente de remolacha dulce. Utilizando pectina de cítrico al 2% (m/v) lograron remover 7,53 mg/g de gel seco, mientras que con la pectina de remolacha dulce al 3% (m/v) sólo lograron remover 4,5 mg/g de gel seco.

3. Desarrollo del Trabajo

3.1 Materiales, Reactivos y Equipo

3.1.1 Materias primas empleadas para la extracción.

- Naranja Valencia

3.1.2 Materiales utilizados para la extracción.

- Etanol Naturalizado 96°C
- Agua destilada
- Ácido Sulfúrico Concentrado: Reactivos Analíticos
- Ácido Clorhídrico Concentrado: “Reactivos BAKER”.
- Filtro de Tela

3.1.3 Equipos Utilizados

- Parrilla Electrica Thermolyne modelo “Climarec 2”
- Molino Mecánico
- Estufa “FELISA”
- IR Bruker modelo “Alpha”
- Centrífuga IEC International centrifuge modelo “HT de 60 ciclos”

Para el análisis y control de calidad de la pectina se emplearon reactivos químicos, materiales de vidrio como pipetas serológicas y aforadas de varias denominaciones, buretas de vidrio, vasos de precipitados de vidrio, capsulas de porcelana, agitadores de vidrio y magnéticos.

3.2 Proceso de Secado de la Materia Prima

La calidad y cantidad de pectina que se obtiene en un proceso de extracción depende de la clase de materia prima empleada, de su estado y del manejo que se le dé antes de iniciar y durante el proceso de “recuperación” de la pectina.

Para facilitar el proceso de extracción y por ende mejorar la calidad de la pectina a separar, los materiales se sometieron a un lavado por inmersión de agua a temperatura ambiente, esto permite separar elementos extraños para el acondicionamiento al secado en el secador solar.

3.2.1 Método de Secado

El secado de la materia prima se llevó a cabo en un secador solar cuya máxima temperatura alcanzada fueron 63°C. La materia prima se colocó en trozos pequeños hasta alcanzar peso constante en la cáscara.

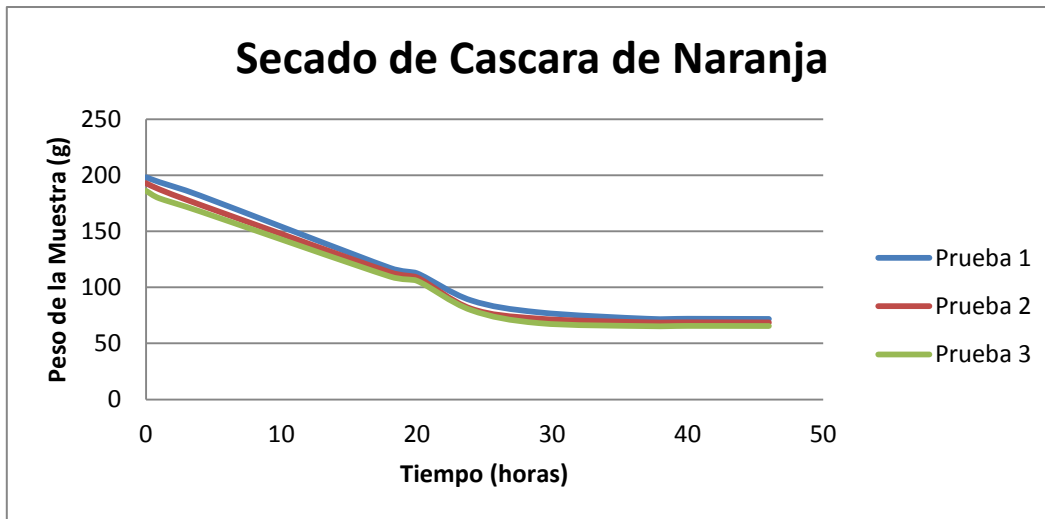


Figura 6: Secado de la Cascara de Naranja



Figura 7: Secador solar

3.3 Preparación para la obtención de la Pectina

Una vez seca la cascara de naranja se molió para su mejor manejo y se tamizo con malla de 1mm, ya que el polvo pequeño de la cáscara favorece la extracción de la pectina en está.

3.4 Proceso de Obtención de la Pectina

Se toman de las investigaciones previas ciertos parámetros explicados en la siguiente tabla:

Tabla 1: Experimentos Preliminares

Experimento	pH	Temperatura (°C)	Muestra (g)
1	1	80	20
2	1	90	20
3	2	80	20
4	2	90	20
5	3	80	10
6	3	90	20

Tomando en cuenta que estas variables de pH, y Temperatura se toman por ser las de mejor rendimiento según la literatura, en cuanto al peso de la muestra, en experimentos preliminares de esta investigación se observó que una mayor cantidad complica la agitación ya que con forme avanza la hidrólisis, la solución rica en pectina aumenta su viscosidad y por lo tanto se complica la agitación, por este motivo se decidió hacerlo con un peso de 20 gramos de cascara tamizada y seca.

Se extrajo con agua destilada a pH variado dependiendo del experimento de 1 a 3 ajustado con una mezcla de ácido clorhídrico y sulfúrico concentrado empleando un potenciómetro para leer el pH, calentando de 80 a 90°C (dependiendo del experimento) durante 45 minutos, agitando el recipiente durante todo el procedimiento. Transcurrido este tiempo el material se filtró y el líquido obtenido se enfrió empleando agua para bajar la temperatura del recipiente.

Se mezcló con alcohol etílico naturalizado en relación 3:1 con el líquido concentrado en pectina (obtenido de la filtración anterior), se deja reposar por un periodo de 12 horas para la extracción. Transcurrido este tiempo se filtra nuevamente para separar el alcohol de la masa humedad rica en pectina.

La masa húmeda, se desintegra y se somete a secado a 45°C. Para acelerar el proceso de secado, la estufa se abre periódicamente y los aglomerados se rompen manualmente. Cuando la masa está seca y ha alcanzado un peso contante, de acuerdo con los datos de variación de peso, ésta se retira de la estufa, se enfría en desecador y enseguida se pesa para determinar el rendimiento. Este material seco se somete a pulverización y se tamiza en 1mm, una vez tamizado se preparan las distintas metodologías para su caracterización antes de su conversión al ácido galacturónico.

Para tener la hidrólisis ácida se hizo una mezcla 70% de H₂SO₄ y 30% HCl ambos ácidos concentrados, agregándolos y midiendo simultáneamente el pH, este procedimiento se realiza con agitación constante y se detiene al alcanzar el pH deseado. Se toma en cuenta que pH disminuye cuando se le agrega al agua destilada la cascara de naranja seca y triturada.

A continuación se muestra la metodología de cómo se llevó a cabo la experimentación:

Tabla 2: Experimentación

Prueba	1	2	3	4	5	6
Cascara de Naranja (g)	20	20	10	20	20	20
Agua destilada (ml)	500	500	250	500	500	500
pH con la cascara	6.0	5.91	5.85	6.5	6.0	5.5
pH final	2	1	3	3	2	1
Temperatura (°C)	90	90	80	90	80	80
Tiempo (min)	40	40	40	40	40	40
Solución Filtrada (ml)	350	400	150	300	350	150

Cada uno de los experimentos de la tabla se llevó a cabo después del filtrado:

- Se mezcló en relación 3:1 con alcohol naturalizado y se dejó reposar.
- Después de 12 horas se filtró con tela y se colocó en una centrífuga a 8000rpm durante un periodo de 5 minutos para la mejor extracción del alcohol restante.
- Se colocó dentro de una estufa a 40-45°C durante 24 horas para su secado.
- Se caracteriza en un IR comparándose con un IR de pectina comercial

3.5 Proceso de Obtención de Ácidos Galacturónicos

Existe nula bibliografía para la obtención de este ácido, mediante métodos no enzimáticos para romper el éster que une los monómeros de ácido galacturónico. Basándonos en la necesidad de romper el enlace éster, se buscaron métodos ya establecidos en moléculas similares, encontrando el rompimiento de la molécula de la lignina como la mejor solución para empezar el rompimiento de nuestra molécula (pectina).

Este método se basa en una fuerte hidrólisis ácida con una mezcla de ácido sulfúrico y ácido fluorhídrico (la bibliografía sugiere la utilización de ácido bromhídrico sin embargo no se utilizó por lo complicado de conseguirlo) probándose a diferentes tiempos y a temperatura ambiente como lo sugiere el método de rompimiento de la lignina.

3.5.1 Método de Extracción

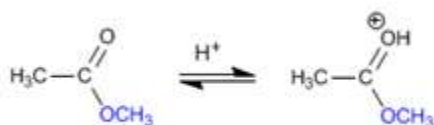
El método de extracción está basado en la reacción de hidrólisis ácida que en este caso es una hidrólisis ácida de un éster para poder extraer el ácido de la pectina. La reacción se explica de la siguiente manera:

Los ésteres se hidrolizan en medios acuosos, bajo catálisis ácida o básica, para rendir ácidos carboxílicos y alcoholes. En medios ácidos la hidrolisis se puede escribir como la siguiente reacción:

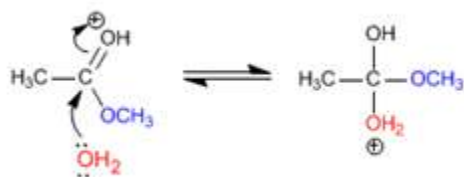


El mecanismo de hidrólisis ácida transcurre en las siguientes etapas.

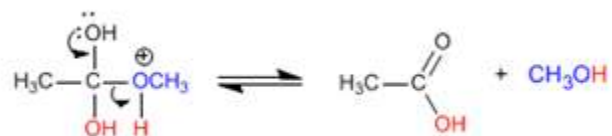
1) Protonación de éster



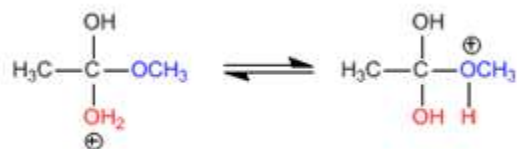
2) Adición nucleófila del agua al carbonilo



- 3) Equilibrio ácido-base, que transforma el metóxido en un buen grupo saliente (metanol).



- 4) Eliminación del metanol.



4. Análisis y Discusión de Resultados

Considerando las dificultades tenidas en las experimentaciones preliminares en la parte de secado, debido a que los aglomerados se tienen que romper periódicamente en el mismo dejándolos de la manera más pequeña posible para que el secado sea haga de la mejor manera posible.

Una vez seco se realizan las caracterizaciones de los seis experimentos a las condiciones seleccionas por el método de IR, obteniéndose los siguientes espectros infrarrojos:

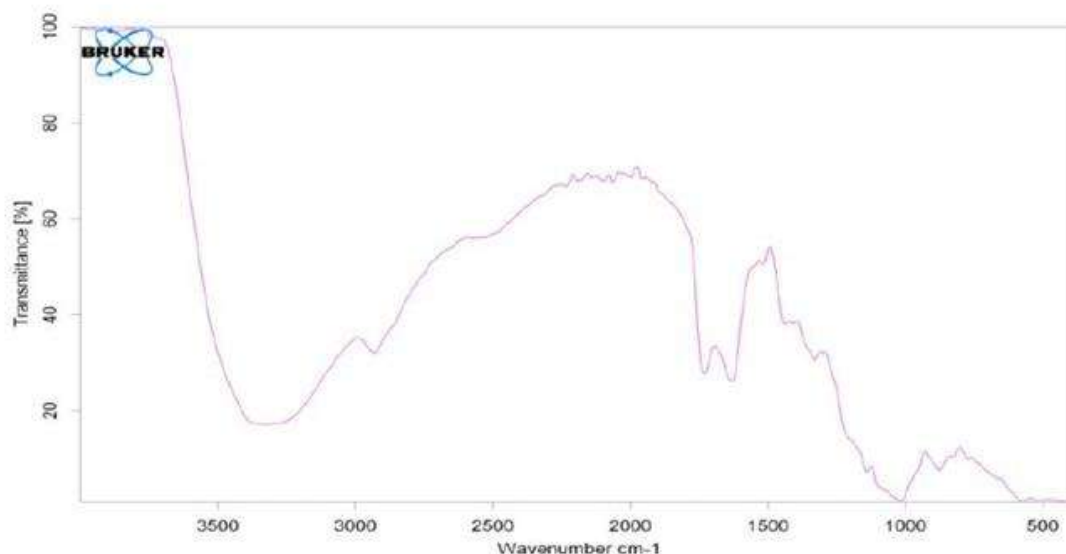


Figura 8: Prueba 1

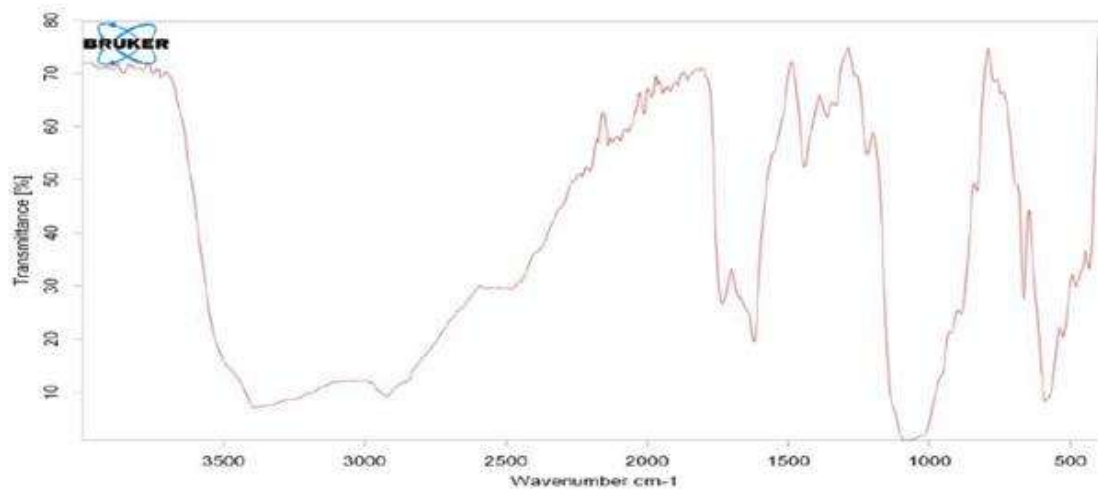


Figura 9: Prueba 2

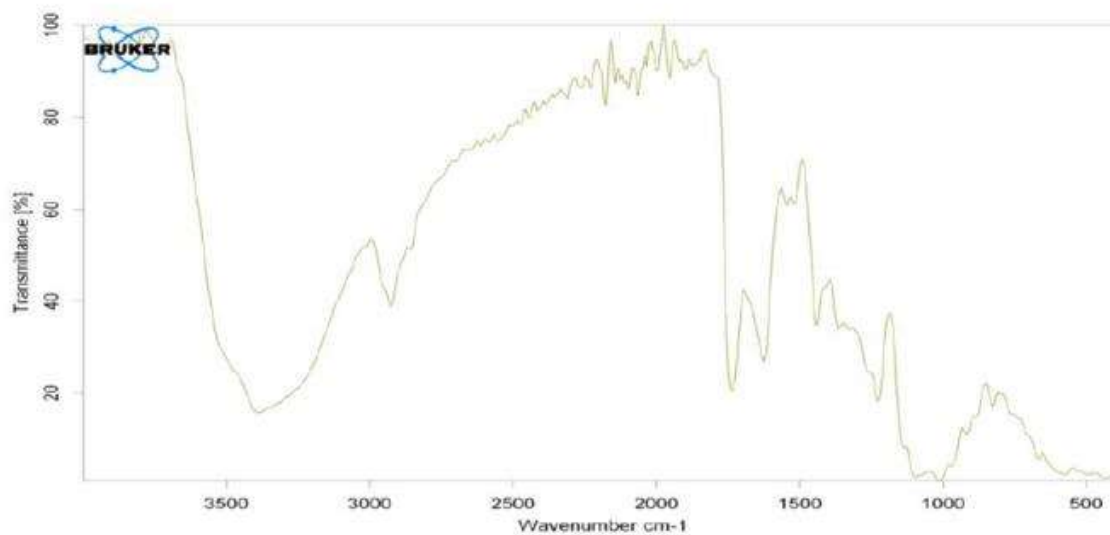


Figura 10: Prueba 3

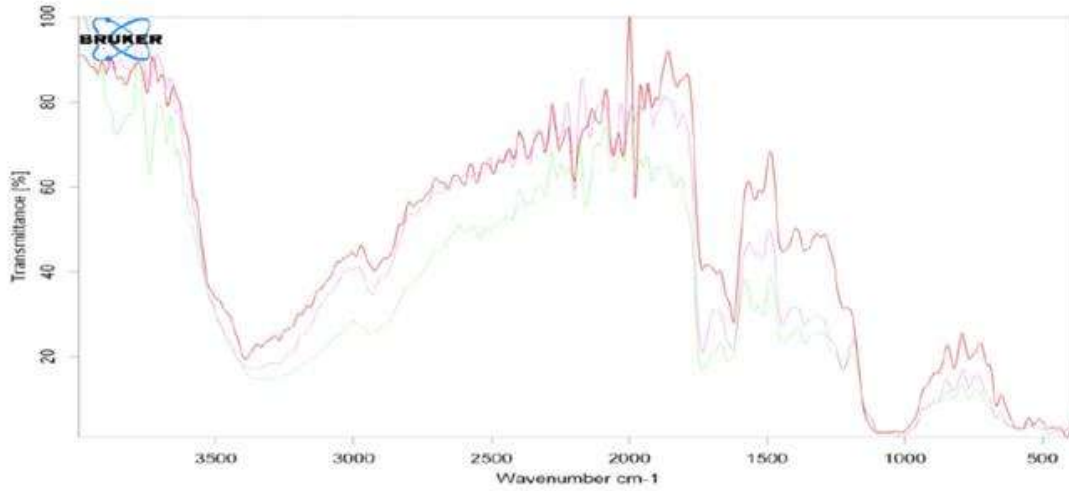


Figura 11: Prueba 4

NOTA: En este experimento el secado no fue bueno por esta razón se tomaron 3 muestras de la “pectina” obtenida para obtener de forma más general su espectro infrarrojo.

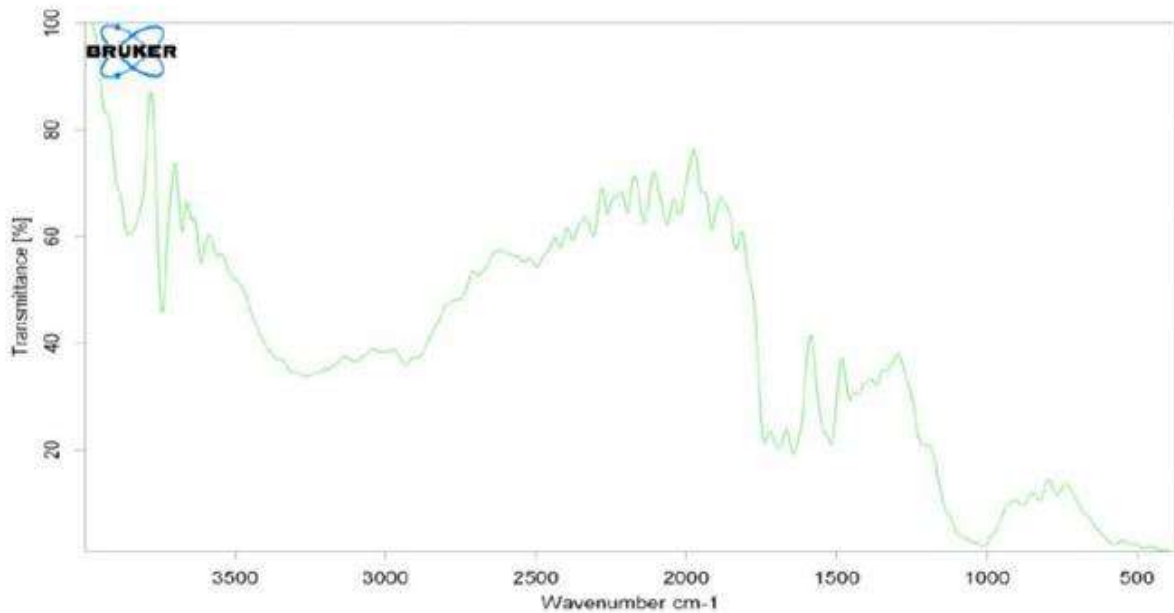


Figura 12: Prueba 5

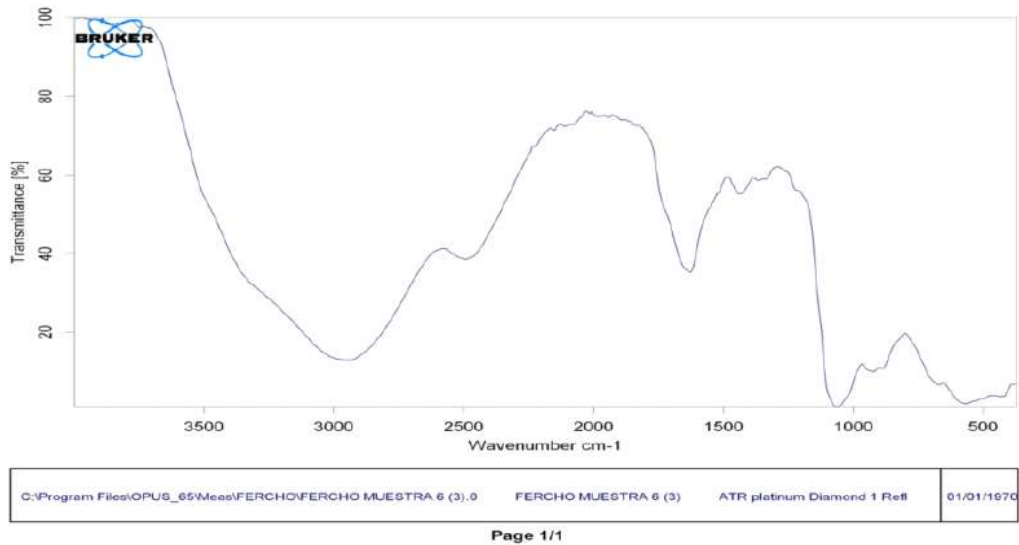


Figura 13: Prueba 6

Una vez obtenidos los espectros infrarrojos se compararon con la gráfica siguiente (figura 14) de la pectina comercial.

Una vez identificados los “picos” característicos de la pectina se determinan con la Tabla 3, para poder identificarlos y determinar la existencia de OH⁻, CH⁻ C=O tanto del éster como de ácido y C-O.

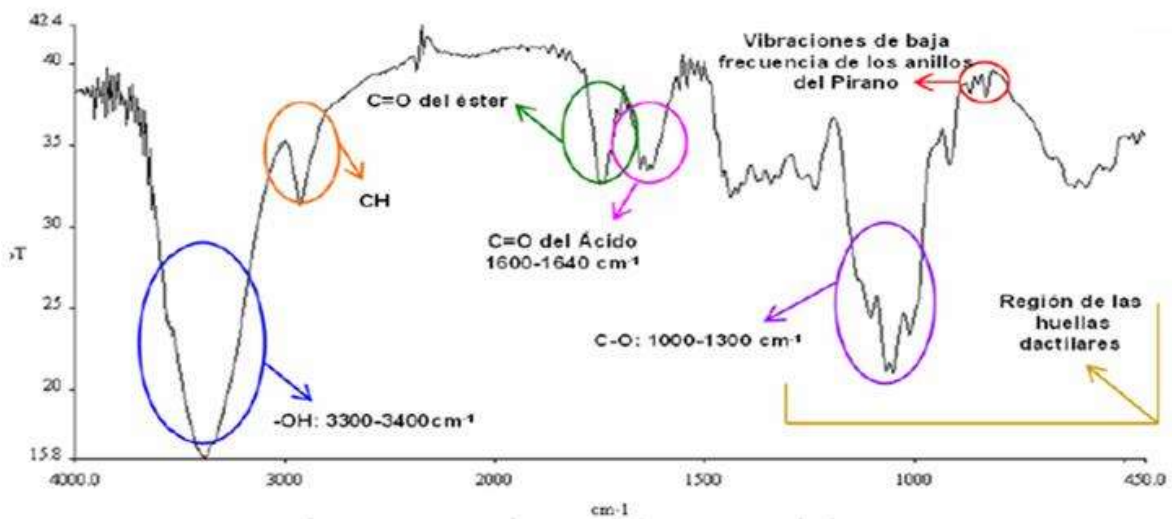


Figura 14: Pectina Comercial de Alto Metoxilo

Longitud de onda λ (cm^{-1})	Grupo característico
3300-3400	-OH
2942	$\nu(\text{CH})$
2653	$\nu(\text{OH})_{\text{COOH}}$
1730-1760	C=O del éster
1645	$\delta(\text{H}_2\text{O})$
1600-1640	C=O del ácido
1403	$\nu; \delta(\text{C}-\text{OH})_{\text{COOH}}$
1380	C-H
1335	$\delta(\text{CH})$
1253sh	$\delta(\text{CH})$
1226	$\delta(\text{OH})_{\text{COOH}}$
1156	$\nu(\text{COC})$ enlaces glucosídicos del anillo
1119	$\nu(\text{CC})(\text{CO})$
1085	$\nu(\text{CO}) + \delta(\text{OH})$
1034	$\nu(\text{CC})(\text{CO})$
990sh	$\gamma(\text{COOH})$ dimeros
954	$\delta(\text{CCH}), \delta(\text{COH})$
888	$\delta(\text{CCH}), \delta(\text{COH})$
830	$\gamma(\text{C}-\text{OH})$ anillo
790	$\gamma(\text{C}-\text{OH})$ anillo
760sh	Ring 'brezing'
738	$\gamma(\text{C}-\text{OH})_{\text{COOH}}$
700sh	$\gamma(\text{C}-\text{OH})$ anillo
682	Vibraciones de baja frecuencia de los anillos del Pirano

TABLA 3: Longitudes de onda característicos en el espectro infrarrojo de la pectina

Analizando los espectros anteriores se concluye que la prueba 3; con sus parámetros establecidos serán los utilizados en el resto de la investigación por ser los que mejor calidad de pectina se obtuvo.

Prueba a Utilizar:

Tabla 4: Prueba Seleccionada

Prueba Seleccionada	1
Cascara de Naranja (g)	40
Agua destilada (ml)	700
pH con la cascara	6
pH final	3
Temperatura (°C)	80
Tiempo (min)	45
Tiempo de secado (horas)	24
Temperatura de secado (°C)	45

A continuación se muestran una serie de fotografías de cómo se fue formando la pectina obtenida:



Figura 15: Mezcla de cáscara y agua en la parrilla.



Figura 16: Pulpa obtenida de separar liquido rico en pectina de la pulpa restante.



Figura 17: Mezcla de líquido rico en pectina con alcohol.



Figura 18: Pectina Húmeda



Figura 19: Pectina en proceso de secado.



Figura 20: Pectina seca y molida.

Adicional a esta prueba se realizaron dos más, utilizando cáscara de naranja seca y cascara de naranja fresca (Húmeda)

Tabla 5: Comparación de cáscara húmeda y cáscara seca

	Húmeda	Seca
Volumen de agua (ml)	300	300
Peso de la cáscara (g)	20.8133	20.009
pH antes de la cáscara	5.8	5.8
pH después de la cáscara	3.73	4.78
pH después del ácido	2.75	3.02
pH a los 10 min	3.01	3.3
Final de la hidrólisis	3.02	3.55
Pectina obtenida (g)	0.1034	2.057
% de pectina	0.50	10.28

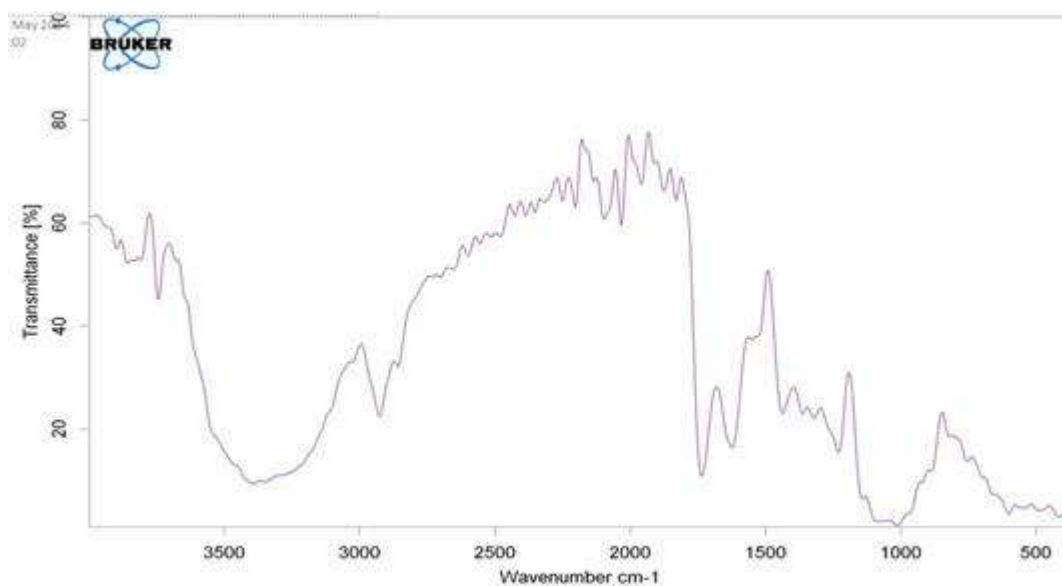


Figura 21: IR de pectina producida a partir de cascara sin pretratamiento

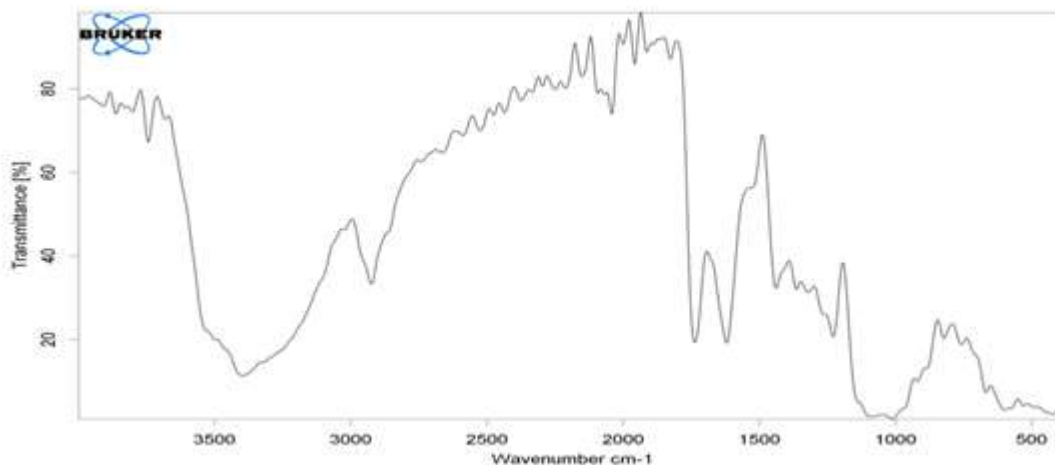


Figura 22: IR de pectina producida con cascara pretratada (Tabla 5)

Los espectros IR nos muestran los “picos” correctos, comparando con el rendimiento, los resultados obtenidos descartan la cáscara fresca de la experimentación debido a que, si bien es más fácil de utilizar ya que no necesita un pretratamiento la cantidad de pectina obtenida es insignificante en comparación con el procedimiento que tiene el pre tratamiento.

Retomando la prueba seleccionada se obtiene la pectina de este procedimiento y se hace una “caracterización” preliminar que es el infrarrojo de este producto para conocer si tiene los picos característicos según la Tabla 8.

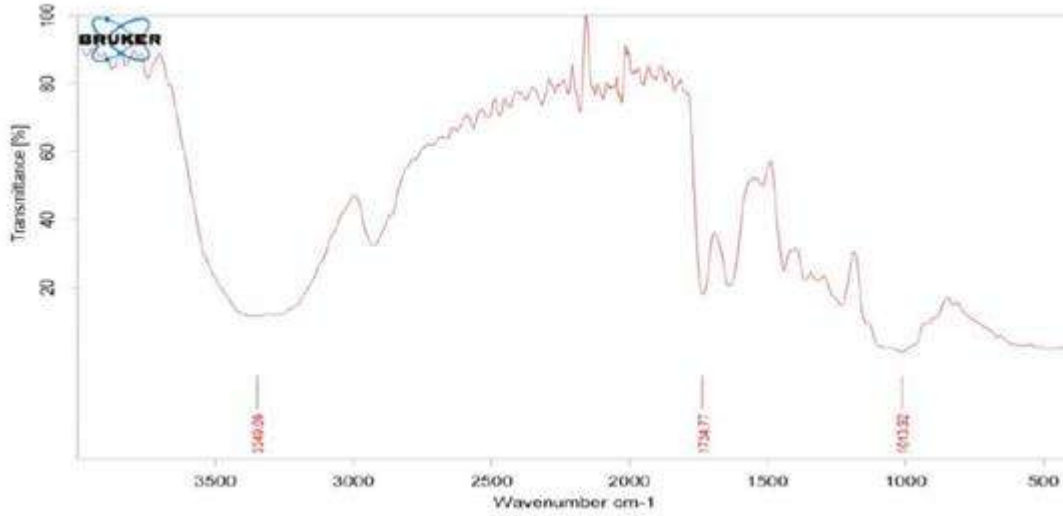


Figura 23: Espectro infrarrojo de la pectina de la prueba seleccionada.

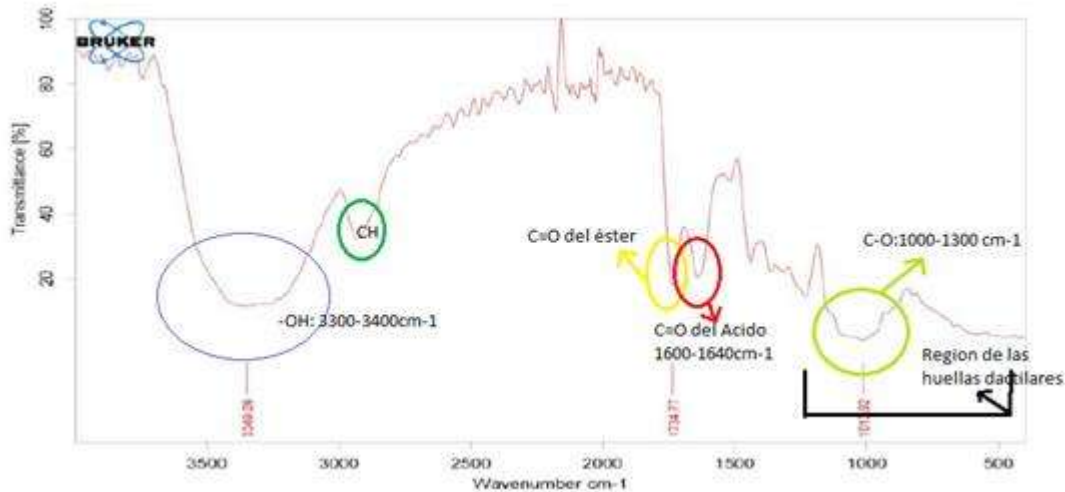


Figura 24: Análisis de la Prueba seleccionada.

Como se puede observar los principales picos característicos de la pectina se encuentran presentes en el infrarrojo de la prueba, por lo que se procede a hacer una caracterización más específica de acuerdo a lo que se espera en una pectina. Esto se comparará con una pectina comercializada en la ciudad de Morelia.

4.1 Caracterización y comparación de la pectina obtenida

4.1.1 Humedad

Para conocer el contenido de la humedad de la muestra se emplea el método de secado con la estufa, dejando la muestra en una estufa a 60 °C durante un periodo de 24 horas o hasta que el peso se mantenga constante, tomando el peso de la muestra continuamente para conocer cómo va descendiendo. En este caso se tomó el peso de la muestra, continuación obteniéndose los siguientes datos:

Tabla 6: Determinación de Humedad

Determinación de la Humedad				
	Comercial (gramos)		Experimental (gramos)	
	Capsula vacía	Pectina	Capsula vacía	Pectina
Peso de la capsula antes del secado	24.7892	0	24.3827	0
Peso de la pectina antes del secado	0	1.0268	0	1.0350
3 horas de secado	25.7815	0.9923	25.2958	0.9131
12 horas de secado	25.7735	0.9843	25.2832	0.9005
18 horas de secado	25.7614	0.9722	25.2828	0.9001
20 horas de secado	25.7605	0.9713	25.2825	0.8998
24 horas de secado	25.7603	0.9711	25.2815	0.8988

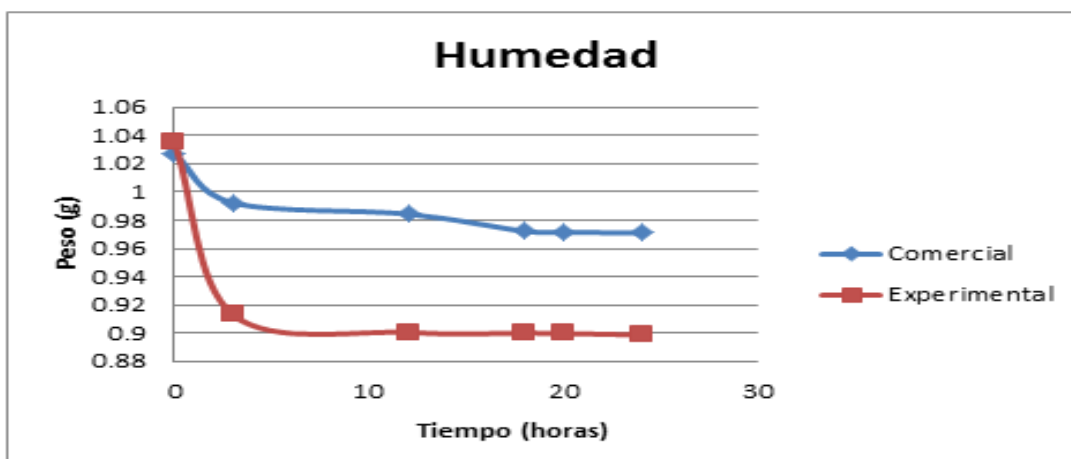


Figura 25: Humedad

4.1.2 Determinación del peso equivalente y de la acidez libre.

Para la determinación del peso equivalente por titulación y la acidez libre se empleó la técnica de Owens (1).

4.1.3 Determinación del contenido de metoxilo.

Esta prueba sirve para conocer el poder de gelificación que pudiera tener por su grado de esterificación.

4.1.4 Determinación del tiempo de asentamiento y del grado o poder de gelificación.

Expresada como la cantidad de azúcar (sacarosa) que gelificara una parte de pectina para obtener una firmeza dada bajo condiciones establecidas de pH=3,2 – 3,5; de 65 a 70°Brix y pectina dentro de los límites de 0,2 a 1.5%.

Todos los resultados de estas pruebas se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 7: Resultados de caracterización de Pectina

Caracterización de la pectina		
	Comercial	Experimental
Humedad	5.42%	13.16%
Peso Equivalente	0.5	0.5
Acidez Libre	0.7	0.8
Contenido de Metoxilo (%)	75	40
Poder de Gelificación	50	40

4.2 Caracterización de Ácido Galacturónico Obtenido

Debido a la falta de estudios del ácido galacturónico, no existen métodos en la bibliografía para su caracterización, por esta razón la única forma en que se pudo caracterizar este ácido fue mediante un espectro infrarrojo.

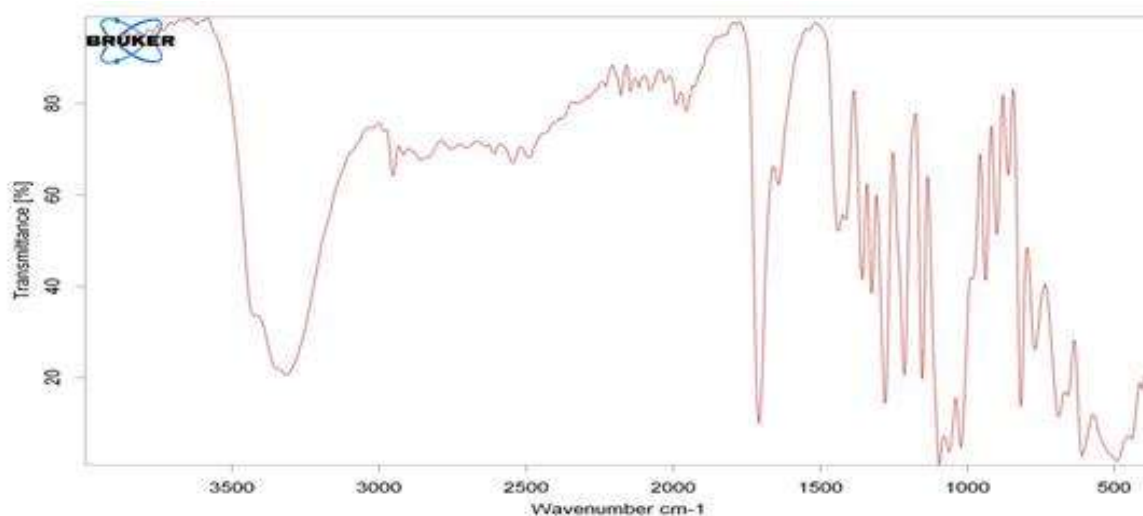


Figura 26: IR de Ácido Galacturónico Comercial

Se estudiaron los “picos” característicos de dicho ácido y se hizo un espectro patrón con el ácido comercial:

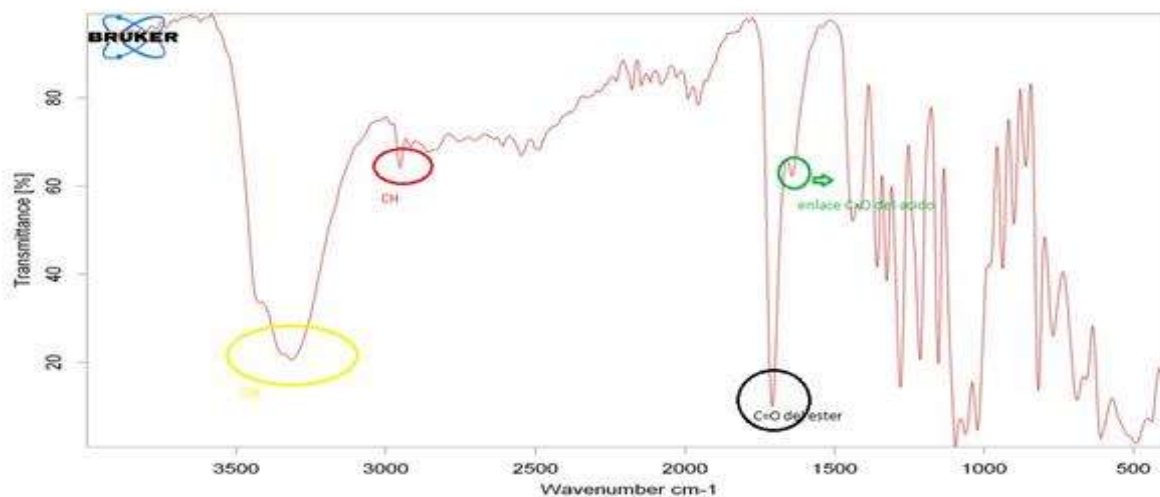


Figura 27: Análisis del IR del Ácido Galacturónico Comercial

Analizando la molécula del ácido galacturónico, se observan las transmitancias de los enlaces necesarios para su identificación.

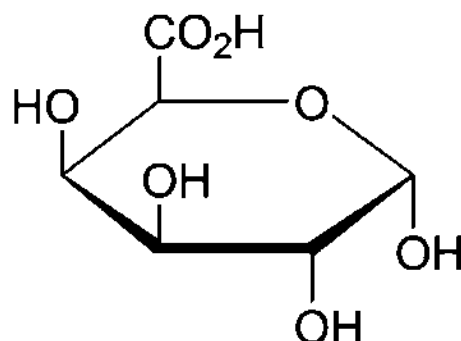


Figura 28: Molécula de Ácido Galacturónico

Como se puede ver en la molécula existen los grupos OH^- , el ácido carboxílico, los ésteres y los enlaces CH^- .

Se realizaron diferentes pruebas para obtener el ácido galacturónico.

Tabla 8: Pruebas para ácido galacturónico

Prueba	1	2	3	4	5	6	7	8
Tiempo (min)	100	160	30	60	20	40	10	15
Peso Inicial de Pectina (g)	1	1	1	1	1	1	1	1
Peso Final de Ácido Galacturónico (g)	0.1664	0.2058	0.2777	0.0973	0.1543	0.1768	0.1921	0.2693

Se comenzó en tiempos altos por la información que se obtuvo del rompimiento de la molécula de lignina ya que se rompe el mismo enlace.

A continuación se muestra los espectros generados de cada una de las pruebas señaladas en la tabla anterior.

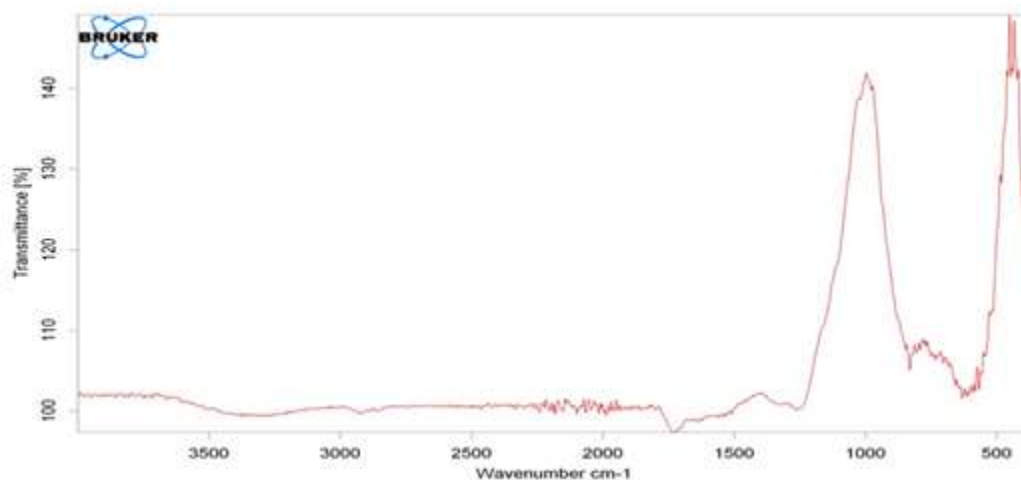


Figura 29: Prueba 1 de Ácido Galacturónico

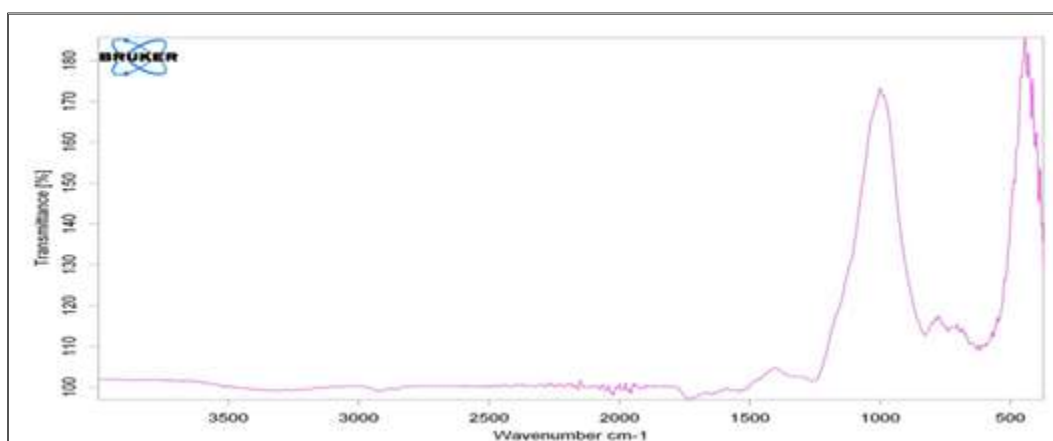


Figura 30: Prueba 2 Ácido Galacturónico

Los espectros infrarrojos nos muestran que los métodos son muy agresivos para la molécula que queremos ya que destruye todos los enlaces existentes, por esta razón se hizo con un menor tiempo de la hidrólisis.

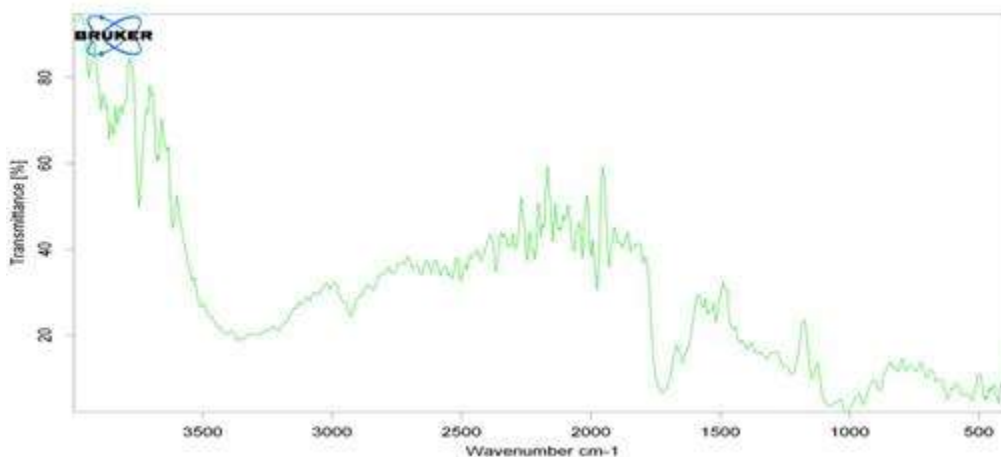


Figura 31: Prueba 3 Ácido Galacturónico

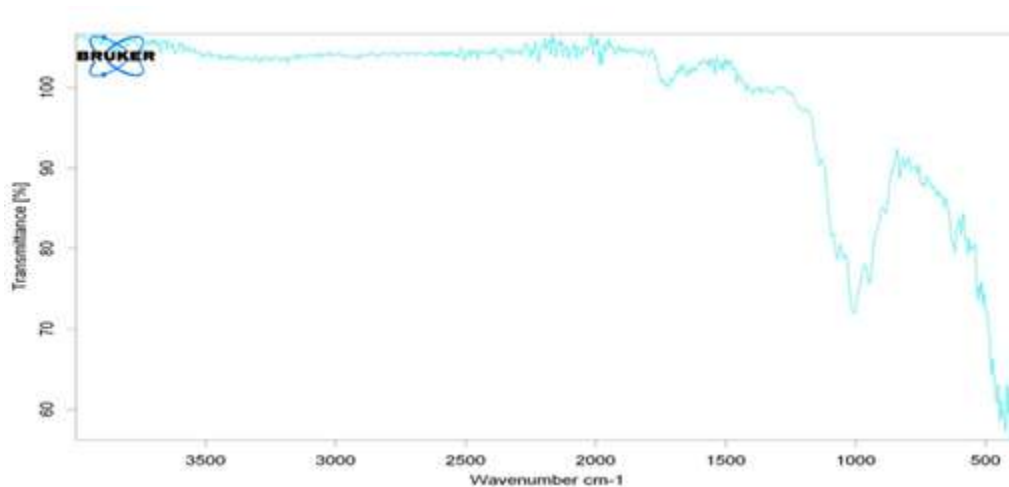


Figura 32: Prueba 4 Ácido Galacturónico

En la figura 31 se observa aún muchas absorbancias características de la pectina, lo que sugiere que el tiempo no fue suficiente para su total rompimiento. Contrario a la figura 32 que destruyo todos los enlaces existentes.

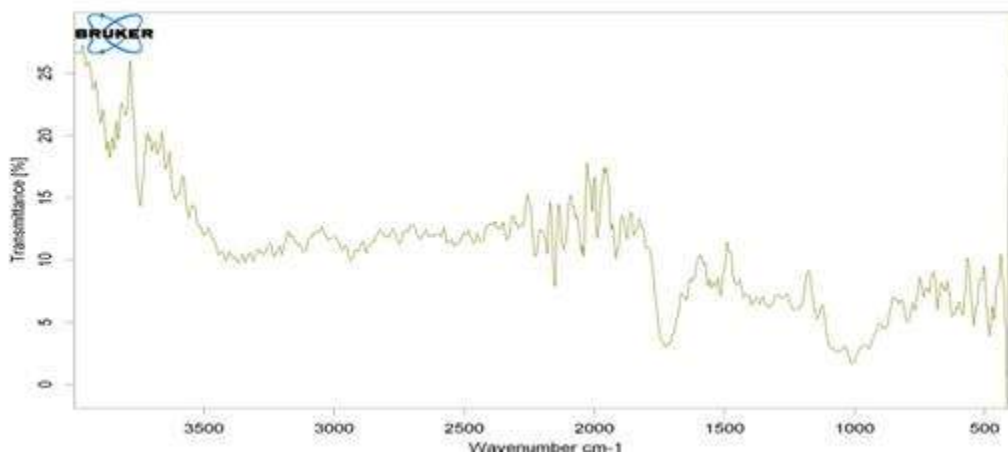


Figura 33: Prueba 5 Ácido Galacturónico

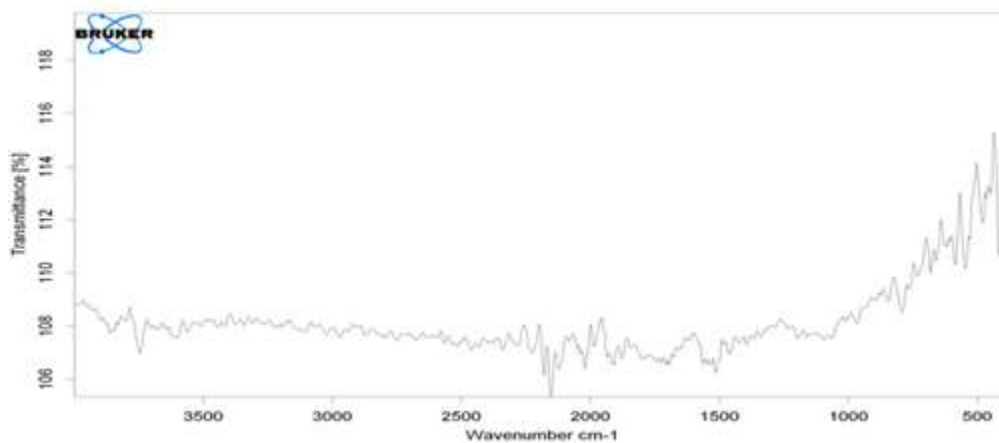


Figura 34: Prueba 6 Ácido Galacturónico

La figura 33 muestra solo los enlaces C=O del éster y la figura 34 nuevamente se rompen todos los enlaces existentes por lo que se reconsidera nuevamente el tiempo de la hidrólisis ácida.

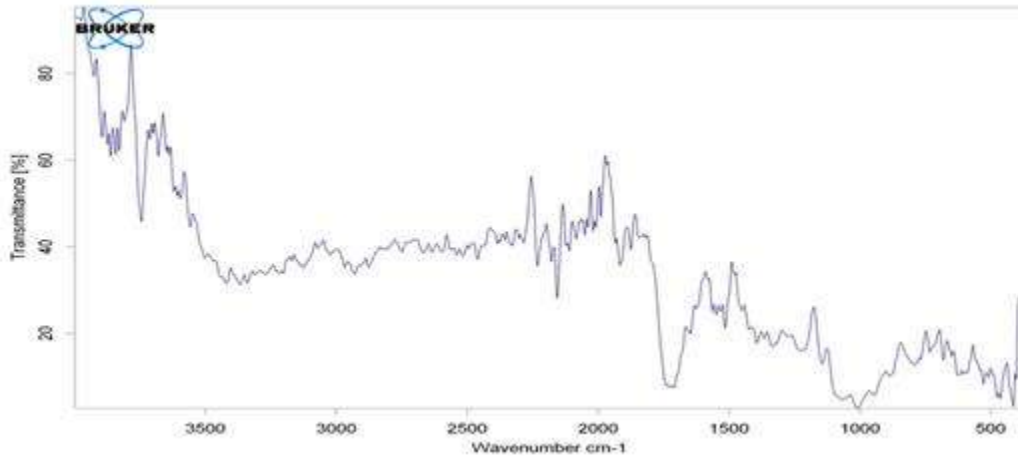


Figura 35: Prueba 7 Ácido Galacturónico

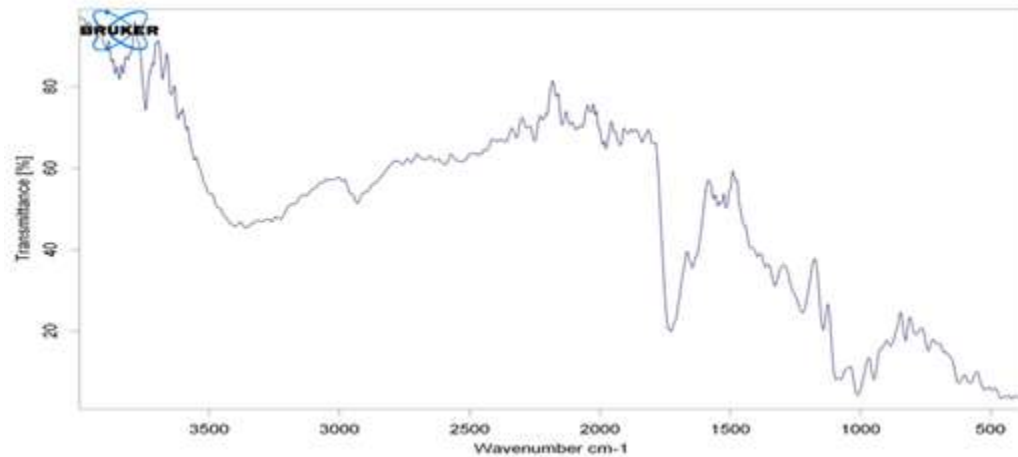


Figura 36: Prueba 8 Ácido Galacturónico

Tanto la figura 35 como la 36 nos muestra un espectro infrarrojo en el que la transmitancia nos muestra la absorción en la longitud de onda correcta, sin embargo se opta por tener la prueba 8 como la que tiene un parecido mejor respecto al espectro de ácido galacturónico comercial.

4.3 Análisis de la Pectina Obtenida

Revisando los espectros infrarrojos y la tabla 7, podemos decir que no resulta complicado fabricar la pectina a nivel laboratorio que pueda competir con la comercializada en el mercado, sin embargo, se tiene que mejorar el secado para que sea efectuado de manera más práctica y hacer una molienda que haga partículas más pequeñas sin que la fricción resultante de está, altere la molécula de pectina.

Aunque no se haya planteado de manera inicial en la experimentación, el hecho de que sea pectina de bajo metoxilo, ayuda a la conversión al ácido galacturónico debido a que esta molécula no tiene CH_3^{-1} , como se puede ver en la figura 13, esto evita un pre tratamiento para su posterior conversión al ácido galacturónico.

Con esta tesis se pudo conocer una metodología válida para la producción de pectina a partir de desechos cítricos generados en la ciudad.

4.4 Análisis del Ácido Galacturónico Obtenido

Con la pectina obtenida, se hicieron varias pruebas para la obtención del ácido, sin embargo en las primeras pruebas realizadas no se pudieron obtener buenos resultados como se ven en las figuras 29, 30, 32 y 34, esto debido a que como se utiliza una hidrolisis fuertemente ácida está elimina todos los enlaces del polímero de pectina y no solo el que se desea romper. Esto sugirió que el tiempo en que se lleva a cabo la hidrolisis debe disminuir

por lo que en las pruebas siguientes se disminuye el tiempo de reacción de hidrolisis hasta completar la prueba 8 (figura 36) donde se ven los picos característicos del ácido galacturónico.

El rendimiento de ácido galacturónico es de aproximadamente 25%, esto se pudiera mejorar en pruebas posteriores así como analizar procedimientos puntuales para mejorar dicho rendimiento y calidad del ácido galacturónico según su espectro IR.

5. Conclusiones

A) En base a las experimentaciones preliminares que se basan el rendimiento de pectina calculado, se observa que el pretratamiento preliminar a la cáscara mejoró sustancialmente su manejo durante el proceso de obtención (consideración experimental al proceso). Aumenta el rendimiento en la hidrólisis, (tabla 6) esto debido a la eliminación de agua y sustancias volátiles que no contribuyen a la formación y/o producción de pectina.

B) De los análisis realizados a la pectina obtenida podemos mencionar lo siguiente:

a) La pectina obtenida es de bajo metoxilo, lo cual favorece al objetivo de esta tesis que es la producción de ácido galacturónico.

b) La humedad es baja (depende del grado y forma del secado así como del % de alcohol en la extracción), lo cual favorece la reacción posterior para la obtención del ácido galacturónico.

C) El método modificado utilizado a nivel laboratorio para la obtención de pectina, resulta ser atractivo para poder ser llevado a cabo a nivel de planta piloto, lo cual podría ser una alternativa económica al precio en el mercado de frutos aprovechables para la obtención de la pectina (desperdicios de cítricos, manzana y guayaba principalmente) y que no tengan un valor comercial económico en su momento como está ocurriendo actualmente.

D) Respecto al secado de la pectina después de la extracción con alcohol, es un proceso complicado a nivel laboratorio en virtud de que el secado no es uniforme y se requiere estar rompiendo los aglomerados de la pectina de forma manual, llevando consigo un tiempo de consideración y una atención especial para obtener una pectina de calidad.

E) Los rendimientos obtenidos de ácido galacturónico a partir de la pectina fueron en aumento partiendo de 9% hasta llegar al 27%, cabe mencionar que aunque los rendimientos no son satisfactorios (se requiere más investigación y trabajo), la conversión de pectina hacia ácido galacturónico fue mejorando en cuanto calidad, como se puede observar en la comparación de los espectros de IR del ácido galacturónico estándar vs obtenido experimentalmente.

Para el caso no enzimático, se seleccionó por varias razones:

- ✓ La infraestructura que se requiere para emplear un proceso enzimático no se cuenta en la Facultad de Ingeniería Química.
- ✓ La obtención de enzimas hidrolíticas solo se consiguen mediante un aislamiento y purificación a partir de materiales biológicos (tiempo de obtención) o bien mediante la compra de una enzima comercial, la cual es cara.
- ✓ Además de lo anterior se requiere el acondicionamiento de la metodología experimental y la caracterización de cada una de las etapas del proceso, lo cual lleva un tiempo mayor y el mismo esfuerzo que el proceso no enzimático.
- ✓ Las enzimas solo son capaces de procesar pequeñas cantidades de pectina, por lo que esto conllevaría un tiempo prologando para la fabricación de cantidades considerables de ácido galacturónico.

5.1 Alcances

La calidad de la pectina obtenida es buena para ser utilizada en la industria alimentaria como son la elaboración de jaleas, mermeladas y conservas, lo cual se demuestra con el grado de gelificación 40.

En virtud de que existe muy poca información para la obtención de ácido galacturónico a partir de pectina, se hizo necesario recurrir a metodologías

alternas para lograr el rompimiento de la molecula de pectina a partir de moléculas semejantes (lignina), lo cual implico recolectar la información y pasar a la experimentación para adecuar la metodología recolectada, esta metodología experimental no se encuentra optimizada por lo que aquí existe una área de oportunidad para un trabajo de cinética química posterior.

En relación a la bibliografía encontrada para la obtención de pectina y ácido galacturónico a partir de procesos enzimáticos cabe mencionar que efectivamente estos procesos son selectivos y específicos y con un rendimiento mejor que el proceso no enzimático utilizado, lo cual brinda un área de oportunidad para otro trabajo similar que permita tener un comparativo entre uno y otro.

6. Referencias

1. Rankes, M., Manual de la industria de los alimentos; Ed. Acribia, Zaragoza, España; pp. 393-394; 429; 1993.
2. Joslyn, M. A.; "The chemistry of protopectin: A critical review of historical data and recent developments"; Advances in Food Research, 11, 1; 1962.
3. Fishman, M. L.; Jen, J.J.; Chemistry and function of pectins; Campbell Institute for Research and Technology, 1986.
4. Sims, A.; Bacic, B; Phytochemistry; 38, 1937-1405; 1995.
5. Kerr, W. L.; Wicker, L.; Proton exchange in high methoxy and low methoxy pectins; Department of Food Science and Technology, University of Georgia, Athens, U.S.A., sept. 2000.
6. Salisbury, F.; Ross, C.; Fisiologia vegetal. Grupo Editorial Iberoamericana pp.10, 336; México, 1994
7. Lyndon, R.F.; Plant Development; Unwin Hyman London; p. 181; 1990.
8. Taiz, L.; Eiger,E.; Plant Physiology. The Benjamins/Cummings Publishing Company, California, pp 16;22-24; 1990
9. Borgstrom, G.; Principles of food science; The MacMillan Company, London, 2, 48; 1968.
- 10.Graham, H.; Food Colloids; The AVI Publishing Company Inv.; New York, p. 418; 1977
- 11.Hercules Incorporated, Food Gums Group, Wilmington, U.S.A., Sept. 23,2000.

12. Code of federal Regulations; title 21; Volume 3, Parts 170-199; U.S. government Printing Office; April 1; 2000.
13. McCready, R.M.; food Science and Technology. A series of Monographs. Edited by Maynard A. Joslyn, New York, Pag 565-593; 1970
14. Doesburg, J. Pectic substances in fresh and preserved fruits and vegetables. Institute for Research on Storage and Processing of Horticultural Produce. Netherlands; pp. 10, 15, 19, 20, 46-51; 1965.
15. Pedersen, J. K.; Pectin, Encoclopedia of Food Technology, The AVI Publishing Company Inc.; Connecticut, 2, 684; 1974.
16. Hoefler, A.C.; Pectin, Chemistry, Functionality and aplicaciones; Hercules Incorporated, Foodgums Group, Wilmington, U.S.A.; Agosto 2000
17. Sweeten, M.K.; Jellies, Jams, Preserves & Butters; Texas Agricultural Extension Service; The Texas A&M University System; Oct. 2000.
18. Napier, K; American Council of Science and Health; 1998.
19. Acosta, G.; Comportamiento de la pectina de la pulpa de la guayaba conservada con bisulfito de sodio. Trabajo de Grado, Universidad de Colombia, Facultad de Ciencias, 1984.
20. Rincón, L.; Estudio de la factibilidad de obtención de pectina a partir de desechos cítricos, Trabajo de Grado, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Colombia; 1990.
21. Hercules Incorporated Ltd.; U.S.A.; General Properties of Pectin; Sept. 2000.
22. Joslyn, M.A.; Methods in Food Analysis, Academic Press, New York, 182; 1962.

23. McCready, R.M.; Shepherd, A.D.; et al.; Determination of citrus pectic substances by optical rotation; *Anal. Chem.*; 23,975;1951.
24. Doesburg, J.J.; Grevers, G.; Setting time and setting temperature of pectin jellies; *Food Research*, 25, 634; 1960.
25. Harvey, H.G.; Gels with special reference to pectin gels; *British Food Manufacture*, 30, 23; 1968.
26. McCready, R.M.; Owens, H.S.; Alkali-hidrolized pectins are potencial industrial products.
27. Joseph, G.H.; Baier, W.E.; Methods of determining the firmness and setting time of pectin tests jellies. *Food Technology*, 3, 18, 1949.
28. Hercules Incorporated Lt.; *Food Gums Products Description, General Properties of Pectin*, Agosto 2000.
29. Joslyn, M.A.; *Methods in Food Analysis*, Academic Press, New York; 195; 1982.
30. Walton, E.D.; Sinclair, B; *The orange. Its biochemistry and physiology*; Academic Press, New York, 191; 1961.
31. BeMiller, J.; Whistker, R.; *Carbohydrates Food Chemistry*, N.Y.; Pág 157-224;1995.
32. Anderson, J.; Deskin, B.; *The Nutrition Bible*; William Morrow and Company, Inc.: 1995.
33. Kidd, P.M.; "A new approach to metastatic cancer prevention: Modified citrus Pectin (MCP), A unique pectin that blocks cell surface lectins"; *Alt. Med. Rev.* 1:4-10; 1996.

34. Pasquier, B.; Armand, M.; Castelain, C. et al.; "Emulsification and lipolysis of triacylglycerols are altered by viscous soluble dietary fibres in acidic gastric medium in vitro"; *Biochem J.*; 316, 269-275; 1996.
35. Kim, M.; Atallah, M.T.; "Pectin with low molecular weight increases absorption of F58 in growing rats". *Journal Nutr.; U.S.A.*; 126 (7); 1883-90; Jul.; 1996.
36. Finkel, Y.; Brown, G.; "The effects of a pectin supplemented elemental diet in a boy with short gut syndrome". *Acta Paedriatr. Scand.*; 1990 Oct.; 79 (10); 983-6; Sweden.
37. Jiang, Yh. ; Lupton, J. R.; "Dietary fat and fiber differentially alter intracellular second messengers during tumor development in rat colon carcinogenesis"; *England*. 17 (6): 1227-33; Jun. 1996.
38. Pienta, K. J.; et al.; "Inhibition of spontaneous metastasis in a rat prostate cancer model by oral administration of modified citrus pectin". *Journal Natl. Cancer Institute; U.S.A.* 87 (5): 348-53. Mar.; 1995