



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCION  
Y PRECIPITACION DE LA PECTINA CONTENIDA  
EN EL ALBEDO DE LA GRANADA CHINA  
(*Punica Ligularis* Juss)**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P R E S E N T A :**  
**FRANCISCO CAMACHO SUAREZ**

**DIRECTOR DE TESIS: I.B.O. JOSE JAIME FLORES MINUTTI**

**CUAUTITLAN IZCALLI. EDO. DE MEX.**

**1981**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## I N D I C E

	Página
I. INTRODUCCION	1
Generalidades	5
Objetivo del Trabajo	11
II. MATERIALES Y METODOS	
1. Materia Prima	12
2. Equipo Utilizado	13
3. Tratamiento de la Materia Prima:	
A. Determinación del tratamiento adecuado para - obtener el Residuo Insoluble en Alcohol ( R.I.A. ) y estabilizar la pectina en la cáscara-albedo de la Granada China ( <u>Passiflora ligularis</u> Juss ).	14
B. Obtención del Residuo Insoluble en Alconol ( R.I.A. ) a partir de albedo de Granada China.	15
Determinación de Humedad en el R.I.A.	16
Determinación de Cenizas en el R.I.A.	17
Determinación de Pectinas Solubles y Totales en - R.I.A.	
4. Determinación de las Condiciones Óptimas de Ex- tracción de Pectinas a partir del P.I.V. de Albe- do de Granada China	

A. Estudio del efecto del tipo de agente extractante, de su concentración y de la temperatura de extracción.	21
B. Estudio del efecto del tiempo y de la carga de extracción ( Relación de Masa de R.I.A. / Volumen - de Solución Extractante ) usando las tres mejores - combinaciones de condiciones encontradas en el estudio anterior.	
5. Determinación de las Condiciones Óptimas de Precipitación de Pectinas Extraídas a partir de R.I.A. de Albedo de Granada China.	24
6. Caracterización de las Pectinas Obtenidas a partir de R.I.A. de Albedo de Granada China bajo las Mejores Condiciones de Extracción y Precipitación.	
A. Pectina extraída con Acido Cítrico y precipitada con Etanol.	27
B. Pectina extraída con Acetato de Sodio y precipitada con:	
a. Etanol	28
b. Cloruro de Aluminio	28
Determinación del Contenido de Humedad en Pectinas.	30
Determinación del Contenido de Cenizas en Pectinas.	30
Determinación del Contenido de Acido Anhidro Galacturónico en Materiales Péclicos.	31
Determinación del Contenido de Metoxilo y del Grado de Esterificación en Pectinas.	32

<b>Determinación de la Viscosidad Relativa y del Gra do de Gelificación en Pectinas.</b>	<b>34</b>
<b>III. RESULTADOS Y DISCUSION</b>	<b>36</b>
<b>IV. RESUMEN</b>	<b>45</b>
<b>V. CONCLUSIONES</b>	<b>51</b>
<b>VI. SUGERENCIAS</b>	<b>53</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>57</b>

## I. I N T R O D U C C I O N

## INTRODUCCION

Desde hace muchos años las pectinas han ocupado un lugar de importancia dentro de la industria alimentaria y más recientemente en la industria químico-farmacéutica, debido a su capacidad para formar geles bajo ciertas condiciones. La producción de pectinas a nivel industrial ha registrado un gran aumento y únicamente en Estados Unidos y parte de Europa se produjeron, durante 1968, 10,000 toneladas a partir de los desechos de la producción de jugos de cítricos y de manzanas, principalmente, -- aunque en algunos países se extraen de vegetales nativos de la región, -- como en Alemania, Bulgaria y Rumania donde se obtienen del girasol y en Rusia y Suecia a partir de la pulpa de la remolacha.

Las pectinas se emplean industrialmente como aditivos en la elaboración de fites, jaleas, mermeladas, flanes, mayonesas, salsas y otros productos, dentro de la industria de los alimentos ( Cuadro I ), así como en la industria químico-farmacéutica, en donde se incluyen en la formulación de algunos medicamentos y, dentro del ramo de la cosmetología, en ciertos tipos de cremas.

Comercialmente se producen dos tipos de pectinas; de alto metoxilo, con un 60 - 75% de esterificación de los grupos carboxilos del ácido galacturónico con alcohol metílico, las cuales se utilizan para la formación de geles "Azúcar-Pectina-Acido" y pectinas de bajo metoxilo, con un 20-45% de esterificación, para la formación de geles "Pectina-Calcio". Este último tipo de pectinas es usado en la elaboración de productos donde se



**CUADRO I**

**APLICACION DE LAS PECTINAS DENTRO DE LOS ALIMENTOS<sup>8</sup>**

TIPO DE PECTINA	USOS TÍPICOS	CANTIDAD APROXIMADA EN EL PRODUCTO FINAL. ( % )
REGULAR ( 150 GRADOS DE GELIFICACION ).	JALEAS DE FRUTAS, ATE Y CONSERVAS, TAMBIEN JALEAS HORNADAS.	0.1 - 0.8
	CONFITURAS DE JALEAS. ESPESANTES PARA JARABES DE FRUTAS Y BEBIDAS CON BA JO CONTENIDO CALORICO. EMULSIONES SABORIZANTES Y SALSAS PARA ENSALADA. ADITIVOS PARA BATIR CREMA, BARNICES PARA PRODUCTOS DE PANADERIA Y ESPESANTES PARA LECHE MALTRADA.	0.85 - 1.25 Pocas Decimas 2 - 3 - - -
DE BAJO METOXILO.	GELES DE ENSALADAS Y ADEREZOS: A). IMITACION DE SABOR Y COLOR ( PARA CONSUMO CA- SERO ). B). JUGOS DE FRUTAS Y VERDURAS ( GELES ENLATA- DOS ). GELES DE LECHE Y PUDINES. PRODUCTOS CON BAJO CONTENIDO CALORICO, COMO JALEAS DE FRUTAS, PARA USO DIETETICO. PRESAS CONGELADAS.  GELES DE FRUTAS Y BAYAS PARA USO EN HELADOS DE CRE MA.	0.8 - 1.5 1.0 - 1.8 0.8 - 1.5 0.8 - 1.5  0.1 - 0.5 ( Base Húmida ) 0.8 - 1.5

requiere un bajo contenido calórico y en los que no pueden someterse a tratamientos térmicos drásticos ( 1,58,11,14,25 ).

En México, al igual que en otros países, el desarrollo de la industria alimentaria ha traído como consecuencia el aumento en el uso de los materiales pécticos como agentes gelificantes o espesantes, pero el incremento en el empleo de éstos, sólo se ha podido satisfacer en nuestro caso, mediante el aumento en los volúmenes de pectina importada (Cuadro - II), siendo que en el país se producen grandes cantidades de cítricos, - los cuales son una de las fuentes más importantes para la obtención de pectinas a nivel industrial. Actualmente en el país se producen pectinas, pero el volumen producido es aún insuficiente para cubrir la demanda interna, por lo que es de suma importancia que se desarrolen por una parte, procesos tecnológicos para la obtención de éstas a partir de materiales como el limón o la manzana ya que, aunque se cuenta con estos recursos, no se posee la tecnología adecuada para explotarlos y por otro lado, que se estudie la factibilidad de su extracción a partir de especies frutícolas de bajo grado de comercialización.

Algunas de estas especies poseen un potencial de aprovechamiento mayor del que actualmente se obtiene de ellas, por tanto es necesario mejorar el conocimiento de sus características agronómicas, fisiológicas y de composición por medio de un mayor apoyo a los estudios encaminados a esos fines, logrando de esta manera conocer sus posibilidades tecnológicas.

C U A D R O II

VOLUMENES DE IMPORTACION DE PECTINAS EN MEXICO  
DURANTE 1970 A 1979

ASO .	CANTIDAD ( MT )	VALOR ( Pesos )
1970	33 397	1 479 743
1971	41 743	1 868 653
1972	59 916	2 606 249
1973	69 118	3 174 020
1974	104 722	7 002 822
1975	90 342	6 185 688
1976	117 807	8 684 795
1977	105 071	12 103 135
1978	18 000	98 933
1979	3 000	18 462

Fuente: Anuario Estadístico de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Programación y - Presupuesto ( Coordinación General del - Sistema Nacional de Información ).

cas y de comercialización, lo cual redundaría en un mejor aprovechamiento de las mismas.

Dentro de las especies frutícolas de bajo nivel de comercialización que existen en nuestro país, se encuentra la granada china (Passiflora ligularis Juss), cultivada en varios estados de la República, principalmente en el Estado de México, Michoacán y Guerrero, aunque se encuentra también en Chiapas, Oaxaca y Yucatán.

Desafortunadamente la información disponible respecto a sus volúmenes y regiones de producción es escasa e incompleta y únicamente se cuenta -- con datos acerca de las granadas en general ( Cuadro III ), debido a lo cual es difícil conocer en forma más precisa su disponibilidad para la industria y el comercio.

La granada china (P. ligularis Juss ) es un fruto con características organolépticas agradables, que se consume generalmente en estado fresco y cerca de la región donde se produce, a pesar de que sus componentes anatómicos, pulpa, semilla y albedo, presentan buenas perspectivas de uso industrial, debido a su semejanza con frutos de otras plantas de la misma especie, como la fruta de la pasión (Passiflora edulis Sims) ampliamente industrializada en países como Australia, Brasil, Hawaii, India, Kenya y Nueva Zelanda. En estos lugares, la pulpa de este fruto se ha utilizado en la elaboración de jugos, néctares y bebidas gaseosas,

CUADRO III

GRANADA, DIFERENTES VARIETADES. SUPERFICIE, PRODUCCION Y VALOR DE LAS COSECHAS  
DE LOS FRUTALES Y PLANTACIONES. AÑO AGRICOLA 1977.

PRODUCCION Y ENTIDAD	SUPERFICIE COSECHADA ( HA )			RENDIMIENTO ( TON/HA )		PRODUCCION ( TON )			PRECIO MEDIO TOTAL ( \$ TON )	VALOR DE LA PRODUCCION ( MILES \$ )		
	RIEGO	TEMPORAL	TOTAL	RIEGO	TEMPORAL	RIEGO	TEMPORAL	TOTAL		RIEGO	TEMPORAL	TOTAL
CHIAPAS	--	20	20	--	12.5	--	250	250	800	--	200	200
MEXICO	10	15	35	11.000	8.00	110	170	280	6,000	660	720	1,380
MICHOACAN	2	4	6	17.500	16.250	35	65	100	1,000	140	260	400
OAXACA	--	12	12	--	31.250	--	375	375	1,500	--	563	563
SONORA	38	--	38	18.816	--	715	--	715	4,000	2,860	--	2,860
YUCATAN	--	4	4	--	4.750	--	19	19	1,900	--	36	36
<b>TOTAL</b>	<b>50</b>	<b>55</b>	<b>105</b>	<b>17.200</b>	<b>15.073</b>	<b>860</b>	<b>879</b>	<b>1,739</b>	<b>15,200</b>	<b>3,660</b>	<b>1,779</b>	<b>5,239</b>

FUENTE: Anuario Estadístico de la Producción Agrícola de los Estados Unidos Mexicanos. Dirección General de Economía Agrícola, SARH.

Las semillas se han usado para la extracción de aceite esencial, como alimento para ganado y, debido a que poseen un elevado contenido proteínico y una buena distribución de aminoácidos, se ha estudiado la factibilidad de su uso para la producción de germinados. En caso del albedo de la granada china, al igual que en el de la fruta de la pasión; se ha encontrado que presenta una gran cantidad de materiales pécticos, con buena calidad comercial para su uso en la elaboración de geles con alto contenido de sólidos, por lo que podría utilizarse industrialmente para la extracción de pectinas, obteniéndolo a partir de los desechos de la industrialización de la pulpa y semilla de la fruta, promovándose con ello un aumento en el nivel de comercialización e industrialización de este tipo de frutos, beneficiándose así a los agricultores de los estados donde se produce y, por otra parte, aumentando la disponibilidad de aditivos alimentarios, como la pectina, para su uso en la industria alimentaria. ( 7,8,23 ).

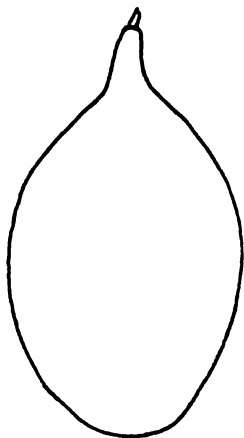
Es pues de gran importancia el estudio del aprovechamiento integral del fruto de la Granada China como fuente de una variedad de productos, algunos de los cuales, como se mencionó anteriormente, son indispensables para el desarrollo de la industria alimentaria del país, repercutiendo con esto en un mejor aprovechamiento de los recursos agrícolas del país, diversificando el uso y consumo de los frutos promoviendo el cultivo - organizado de los mismos.

## GENERALIDADES

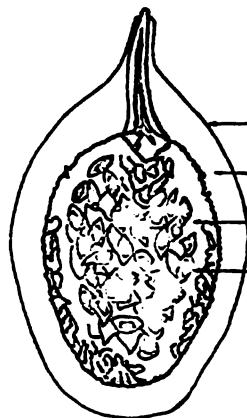
La granada china (P. ligularis) es una planta que pertenece a la familia Passifloraceae, de la cual se conocen alrededor de 390 especies. Estos vegetales se agrupan dentro de 18 géneros, incluyendo el género pasiflora, son del tipo de arbustos trepadores e hierbas, que crecen en las zonas cálidas del mundo. El género pasiflora incluye a más de 300 - especies siendo, casi todas, originarias de la zona tropical de América del Sur. De éstas, únicamente cerca de una docena ( Cuadro IV ) produce frutos y sólo las primeras siete son adecuadas para el consumo humano, las demás son consumidas y diseminadas por pájaros o son usadas para propósitos medicinales ( 7,23 ).

La información respecto a las características químicas, fisiológicas o agronómicas de la granada china ( Fig. 1 A ) es escasa y únicamente se cuenta con algunos datos acerca de la composición de la misma ( Cuadro - V ). El contenido de pectinas en el fruto, es semejante al encontrado en otros a partir de los cuales son comúnmente extraídos a nivel industrial ( Cuadro VI ). Estas sustancias, son carbohidratos que se encuentran ampliamente difundidos en la naturaleza formando parte de los tejidos de las plantas, junto con el almidón, celulosa, lignina y hemicelulosa. Son cadenas lineales formadas por unidades de ácido galacturónico, unidas por enlaces  $\alpha$  1-4 glicosídicos ( Fig. 1 B ). En la cadena principal se encuentran también, azúcares neutros como la galactosa, ramnosa, fucosa y glucosa, formando parte de ésta o como ramificaciones laterales ( 5,11,13,14 ).

FIGURA 1A



FRUTO MADURO DE LA GRANADA CHINA



PIEL 20.0%

ALBEDO 14.9%

PULPA 53.8%

SEMILLAS 11.3%

PESO DEL FRUTO 83.7 g

CORTE TRANSVERSAL Y COMPOSICION  
ANATOMICA DE UN FRUTO DE 3 MESES DE EDAD



TAXONOMIA DE LOS FRUTOS COMESTIBLES DE MAMÍFERAS (CARNÍVOROS DE LA TIERRA)

NOMBRE COMÚN	GÉNERO	CARACTERÍSTICAS DE LOS FRUTOS		MEDIDAS (CM.) DIÁMETRO x ALTURA
		Color	Textura	
FRUTA DE LA TIERRA (FRUTILLA) O CHARABOLLO (FRUTILLA)	<u>P. erinacea</u>			1,5 - 2,0
FRUTA DE LA TIERRA (FRUTILLA) O "MILITARIA"	<u>P. erinacea</u> (Fruta) o <u>P. erinacea</u> (Fruta)			
CHARABOLLO (FRUTILLA)	<u>P. erinacea</u>		Carbónica	8,0 - 10,0
GRANADILLO (FRUTILLA)	<u>P. granatensis</u>	Carbónica (Fruta)	Carbónica	3,0
CUPIA DULCE	<u>P. uruguayana</u>	Ambar (Fruta)	Elástica o Cruída	2,0 - 3,0
CALAMONCILLO (FRUTILLA) O "MILITARIA"	<u>P. malifera</u>	Ambar (Fruta)	Cebosa	1,75
FRUTA DE LA TIERRA	<u>P. mollis</u> (Fruta)	Ambar (Fruta)	Elástica-Cebosa	3,0
CHARABOLLO (FRUTILLA)	<u>P. foetida</u>		Cebosa	1
FRUTA DE LA TIERRA	<u>P. alba</u> (Fruta) y <u>Otto</u>	Ambar (Fruta)	Carbónica	1,25
CHARABOLLO O CHARABOLLO	<u>P. solanensis</u>	Ambar	Cruída	0,75
MAYOQUE	<u>P. mayo</u>	Ambar	Cruída	2,0
-----	<u>P. sp.</u>	Ambar	Cruída	1,0 - 1,25

C U A D R O V

OPORTUNIDAD DEL FRUTO DE LA GRANADA CHINA ( *P. ligularis* Juss )<sup>\*</sup>

CARACTERÍSTICAS	REFERENCIA		
	10	20	**
I. Peso del Fruto	--	--	85.7
II. Componentes del fruto			
Pulpa ( % )			53.8
Albedo ( % )			14.9
Piel ( % )			20.0
Residuo ( Semillas, etc. ) ( % )	--		11.5
Porción Comestible ( % )	46.0	--	65.2
Porción no Comestible ( % )	54.0	27.0*	51.8
III. Analisis			
Humedad ( % )	--	76.5	70.0
Extracto Etereo ( % )	1.4	2.8	0.5
Fibra Cruda ( % )	--	4.2	20.4
Azucares Totales ( % )	16.1	17.5	5.8
Proteínas ( % )	2.8	2.4	1.4
Cenizas ( % )	--	1.2	1.5
Pectinas Totales ( % )	--	--	1.6

\* Datos en base húmeda

\*\* Muñoz, B. Víctor. ( 1981 ). Cambios Fisiológicos Químicos durante el Desarrollo y Maduración de la Granada China ( *P. ligularis* Juss ) Tesis de Licenciatura. U.N.A.M.

\*\*\* Cáscara y Tallo.

CUADRO VI

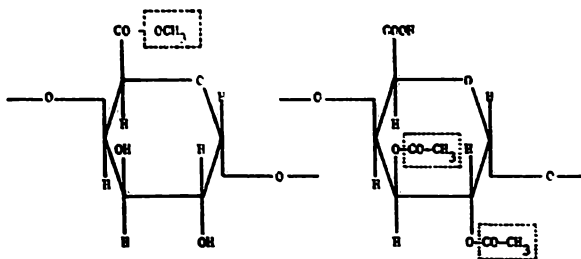
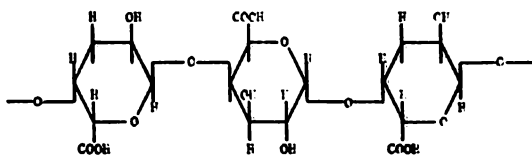
CONTENIDO DE PECTINAS EN VARIOS TEJIDOS VEGETALES <sup>28</sup>

TEJIDO	PECTINA ( % )
PAPA	2.5
TOMATE	3
MANZANA	5 - 7
BAGAZO DE MANZANA	15 - 20
ZANAHORIA	10
GIRASOL	25
PULPA DE BENOLACHA	15 - 20
ALBEDO CITRICO	30 - 55
ALBEDO DE GRANADA CHINA	30.06*

\* Dato obtenido en el presente trabajo.

**FIGURA 1B**

**CADENA DE ACIDO ANTIPO GALACTURONICO<sup>8</sup>**  
( In'aces  $\alpha$ -1,4 )



**MOLECULA ESTERIFICADA  
EN EL CARBONO 6**

**MOLECULA ACETILADA EN  
LOS CARBOSOS 2 Y 6**

Las pectinas han sido definidas, por la Sociedad Americana de Químicos, como un complejo grupo de carbohidratos derivados, con capacidad para formar coloides. Estos materiales están presentes en vegetales y contienen una gran proporción de Ácido Anhidro Galacturónico (A.A.G.) Los grupos carboxílicos de estos ácidos pueden estar parcialmente esterificados por grupos metilos, parcial o totalmente neutralizados por una o más bases y los grupos hidroxilos, de los carbonos 2 y 3, pueden presentar acetilación ( Fig. 18).

El conjunto de materiales pécticos ha sido dividido en cuatro grupos, aunque la división es muy relativa y no se tienen claramente marcadas las diferencias entre un grupo y otro, de acuerdo a las características presentadas por cada uno. Los grupos de materiales pécticos son los siguientes:

Protopectinas.- Se denomina así a los materiales pécticos insolubles en agua, que se encuentran en los tejidos vegetales en el período de crecimiento y que por hidrólisis ácida controlada dan como productos ácidos pectínicos.

Ácidos Pectínicos.- Este término ha sido empleado para designar a los ácidos poligalacturónicos con un contenido significativo de grupos metil ester. Los ácidos pectínicos son capaces de formar geles, en condiciones adecuadas, con azúcar y ácido y, si el grado de esterificación -

del polímero es adecuadamente bajo, con ciertos iones metálicos. Las sales de los ácidos pectínicos son neutras o ácidas.

Pectinas.- El término general de pectinas designa a los ácidos pectínicos solubles en agua, con un contenido de grupos metil ester y grado de neutralización variable y que son capaces de formar geles con azúcar y ácido en condiciones adecuadas.

Ácidos Pectínicos.- Esta denominación se aplica a las sustancias pectínicas esencialmente libres de grupos metálicos y con tamaños de cadena menores que el de las pectinas de los otros grupos. Las sales de estos ácidos pueden ser neutras o ácidas ( 11,13,14 ).

Las pectinas presentan propiedades físicas características debidas, en primer lugar, a los grupos carboxílicos del polímero A.A.G. pero, el comportamiento ácido, sus propiedades de viscosidad y gelificación, se ven ampliamente afectadas por el grado de esterificación de la cadena - como se puede observar en los párrafos siguientes:

El pH de las soluciones pectínicas varía desde 5.2, en pectinas casi completamente esterificadas, hasta 4.8 en ácido pectíno.

Las soluciones de pectinas completamente esterificadas no muestran cambios apreciables en la viscosidad, debidos a cambios en el pH pero, cuando

do se trata de pectinas con bajo grado de esterificación, la viscosidad depende ampliamente del pH de la solución.

Los grupos carboxílicos, al igual que el grado de esterificación del polímero, afectan las características gelificantes de las pectinas. A pH arriba de 5.5, en donde los grupos carboxilos se encuentran ionizados en un 40%, es muy difícil preparar geles "Azúcar-Pectina-Acido". Esto es aparentemente el resultado de la repulsión entre los grupos cargados negativamente. Cuando se disminuye el pH, a valores menores de 5.5, los geles pueden ser fácilmente formados y para lograrlo se requiere además, disminuir el grado de hidratación de las moléculas pecticas, lo cual se logra agregando a la solución un agente hidrofóbico como el azúcar. Esto permite a las moléculas de pectina asociarse probablemente mediante enlaces débiles, como puentes de hidrógeno, y que el gel se forme.

Otro factor importante que afecta las propiedades mencionadas anteriormente, es el peso molecular de las sustancias pecticas. Los pesos moleculares varían desde, 30 000 hasta 300 000, dependiendo de las condiciones de extracción y del material a partir del cual se extraen (11,15,14).

Las pectinas se pueden clasificar, de acuerdo al poder gelificante que posean, dentro de alguno de los siguientes grupos: Pectinas de gelificación rápida, de gelificación lenta y pectinas de bajo metoxilo.

La clasificación depende de las características de las sustancias pectícas, como son su grado de polimerización y contenido de ácido galacturónico, así como, del grado de esterificación en el polímero.

Generalmente las pectinas con un grado de esterificación de 70% o mayor, formarían geles más rápidamente o a una temperatura más alta, que las que presenten grados de esterificación entre 50 y 70%. Las pectinas con grados de esterificación menores de 50%, generalmente, no son usadas para elaborar geles con altos contenidos de sólidos, porque tienden a precipitar en medio ácido, formando geles irregulares. Este tipo de pectinas se utiliza para formar geles con iones polivalentes, principalmente calcio. En estos geles se tienen enlaces entrecruzados, debidos a uniones electrovalentes pectina-calcio ( 11,14 ).

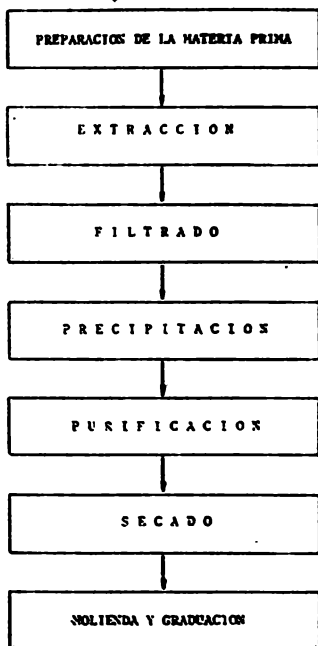
La elaboración de pectinas de bajo metoxilo y ácido pectico se lleva a cabo mediante hidrólisis controlada de pectinas de alto metoxilo, ácida o alcalina, ya que la hidrólisis enzimática produce materiales pecticos con grado variable de esterificación, al contrario de las primeras, en donde se obtienen derivados relativamente homogéneos ( 1,5,11,14 ).

A nivel industrial la producción de pectinas sigue un proceso básico (Fig. 2 ), a partir del cual se establecen las modificaciones convenientes de acuerdo al tipo de materia prima usada para la extracción. En estos procesos de obtención de pectinas, las operaciones más importantes



FIGURA 2

ETAPAS EN EL PROCESO DE ELABORACION DE PECTINAS<sup>3</sup>



son: La extracción, la precipitación y el secado, debido a la influencia que presentan sobre el rendimiento y calidad del producto por lo que en estas operaciones se han realizado una mayor cantidad de estudios con la finalidad de mejorar o diseñar nuevos procesos ( 1,5,8,23 ).

En el caso de la operación de extracción y precipitación se ha utilizado una gran cantidad de agentes extractantes y precipitantes para la obtención de pectinas, debido a que se presenta una gran variación entre los materiales pécicos obtenidos a partir de diferentes tejidos vegetales y, aún, a las variaciones en un mismo tejido a diferentes etapas de maduración ( 11,14 ).

Los agentes extractantes comunmente usados para la obten. ón de pectinas son: Acido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido cítrico, ácido oxálico, oxalato de amonio y polifosfatos. Entre los agentes precipitantes se cuentan los solventes orgánicos, como el etanol y la acetona principalmente, algunas soluciones de macromoléculas y las sales de iones polivalentes, como el calcio y el aluminio. ( 5,6,8,14,19,24 ).

#### OBJETIVO DEL TRABAJO.

Estudiar a nivel de laboratorio las condiciones de extracción y precipitación de la pectina contenida en el albedo de la granada china en esta maduro (Coronada \*), conocer las características del material obtenido bajo las mejores condiciones de proceso y observar las posibilidades de su uso en la formulación de algunos productos alimenticios.

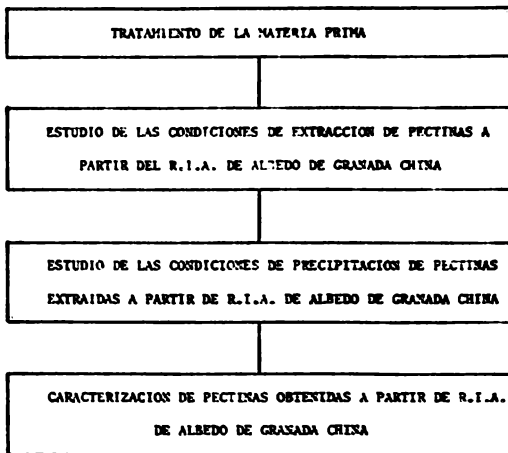
Por otra parte se busca encontrar formas de aprovechamiento del fruto y con ello promover la utilización industrial del mismo, con perspectivas de aumentar su nivel de producción y comercialización, ya que es un recurso nacional que no está siendo adecuadamente explotado debido, principalmente, al escaso conocimiento e información existente.

El trabajo pretende ser, además, un punto de partida para un estudio posterior a nivel de planta piloto y escalamiento a nivel industrial de extracción de pectinas a partir de la cáscara-albedo de la granada china, debido a que estos aditivos tienen gran importancia para la industria alimentaria del país, para la cual se deben de importar, ya que hasta la fecha la producción nacional es insuficiente para cubrir la demanda interna y la tecnología aplicada para su obtención es extranjera.

\* Los agricultores denominan así a los frutos de 2.5 a 3 meses de maduración por presentar, durante este período, una aureola amarilla alrededor del ápice.

## II. MATERIALES Y METODOS

DIAGRAMA DE TRABAJO



## 1. MATERIA PRIMA

Los frutos de Granada China ( P. ligularis ) de aproximadamente 2.5 a 3 meses de maduración, utilizados para el presente trabajo, fueron obtenidos en una huerta del poblado de Buenavista en Tenancingo del Valle, Estado de México.

Se utilizaron dos lotes de granadas, de 20 frutos (lote 1) y de 300 frutos (lote 2), respectivamente, a partir de los cuales se obtuvieron las siguientes fracciones:

Lote 1.	Fracción 1.1	Cáscara - Albedo.
	Fracción 1.2	Pulpa - Semillas.
Lote 2.	Fracción 2.1	Cáscara.
	Fracción 2.2	Albedo.
	Fracción 2.3	Pulpa - Semillas

La fracción 1.1. se empleó posteriormente para determinar las condiciones de tratamiento de la cáscara-albedo de la granada china para la estabilización de la pectina y la obtención del Residuo Insoluble en Alcohol (R.I.A.), debido a que a nivel industrial es muy difícil la separación de estos dos componentes del fruto y a que deben inactivarse las enzimas naturales de éste, las cuales degradan las pectinas presentes -

durante los períodos de transporte o almacenamiento de este material.

Por otra parte, a partir del lote número 2 se separó el albedo (fracción 2.2) para la obtención del R.I.A. necesario para las pruebas de extracción y precipitación de pectinas.

## 2. EQUIPO UTILIZADO

- Agitador Rotatorio, Lab-Line Instruments, Inc. Modelo Super Mixer ( L ).
- Balanza Analítica, Metter, Modelo H90 ( cap. 160 g. )
- Balanza Granatoria, Ohaus, Modelo 700 ( Cap. 2610 g.)
- Baño María con agitación y temperatura controlada, Grant -- Instruments, Modelo 5530.
- Bomba de vacío y presión regulables, Felisa, Modelo FE-1500.
- Espectrofotómetro UV-Visible, Bausch and Lomb, Modelo 710.
- Estufa con circulación forzada de aire y control automático de temperatura, Blue M. Electric Co., Modelo Blue M.
- Molino (Microvilley con malla 60), Thomas Willey Lab. Mill. Modelo 4.
- Molino (Microvilley con malla 60), Thomas Willey Lab. Mill. Modelo
- Mufla ( 0 - 1 000°C ), Blue M. Electric Co., Modelo Blue M.

- Parrilla de calentamiento con agitación magnética, Corning. Modelo PC-351.
- Potenciómetro ( con electrodos de  $Ag^0 / AgCl$  y de calomel ), Corning, Modelo 7.
- Termobalanza ( Balanza de humedad ), Cenco, Modelo 26680-1.
- Viscosímetro de Torsión, Brook Field, Modelo RVF.
- Viscosímetro de Otsvali de 200 cp.

### 3. TRATAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA ( 8,15,14,15,19,21,22,24,26,27 ).

#### A. DETERMINACION DEL TRATAMIENTO ADECUADO PARA OBTENER EL RESIDUO P:SO LUBLE EN ALCOHOL (R.L.A.) Y ESTABILIZAR LA PECTINA EN L. CASCARA - ALBEDO DE LA GRANADA CHINA ( P. ligularis ).

A la fracción 1.1 (Cáscara-Albedo) se le determinó el contenido de humedad y se dividió en tres partes iguales. Cada una de éstas, fue tratada a reflujo durante 20 minutos, con metanol, etanol e isopropanol -- respectivamente (Para extraer el material soluble en alcohol, azúcares, colorantes y sales minerales e inactivar las enzimas pecticas), utilizando 500 ml. de disolvente por cada 150 g de muestra. Se separó el material insoluble por filtración y se determinó el contenido de sólidos totales en cada filtrado.



El material insoluble fue prensado y se secó a 60°C, en una estufa con circulación forzada de aire, durante 3 - 5 horas, hasta tener una humedad aproximada de 7%. Las muestras secas se redujeron de tamaño, utilizando un molino (Macrowilloy) hasta hacerlas pasar por tamiz de malla 60.

A cada una de las muestras se les determinó el contenido de humedad, cenizas y pectinas, solubles y totales, determinándolas como ácido anhidro galacturónico (A.A.G.).

B. OBTENCION DEL RESIDUO INSOLUBLE EN ALCOHOL (R.I.A.) A PARTIR DEL --  
ALBEDO DE LA GRANADA CHINA.

A la fracción 2.2 (Albedo) se le determinó el contenido de humedad y -- posteriormente fue tratada con metanol, a reflujo, durante 20 minutos. El R.I.A. se separó de la solución filtrando a través de manta de nylon.

Al filtrado se le determinó el contenido de sólidos totales.

El R.I.A. se prensó y a continuación fue secado a 60°C, en estufa con circulación forzada de aire, durante 3 horas o hasta alcanzar una humedad de aproximadamente 7%. Este material fue molido hasta hacerlo pasar por tamiz de malla 60.

En el R.I.A. molido se realizaron las siguientes determinaciones:

‡ de Humedad,

‡ de Conizas

‡ de Pectinas Solubles y Totales, determinadas como A.A.G.

DETERMINACION DE HUMEDAD EN EL R.I.A. ( 15,14 ).

Se pesó un gramo de muestra, preparada en el paso anterior, en un crisol previamente puesto a peso constante y se secó a 100°C durante 60 minutos. Después de este tiempo, se dejó enfriar en un desecador y se pesó. El -- contenido de humedad, expresado en porcentaje, se calculó de la manera siguiente:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_2 - P_1}{N} \times 100$$

donde  $P_1$  Es el peso del crisol a peso constante

$P_2$  Es el peso del crisol con muestra seca.

y  $N$  Es el peso de la muestra húmeda

#### DETERMINACION DE CENIZAS EN EL R.L.A. ( 15,14 )

La muestra seca, obtenida anteriormente, se carbonizó lentamente y después se incineró en una mufla a 500 - 600°C durante 4 horas. Transcurrido este tiempo, se enfrió el crisol durante 2 minutos sobre una placa de asbesto, se colocó en un desecador para que se enfriara a temperatura ambiente y se pesó. El contenido de cenizas, expresado en porcentaje, se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_2 - P_3}{M} \times 100$$

donde  $P_3$  es el peso del crisol con cenizas.

#### DETERMINACION DE PECTINAS SOLUBLES Y TOTALES EN EL R.L.A. ( 15,14,22 )

##### Soluciones y Reactivos

1. Etanol al 95%
2. Acido Sulfúrico concentrado
3. Versens al 0.5%. Se disuelven 5 g de sal tetrasódica del Seid etilén diamino tetraacético (EDTA) en agua destilada, llevando a un volumen final de 1 000 ml.
4. Reactivo de Carbazol. Se disuelven 0.10 g de carbazol en 100 ml. de etanol purificado.

5. Acido Anhidro Galacturónico.

6. Hexametáfosfato de Sodio ( Calgen ).

Preparación de la Curva de Calibración de Acido Anhidro Galacturónico  
( A.A.G. ) ( 6 )

Se disolvieron 120,5 mg. de A.A.G. en un poco de agua destilada, se dejó reposar la solución, se le agregó 0,5 ml de hidróxido de sodio 0,1 N y se llevó a 1 000 ml en un matrón forado. La solución se agitó y se dejó en reposo durante 24 horas. Esta solución contenía 100 µg de --- A.A.G./ 1 ml. A partir de la solución patrón se prepararon soluciones que contenían: 20, 40, 60 y 80 µg de A.A.G./1 ml. La lectura de la absorbancia se efectuó, en un espectrofotómetro a 525 mμ, sobre una serie de tubos preparados, para cada concentración, de la siguiente manera:

- a). 1 ml de la solución estándar + 0,5 ml de carbazol al 0,1% en etanol absoluto + 6 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- b). 1 ml de la solución estándar + 0,5 ml de etanol absoluto + 6 ml de ácido sulfúrico concentrado.
- c). 1 ml de agua destilada + 0,5 ml de carbazol al 0,1% en etanol absoluto + 6 ml de ácido sulfúrico concentrado.

- d). 1 ml de agua destilada + 0.5 ml de etanol absoluto + 6 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Después de preparados los tubos, se agitaron y se colocaron en baño maría a 85°C durante 5 minutos. Se enfriaron en baño de hielo durante 15 minutos y se les determinó la absorbancia.

Para trazar la curva de calibración se corrigió la lectura por interferencia del carbazol y de la muestra, de la manera siguiente:

$$\text{Absorbancia de a} \quad \text{Absorbancia de b} = X$$

$$\text{Absorbancia de c} \quad \text{Absorbancia de d} = Y$$

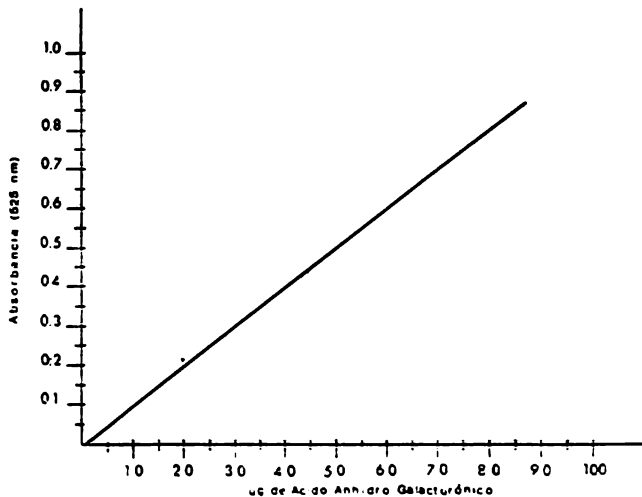
y a continuación se restó  $X - Y$  para obtener la lectura corregida para la curva de calibración ( Fig. 3 ).

#### Determinación de Pectinas Solubles en Agua en la Muestra ( 13,14,22 )

Se suspendió, en 50 ml de agua destilada, 0.1 g de R.I.A. húmeda - con un poco de etanol de 96% y se incubó la mezcla a temperatura ambiente, en baño de agua con agitación, durante 2 horas. Se filtró la suspensión y el residuo se lavó con pequeñas porciones de agua destilada, lle

**FIG. 3**

**CURVA DE CALIBRACION DE ACIDO GALACTURONICO**



vando el filtrado hasta un volumen final de 250 ml. Se tomó alícuotas de esta solución y se determinó el contenido de A.A.G., siguiendo el mismo procedimiento que en la curva de calibración.

#### Determinación de Pectinas Totales en la Muestra ( 13,14 )

Se suspendió 1.0 g de R.I.A. humedecido con etanol de 96°, en 400 ml de agua destilada y se colocó la mezcla en un recipiente tarado. Se agregó 1.2 g de hexametáfosfato de sodio ( Calgon ) molido recientemente, se ajustó el pH a 4.5 y se calentó lentamente hasta cerca de 95° mientras se agitaba. Se continuó el calentamiento a 90 - 95°C, con agitación y condiciones de reflujo, durante 60 minutos. Se adicionó 4 g de pulpa de papel molido y 1 g de sílica-diatomeas y se verificó el peso total. Se filtró rápidamente la mezcla, usando papel filtro rápido cubierto con 5 g de filtro ayala humedecido. Se colectaron 200 ml de filtrado y se enfriaron rápidamente en baño de hielo.

En el filtrado a temperatura ambiente se determinó la cantidad de pectinas extraídas, determinándose como A.A.G., de igual forma que en la curva de calibración.

Las pectinas solubles y totales se reportan como grasos de A.A.G en 100 g de R.I.A., calculándose de la manera siguiente:

$$g \text{ A.A.G.} = \frac{V}{M} \left( \frac{A + 0.0115}{0.010043} \right)^n \times 100$$

donde A es la Absorbancia de la muestra

V es el Volumen total a que se llevó la muestra

M es el peso del R.I.A. en  $\mu\text{g}$  (microgramo)

y 0.010043 y 0.0115 son la pendiente y la ordenada a concentración de cero de la curva de calibración, respectivamente.

#### 4. ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN DE PECTINAS A PARTIR DE R.I.A. DE ALBEDO DE GRANUM CHINA.

##### A. ESTUDIO DEL EFECTO DEL TIPO DE AGENTE EXTRACTANTE, DE SU CONCENTRACION Y DE LA TEMPERATURA DE EXTRACCIÓN ( 8,14,15,15°,21,24,25 )

El R.I.A. obtenido en el paso anterior se utilizó para estudiar las condiciones de extracción de pectinas, usando los siguientes agentes extractantes:

**Agua Destilada**

\* Este factor de la fórmula posee unidades de concentración ( $\mu\text{g}$  A.A.G. por ml de solución), debido a que se obtuvo a partir de la ecuación que describe a la curva de calibración ( $A = 0.010043 C - 0.0115$ ).



ACIDO ACETICO	ACIDO CLORHIDRICO	ACETATO DE SODIO
ACIDO OXALICO	ACIDO SULFURICO	Y
ACIDO CITRICO	ACIDO FOSFORICO	OXALATO DE AMONIO

a concentraciones de 0.01 N, 0.10 N, 0.25 N, y 0.50 N. Las temperaturas de extracción fueron de 30, 50, 70 y 95°C, manteniendo condiciones de reflujo y agitación, durante un periodo de tiempo de 30 minutos. Se utilizó una relación de 50 mg de R.L.A. por 250 ml de solución extractante.

Al finalizar la extracción se enfrió la mezcla a temperatura ambiente con agua y se filtró a través de papel filtro.

B. ESTUDIO DEL EFECTO DEL TIEMPO Y DE LA CARGA DE EXTRACCIÓN (Relación de Masa de R.L.A./ Volumen de Solución Extractante) USANDO LAS TRES MEJORES COMBINACIONES EN CONDICIONES ENCONTRADAS EN EL ESTUDIO ANTERIOR ( 1,13,14,15,21,24,27 ).

Para realizar el estudio del efecto del tiempo y la carga de extracción se eligieron, a partir del estudio anterior, las condiciones en que se presentaba un mayor grado de extracción de pectinas. Estas condiciones fueron las siguientes:

**Solución 0.5 N de Acido Clorhídrico a 95°C**

**Solución 0.25 N de Acido Cítrico a 95°C**

**Solución 0.1 N de Acetato de Sodio a 95°C**

En la determinación del tiempo óptimo de extracción se trabajó con una carga de 50 mg de R.I.A. por 250 ml de solución, en condiciones de reflujo y con agitación, tomando muestras a 15, 30, 60, 90 y 120 minutos de extracción. Estas se enfriaron hasta temperatura ambiente en un baño de hielo y se filtraron a través del papel filtro.

Para conocer la relación (Masa/Volumen) óptima, se efectuó la extracción fijando el tiempo, 30 minutos, y variando la cantidad de R.I.A. ( 20, 50, 100, 500 y 1 000 mg ) agregada a 100 ml de solución extractante. Después de terminada la extracción, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, utilizando un baño de hielo y se filtró a través de papel filtro.

En cada uno de los filtrados se determinó la cantidad de pectinas extraídas, determinándolas como A.A.G., de igual forma que en la curva de

calibración.

La cantidad de pectinas extraídas se reporta como por ciento de A.A.G./  
100 g de R.I.A., calculándose de la siguiente manera:

$$\% \text{ A.A.G.} = \frac{V}{M} \left( \frac{A + 0.0115}{0.010043} \right) \times 100$$

A es la absorbancia de la muestra

V es el volumen total a que se llevó la muestra

M es el peso del R.I.A. en  $\mu\text{g}$

y 0.010043 y 0.0115 son la pendiente y la ordenada a concentración de cero de la curva de calibración, respectivamente.

#### 5. ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE PRECIPITACION DE PECTINAS EXTRAIDAS

A PARTIR DE R.I.A. DE ALREDO DE GRANAPA CHINA. ( 5,8,15,14,16,24,26,27).

Para realizar las pruebas de precipitación se efectuaron tres extracciones de pectina, usando:

A. Acetato de Sodio 0.1 N

B. Acido Cítrico 0.25 N

y C. Acido Clorhídrico 0.5 N

Se utilizó una relación de 1.0 g de R.I.A. por 100 ml de solución extractante, realizando la extracción a 93°C, en condiciones de reflujo y agitación, durante 30 minutos. Al cabo de este tiempo, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, utilizando agua corriente, y se filtró por manta de nylon y a continuación por papel filtro.

En cada uno de los filtrados se determinó la cantidad de pectina extraída, determinándola como A.A.G., de igual manera que en la curva de calibración.

Como agentes precipitantes se utilizaron:

- a. Etanol de 96°
- b. Acetona ( grado reactivo )
- c. Cloruro de Calcio ( Solución 1 molar )
- d. Cloruro de Aluminio ( Solución 1 molar ).

Se tomaron 16 alícuotas, de 45 ml cada una, de cada filtrado y se les agregó precipitante en las siguientes proporciones:

Etanol de 96 °	15, 30, 45 y 60 ml
Acetona ( G.R. )	15, 30, 45 y 60 ml
Cloruro de Calcio ( I N )	1.5, 3.0, 6.0 y 12.0 ml
y Cloruro de Aluminio ( I N )	1.5, 3.0, 6.0 y 12.0 ml

Después, se agitó la mezcla, se dejó reposar durante 30 minutos y se filtró a través de papel filtro, previamente puesto a peso constante, aplicando vacío hacia el final de la filtración.

Los precipitados se secaron y se pusieron a peso constante en una termobalanza.

El porcentaje de material pectico precipitado se calculó de la manera siguiente:

$$\% \text{ Pectina} = \frac{( P_2 - P_1 ) \times 100}{45 \text{ ml} \times 0.01 \text{ g RIA/ml}}$$

donde  $P_1$  es el peso del papel filtro

$P_2$  es el peso del papel filtro con pectina seca

45 ml es la alícuota del filtrado

y 0.01 g de R.I.A. / ml es la relación de 1.0 g de R.I.A. por 100 ml de solución.

6. CARACTERIZACION DE LAS PECTINAS OBTENIDAS A PARTIR DEL R.I.A. DE ALBEDO DE GRANADA CHINA BUJO LAS "MEJORES" CONDICIONES DE EXTRACCION Y PRECIPITACION ( 11,13,14,21 ).

Para efectuar las pruebas de caracterización fueron obtenidos tres tipos de pectina de la manera siguiente:

A. PECTINA EXTRAIDA CON ACIDO CITRICO Y PRECIPITADA CON ETANOL

La pectina se extrajo con una solución 0.25 N de ácido cítrico, en condiciones de reflujo y agitación, a 95°C, durante 30 minutos y utilizando una relación de 1.0 g de R.I.A. por 100 ml de solución. La mezcla de extracción fue enfriada a temperatura ambiente y se filtró por manta de nylon y después por papel filtro.

Para precipitar la pectina se adicionó etanol de 96° al filtrado, en una

relación de 1:3 ( V / V ).

**B. PECTINA EXTRAIDA CON ACETATO DE SODIO.**

La pectina se extrajo con una solución 0.1 N de acetato de sodio, en condiciones de reflujo y agitación, a 95°C, durante 30 minutos y utilizando una relación de 1.0 g de R.I.A. por 100 ml de solución. La mezcla de extracción fue enfriada a temperatura ambiente y se filtró por manta de nylon y después por papel filtro. El filtrado se dividió en dos porciones iguales: B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>.

La precipitación de la pectina se realizó de la siguiente manera:

- a. Al filtrado B<sub>1</sub> se le agregó etanol de 96°, en una relación de 1:1 ( V / V ).
- b. Al filtrado B<sub>2</sub> se le agregó solución de cloruro de aluminio ( 1 N ), en una relación de 45:2 ( V / V ).

obteniéndose de esta forma, las pectinas B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>

Después de agregar el agente precipitante, se agitaron las mezclas y se dejaron en reposo durante 30 minutos. Al cabo de este tiempo, se agitaron y se filtraron por manta de nylon.

Los precipitados se prensaron manualmente, se lavaron tres veces con etanol al 50% y finalmente con etanol de 96%, utilizando en todos los casos 600 ml de disolvente. A continuación, los precipitados fueron secados a 50°C, en estufa con circulación forzada de aire, durante 3 - 5 horas. Las muestras secas fueron molidas hasta hacerlas pasar por tamiz de malla 60 .

A estas muestras de pectina se les realizó las siguientes determinaciones:

- 1 de Humedad
  - 1 de Cenizas
  - 1 de Acido Anhidro Galacturónico
  - 1 de Motaxilo
  - 1 de Esterificación
- y Viscosidad Relativa ( Para conocer el Grado de Gelificación aproximado de las pectinas ).



#### DETERMINACION DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN PECTINAS ( 13,14 )

Se pesó 1.0 g de muestra, previamente molida hasta malla 60, en un pesafiltros a peso constante y se secó a 100°C durante 4 horas. Después de este tiempo, se colocó en un desecador, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó.

El contenido de humedad, expresado en porcentaje, se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_2 - P_1}{M} \times 100$$

donde  $P_2$  es el peso del pesafiltro con muestra húmeda

$P_1$  es el peso del pesafiltro con muestra seca

$M$  es el peso de la muestra de pectina húmeda

#### DETERMINACION DE CENIZAS EN PECTINAS ( 13,14 )

Se pesó de 1 - 2 g de material pectico, molido hasta malla 60, en un crisol previamente puesto a peso constante y se incineró lentamente.

A continuación se calcinó a 600°C durante 4 horas en una mufla, se enfrió por 2 minutos sobre una placa de asbesto y se colocó en un desecador. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó.

El contenido de cenizas, expresado en porcentaje, se calculó de la siguiente forma:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{C_2 - C_1}{M} \times 100$$

donde  $C_2$  es el peso del crisol con cenizas

$C_1$  es el peso del crisol sólo

y  $M$  es el peso de la muestra

#### DETERMINACIÓN DE ÁCIDO ANHIDRO GALACTÓNICO EN MATERIALES PÉCTICOS

( 13,14,17,19,22 ).

Se suspendió 100 mg de pectina, previamente húmedada con un poco de etanol de 96% en 100 ml de agua destilada y se calentó la mezcla a ebullición, con agitación constante, hasta la completa disolución del material. Esta solución se diluyó 1:20 para efectuar la lectura espectro-

fotométrica.

La cantidad de Acido Anhidro Galacturónico (A.A.G.) se determinó de igual forma que en la curva de calibración.

El contenido de A.A.G., expresado en por ciento, se calculó de la manera siguiente:

$$\% \text{ A.A.G.} = \frac{V \times D}{N} \left( \frac{A + 0.0115}{0.010043} \right) \times 100$$

donde A es la Absorbancia de la muestra

V es el Volumen en que se disolvió la muestra

D es la Dilución a que se llevó la muestra para efectuar la lectura espectrofotométrica.

0.010043 y 0.0115 es la pendiente y la ordenada a cero de concentración de la curva de calibración, respectivamente .

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE METOXILO Y DEL GRADO DE ESTERIFICACION  
( 9,13,14 )

Se disolvió 1.0 g de material péctico en un poco de agua destilada,

excenta de  $\text{CO}_2$ , se diluyó a 200 ml y se colocó en un matrón erlenmeyer con tapón, para proteger a la solución del aire.

El pH de la solución se ajustó a 7.5 agregando hidróxido de sodio 0.1N. A continuación, se agregó un exceso de hidróxido de sodio 0.5 N (25 ml), para saponificar los grupos carboxilos del A.A.G., la solución se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 2 horas en un frasco tapado. Al término de este tiempo, se adicionó 25 ml de ácido clorhídrico 0.5 N (o una cantidad equivalente a la base agregada) y se tituló hasta pH de 7.5 con hidróxido de sodio 0.1 N.

El contenido de metoxilo, expresado en por ciento, se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ Metoxilo} = \frac{\text{meq de NaOH} \times 31}{\text{Peso Muestra en mg}} \times 100$$

donde 31 es el peso molecular del metoxilo expresado en mg por meq.

El por ciento de Esterificación o Grado de Esterificación se calculó de la forma siguiente:

$$\% \text{ Esterificación} = \frac{176 \times \% \text{ MeO}}{31 \times \% \text{ A. A. G.}} \times 100$$

donde 176 es el peso molecular del Acido Anhidro Galacturónico  
(A.A.G.) expresado en mg por meq.

y % MeO es el por ciento de metoxilo

DETERMINACION DE LA VISCOSIDAD RELATIVA Y DEL GRADO DE GELIFICACION  
( 4,13,14 )

Se preparó una solución de pectina al 0.5 ó 1.0 % suspendiendo la muestra, previamente humedecida con un poco de etanol de 96%, en agua a temperatura ambiente y calentando, con agitación, hasta ebullición. Se continuó este calentamiento por unos minutos más, se enfrió la solución a temperatura ambiente y se llevó a volumen. Se ajustó el pH de la solución a 2.5 con ácido clorhídrico 0.1 N y se colocó en baño maría a 26°C.

Se determinó el tiempo de flujo de la solución utilizando un viscosímetro de Otsvall de 200 cp.

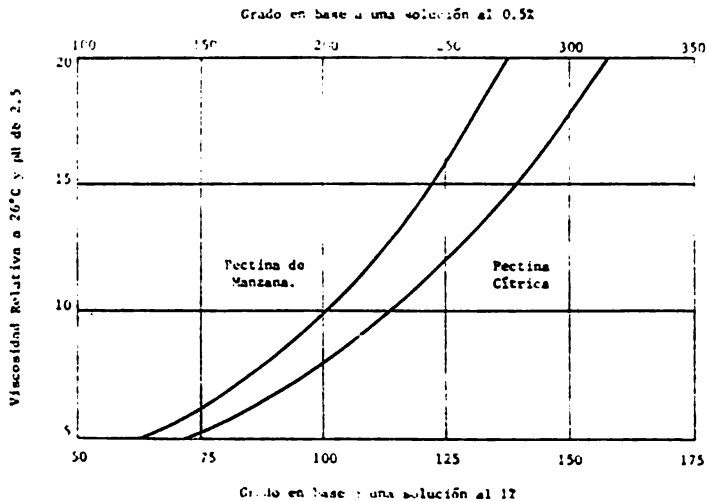
La viscosidad relativa se calculó dividiendo el tiempo de flujo de la solución de pectina entre el tiempo flujo de agua pura a la misma temperatura.

El grado de gelificación aproximado para las muestras de pectina, se determinó por interpolación, de los valores de viscosidad relativa, en las curvas de la figura 4\* . Los resultados se reportan como el promedio entre los valores de las dos curvas.

\* Estas curvas fueron trazadas en base a estudios realizados sobre pectina cítrica y de manzana. Para pectina de Granada China (*P. ligularis*) no se cuenta con este tipo de información, por lo que se usaron las curvas anteriores para conocer de manera aproximada su grado de gelificación.

FIGURA 4

GRADOS APROXIMADOS PARA PECTINA DE MANZANA DETERMINADOS  
 EN BASE A SU VISCOSIDAD RELATIVA<sup>14</sup>



### III. RESULTADOS Y DISCUSION



Los estudios de extracción, precipitación y caracterización de la pectina contenida en el albedo de la granada china se llevaron a cabo en frutos en estado maduro, de 2,5 a 3 meses de edad. Los resultados son presentados en cuadros con los valores promedio de las tres determinaciones realizadas, con sus gráficas correspondientes, para poder observar más claramente los efectos de cada uno de los parámetros estudiados.

Primeramente se realizó un estudio previo sobre la cáscara-albedo de la granada china (*P. liguularis*), con el fin de conocer el tratamiento adecuado para estabilizar la pectina. Se utilizaron tres disolventes; metanol, etanol e isopropanol, de los cuales se eligió el tratamiento a reflujo con metanol, debido a que es el que extrae mayor cantidad de sustancias solubles y coloridas y aunque se presenta una menor proporción de pectinas solubles y totales en el R.I.A., con respecto a los otros dos, esta diferencia es mínima ( Cuadro VII ).

El albedo de la granada china fue separado en forma manual y se trató con metanol a reflujo para la obtención del R.I.A., el cual se utilizó posteriormente para las pruebas de extracción, precipitación y caracterización de la pectina. Las características del R.I.A. obtenido se muestran en el Cuadro VIII.

CUADRO VII

CARACTERISTICAS DEL RIA Y EXTRACTOS OBTENIDOS A PARTIR DE DIFERENTES TRATAMIENTOS PARA ESTABILIZAR LA PECTINA EN LA CASCARA-ALBEDO DE LA GRANADA CHINA ( Punica granatum ) .

DISOLVENTE	EXTRACTO				RÍO	
	CONCENTRACION	INDICE DE PECTINA	INDICE DE PECTINA	INDICE DE PECTINA	INDICE DE PECTINA	INDICE DE PECTINA
ETANOL	5.11	4.24	1.73	6.50		5
ETANOL						2
ISOPROPANOL	5.62	4.10	1.95	6.40	0.9	3

\* La escala de calificación del color se fijó tomando el valor de 1 para el agua destilada y el de 5 para el extracto con el color más intenso.

CUADRO VIII

CARACTERÍSTICAS DEL RIA OBTENIDO A PARTIR DE ALBEDO DE  
GRANADA CHINA ( P. ligularis ) POR TRATAMIENTO CON METANOL

	HUMEDAD ( % )	CENIZAS ( % )	PECTINAS	
			SOLUBLES ( % )	TOTALES ( % )
RIA	6.06	8.39	5.24	28.80

El contenido de pectinas en el albedo del fruto ( Cuadro IX ) indica una buena disposición para su obtención a nivel industrial, conjuntamente con el aprovechamiento de la pulpa para la elaboración de jugos, néctares o conservas o algunos otros productos de manera que se tenga siempre una buena disponibilidad del material.

Las pruebas de extracción muestran el efecto de la temperatura de proceso sobre la cantidad de pectina extraída, encontrándose en todos los casos, que al aumentar la temperatura se incrementa el porcentaje de extracción (Cuadro X a XII, Fig. 5 a 12 ), debido principalmente al aumento en la solubilidad del material pectico.

En los resultados obtenidos con los diferentes agentes extractantes ( Cuadro XIII ), se encontró que con todos los ácidos utilizados se presenta la tendencia a aumentar el grado de extracción conforme, dentro de su grupo, presenta un pH menor en solución, aunque se observan algunas excepciones, lo cual pudiera deberse a otro tipo de efectos, causados por el peso molecular del ácido, por el tipo de componentes de la molécula, la conformación de la misma y además, a causa de error experimental.

C U A D R O I X

CONTENIDO DE PECTINAS TOTALES EN EL FRUTO Y ALBIDO  
( Y RIA PREPARADO A PARTIR DE ESTE ) DE GRANADA CHINA ( P. Tigraria's )

	MOJADO ( % )	PECTINAS TOTALES	
		BASE HUMIDA ( % )	BASE SECA ( % )
FRUTO	76.31	0.79	3.33
ALBIDO	83.00	5.11	30.06
RIA	6.06	28.80	30.06

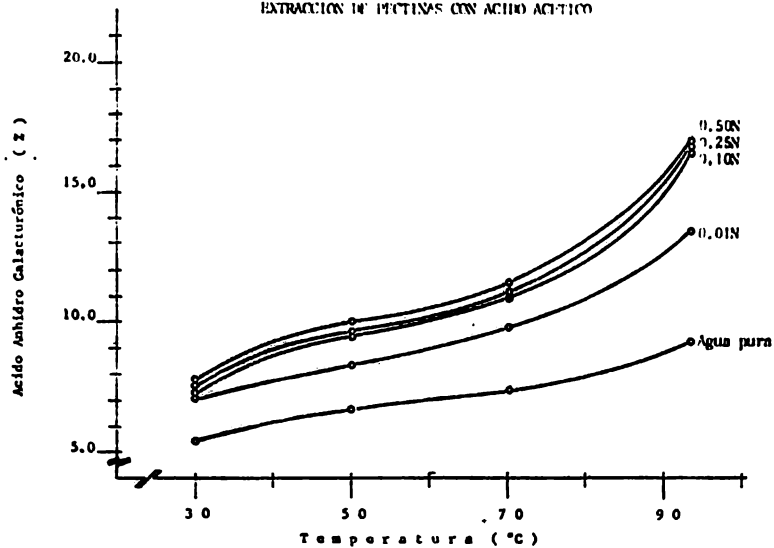
C U A D R O X

GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO ACETICO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES  
( % )

CONCENTRACION ( N )	p H	T E M P E R A T U R A ( ° C )			
		3 0	5 0	7 0	9 5
0.01	3.40	7.00%	8.50%	9.61%	13.55%
0.10	2.85	7.22%	9.50%	10.80%	16.40%
0.25	2.70	7.19%	9.60%	10.96%	16.72%
0.50	2.55	7.75%	9.91%	11.51%	16.88%
AGUA PURA	5.80	5.34%	6.61%	7.21%	9.11%

FIG. 5

EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO ACETICO



**C U A D R O X I**

**GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO OXALICO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES**

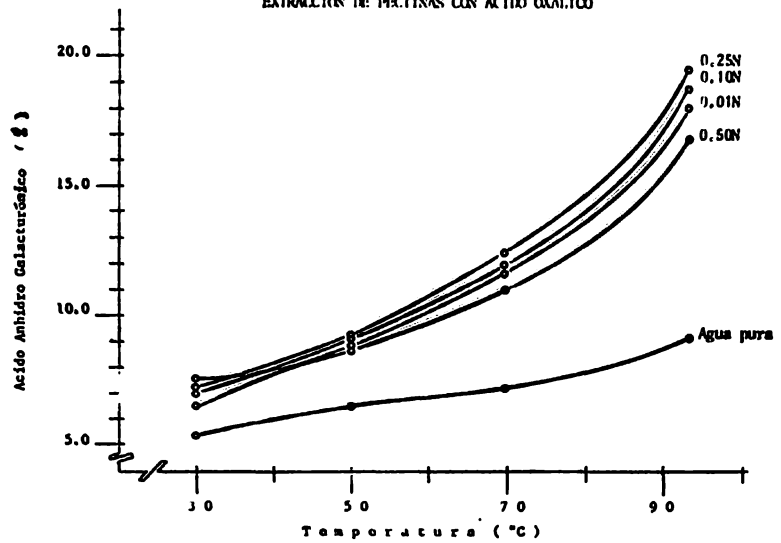
**( % )**

CONCENTRACION ( N )	p H	T E M P E R A T U R A ( :2°C )			
		3 0	5 0	7 0	9 5
0.01	2.47	6.45%	8.89%	11.75%	18.07%
0.10	1.65	7.05%	9.08%	11.90%	18.91%
0.25	1.35	7.22%	9.29%	12.45%	19.45%
0.50	1.06	7.50%	8.65%	11.05%	16.90%
AGUA PURA	5.80	5.34%	6.61%	7.23%	9.11%



FIG.

EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO OXALICO



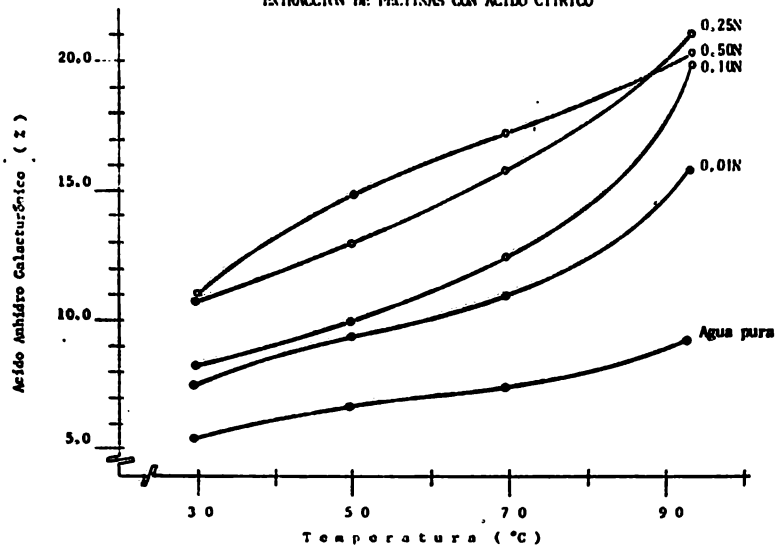
**C U A D R O X I I**

**GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO CITRICO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES  
( % )**

CONCENTRACION ( N )	p H	T E M P E R A T U R A ( ° C )			
		3 0	5 0	7 0	9 3
0.01	2.43	7.40%	9.24%	10.79%	15.80%
0.10	2.33	8.10%	9.90%	12.25%	19.67%
0.25	2.10	10.80%	13.25%	15.60%	20.90%
0.50	1.95	10.85%	14.85%	17.00%	20.10%
AGUA PURA	5.80	5.34%	6.61%	7.21%	9.11%

FIG. 7

EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO CITRICO



**C U A D R O X I I I**

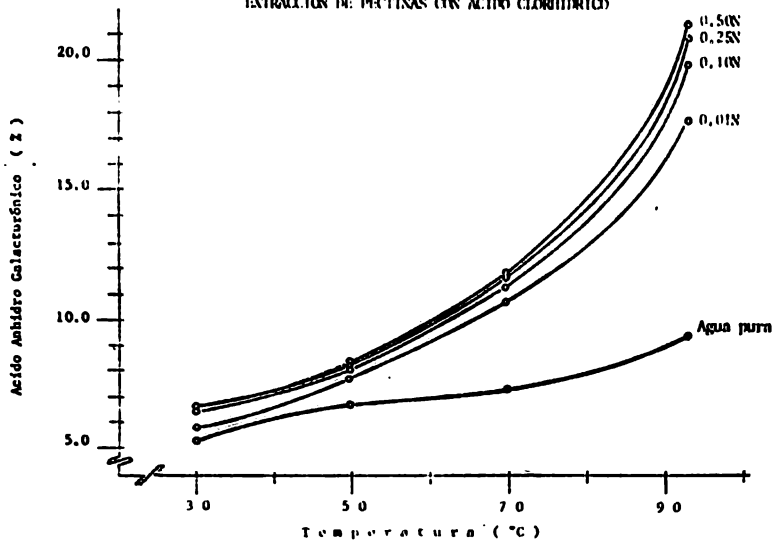
**GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO CLORHIDRICO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES**

**( % )**

CONCENTRACION ( N )	p H	TEMPERATURA ( ±2°C )			
		3 0	5 0	7 0	9 5
0.01	2.00	5.80%	7.60%	10.60%	17.50%
0.10	1.10	6.50%	8.07%	11.18%	19.65%
0.25	0.70	6.61%	8.17%	11.48%	20.74%
0.50	0.40	6.61%	8.22%	11.55%	21.20%
AGUA PURA	5.80	5.34%	6.61%	7.21%	9.11%

FIG. 8

EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO CLORHIDRICO



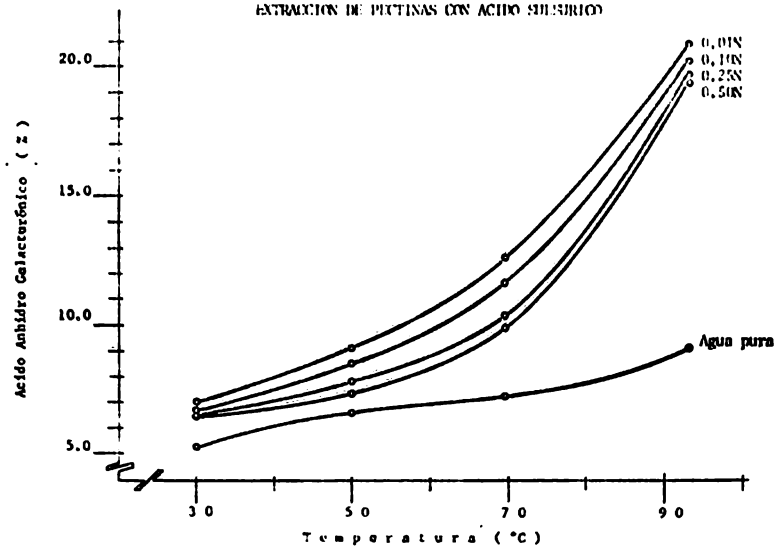
**C U A D R O X I V**

**GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO SULFURICO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES  
( % )**

CONCENTRACION ( H )	p H	T E M P E R A T U R A ( + 2 ° C )			
		3 0	5 0	7 0	9 3
0.01	2.28	7.10%	9.18%	12.60%	20.98%
0.10	1.45	6.70%	8.55%	11.70%	20.20%
0.25	0.85	6.60%	7.85%	10.35%	19.85%
0.50	0.61	6.50%	7.35%	9.90%	19.40%
AGUA PURA	5.80	5.34%	6.61%	7.21%	9.11%

FIG. 9

EXTRACION DE PECTINAS CON ACIDO SULFURICO



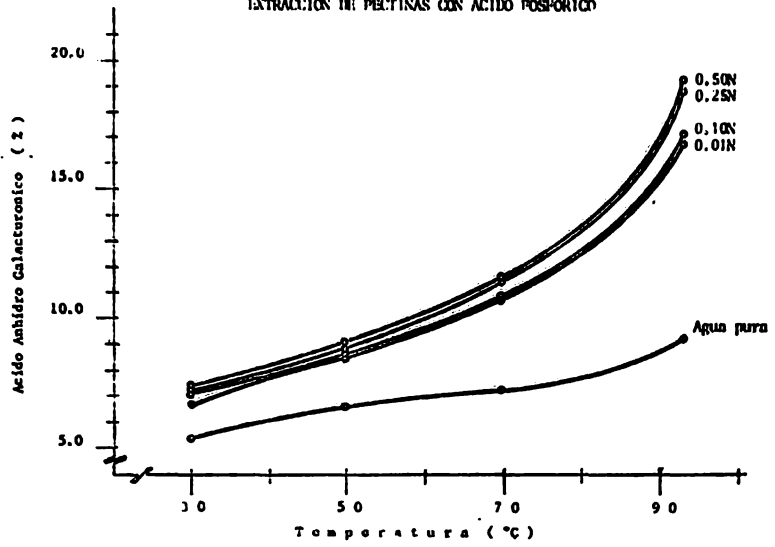
**C U A D R O X V**

**GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO FOSFORICO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES  
( % )**

CONCENTRACION ( N )	p H	T E M P E R A T U R A ( ° C )			
		3 0	5 0	7 0	9 3
0.01	2.78	6.60%	8.55%	10.75%	16.80%
0.10	2.00	7.09%	8.62%	10.89%	17.04%
0.25	1.78	7.26%	8.85%	11.45%	18.90%
0.50	1.40	7.43%	9.15%	11.60%	19.25%
AGUA PURA	5.80	5.34%	6.61%	7.21%	9.11%



EXTRACCION DE PECTINAS CON ACIDO FOSFORICO



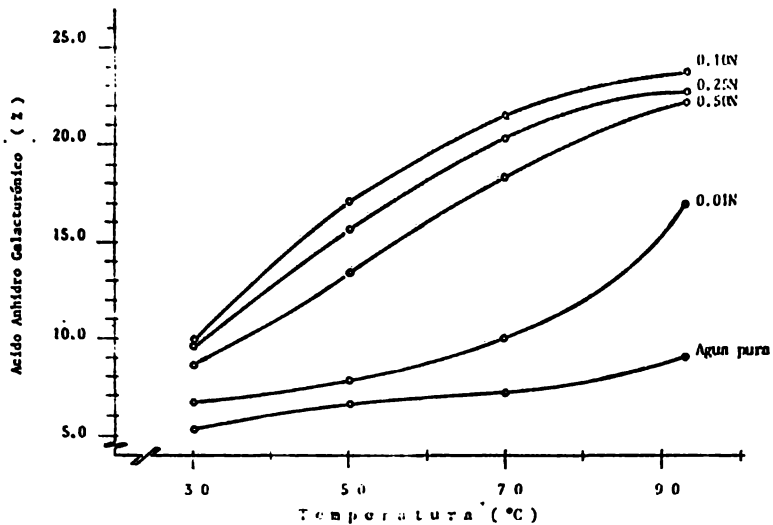
**C U A D R O X V I**

**GRADO DE EXTRACCION DE FECTINAS CON ACETATO DE SODIO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES  
( % )**

CONCENTRACION ( N )	p H	T E M P E R A T U R A ( ±2°C )			
		3 0	5 0	7 0	9 5
0.01	7.20	6.66%	7.82%	10.00%	17.05%
0.10	7.60	9.88%	17.00%	21.51%	23.70%
0.25	7.90	9.59%	15.55%	20.10%	22.71%
0.50	8.10	8.75%	13.40%	17.98%	22.20%
AGUA PURA	5.80	5.34%	6.61%	7.21%	9.11%

FIG. 11

EXTRACCION DE PECTINAS CON ACETATO DE SODIO



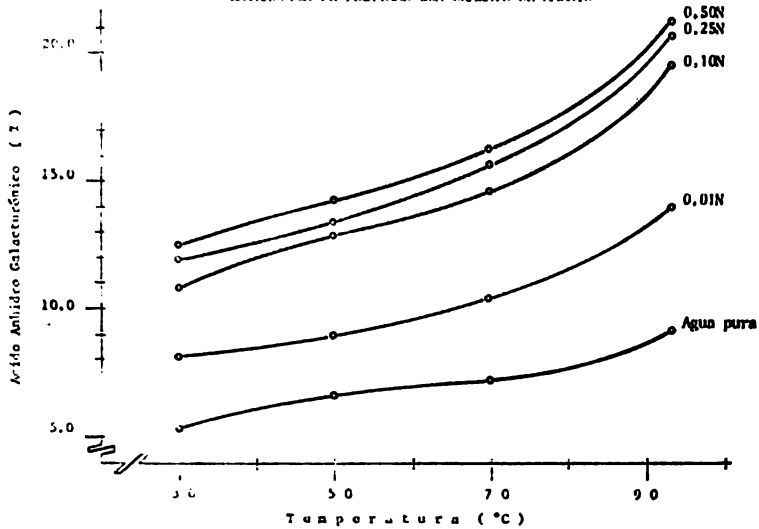
C U A D R O X V I I

GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS CON OXALATO DE AMONIO A  
DIFERENTES CONCENTRACIONES  
( % )

CONCENTRACION ( N )	p H	T E M P E R A T U R A ( ±2°C )			
		3 0	5 0	7 0	9 3
0.01	5.70	8.12%	8.94%	10.50%	13.92%
0.10	6.00	10.88%	12.90%	14.56%	19.50%
0.25	6.25	11.90%	13.34%	15.68%	20.65%
0.50	6.50	12.50%	14.23%	16.20%	21.20%
AGUA PURA	5.50	5.34%	6.61%	7.21%	9.11%

F I G . 1 2

EXTRACCION DE PECTINAS CON OXALATO DE AMONIO



CUADRO VIII

GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS A 93°C DURANTE 20 MINUTOS  
(%)

GRUPO	AGENTE EXTRACTANTE	CONCENTRACION (N)							
		0.01	pH	0.10	pH	0.25	pH	0.50	pH
I	ACIDO ACETICO	10.35%	3.40	15.40%	2.55	15.72%	2.70	16.88%	2.55
	ACIDO OXALICO	18.07%	2.47	18.91%	2.55	19.45%	2.35	16.90%	1.08
	ACIDO CITRICO	15.80%	2.43	19.57%	2.33	20.90%	2.10	20.10%	1.95
II	ACIDO CLORHIDRICO		2.00	19.65%	2.10	20.74%	0.70	21.20%	0.40
	ACIDO SULFURICO	20.50%	2.25	20.20%	2.45	19.85%	0.05	19.40%	0.61
	ACIDO FOSFORICO	16.57%	2.75		2.00	19.90%	2.78	19.25%	2.40
		17.05%	2.20	23.70%	2.50	22.71%	2.90	22.20%	2.10
		19.40%	2.77		6.00	20.65%	6.25	21.20%	6.50

de la  
el 11  
estructura de

(Grupo III) se ob:

En este caso se tiene el factor  
respecto a todas las sales;  
observar que a es

11, lo cual genera

11, 15, 11, 25

del Grupo II  
sido, tráfico

la 11

de at

estructura de parte

de entre el o la de unión

estructura de pectinas, lo cual indica que las

una serie de elementos al tipo de compuesto, que están afectando la estructura y que ésta, no puede estudiarse únicamente en base

al pH de las soluciones, sino que, deben tomarse en cuenta las características propias de cada sustancia. Esto es necesario para poder elegir qué casos a las concentraciones se tienen mejores porcentajes de extracción con algunos agentes y de otros no, aun en la extracción por coacción. En la extracción por coacción no hay una gran diferencia. Este último es de gran importancia ya que se observa que se pueden tener mejores extracciones, con una escasa diferencia en el grado de extracción, lo cual a nivel industrial puede representar una disminución en los costos de producción.

En el estudio sobre el efecto de la carga de extracción, se encontró que la Relación Masa de R.L.A. por volumen de solución, tiene un efecto muy marcado sobre el grado de extracción de pectina, teniendo una extracción óptima a un grado de extracción de 100 g/l, antes y después del cual, el porcentaje de pectina extraída disminuye significativamente ( Cuadro XIX, Fig. 15 ). En el primer caso, debido a la escasa cantidad de R.L.A., y en el segundo, a la saturación de la solución con materiales pectínicos solubilizables. En este caso, el agente aumenta la cantidad de R.L.A. por unidad de volumen, la extracción tiende a hacerse constante, como puede verse en la figura, debido a la incapacidad de la solución para extraer más pectina. ( 15,24 ).



CUADRO 117

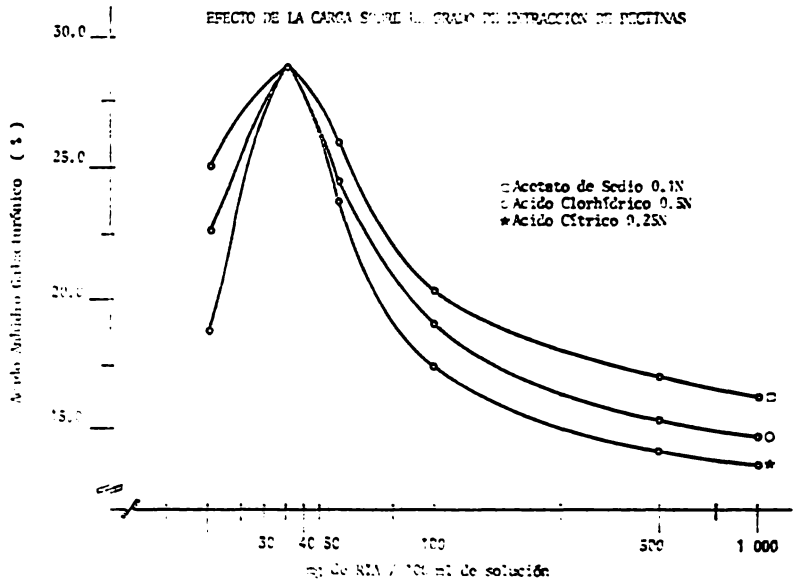
EFECTO DE LA CARGA SOBRE EL GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS

( 1 )

Gr. de RIA 100 ml. de solución	SOLUCION EXTRACTANTE		
	ACIDO CLORHIDRICO ( 0.5N )	ACIDO CITRICO ( 0.25N )	ACETATO DE SODIO ( 0.1N )
20.0	22.54%	18.80%	25.00%
35.0*	28.80%	28.80%	28.80%
50.0	24.40%	23.75%	26.09%
100.0	19.05%	17.40%	20.25%
500.0	15.40%	14.25%	17.00%
1000.0	14.75%	13.60%	16.20%

\* Extracción hecha sobre el contenido total de pectinas en el RIA.

EFFECTO DE LA CARGA SOBRE EL GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS



En el caso, en el mejor de los casos, la cual, el establecimiento, se encuentra, los recursos, el total de la vela de \$ 100 ( 10 ).

En los casos ( 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100 )

En el caso, en el mejor de los casos, la cual, el establecimiento, se encuentra, los recursos, el total de la vela de \$ 100 ( 10 ).

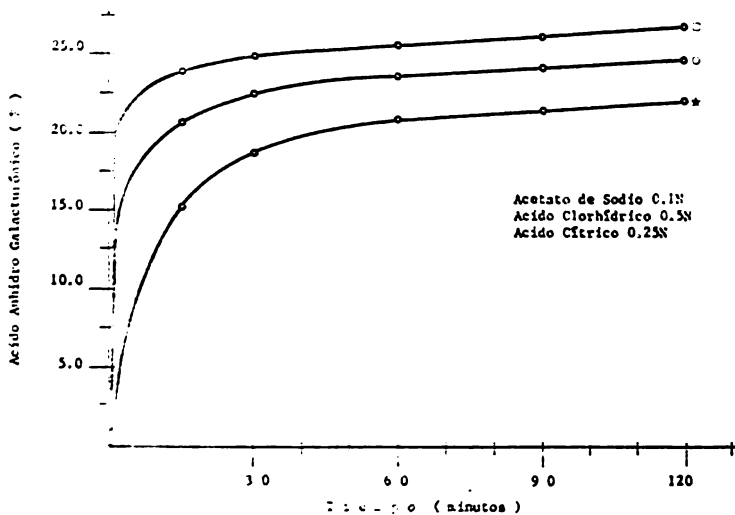
EXPERIMENTO

EFFECTO DEL TIEMPO SOBRE EL GRADO DE EXTRACCION

TIEMPO ( Minutos )	SOLUCION EXTRAIDA		
	1. HIGUANERO	ACIDE CITRICO	ACETATO DE SODIO ( 0.1N )
	0.7	0.150	1.050
		18.800	
	23.630	21.900	
90	24.230		

FIG. 12

EFECTO DEL TIEMPO SOBRE EL GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS



CUADRO XXI

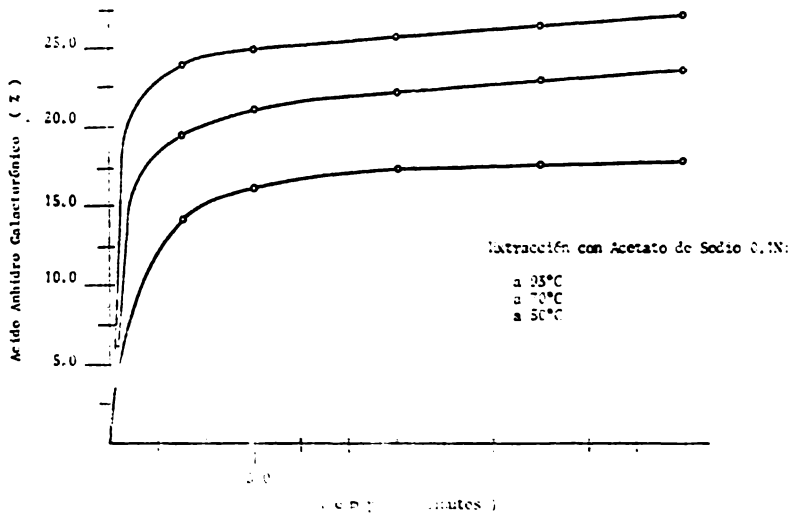
EFFECTO DEL TIEMPO SOBRE EL GRADO DE EXTRACCION DE PECTINAS CON ACETATO DE SODIO 0.1N

( % )

TIEMPO ( Minutos )	TEMPERATURA DE EXTRACCION ( ±2°C )		
	5 0	7 0	9 3
1 5	14.30%	19.55%	24.05%
3 0	15.75%	20.90%	25.00%
6 0	17.15%	22.35%	25.55%
9 0	17.35%	22.70%	26.15%
1 2 0	17.65%	23.35%	26.85%

FIG. 15

EFFECTO DEL TIEMPO EN EL RENDIMIENTO DE EXTRACCION DE PECTINAS



Los resultados de las pruebas de precipitación se muestran en los cuadros XIII a XXIV, Figuras 16 a 19. En el extracto con ácido cítrico, así como en el de ácido clorhídrico, no se observó precipitación con iones polivalentes ( Calcio y Aluminio ), lo cual sugiere la inexistencia de pectinas de bajo retículo. Por otra parte, la adición de etanol o acetona provoca precipitación de pectinas, teniéndose igualdad de resultados en cuanto a la capacidad de precipitación de estos disolventes en cada uno de los extractos ( 1,3,5,8,14,21,27 ).

En particular, las cantidades de pectinas en el extracto con ácido cítrico son muy bajas, esto pudiera deberse a que se arrastran, junto con el material pectico, otro tipo de coqueatos y almidones por las finas de R.I.A. presentadas en la muestra, ya que no pueden ser removidos durante la filtración debido a la elevada viscosidad de la solución.

Cabe mencionar que el trabajo se realizó con R.I.A. molido hasta malla 60, lo cual provoca que en los extractos se tenga una gran cantidad de finos en suspensión. Este material no puede ser removido por filtración, de hecho dificulta esta operación y además puede ser fuente de error. Por esto, es recomendable efectuar el trabajo con partículas de mayor tamaño, de ser posible hojuelas, con las cuales se facilite la operación de filtración y no se afecte demasiado el grado de extracción ( 14,24,27 ).

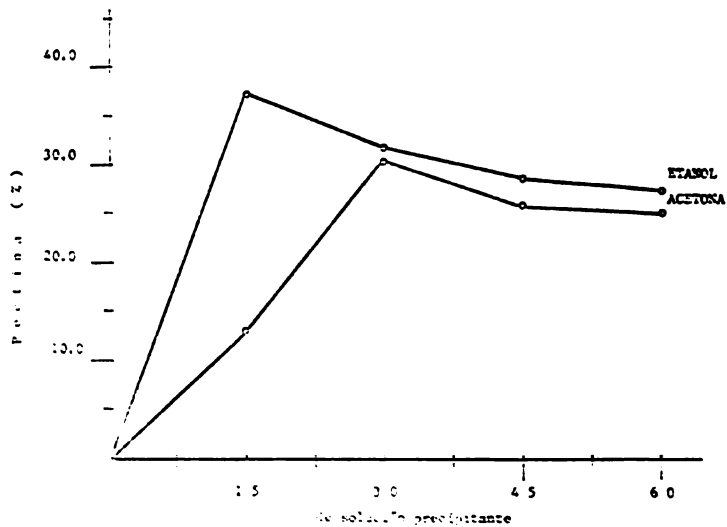


EXTRACTS

VOLUME		VOLUME
	CC.	(ml.)
		1.5
		3.
	0.001	6.0
	0.002	

Fig. 16

PRECIPITACION DE PECTINAS EN EL EXTRACTO DE ACIDO CITRICO

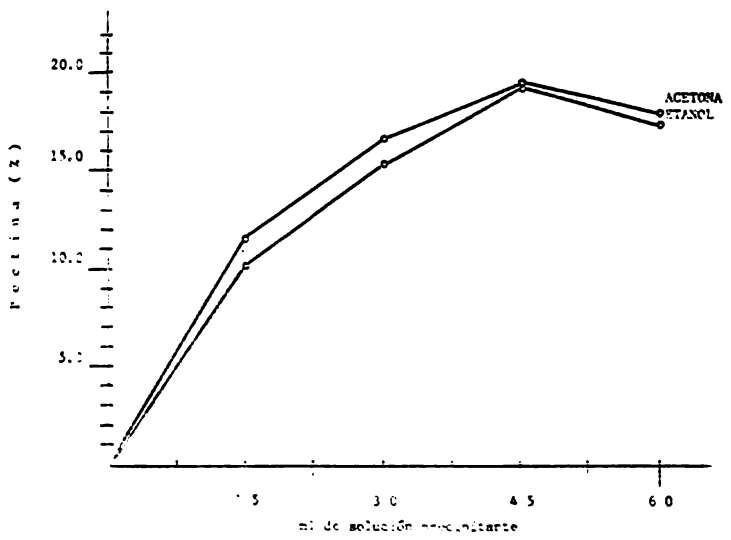


QUADRO XXII

DISTRIBUICAO DE RECEITAS DO EXERCÍCIO  
ACORDO ELETRÔNICO

MUNICÍPIO	RECEITAS				TOTAL
	ACORDO	IMPOSTO	IMPOSTO	IMPOSTO	
			10.000		10.000
3.0		10.000			10.000
	10.000			10.000	10.000

PRECIPITACION DE PECTINAS EN EL EXTRACTO DE ACIDO CLORHIDRICO



C U A D R O XXIV

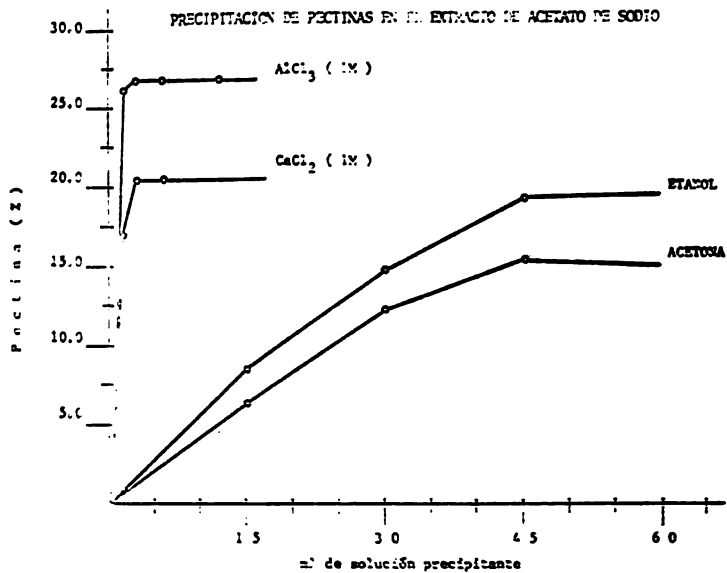
PRECIPITACION DE PECTINAS EN EL EXTRACTO  
DE ACETATO DE SODIO

( 5 )

VOLUMEN ( ml )	P R E C I P I T A N T E S				VOLUMEN ( ml )
	ACETONA	ETANOL	$AlCl_3$	$CaCl_2$	
1.5	6.27%	8.50%	16.91%	26.18%	1.5
3.0	12.25%	14.73%	20.38%	26.87%	3.0
4.5	15.36%	19.31%	20.58%	26.73%	6.0
6.0	15.00%	19.46%	21.07%	26.80%	12.0

FIG. 8

PRECIPITACION DE PECTINAS EN EL EXTRACTO DE ACETATO DE SODIO



El extracto realizado con feide clorofórmico, tanto la capacidad precipitante como las cantidades requeridas de etanol y acetona son semejantes a las de los otros, por lo que su uso es indistinto y sólo está condicionado a la disponibilidad y costos de cada uno. Esto no ocurre en el extracto con feide etílico, en donde el etanol muestra una capacidad precipitante superior a los otros volúmenes.

En el caso del extracto 3, la cantidad de sodio se presentó precipitación con los otros volúmenes, lo cual indica la presencia de pectinas de alto peso molecular. El porcentaje del etanol y la acetona es de 100 y 100 respectivamente, por lo que los precipitantes (mayor función y mayor en el precipitado) que la acetona. En el caso de las sales de los otros polivinílicos, se tienen los mejores porcentajes de pectinas precipitadas, siendo de 100 y 100 respectivamente. Se puede decir que, al aumentar el porcentaje de etanol, se eleva el porcentaje de pectinas precipitadas, lo cual se debe a una mayor enacción de los grupos de la pectina y los reactivos en su medio, entre la pectina precipitada en etanol de cultivo y la precipitada en etanol de laboratorio, podrían explicarse en base al peso atómico del etanol (34).

En general, la información obtenida a partir de los gráficos de precipitación, nos da una idea del comportamiento de cada extracto ante los diferentes agentes precipitantes y por lo tanto, del efecto de los diferen-

los agentes extractantes sobre el material péctico presente en el R.A.A. ( 8,14,15,24,26,27 ).

En el estudio de las características de los materiales precipitados, encuentran resultados importantes ( Cuadro XXV ) para promover la comercialización e industrialización del fruto. Se observó que en la extracción con ácido cítrico se obtiene una pectina con características semejantes a las de las pectinas comerciales examinadas ( Grado de Gelificación, Grado de Metoxilación y Contenido de A.A.G. ). Por otra parte el uso del ácido cítrico para la operación de extracción es factible, debido a su bajo costo y buena disponibilidad en el mercado, además, posee la propiedad de no presentar problemas de toxicidad, como otros agentes extractantes, cuando se incluye en materiales alimentarios ( 11, 13 ).

En el caso de los materiales precipitados en el extracto con acetato de sodio, se observó que las características, tanto para las pectinas precipitadas con etanol como para las precipitadas con cloruro de aluminio, son de baja calidad comercial, debido a que presentan escaso poder gelificante. El contenido de A.A.G. y el grado de metoxilación del polímero es bajo también. El grado de gelificación encontrado para estas pectinas puede atribuirse a pesos moleculares pequeños, como se comprobó mediante la determinación de la viscosidad relativa ( semejante a la del agua ), causados por una posible hidrólisis a los pH's usados durante la extracción, en concordancia con lo reportado para pectinas extraídas a partir de la fruta de la pasiflora ( P. edulis ) a pH's semejantes ( 11, 13 ).



C U A D R O X X V

CARACTERISTICAS DE LAS PECTINAS ANALIZADAS

PECTINA	HUMEDAD (%)	CENIZAS (%)	A.A.G. (%)	METOXILO (%)*	ESTERIFICACION (%)*	VISCOSIDAD RELATIVA**	GRADO DE GELIFICACION***
PECTINA PURA FATSMAN.	9.30	6.49	64.79	12.44	88.89	515	133.0 - 149.7
PECTINA DE MEXICO DE 150 GRADOS DE GELIFICACION.	8.48	3.58	46.60	11.52	81.40	323	Menor de 100
PECTINA EXTRAIDA CON ACIDO CITRICO Y PRECIPITADA CON ETANOL.	7.33	9.40	53.40	12.44	88.60	967	200.0 - 225.0
PECTINA EXTRAIDA CON ACETATO DE SODIO Y PRECIPITADA CON ETANOL.	8.49	9.98	43.40	11.28	80.50	142	Menor de 100
PECTINA EXTRAIDA CON ACETATO DE SODIO Y PRECIPITADA CON $AlCl_3$ .	8.12	13.81	5.40	10.64	76.00	1.05	Menor de 100

\* Referido en base seca y sin cenizas.

\*\* De una solución de pectina, al 0.5% a pH 2.5 y temperatura de 26°C, con respecto a agua pura.

\*\*\* Calculado en base a la determinación de la viscosidad relativa.

En la pectina precipitada con cloruro de aluminio se encontró que el contenido de metoxilo era superior al contenido de A.A.G., lo cual resulta ilógico, ya que puede deberse a la formación de hidróxido de aluminio durante la determinación de metoxilo y por lo tanto a un aumento en el gasto de hidróxido de sodio, mayor del requerido para la saponificación de los grupos carboxilos de la pectina ( 5 ).

Las pectinas comerciales analizadas presentan ciertas diferencias en sus propiedades, a pesar de que se ofrecen en el comercio como pectinas de 150 grados de gelificación, lo cual pudiera deberse a las características del proceso empleado para su elaboración, aunque el bajo contenido de A.A.G. y el menor grado de gelificación que presenta la pectina de producción nacional, en comparación con la importada, pueden ser el resultado de una inadecuada estandarización, debida a un exceso en la cantidad del material (dextrosa o almidón) usado en esta operación.

En el caso de la pectina de importación, se observó que es un material que presenta las características de una pectina de buena calidad, que ha sido estandarizada a 150° de gelificación, como normalmente se hace con las pectinas comerciales ( 2,4,5,8,12,13,14,15 ).

**I V . R E S U M E N**

La obtención de pectinas a nivel industrial se realiza, generalmente, a partir de la corteza de los frutos cítricos y de bagazo de manzana, aun que muchos otros materiales han sido utilizados con este fin. En el presente trabajo se utilizó como materia prima el albedo de la Granada China ( P. jugularis ), el cual sería un subproducto de la industrialización de la misma, por presentar una buena proporción de materiales pectínicos ( 3,14,25,28 ).

Inicialmente se realizó un estudio con el fin de determinar las condiciones adecuadas de tratamiento de la cáscara-albedo para la obtención del Residuo Insoluble en Alcohol ( R.I.A. ) y estabilización de la pectina en la misma. Se utilizaron tres disolventes; metanol, etanol e isopropanol, usando condiciones de reflujo durante 20 minutos y una relación de 150 g de muestra fresca por cada 500 ml de disolvente. El agente más efectivo fue el metanol, puesto que extrajo una mayor proporción de material soluble y colorado y aunque el contenido de materiales pectínicos, en el residuo insoluble, presentaba un valor menor, la diferencia fue mínima con relación a los otros dos disolventes.

Para obtener el R.I.A. a partir del albedo de la Granada China, se utilizó metanol a reflujo, durante 20 minutos, con una relación de 150 g de albedo fresco por 500 ml de disolvente. Después de la extracción, el material sólido se separó de la solución filtrando por manta de nylon, se prensó en forma manual y fue secado a 60°C, en estufa con circulación

forada de aire, durante 3 horas o hasta alcanzar aproximadamente 71 de humedad. El material seco fue molido hasta malla 60 y a continuación se le determinó el contenido de humedad, cenizas y pectinas ( solubles y totales ).( 13 ).

Utilizando el R.I.A. preparado anteriormente se realizó el estudio del efecto de los siguientes factores: Tipo de agente extractante y su concentración, temperatura, tiempo y carga, sobre el grado de extracción de pectinas. Se utilizó en todos los casos condiciones de reflujo y agitación. Como agentes extractantes se usaron: Acido Acético, Acido Oxálico, Acido Cítrico, Acido Clorhídrico, Acido Sulfúrico, Acido Fosfórico, Acetato de Sodio y Oxalato de Amonio, a concentraciones de 0.01, 0.1, 0.25 y 0.5 N. Las temperaturas manejadas en el estudio fueron de 30, 50, 70 y 95°C, siendo esta última la óptima para lograr un máximo de extracción ( 15,24,25 ).

A partir de los resultados de la experimentación anterior se seleccionó para realizar el estudio del efecto del Tiempo y la Carga de Extracción, las siguientes soluciones extractantes: Acetato de Sodio ( 0.1 N ), -- Acido Clorhídrico ( 0.5 N ) y Acido Cítrico ( 0.25 ), por presentar los mejores porcentajes de pectina extraída.

En el estudio del efecto de la Carga sobre el grado de extracción de -- pectinas se encontró un valor óptimo, para las tres soluciones empleadas,

a 35 mg de R.I.A. / 100 ml de solución, sin embargo, este valor no es necesariamente el más adecuado para la obtención de pectinas a nivel industrial, ya que la cantidad de éstas por unidad de volumen es muy pequeña ( 0.1008 g de pectina / litro de solución ). Con respecto al Tiempo de Extracción, se observó que durante la primera media hora se extrae el 86% de las pectinas totales en el R.I.A. con la solución de Acetato de Sodio ( 0.1 N ) que fue la que presentó una mayor capacidad de extracción que las demás, y que este valor experimenta únicamente un mínimo aumento, a 93%, conforme se alcanza un tiempo de extracción de dos horas, tres veces más que el anterior, por lo cual se podría tomar como óptimo un período de extracción de 30 minutos. El comportamiento es similar con las otras dos soluciones. ( 15,24 ).

En todos los casos las muestras de extracción se enfriaron a temperatura ambiente, se filtraron y a continuación se les determinó el contenido de pectina a los filtrados, determinándola como Acido Anhidro Galacturónico ( A.A.G. ).

Para realizar el estudio de las condiciones de precipitación de pectinas, se utilizaron como agentes precipitantes; Etanol ( 96% ), Acetona (Grado Reactivo ), Cloruro de Calcio ( 1 M ) y Cloruro de Aluminio ( 1 M ), variando la relación de volumen de extracto por volumen de precipitante. Los extractos se obtuvieron usando soluciones de Acetato de Sodio (0.1N) . Acido Clorhídrico ( 0.5 N ) y Acido Cítrico ( 0.25 N ), realizando la

extracción a 93°C durante 30 minutos, en condiciones de reflujo y agitación, y con una carga de 1.0 g de R.J.A. por 100 ml de solución extractante.

La cantidad de pectina precipitada se determinó separando el precipitado por filtración, por papel filtro a peso constante, y secando a continuación a 60°C, hasta peso constante, en una termobalanza.

En todos los extractos se observó que el Etanol posee una capacidad precipitante ligeramente mejor que la Acetona, a excepción del extracto de Acido Cítrico ( 0.25 N ), en donde es notablemente superior. Por otra parte, al emplear las sales de los metales polivalentes, se encontró que únicamente se presentaba precipitación en el extracto de Acetato de Sodio ( 0.1 N ), siendo muy similares las características de los precipitados, pero obteniéndose una mayor cantidad con el Cloruro de Aluminio que con el Cloruro de Calcio. En el caso de las pectinas obtenidas a partir del extracto de Acido Clorhídrico ( 0.5 N ), se observó que presentaban un marcado oscurecimiento durante el secado, por lo que posteriormente ya no se extrajeron en mayor cantidad para su caracterización, como se hizo con las otras pectinas.

Las pruebas de caracterización de las pectinas obtenidas a partir de la extracción con soluciones de Acetato de Sodio ( 0.1 N ) y Acido Cítrico ( 0.25 N ), se realizaron sobre muestras obtenidas de la manera siguiente:

Extracción de pectinas a partir del R.I.A. a 93°C durante 30 minutos, en condiciones de reflujo y agitación, y usando una relación de 1.0 g de R.I.A. por cada 100 ml de solución. Al concluir la extracción, las mezclas se enfriaron a temperatura ambiente, se filtraron y se les agregó el agente precipitante; 1 volumen de Etanol ( 96°) por tres volúmenes de extracto de Acido Cítrico ( 0.25 N ), 1 volumen de Etanol ( 96°) por un volumen de extracto de Acetato de Sodio ( 0.1 N ) y 60 ml de Cloruro de Aluminio ( 1 M ) por cada litro de extracto de Acetato de Sodio (0.1N). Después de agitar las mezclas, se dejaron reposar por media hora y se filtraron. Los precipitados se prensaron en forma manual y fueron lavados por tres ocasiones; dispersándolos en 600 ml de etanol al 50%, dos veces, y después en etanol de 96°, repitiendo el prensado después de cada lavado. Los precipitados fueron secados a 60°C, en estufa con circulación forzada de aire, durante 2 a 3 horas o hasta alcanzar aproximadamente 7% de humedad.

A cada una de las tres pectinas obtenidas se les determinó el contenido de Humedad, Cenizas, A.A.G. y Metoxilo, así como también, el Grado de Esterificación, la Viscosidad Relativa y, por método indirecto, el Grado de Gelificación ( 6,13,14 ).

Se encontró que la pectina obtenida a partir del extracto de Acido Cítrico ( 0.25 N ) presentó las mejores características, las cuales son similares y en algunos casos mejores, que las de pectinas comerciales de --



•

alto metoxilo. En el caso de las pectinas extraídas con Acetato de S  
dio ( 0.1 N ), se observó un bajo contenido de A.A.G. y de Metoxilo,  
presentando un Grado de Colificación mucho menor de 100.

## V. C O N C L U S I O N E S

## CONCLUSIONES.

México siendo un país con una enorme riqueza en especies frutícolas requiere de muchos estudios para mejorar el grado de aprovechamiento de éstas, principalmente de las de bajo nivel de comercialización.

En el caso del fruto de la Granada China (Passiflora ligularis Juss), una de las posibles formas de mejorar su utilización, es usando el albedo para la obtención de pectinas, debido a que contiene aproximadamente 30% de estos materiales, cantidad comparable a la encontrada en frutos cítricos (de 30 - 50%) los cuales son una de las principales fuentes de obtención de pectinas a nivel mundial.

Con respecto a las condiciones de extracción y precipitación de pectina de granada china, a nivel laboratorio, se observó en el presente trabajo que son semejantes a algunas de las que actualmente se manejan para la producción a nivel industrial de pectina cítrica o de manzana, lo cual hace factible el uso de las instalaciones existentes, sin modificaciones sustanciales, para la extracción de pectinas a partir de la cáscara-albedo de este fruto.

También se puede observar que esta pectina posee excelentes características químicas y físico-químicas como: un elevado contenido de A.A.G., y

buena proporción de metoxilos en el polímero y, además, un buen grado de gelificación (mayor de 200), lo que a nivel comercial le confiere - alta calidad para usarse como agente gelificante en la elaboración de alimentos con alto contenido de sólidos como jaleas y mermeladas o, en otro grado, como agente espesante, en la formulación de productos del tipo de mayonesas, helados, postres infantiles y otros más.

Por otra parte, la cáscara-albedo de la granada china al ser un material rico en pectinas es susceptible de comercializarse después de haberse sometido a un tratamiento previo para estabilizarlo. El material se podría destinar a la exportación a países donde no cuentan con los recursos agrícolas necesarios para cubrir sus necesidades de fuentes de pectinas, pero poseen la tecnología adecuada para obtenerlas.

Vemos pues que el fruto de la granada china presenta las características necesarias para mejorar su nivel de explotación y como consecuencia aumentar la rentabilidad de su producción para los fruticultores del país, contribuyendo así a la creación de nuevas fuentes de trabajo para campesinos e industriales del país.

## VI. SUGERENCIAS

### SUGERENCIAS.

De acuerdo al estudio realizado acerca de la pectina contenida en el albedo de la Granada China (Passiflora ligularis Juss), para poder fomentar su obtención y de esta manera la industrialización de este fruto, es necesario realizar algunos estudios en particular sobre los siguientes puntos:

Es indispensable aumentar el conocimiento de las zonas y niveles de producción en la República Mexicana. De esta manera se podrá disponer de información adecuada que nos permita planear las posibles formas de comercialización e industrialización, en este caso para fijar los centros donde pudiese aprovecharse industrialmente.

Es necesario también efectuar un estudio más profundo sobre las características fisiológicas, agronómicas y de composición del fruto para conocer las mejores condiciones para su cultivo, la edad más adecuada para su cosecha y las condiciones en que debe cosejarse y almacenarse.

Por otra parte es indispensable conocer las posibilidades de utilización industrial de la pulpa y semillas de manera que pueda lograrse un aprovechamiento integral y una mayor rentabilidad del procesamiento de la fruta.

De esta forma sería posible disponer de cáscara-albedo, para la extracción de pectinas, como un subproducto, cuya disponibilidad dependería del grado de industrialización de la misma.

Debe profundizarse también sobre las características de la pectina contenida en el albedo de la granada china para prever los cambios que pueden darse tener durante su obtención.

Otro punto que debe observarse es la extracción de pectina de granada china a nivel de planta piloto y escalamiento a nivel industrial.

Por último, un aspecto que es importante estudiar es el que se refiere a la incorporación de la pectina de granada china dentro de la formulación de algunos alimentos, en particular jaleas, mermeladas y algunos otros más.

VII. BIBLIOGRAFIA



1. Peler, George L. ( 1946 ). High-Polymer Pectins and Their Deesterification. Univ. Delaware Agr. Sta. Adv. in Food Research. ( 1 ): 395.
2. Bender, W.A ( 1949 ), Grading Pectin in Sugar Jellies. Anal. Chem. ( 21 ): 408.
3. Braverman, J. B. S. ( 1949 ). "Citrus Products". Interscience Publisher, Inc., New York. pp. 321 - 368.
4. Christensen, P. E. ( 1954 ). Methods of Grading Pectin in Relation to the Molecular Weight ( Intrinsic Viscosity ) of Pectin. Food Research. ( 19 ):163. .
5. Cruess, W. V. ( 1958 ). "Commercial Fruit and Vegetable Products".- Mc Graw Hill Book, pp. 426-464.
6. de Lima, Demerval C. ( 1971/72 ). Extraction of Pectin of Maracuya. Colección de Instituto de Tecnología de Alimentos. ( 4 ): 63.
7. Ellsworth, P. Killip. ( 1938 ). The American Spices of Passifloraceae, Botanical Series Field Museum of Natural History. ( 19 ): 115
8. Francis, B. J., and Bell, Jess-Mary K. ( 1975 ). Commercial Pectin: a review. Trop. Sci. ( 17 ) : 25
9. Gee, N., Reeve, R.M., and Mc. Cready, R.N. (1959), Measurement of Plant Pectic Substances. Reaction of Hydroxylamine with Pectinic Acids. J. of Agr. and Food Chem. ( 7 ) : 34
10. Hernández, M., Chávez, A. y Bourges, H. ( 1977 ). Valor Nutritivo de los Alimentos Mexicanos ( Tablas de Uso Práctico ), Inst. Nal. de la Nutrición. México.
11. Hulme, A. C. ( 1970 ). " The Biochemistry of Fruits and Their Products ". Academic Press, London and New York. pp 53-85.

12. I.J. Y. Committee on Pectin Standardization. Final Report of the I. F.T. Committee. Food Technology. ( 13 ) : 496.
13. Joslyn, M.A. ( 1970 ). "Methods in Food Analysis". 2nd Ed. Academic Press, New York, pp. 565 - 599.
14. Kertes, E.I. ( 1951 ). " The Pectic Substances ", Wiley, New York.
15. Lin, M. J. Y., Humbert, E. S., and Sosulski, F. W. (1976 ). Extraction of Pectins from Sunflower Heads. Can. Inst. Food Sci, and Tech. ( 9 ): 70.
16. Martin, C. M. and Reuter, F. H. ( 1949 ). Isolation of Pectin Substances from Passion Fruit ( Passiflora edulis ). Nature. p. 407.
17. Mc Comb, E. A., and Mc Cready, R. M. ( 1952 ). Colorimetric Determination of Pectic Substances. Anal. Chem. ( 24 ) : 1630.
18. Mc. Comb, E. A., and Mc Cready, R. M. ( 1957 ). Determination of Acetyl in Pectin and in Acetylated Carbohydrate Polymers. Hydroxamic Acid Reaction. Anal. Chem. ( 29 ) : 819
19. Mc Cready, R. M. and Mc Comb, E. A. ( 1952 ). Extraction and Determination of Total Pectic Materials in Fruits. Anal. Chem. ( 24 ) : 1986.
20. Neukom, H., and Devel, H. (1958 ). Alkaline Degradation of Pectin. Chem. and Ind. ( London ). p. 683.
21. Phippen, E. L., Mc Cready, R. M., and Owens, H. S. ( 1950 ), Gelation Properties of Partially Acetylated Pectins. J. Anal Chem. ( 72 ) : 813.

22. Pressey, R., Hiten, D.M., and Avants, J. K. ( 1971 ). Development of Polygalacturonase Activity and Solubilization of Pectin in Peaches During Ripening. *J. of Food Sci.* ( 36 ) : 1070.
23. Pruthi, J. S. ( 1963 ). *Physiology, Chemistry, and Technology of Passion Fruit.* *Adv. in Food Research.* ( 12 ) : 203.
24. Pruthi, J. S. (1965 ). Studies on Isolation, Characterization and Recovery of Pectin from Purple Passion Fruit Waste (Rind ). *Chem. and Ind.* pp. 555-559.
25. Rutch, G. H. ( 1950 ). *Jam Manufacture* . 2nd Ed. Leonard Hill (Books ) Ltd. London ( England ). pp. 45-62.
26. Sabir, M. A., Sosulski, F. W., and Campbell, S. J. ( 1976 ). Polymetaphosphate and Oxalate Extraction of Sunflower Pectins. *J. of Agr. and Food Chem.* ( 24 ): 348
27. Siddappa, G. S., and Krishnamurthy, G. V. ( 1965 ). Extraction of Pectin from Papaya (Carica papaya ). *Indian Journal of Technology.* ( 3 ): 258.
28. Schlitz, H. N. ( 1969 ). *Symposium of Foods: Carbohydrates and Their Roles.* The AVI Publishing Co., Inc. Westport, Connecticut.
29. Moot-Tsuen Nu leung. ( 1964 ). " *Tabla de Composición de los Alimentos para Uso en América Latina* ". I. N. C. A. P., I. C. N. N. A. Ed. Interamericana.