



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN**

“OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PECTINA A  
PARTIR DE TEJOCOTE (*CRATAEGUS SPP.*) EXTRAÍDA  
POR LOS MÉTODOS QUÍMICO, ASISTIDO POR  
MICROONDAS Y ENZIMÁTICO.”

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERO EN ALIMENTOS**

**P R E S E N T A:**

**GONZÁLEZ MARTÍNEZ MAURICIO**



**UNAM  
CUAUTILÁN**

**DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ  
M. EN C. SELENE PASCUAL BUSTAMANTE**

**CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



---

## Índice general

	<b>Páginas</b>
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN	1
1. Introducción	4
2. Antecedentes	7
2.1. Definición y origen de la pectina	7
2.1.1. Nomenclatura	8
2.2. Localización de la pectina dentro de la pared celular vegetal	11
2.2.1. La pared celular vegetal	11
2.3. Estructura de la pectina	14
2.4. Propiedades químicas y físicas de las pectinas	18
2.4.1. Propiedades funcionales	21
2.5. Tipos de pectinas	22
2.6. Fuentes de obtención de pectina	25
2.6.1. Fuentes convencionales y no convencionales de obtención de pectina	26
2.7. Métodos de extracción de pectina	28
2.7.1. Extracción de pectina por métodos fisicoquímicos	30
2.7.1.1. Extracción de pectina por el método convencional	30
2.7.1.2. Extracción de pectinas asistida por microondas	31



---

	<b>Páginas</b>
2.7.1.3. Otros métodos de extracción físico-química de pectinas	32
2.7.2 Extracción enzimática de pectinas	34
2.7.2.1. Principales enzimas pectolíticas para la obtención de pectina	34
2.7.2.2. Clasificación de las enzimas pectolíticas	35
2.8. Usos y aplicaciones de la pectina	37
2.8.1. Usos de las pectinas como material de empaque	39
2.8.2. Aplicaciones en la Industria alimentaria	40
2.8.3. Aplicaciones en la Industria Farmacéutica	41
2.8.4. Otras Aplicaciones de la pectina	42
2.9. Tejocote	43
2.9.1. Origen e importancia económica	43
2.9.2. Composición química y valor nutritivo	47
2.9.3. Usos y aplicaciones	47
3. Objetivos	50
4. Materiales y métodos	52
4.1 Cuadro metodológico	52
4.2. Material biológico	53
4.3 Tratamiento de las muestras	54
4.4. Cuantificación de pectina en diferentes frutos de la biodiversidad mexicana	56



---

	<b>Páginas</b>
4.5. Selección de condiciones de extracción de pectina de tejocote por el método ácido	57
4.6. Selección de condiciones de extracción de pectina por el método ácido asistido por microondas	60
4.7. Selección de condiciones para extracción de pectina por el método enzimático	63
4.8. Métodos analíticos	66
4.8.1. Determinación de pectina	66
4.8.2. Grado de esterificación	69
4.8.3. Determinación de grupos metoxílicos	70
4.8.4. Determinación de ácido galacturónico	71
4.8.5. Determinación de contenido de cenizas	71
4.9. Tratamiento estadístico de resultado	72
5. Resultados y discusión	74
5.1. Comparación del contenido de pectina de diferentes frutos y derivados, con el contenido de pectina del tejocote.	74
5.1.1. Cuantificación de pectina de los diferentes frutos y subproductos	74
5.2. Método ácido	80
5.2.1. Evaluación del rendimiento de pectina de tejocote extraída por método convencional	80
5.2.2. Evaluación del contenido de cenizas en pectina de tejocote extraída por el método convencional	82



---

	<b>Páginas</b>
5.2.3. Evaluación del grado de esterificación en pectina de tejocote extraída por el método convencional.	84
5.2.4. Evaluación del porcentaje de grupos metoxilos presentes en pectina de tejocote extraída por el método convencional	86
5.2.5. Evaluación del porcentaje de ácido galacturónico en pectina de tejocote extraída por el método convencional	88
5.3. Método asistido por microondas	90
5.3.1. Evaluación del rendimiento de pectina de tejocote extraída por método de microondas	90
5.3.2. Evaluación del contenido de cenizas en pectina de tejocote extraída por el método de microondas.	93
5.3.3. Evaluación del grado de esterificación en pectina de tejocote extraída por el método de microondas	94
5.3.4. Evaluación del porcentaje de grupos metoxilos presentes en pectina de tejocote extraída por el método de microondas	96
5.3.5. Evaluación del porcentaje de ácido galacturónico en pectina de tejocote extraída por el método de microondas	97
5.4. Método enzimático	100
5.4.1. Evaluación del rendimiento de pectina de tejocote extraída por método enzimático	100



	<b>Páginas</b>
5.4.2. Evaluación del contenido de cenizas en pectina de tejocote extraída por el método enzimático	103
5.4.3. Evaluación del grado de esterificación en pectina de tejocote extraída por el método enzimático	104
5.4.4. Evaluación del porcentaje de grupos metoxilos presentes en pectina de tejocote extraída por el método enzimático	106
5.4.5. Evaluación del porcentaje de ácido galacturónico en pectina de tejocote extraída por el método enzimático	108
6. Conclusiones	112
7. Recomendaciones	115
8. Referencias	117



---

**Índice de tablas**

	<b>Páginas</b>
<b>Tabla 1.</b> Principales componentes de la pared celular.	12
<b>Tabla 2.</b> Otros métodos de obtención de pectina.	33
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de enzimas pécticas de acuerdo a los lineamientos de comisión de enzimas y asignación de la familia de hidrolasas.	36
<b>Tabla 4.</b> Condiciones de extracción de pectina de tejocote por el método ácido.	57
<b>Tabla 5.</b> Condiciones de extracción de pectina de tejocote por el método asistido por microondas.	60
<b>Tabla 6.</b> Condiciones de extracción de pectina de tejocote por el método enzimático.	63
<b>Tabla 7.</b> Contenido de pectina en diferentes frutos.	75



---

**Índice de figuras**

	<b>Páginas</b>
<b>Figura 1.</b> Pectina cítrica.	9
<b>Figura 2.</b> Micrografía electrónica de transmisión de paredes celulares. La pared primaria es construida cuando a célula es joven. Las paredes secundarias, más gruesas, se incorporan cuando las células han dejado de crecer (x 3000).	11
<b>Figura 3.</b> Matriz de celulosa.	13
<b>Figura 4.</b> Estructura química de la pectina.	14
<b>Figura 5.</b> Polímeros estructurales de la pectina.	18
<b>Figura 6.</b> Metoxilación de la pectina.	23
<b>Figura 7.</b> Pectina extraída de cáscaras de cítricos.	28
<b>Figura 8.</b> Degradación de fragmentos de sustancias pécticas por enzimas pectolíticas específicas.	37
<b>Figura 9.</b> a) Árbol de tejocote; b) Fruto del árbol de tejocote.	43
<b>Figura 10.</b> Producción de Tejocote en México.	45
<b>Figura 11.</b> Mapa de la República Mexicana y estados principales productores de tejocote.	46
<b>Figura 12.</b> Usos del tejocote (tejocotes en almíbar y ponche).	48
<b>Figura 13.</b> Tejocote ( <i>Crataegus spp.</i> ).	53
<b>Figura 14.</b> Diagrama de proceso para el acondicionamiento del tejocote: a) Recepción del tejocote, b) selección, c) lavado, d) escaldado, e) cortado, f) almacenamiento.	55
<b>Figura 15.</b> Proceso de molienda del fruto o subproducto a analizar.	56
<b>Figura 16.</b> Diagrama de proceso para la extracción de pectina de tejocote por el método convencional: a) Recepción del tejocote, b) molienda, c) hidrólisis ácida, d) precipitación, e) lavado, f) filtrado, g) secado, h) tamizado, i) almacenamiento.	58



<b>Figura 17.</b> Diagrama de proceso para la extracción de pectina de tejocote por el método asistido por microondas: a) Recepción del tejocote, b) molienda, c) hidrólisis ácida asistida por microondas, d) precipitación, e) lavado, f) filtrado, g) secado, h) tamizado, i) almacenamiento.	61
<b>Figura 18.</b> Diagrama de proceso para la extracción de pectina de tejocote por el método enzimático: a) Recepción del tejocote, b) molienda, c) hidrólisis enzimática, d) inactivación de enzimas, e) precipitación, f) filtrado, g) secado, h) tamizado, i) almacenamiento.	64
<b>Figura 19.</b> Muestra hirviendo.	67
<b>Figura 20.</b> Filtrado de la muestra.	67
<b>Figura 21.</b> Alícuotas de muestra con hidróxido de sodio y ácido acético.	68
<b>Figura 22.</b> Filtrado de las muestras hidrolizadas.	68
<b>Figura 23.</b> Papel filtro con la muestra seca.	69
<b>Figura 24.</b> Porcentaje de pectina de los diferentes frutos y subproductos.	78
<b>Figura 25.</b> Rendimientos de las diferentes condiciones de extracción de pectina por el método ácido.	80
<b>Figura 26.</b> Porcentaje de cenizas de las pectinas obtenidas de la extracción por el método ácido.	83
<b>Figura 27.</b> Porcentaje del grado de esterificación de las pectinas extraídas por el método ácido.	85
<b>Figura 28.</b> Porcentaje de grupos metoxilo en las pectinas extraídas por el método ácido.	87
<b>Figura 29.</b> Porcentaje de ácido galacturónico en las pectinas extraídas por el método ácido.	88



---

**Páginas**

<b>Figura 30.</b> Rendimientos de las diferentes condiciones de extracción de pectina por el método asistido por microondas.	90
<b>Figura 31.</b> Porcentaje de cenizas de las pectinas obtenidas de la extracción por el método asistido por microondas.	93
<b>Figura 32.</b> Porcentaje del grado de esterificación de las pectinas extraídas por el método asistido por microondas.	95
<b>Figura 33.</b> Porcentaje de grupos metoxilo en las pectinas extraídas por el método asistido por microondas.	96
<b>Figura 34.</b> Porcentaje de ácido galacturónico en las pectinas extraídas por el método asistido por microondas.	98
<b>Figura 35.</b> Rendimientos de las diferentes condiciones de extracción de pectina por el método enzimático.	100
<b>Figura 36.</b> Porcentaje de cenizas de las pectinas obtenidas de la extracción por el método enzimático.	103
<b>Figura 37.</b> Porcentaje del grado de esterificación de las pectinas extraídas por el método enzimático.	104
<b>Figura 38.</b> Porcentaje de grupos metoxilo en las pectinas extraídas por el método enzimático.	107
<b>Figura 39.</b> Porcentaje de ácido galacturónico en las pectinas extraídas por el método enzimático.	109



## Resumen

La variabilidad del tejocote confiere a este fruto un gran potencial para diversos usos, entre ellos industrial, alimenticio, hortícola, ecológico, pecuario, ornamental y medicinal, sobresaliendo por su alto contenido de pectina de excelente calidad. Actualmente, el tejocote (*Crataegus spp.*) se cultiva a nivel comercial, semicomercial y de traspatio en varias entidades de la República Mexicana.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el efecto de tres métodos de extracción (ácido, microondas y enzimático), así como las condiciones de operación de cada tratamiento en la obtención de pectina del fruto de tejocote variedad '*Crataegus spp.*' para su posible utilización en procesos tecnológicos.

Tejocotes procedentes del estado de Puebla fueron seleccionados, y acondicionados. La extracción de pectina se realizó por el método ácido (70 y 90°C; 90 y 120 min), por el de microondas (10, 15 y 20 min; 179.37, 376.82 y 526.69 W) y para la extracción enzimática se utilizaron dos concentrados enzimáticos (Zimapect® y Macerex®) los cuales fueron evaluados a diferentes tiempos (5, 10 y 15 min). Los parámetros de calidad fisicoquímicos y químicos que se evaluaron en las pectinas extraídas por los diferentes métodos y sus diferentes condiciones fueron: contenido de cenizas, grado de esterificación, contenido de ácido galacturónico y porcentaje de metoxilación.

La extracción enzimática presentó los mayores rendimientos, porcentaje de cenizas y de ácido galacturónico obteniendo valores de 10.40, 3.29 y 53.3% respectivamente, mientras que la extracción ácida disminuyó los valores de rendimiento (7.52%), pero fue el método por el que se obtuvieron los mejores valores para grado de esterificación y metoxilación (84.89 y 6.2%, respectivamente).

El método asistido por microondas proporcionó valores muy similares a los del método ácido, a excepción de rendimiento ya que por este método se alcanzaron rendimientos mayores que por el método convencional, obteniendo rendimientos de hasta 9.72% de pectina extraída en base a materia prima húmeda. La radiación por microondas disminuyó



los tiempos de tratamiento de manera importante en comparación con el método convencional.

El método enzimático se recomienda como alternativa de obtención de pectina de alto grado de metoxilo para la industria de pectinas a nivel nacional y para posible exportación, ya que además presenta una ventaja a nivel ambiental, pues los efluentes de este proceso no presentan trazas de ácido, el uso de lavados con alcohol no son necesarios y el tratamiento con concentrados enzimáticos utiliza menos energía y tiempos de extracción, preservando la calidad de las pectinas finales.



# INTRODUCCIÓN



**“ACTUALMENTE LA MAYORÍA DE LA PECTINA QUE SE COMERCIALIZA  
PROVIENE DE RESIDUOS DE CÍTRICOS”**



## 1. Introducción

A nivel mundial, la preocupación acerca del aprovechamiento de residuos ha tomado gran fuerza entre la comunidad científica y sobre todo a nivel industrial, en donde los procesos de transformación generan desechos y subproductos que pueden ser útiles en otros procesos; sin embargo, los residuos generados en las transformaciones agroindustriales no han sido aprovechados eficientemente (Londoño-Londoño *et al.*, 2012). El género *Crataegus*, conocido como tejocote, tiene una amplia variabilidad genética, con 140 especies en todo el mundo (Phipps *et al.*, 2003). Nueve de ellas son endémicas de México y 13 se distribuyen en al menos 20 de sus entidades (Núñez-Colín *et al.*, 2008b), aunque es probable que existan más. Tal variabilidad confiere al tejocote un gran potencial para diversos usos, entre ellos industrial, alimenticio, hortícola, ecológico, pecuario, ornamental y medicinal (Nieto-Ángel *et al.*, 2009), sobresaliendo por su alto contenido de pectina de excelente calidad (Aguirre-Mandujano *et al.*, 2010).

La extracción de pectina de tejocote con fines comerciales contribuiría a crear tecnología propia, además de crear beneficios a las comunidades productoras, ya que hasta el momento la producción del fruto no resulta rentable. El desarrollo de una tecnología apropiada para extraer pectina purificada, que permita su uso en muchos productos alimenticios, ha convertido a la pectina en un subproducto muy valioso. La pectina es un componente natural de los vegetales, por lo que se usa, tanto en los productos alimenticios, como para fines médicos, lo que es legalmente correcto. En las últimas décadas, debido al creciente énfasis sobre los efectos favorables de la pectina en el metabolismo humano su importancia económica se ha visto considerablemente aumentada (Cohn y Cohn, 1996). Existe una variedad de métodos de producción de pectina reportados en diferentes artículos que evalúan los diferentes métodos de extracción así como las condiciones óptimas de los mismos y las diferentes fuentes de extracción. El proceso del método tradicional consiste en una degradación con ácido y una precipitación (Zhang y Liu, 1997), usando una solución de ácido a un pH aproximado de 2 y una temperatura entre 80-100 °C en un tiempo aproximado de 1 hora. Estas condiciones causan la degradación de proteínas, por lo tanto este método tradicional algunas veces no resulta favorable para la calidad y cantidad de la



extracción de pectina. Es por eso que es necesario establecer nuevos métodos, en los cuales la pectina pueda ser extraída en menos tiempo y con mejor calidad, una alternativa es la extracción asistida por microondas (Zhongdong *et al.*, 2006), así como por vía enzimática, ya que presentan algunas ventajas con respecto a la pectina extraída químicamente, ya que estos materiales pueden presentar actividad biológica y aplicaciones médicas, además de presentar un importante impacto ambiental al no generar efluentes con trazas de ácido y utilizar menos alcohol para lavar las pectinas extraídas. El estudio de la obtención de pectina ha sido un tema de mucho interés para los investigadores, se puede apreciar la problemática de algunos países al no poder abastecerse de esta materia prima y buscar fuentes para su obtención, así como aprovechar los recursos propios de cada país (Ferreira, 1990). Es por eso que en este trabajo se pretende poder usar esta información y desarrollar una tecnología alterna para poder satisfacer las necesidades existentes en el país mediante la utilización del tejocote como fuente de pectinas, empleando diferentes métodos de extracción, para determinar cuál de ellos resulta más eficiente y rentable para este fin.



# ANTECEDENTES



**“LA PECTINA ESTÁ CONSIDERADA POR MUCHOS ESPECIALISTAS COMO UN TIPO DE FIBRA, Y ES QUE SU FUNCIÓN ES IDÉNTICA A LA DE ÉSTA, YA QUE NO APORTA NINGÚN NUTRIENTE A NUESTRO CUERPO, PERO SE ENCARGA DE ELIMINAR LOS RESIDUOS Y TOXINAS QUE SE ENCUENTRAN EN NUESTRO ORGANISMO”**



## 2. Antecedentes

### 2.1. Definición y origen de la pectina

La palabra "pectina" se deriva del griego "Pektos" que significa "solidificar". La pectina fue descubierta por Vauquelin en 1790, pero no fue caracterizada sino hasta 1825 por Bracannot, quien describió a esta sustancia como el principal agente gelificante en las frutas y le llamó "Pectins". Bracannot descubrió que la pectina era la sustancia responsable de la formación de jaleas cuando se calentaba a ebullición la fruta con azúcar. También evidenció que además del azúcar era necesario un pH adecuado para la formación del gel y que se requería una pequeña cantidad de ácido para hidrolizar los pectatos durante la elaboración de jaleas (Alexander y Sulebele, 1980).

Durante el siglo XIX, fue realizada una considerable investigación científica para realizar la caracterización inicial de la pectina, con relación a su estructura molecular y sus propiedades biológicas y reológicas. El aislamiento de pectinas comerciales de materiales vegetales comenzó a principios del siglo pasado y desde entonces se ha producido literatura concerniente a su química, producción y propiedades funcionales (Multon, 1988).

Según Mueckay (2006), la obtención de pectina a partir de diferentes recursos naturales ha sido objeto de varios trabajos de investigación en donde se plantean las posibilidades a favor y en contra de utilizar ciertas materias primas para su obtención. Estos procesos fueron analizados y autocriticado por los propios autores, encontrando desventajas como (Multon 1988):

- La obtención de pectina en polvo es un proceso muchas veces lento.
- Algunas veces las fuentes de extracción resultan ser no redituables.

Entre 1920 y 1940 quedó establecida la producción de pectina a escala comercial en algunas naciones, y llegaron a formar parte importante del comercio internacional (Carreto, 1984).



Entre 1940 y 1950 muchos investigadores publicaron sus trabajos relacionados con pectina en centenares de artículos y patentes. Durante las últimas décadas, la industria de la pectina ha crecido notablemente, no solamente en América, sino también en Europa (Carreto, 1984).

La manufactura comercial de la pectina empezó en el año 1908 con bagazo de manzana seco como materia prima. Y en la actualidad, se extrae pectina de una gran cantidad de fuentes como: peras, uvas, cáscara de cítricos, entre otras. En 1916, Erlich y Suárez (1990) dieron a conocer el aislamiento del ácido D-Galacturónico, en forma de polímero, como el integrante principal de todas las pectinas (Carreto, 1984).

Las sustancias pécticas comprenden un extenso grupo de heteropolisacáridos vegetales cuya estructura básica está integrada por moléculas de ácido D-galacturónico, unidas por enlaces glucosídicos  $\alpha$ -D-(1,4), en la cual algunos de los carboxilos pueden estar esterificados con metilos o en forma de sal (Badui, 2006).

### 2.1.1. Nomenclatura

A causa de su heterogeneidad, la terminología con que se ha conocido a las sustancias pécticas ha sido muy variada y confusa. En 1944 el comité de la “American Chemical Society” definió la siguiente nomenclatura (American Chemical Society, 1944):

**Sustancias pécticas:** Son aquellos compuestos complejos derivados coloidales de hidratos de carbono que se hallan o pueden ser preparados a partir de las plantas y contienen una gran proporción de ácido anhidrogalactourónico en forma de cadena. Los grupos carboxílicos de los ácidos galactourónico pueden estar en parte esterificados por grupos metoxilos y en parte neutralizados por una o más bases.

**Protopectina:** Son sustancias pécticas insolubles en agua que, por hidrólisis parcial, dan lugar a ácidos pectínicos. Son las sustancias pécticas tal como se encuentran en las plantas y su mayor concentración aparece en los tejidos vegetales en crecimiento.



**Ácidos pectínicos:** (También llamados ácidos pécticos). Son los ácidos poligalactourónicos coloidales que tienen una proporción no despreciable de grupos carboxílicos esterificados por metilos. Los ácidos pectínicos, bajo condiciones apropiadas, son capaces de formar geles con ácido y azúcar o, si su cantidad de grupos metil éster es baja, con ciertos iones polivalentes. Las sales de los ácidos pectínicos son los pectínatos ácidos o neutros.

**Pectina:** El término en general y como se entenderá en adelante define aquellos ácidos pectínicos solubles en agua, con una cantidad variable de grupos éster metílicos y grado de neutralización, que son capaces de formar geles de azúcar y ácido en condiciones apropiadas (Figura 1).



**Figura 1.** Pectina cítrica.

**Fuente:** Nauraceutical (2006).

Algunos autores coinciden en que las pectinas son polisacáridos del grupo de los heteropolisacáridos encontrados en los tejidos de las plantas superiores. Son los agentes gelificadores por excelencia obtenidos de las frutas y su principal constituyente es el ácido D-Galacturónico. En la naturaleza existen como geles y son importantes constituyentes de las paredes celulares donde cumplen funciones de retención de forma y textura de frutas y hortalizas (Kertez, 1951; Braverman, 1980).

En el lenguaje común el vocablo pectina designa a las pectinas comerciales como sustancias que se agregan para mejorar propiedades físicas, como es el caso de las pectinas cítricas (Ullman, 1950). En términos comerciales, el vocablo se refiere a los extractos



complejos que poseen un alto poder gelificante además de una alta proporción de ácido galacturónico en forma éster metílico y que tienen una gran aplicación en la industria farmacéutica y alimentaria (Quito-Vidal y Zárate-Tacuri, 2011).

Herstreith (2001) define a las pectinas como heteropolisacáridos que se presentan en la naturaleza como elementos estructurales del sistema celular de las plantas. Su componente principal es el ácido poligalacturónico, que existe parcialmente esterificado con metanol. Se encuentran principalmente en las frutas y vegetales, para aprovechar su capacidad para balancear el equilibrio del agua dentro del sistema.

Braverman (1980) asegura que las pectinas son sustancias orgánicas que pertenecen al segundo grupo de polisacáridos: los heteropolisacáridos. Estas llenan los espacios intercelulares y laminillas centrales de los tejidos vegetales, y existen en mayor cantidad en tejidos jóvenes, especialmente de frutas donde forman amplios canales que separan las células.

Ferreira (1990) menciona que las sustancias pécticas comúnmente se encuentran en todos los tejidos de las plantas. La pectina es muy importante desde el punto de vista fisiológico; la parte intermedia del albedo y las capas entre cada una de las paredes celulósicas, que se componen casi por completo de sustancias pécticas. Las sustancias pécticas son compuestos derivados de los carbohidratos de naturaleza coloidal que contienen como unidad básica el ácido galacturónico, el cual al unirse con otras moléculas similares forman una cadena de ácido poligalacturónico. Los grupos carboxilos de esta sustancia pueden estar parcialmente o completamente neutralizados por una o más bases.

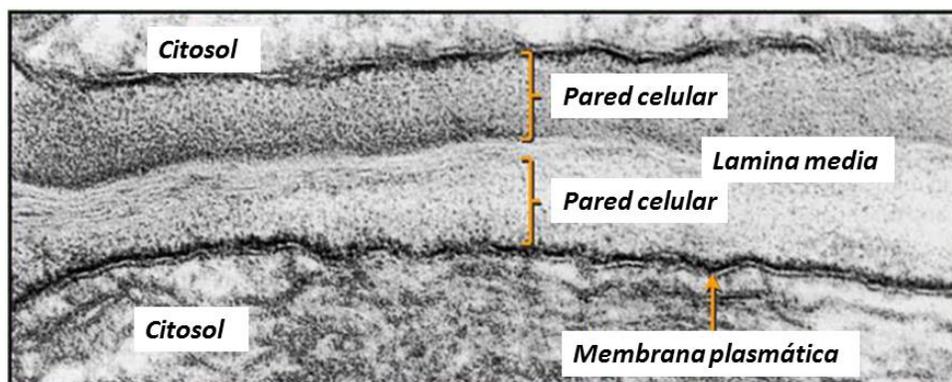
Por su parte Jarvis (1984) dice que las sustancias pécticas son polisacáridos ácidos complejos, que están localizados principalmente en la matriz de la pared primaria y laminilla media de plantas superiores. Actúan como controladoras de la porosidad y difusión pasiva de diversos solutos y participan en la regulación de los procesos de elongación y abscisión.



## 2.2. Localización de la pectina dentro de la pared celular vegetal

### 2.2.1. La pared celular vegetal

La pared celular vegetal es una estructura dinámica que circunda las células, exterior al plasmalema, y cuya composición y propiedades son constantemente adaptadas al crecimiento, diferenciación y variaciones medioambientales. La Tabla 1 muestra los principales componentes de la pared celular vegetal y una breve descripción de cada uno de ellos. Las paredes celulares de una planta, colectivamente determinan su forma y aseguran la protección contra patógenos. Típicamente, las paredes celulares vegetales están formadas por dos capas: la pared secundaria más interna compuesta básicamente de fibras de celulosa y hemicelulosa y la pared primaria, más externa, formada por las mismas fibras embebidas en sustancias pécticas y algo de proteínas. Como se muestra en la Figura 2 las paredes primarias de dos células contiguas se hallan unidas por la laminilla media, estructura formada principalmente por sustancias pécticas, que cumplen así el rol de sustancia cementante. Hay diversas revisiones bibliográficas que cubren el estudio físico y químico de las paredes celulares vegetales (Fry, 1995; Carpita y Gibeaut, 1993; Jarvis y McCann, 2000; Willats *et al.*, 2000).

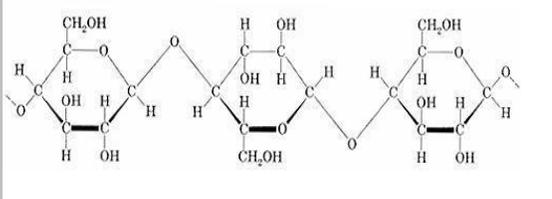
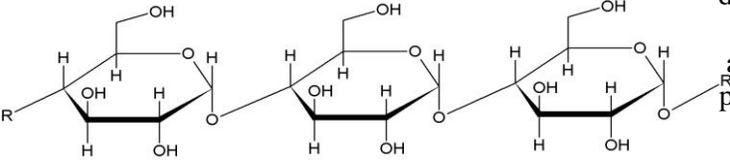
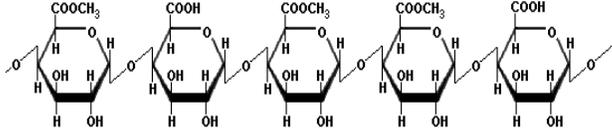
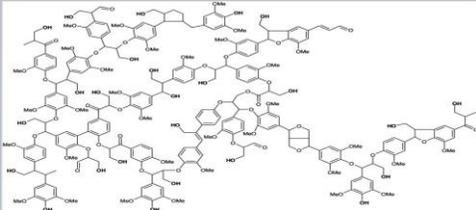


**Figura 2.** Micrografía electrónica de transmisión de paredes celulares (x 3000).

**Fuente:** Modificada de Raven (1999).



Tabla 1. Principales componentes de la pared celular

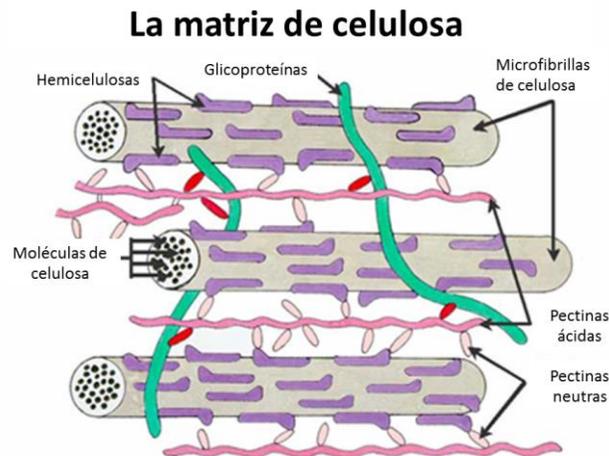
Componentes primarios	Componentes secundarios	Características
<p data-bbox="386 449 493 480"><b>Celulosa</b></p> 	<p data-bbox="946 449 1377 684">Representa el componente mayoritario, consiste en un polímero lineal de residuos de glucosa unidos por enlaces <math>\beta</math>-(1<math>\rightarrow</math>4). La celulosa es una estructura ordenada en forma de fibras y su función principal es conferir rigidez a la pared celular.</p>	
<p data-bbox="347 919 521 951"><b>Hemicelulosa</b></p> 	<p data-bbox="946 856 1382 1125">Consiste en un esqueleto de residuos de xilosa unidos por enlaces <math>\beta</math>-(1<math>\rightarrow</math>4) que pueden estar sustituidos con diferentes azúcares (neutros o ácidos) como L-arabinosa, D-galactosa o ácido D-glucurónico. Estos residuos pueden estar esterificados con grupos acetilo, feruloilo o <i>p</i>-cumarilo.</p>	
<p data-bbox="683 1213 935 1245"><b>Galactoglucomanano</b></p>	<p data-bbox="1008 1150 1357 1287">Compuesto por residuos de glucosa y manosa unidos por enlaces <math>\beta</math>-(1<math>\rightarrow</math>4) con residuos laterales de galactosa.</p>	
<p data-bbox="391 1310 488 1341"><b>Pectina</b></p> 	<p data-bbox="976 1310 1385 1514">Las pectinas son un tipo de heteropolisacáridos. Una mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Constituyen el 30 % del peso seco de la pared celular primaria de células vegetales.</p>	
<p data-bbox="529 1535 643 1566"><b>Ligninas</b></p> 	<p data-bbox="976 1535 1385 1776">La lignina es un polímero de naturaleza aromática con alto peso molecular que tiene como base estructural unidades de fenilpropano y probablemente está ligada a los polisacáridos (poliosas) de la madera.</p>	

Fuente: Voragen *et al.* (2001).



Los polisacáridos constituyentes de las paredes celulares vegetales representan un alto porcentaje de la biomasa vegetal. Estos determinan gran parte de los atributos de calidad de frutas y vegetales frescos, como así también su comportamiento durante el proceso de manufactura de alimentos. Los componentes predominantes en los residuos agroindustriales como rastrojos de cosechas, cáscaras de frutos, fibra de papa, salvado de trigo, etc.; algunos de los cuales son reutilizados en la industria de alimentos. Constituyen además una fuente renovable de energía ya que pueden ser convertidos por vía microbiana en compuestos valiosos como etanol. Los residuos vegetales tal cual o algunos polisacáridos extraídos de ellos como la pectina, son utilizados en diversos procesos industriales, cumpliendo funciones como material de relleno, por ejemplo, en la elaboración de textiles, fibra dietética, piensos y papel o bien como aditivo como son los casos de las aplicaciones relacionadas con la elaboración de alimentos, pinturas, cosméticos y productos farmacéuticos. Tales aplicaciones dependen de las propiedades físico-químicas y biológicas de los polisacáridos (Voragen *et al.*, 2001).

En la Figura 3 se observa que las sustancias pecticas que se hallan situadas en el exterior de las paredes celulares donde mantienen una estrecha relación con la celulosa, se conocen con el nombre de protopectina o pectinas insolubles en agua, y han sido reconocidas como precursoras de las pectinas (Kertez, 1951; Braverman, 1980).



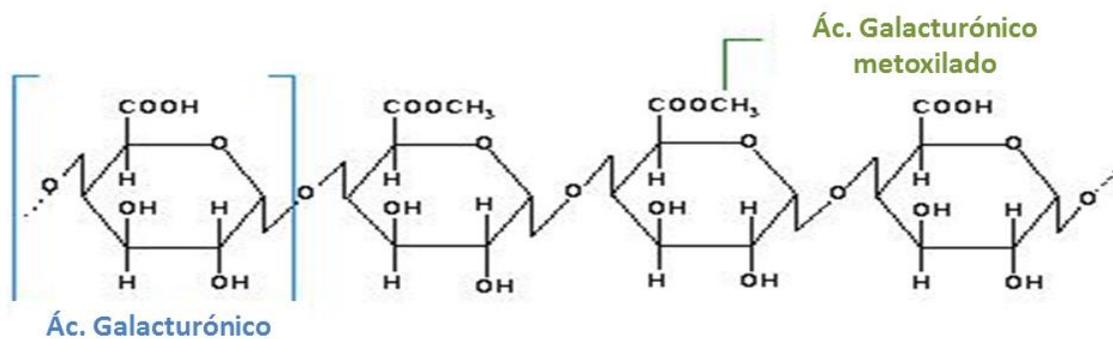
**Figura 3.** Matriz de celulosa.

**Fuente:** Modificada de Raven (1999).



### 2.3. Estructura de la pectina

Estructuralmente, las pectinas están constituidas por un esqueleto de residuos de ácido galacturónico (AGA) unidos entre sí por enlaces  $\alpha$ -1,4, como se muestra en la Figura 4. Algunos de los grupos carboxílicos de las moléculas de AGA en las cadenas de pectina están metil esterificados y el porcentaje de grupos esterificados se expresa como grado de esterificación (GE). Las pectinas se han dividido en dos grandes grupos, dependiendo de su GE, como pectinas de alto metoxilo (PAM) con un GE mayor a 50% y pectinas de bajo metoxilo (PBM) con un GE menor a 50% (Mollea *et al.*, 2008).



**Figura 4.** Estructura química de la pectina.

**Fuente:** Modificada de Raven (1999).

A la región de residuos de AGA se le denomina Homogalacturonano (HG) o región lisa, y normalmente equivale a un 70-80% de la masa total de la pectina, particularmente en frutos cítricos. A su vez, el esqueleto estructural de HG puede estar interrumpido por moléculas de ramnosa unidas por enlaces  $\alpha$ -1,2, a partir de los cuales se forman cadenas laterales de azúcares, principalmente L-arabinosa y D-galactosa, generando de esta manera la región denominada Ramnogalacturonano (RG) o región ramificada (Happi *et al.*, 2008). Es importante señalar que las propiedades funcionales de las pectinas dependen de su grado de esterificación y de los grupos funcionales que interrumpan los residuos de ácido galacturónico, entre otros factores (Yoo *et al.*, 2006).



Las sustancias pécticas se encuentran principalmente en las paredes celulares y los espacios intercelulares de los tejidos vegetales; son capaces de retener gran cantidad de agua y participan en la transferencia de agua en las plantas (Kertesz, 1951).

Hacia 1983 se aceptó que todas las sustancias pecticas están compuestas por cadenas rectilíneas de ácidos poligalactourónicos unidos por enlaces glucosídicos. Las sustancias pécticas son poligalacturónicos unidos con carbohidratos no urónidos enlazados en forma covalente en una cadena no ramificada de unidades de ácido D-galactourónico unidas por enlaces  $\alpha$  (1-4) (Pilnik *et al.*, 1970).

La estructura química de la pectina está básicamente constituida por dos tipos de polímeros: galacturonanos, cuyo esqueleto principal está formado por residuos de ácido galacturónico (AGA) conectados mediante enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) y ramnogalacturonanos formado por residuos alternados de AGA y ramnosa (Ram).

Entre los galacturonanos tenemos el homogalacturonano (HG), xilogalacturonano (XG), apiogalacturonano y el llamado ramnogalacturonano II (RGII). El HG es un polímero helicoidal de grado de polimerización estimado en 70-100. El ácido galacturónico presenta algunos sustituyentes no glucídicos tales como metanol, ácido acético, ácidos fenólicos, y en algunas muestras comerciales, grupos amido (Ridley *et al.*, 2001; Voragen *et al.*, 2001).

El grado de metilación (GM) se define como los moles de metanol presentes cada 100 moles de ácido galacturónico. Las pectinas con valores de GM > 50 se les denomina de alto contenido de metoxilo (cítricos, manzanas) y, en caso contrario, de bajo metoxilo (papa, pera, receptáculos de girasol). La distribución de los metoxilos puede ser aleatoria o por bloques. La laminilla media posee en general un bajo grado de metilación. Además de la esterificación con metanol, algunos grupos hidroxilos en C-2 y C-3 se encuentran acetilados. El grado de acetilación es muy bajo en pectinas de manzanas o cítricos (3-4%) pero alta en remolacha azucarera o papa (14-20%). La interacción del HG con iones  $\text{Ca}^{+2}$  (se requieren al menos 14 residuos) produce el fenómeno de gelación, que se revela por la precipitación del polímero inducida por la unión del  $\text{Ca}^{+2}$  a los grupos carboxilo. Debido a



que el HG no contiene esencialmente ramificaciones o cadenas laterales, esta región de la pectina es denominada región lisa (*smooth region*). Además del HG, que es el galacturonano más estudiado y de más amplia distribución, se han aislado otros galacturonanos cuya estructura resultó ser más compleja que el HG. El XG se aisló de una fracción de pectina de manzana resistente a la degradación enzimática. La xilosa, que se encuentra ocasionalmente en las sustancias pécticas, se halla unida directamente al residuo de ácido galacturónico. El XG se halla interconectado con las regiones del RG. El galacturonano denominado RG-II es un polímero de bajo peso molecular y su estructura es extremadamente compleja. Si bien su nombre sugiere una estructura base similar al RG-I, en realidad presenta una cadena de 7 a 12 residuos de ácido galacturónico con uniones  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) ramificada en cuatro sitios diferentes con oligosacáridos que se caracterizan por presentar, además de los residuos comunes de ramnosa, galactosa, fructosa y arabinosa, azúcares inusuales tales como: 2-O-metil-fucosa, 2-O-metil-xilosa, apiosa, ácido 2-ceto-3-deoxi-D-manano-octulosónico (KDO), entre otros. EL RG-II se encuentra como dímero entrecruzado por un borato diol éster. Este entrecruzamiento está formado entre el H-2 y el H-3 de los residuos de apiosa de cada subunidad monómerica del RG-II. El RG-II aislado de diferentes fuentes parece tener una estructura similar (Ridley *et al.*, 2001).

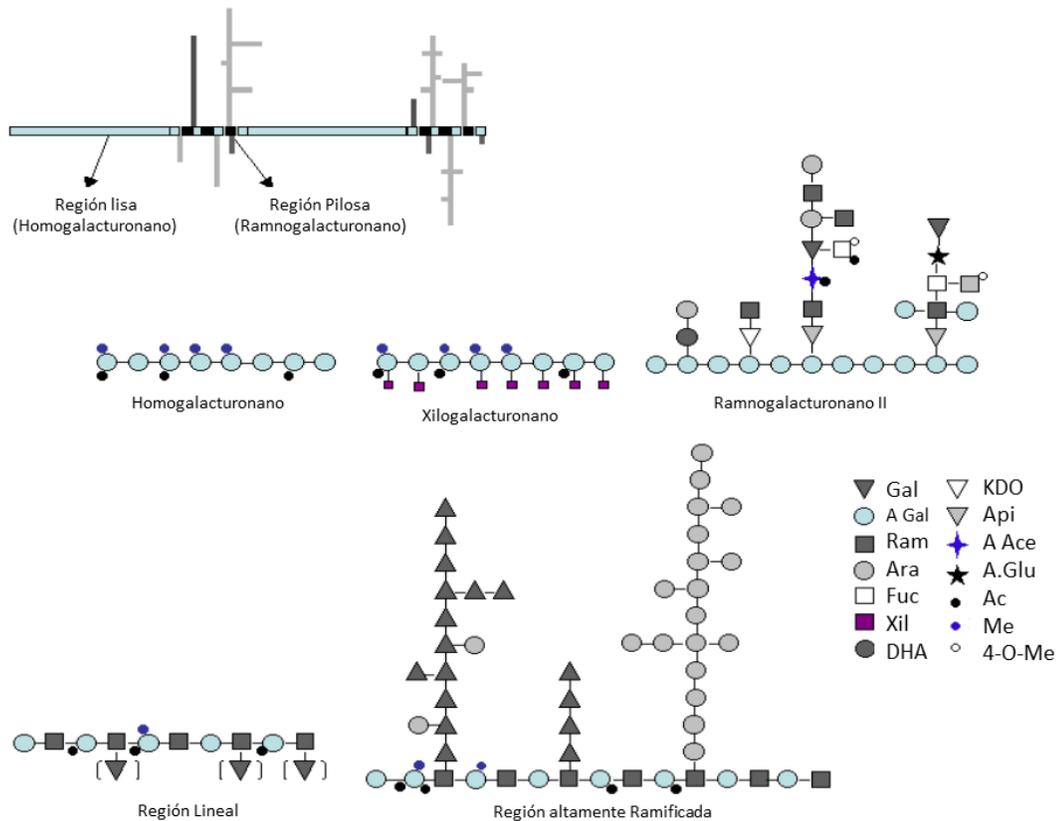
El segundo grupo de polímeros constituyentes de la pectina son los ramnogalacturonanos, alguno de los cuales contiene muchas cadenas laterales, por lo que esta región de la pectina se ha denominado región pilosa (*hairy region*). En realidad, las regiones pilosas contienen RG, pero el RG es solo una parte de esta región (RGII estaría incluido en la región pilosa). Se compone de unidades repetidas del disacárido [(1 $\rightarrow$ 2)- $\alpha$ -L-ramnosil-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-ácido galactosilurónico]. Su longitud no se ha determinado, pero podría contener hasta 300 unidades de cada residuo. La presencia de ramnosa produce una estructura en forma de "T" de la cadena lineal o eje central. Los residuos de ácido galacturónico se hallan generalmente acetilados. Las ramificaciones del polímero ocurren en su mayor parte en el O-4 de los residuos de ramnosa con uniones del tipo (1 $\rightarrow$ 4) y están formadas por residuos ricos en azúcares neutros: arabinosa (arabanos), galactosa (galactanos) y cantidades menores de fucopiranosas. La unión entre los residuos laterales de arabinosa es (1 $\rightarrow$ 5) y entre los residuos de galactosa (1 $\rightarrow$ 4). Los residuos de ramnosa en el RG-I que tienen



cadenas laterales varían entre el 20 y el 80 %, dependiendo de la fuente de RG. Algunos de estos constituyentes poseen residuos de ácido ferúlico en el extremo no reductor (uniones O-5 con arabinosa y O-3 con galactosa). El RG-I se encuentra prácticamente en todos los tejidos vegetales y en algunos casos representa el 7-14% de la pared celular. Los arabanos, galactanos y dos formas de arabano-galactanos (arabano-galactano I y arabano-galactano II) asociados al RG-I, se incluyen dentro de las sustancias pécticas (Voragen *et al.*, 2001).

En general, las regiones ramificadas son más frecuentes y más grandes en los polímeros pécticos de la pared celular primaria que en la pectina de la laminilla media. Estas regiones, entre otras funciones, mantienen unidas las moléculas de pectina a los otros polímeros constituyentes de la pared celular como proteínas, hemicelulosa y celulosa, resultando en conjunto una estructura insoluble.

Una función importante de las sustancias pécticas es el control de la porosidad de la pared celular. El mayor efecto sobre la porosidad lo da el entrecruzamiento de las regiones de bajo metoxilo con  $\text{Ca}^{+2}$ . A esta propiedad contribuiría también la unión de las diferentes cadenas de sustancias pécticas mediante la dimerización de los residuos de ácido ferúlico. Lo anterior se ve ilustrado en la figura 5.



**Figura 5.** Polímeros estructurales de la pectina

**Fuente:** Contreras-Esquivel (1995).

## 2.4. Propiedades químicas y físicas de las pectinas

Las propiedades físicas, químicas y funcionales de las pectinas son de gran interés para una gran cantidad de científicos y tecnólogos en alimentos, ya que la pectina puede ser clasificada como un polisacárido complejo, una fibra muy importante y un factor nutricional, así como un agente gelificante de alimentos. Mejoras constantes en la calidad y en las fuentes tecnológicas disponibles, hacen posible en nuestros días el producir pectinas que tienen diferentes características requeridas por el usuario (Guerritz, 1985).

Como polímeros del ácido galactourónico, las pectinas tienen muchas propiedades físicas únicas, debidas principalmente al grupo carboxílico presente en las unidades de la cadena.



La pectina en agua forma soluciones viscosas dependiendo de su peso molecular, grado de esterificación, pH y concentración electrolítica de la solución. Las soluciones de pectina completamente esterificadas no cambian apreciablemente su viscosidad al variar el pH, pero al disminuir el grado de esterificación la pectina viene a ser marcadamente dependiente del pH (Doesburg, 1965; McCready, 1952). Los ácidos pécticos y pectinas de muy baja esterificación son insolubles en agua. A continuación se enlistan las principales propiedades de la pectina.

**-Peso molecular.** Está relacionado con la longitud de la cadena, es una característica muy importante de la que dependen la viscosidad de sus disoluciones y su comportamiento en la gelificación. La determinación cuidadosa del peso molecular es difícil, parcialmente debido a la extrema heterogeneidad de las muestras y parcialmente debido a la tendencia de las pectinas a agregarse, aún bajo condiciones no favorables a la gelación (Multon, 1988).

**-Pureza.** Debe tener un mínimo del 78% de ácido anhidrouónico, así mismo debe estar libre de humedad y cenizas (Multon, 1988).

**-pH.** Trazas de ácido mineral que contaminan las pectinas (derivadas de tratamiento de extracción y purificación) pueden afectar el pH. La mayor parte de las cenizas que acompañan las pectinas consisten de carbonatos alcalinos o bases. En general, una alta alcalinidad de ceniza acompaña a una baja acidez y viceversa (Multon, 1988; Quito-Vidal y Zárate-Tacuri, 2011; Pilnik y Voragen, 1970).

**-Solubilidad.** Debe ser soluble en 20 partes de agua y formar una solución coloidal opalescente, de fácil fluidez, ácida al papel tornasol e insoluble en alcohol o el alcohol diluido y en otros solventes orgánicos.

La solubilidad aumenta con un incremento en el grado de esterificación y con un decremento en su peso molecular. Las pectinas con un grado de esterificación del 20% son precipitadas por soluciones de cloruro de sodio, con un grado esterificación del 50% por soluciones de cloruro de calcio, y con un grado del 70% por cloruro de aluminio o cobre (Badui, 2006).



**-Grado de esterificación.** Las pectinas probablemente se forman inicialmente en forma altamente esterificada, pero experimentan algo de desesterificación después de insertarse en la pared celular o lámina media.

El grado de metilación tiene un papel importante en la firmeza y cohesión de los tejidos vegetales. La reducción del grado de metilación tiene como consecuencia un aumento de la cohesión, que es particularmente evidente en los tejidos calentados.

Las pectinas están clasificadas como de alto metoxilo (HM) y bajo metoxilo (LM), dependiendo del grado de esterificación (Van Buren, 1991; Multon, 1988).

**-Acidez titulable.** Cuando se titula una solución de pectina con álcali para la determinación de su acidez, se debe tener mucho cuidado, pues un pequeño exceso de álcali podría saponificar algunos de los grupos éster de la pectina. Esto daría por supuesto, valores altos para la acidez titulable (Multon, 1988).

**-Características sensoriales.** La pectina debe tener un color blanco amarillento y sin olor, además de presentar una textura de aspecto viscoso o mucilaginoso, así mismo su tamaño de partículas deberá estar comprendido entre la malla de 60 y 80 (Badui, 2006).

**-Características fisiológicas.** La pectina tiene la particularidad de retener agua, y se le atribuyen efectos benéficos en caso de diarrea ya que hace más lento el tránsito intestinal. El principal efecto indeseable del que se ha acusado a las pectinas es el de que inhiben la captación de metales necesarios para el buen funcionamiento del organismo, como el calcio, zinc o hierro. La ingestión de pectinas tiene varias ventajas claras, como la disminución del cáncer de colon. Se ha comprobado que, en segundo lugar, hacen que la captación por el aparato digestivo de la glucosa procedente de la dieta sea más lenta, con lo que el ascenso de su concentración sanguínea es menos acusado después de una comida. Esto es claramente favorable para los diabéticos, especialmente para aquellos que no son dependientes de la insulina (Badui, 2006).

Las pectinas y pectatos pueden ser precipitados con solventes orgánicos miscibles en agua (Deuel *et al.*, 1954), con detergentes cuaternarios (Quito-Vidal y Zárate-Tacuri, 2011), con



polímeros básicos solubles en agua, con proteínas y con iones polivalentes; propiedades que se utilizan para la separación y extracción de las pectinas de sus soluciones.

Otra propiedad importante de las pectinas es la degradación que presentan por agentes químicos, físicos y bioquímicos. En medio ácido sufren primero desmetoxilación o desestirificación y después la hidrólisis de los enlaces glicosídicos con la consecuente ruptura de la cadena o depolimerización. A bajas temperaturas prevalece la saponificación, mientras que, con el aumento de la temperatura, predomina la depolimerización. Los medios alcalinos también actúan sobre los grupos éster metílicos los que pueden ser eliminados a bajas temperaturas sin necesaria depolimerización. Esta propiedad es aprovechada en la producción comercial de pectinas de bajo metoxilo. El álcali, además, cataliza el rompimiento del enlace glicosídico. Estas degradaciones ocurren por sola acción del calor, y, en mayor escala, por la acción conjunta ácido-calor o álcali-calor (Doesburg, 1965; Pilnik y Voragen, 1970; Flores, 1966).

Otra degradación importante sufrida por las sustancias pécticas durante el desarrollo, maduración, transporte y deterioro mecánico de las frutas antes del proceso, se da por la acción de enzimas pectinolíticas presentes en todas las frutas y hortalizas. Existen preparados industriales de enzimas pécticas para la degradación deseable de las pectinas, como las aplicadas en los procesos de clarificación de jugos de fruta, donde al eliminar la pectina disminuye la viscosidad y se evita la turbidez del producto (Tressler y Joslyn, 1970).



### 2.4.1. Propiedades funcionales

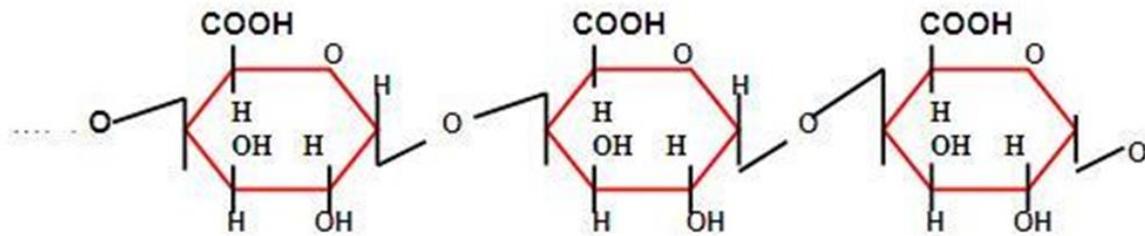
**-Viscosidad.** Concentraciones diferentes de un azúcar y tipos de azúcares en general afectan la viscosidad de manera diferente. La viscosidad se incrementa marcadamente a medida que la temperatura se acerca a la temperatura de ebullición (Multon, 1988).

**-Gelificación.** Los geles consisten en moléculas poliméricas con enlaces entrecruzados para formar una red interconectada y tupida inmersa en un líquido. La pectina forma geles bajo ciertas condiciones. El poder gelificante de un ácido pectínico depende primeramente de su tamaño molecular.

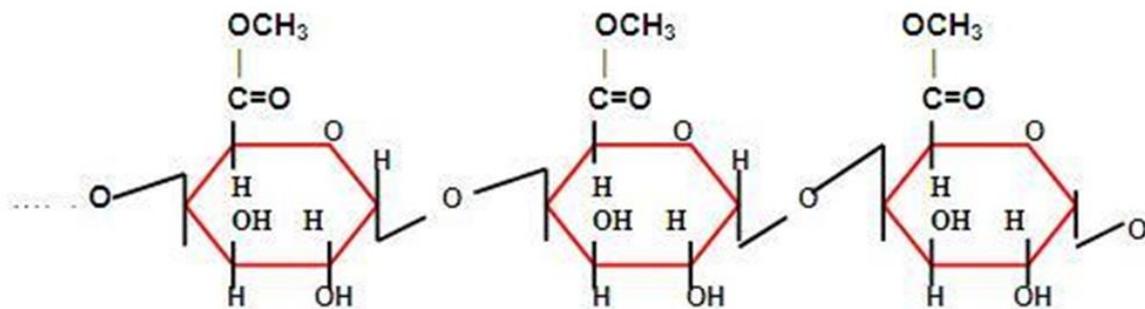
La capacidad de gelificación y características intrínsecas del gel dependen de la pureza y el grado de esterificación de la pectina. Durante mucho tiempo se pensó que el grado de esterificación era la principal medida de su utilidad en la formación de geles. Hoy se sabe que más allá de necesidad de un mínimo de 7% de metoxilo en la práctica, 50% de esterificación y su influencia sobre la velocidad de gelificación, no existe relación alguna entre el contenido de metoxilo y la potencia gelificante de una pectina (Flory, 1953; Multon, 1988; Ullman, 1950; McCready, 1952; Pilnik y Voragen, 1970; Francis y Bel, 1975).

### 2.5. Tipos de pectinas

Todas las sustancias pécticas son polímeros del ácido galacturónico y pueden ser diferenciados por el grado de sustitución de los grupos metilo que se encuentran esterificando los carboxilos de las pectinas como se muestra en la Figura 6. El grado de metoxilo es un término ampliamente utilizado en la industria (Ferreira, 1990).



Porción de la molécula de pectina (cada Monómero es ácido galacturónico)



Porción de la molécula de pectina esterificada (cada monómero tiene un grupo carboxilo metoxilado)

**Figura 6.** Metoxilación de la pectina.

**Fuente:** Elaboración propia.

Hersstreith (2001) menciona que las pectinas se dividen en tres grupos según sus propiedades de gelificación, que están asociadas con el grado de esterificación metílica:

a) Pectinas con alto índice de metoxilo, se determinan según el grado de esterificación con radicales metílicos, contienen más de 50% de unidades del ácido poligalacturónico esterificadas y por lo tanto, no reaccionan con iones calcio. El poder de gelificación depende, entre otros, del contenido ácido, del tipo de pectina y de la cantidad de sólidos solubles.

Estas pectinas reaccionan con la caseína y sirven para estabilizar bebidas fabricadas a partir de leche ácida. Este tipo de pectinas es el que se encuentra en la cáscara de la naranja valencia (Braverman, 1980).



Se considera como tales a las pectinas con más de 50% de los grupos carboxílicos esterificados con metoxilo. La formación de un gel con estas pectinas requiere de una determinada relación de azúcar-ácido-pectina.

La gelificación con pectinas de alto metoxilo es descrita como la unión de segmentos de moléculas poliméricas por una cristalización local limitada, provocada por un cambio en el medio en que esta disuelto el polímero (Genu, 1979).

La pectina en la solución acuosa se encuentra en agregados altamente hidratados formando una dispersión coloidal de carga eléctrica negativa. Para formar un gel con pectinas de alto metoxilo se requiere un pH inferior a 3.5 y no menor de 55% de sólidos en solución. Un mínimo de pectina también es requerido y esta cantidad se utiliza para definir la potencia gelificante o grado de jalea de una pectina dada.

El pH ideal de un gel es un factor específico para cada pectina, y este oscila entre 2.2 y 3.1 teóricamente. El descenso del pH por debajo de 3.5 aumenta la firmeza del gel y consecuentemente disminuye la cantidad de pectina requerida para su formación. Por debajo del punto óptimo, la reducción de pH no aumenta la firmeza del gel en forma considerable y, alrededor de 1.8 o menos, la firmeza disminuye en forma drástica (Pilnik y Voragen, 1970; Flores., 1966).

**b)** Pectinas con bajo índice de metoxilo, son las que tienen menos del 50% de unidades esterificadas del ácido poligalacturónico y por lo tanto forman geles no sólo con sólidos solubles que contienen iones calcio sino también con azúcares y otros ácidos. En este caso el poder de gelificación también depende del pH (ácida de 1-3 o base 6-7) y de la concentración de iones calcio, lo cual influye en la textura del gel (Gaviria, y López, 2005).

Las pectinas de bajo contenido de metoxilo usualmente de 20 a 45% de esterificación no requieren de la presencia de azúcar para formar el gel. Estas son producidas comercialmente por desesterificación controlada de las pectinas de alto metoxilo. La acidez no influye tanto como en las últimas y la formación del gel tiene lugar mediante la acción



de iones metálicos polivalentes como el calcio, que establece puentes entre los grupos carboxílicos de una cadena de pectina y otra.

En estos geles el grado de esterificación de la pectina determina las concentraciones de iones y azúcar necesarios para formar gel; y este puede estar exento de azúcar (Francis, y Bel, 1975; Flores, 1966).

c) Pectinas amidadas con bajo índice metoxilo, son aquellas que han sido desmetoxiladas con amoníaco en lugar de usar ácidos. Cuando se hace el proceso de desmetoxilación, una parte de los grupos éster se reemplaza por grupos amida, lo cual modifica las propiedades de gelificación de la pectina. Requieren pequeñas cantidades de iones calcio para el proceso de gelificación (Cubero *et al.*, 2002).

## **2.6. Fuentes de obtención de pectina**

Durante el desarrollo y maduración de las frutas se efectúa el rompimiento, por hidrólisis, de estos compuestos para formar azúcares y ácidos, consecuentemente la cantidad y calidad de la pectina extraída dependerá, entre otras cosas, de la edad y madurez de sus fuentes (Doesburg, 1965; Francis y Bel, 1975).

Diversos autores han establecido que en las sustancias pecticas contenidas en naranjas y otros cítricos presentan diversas características como (Quito-Vidal y Zárate-Tacuri, 2011):

- 1) El porcentaje de compuestos pécticos totales en la cáscara y pulpa permanece aproximadamente constante durante la mayoría del periodo de crecimiento,
- 2) La razón de conversión de protopectina a pectinas solubles en agua es mayor en la pulpa que en el albedo (cáscara).
- 3) El porcentaje de pectinas solubles alcanza un máximo en el jugo y tegumentos justamente antes de declinar el contenido total péctico.

Por otra parte, la pectina soluble en agua que se encuentra en el fruto es de poco o ningún valor para su explotación comercial (Rouse *et al.*, 1964; Pilnik y Voragen , 1970).



La obtención de pectinas a partir de diferentes fuentes vegetales, es un tema de amplia importancia, debido a la problemática de desabastecimiento en algunos países y la posibilidad de buscar nuevas fuentes para su obtención a partir de recursos bióticos propios de una región o incluso de residuos agroindustriales. Por ejemplo, de la extracción de jugo de limón se obtienen subproductos que alcanzan hasta la mitad del peso total del fruto.

Si estos subproductos se tratan como materiales de desecho, pueden ocasionar problemas ambientales. Sin embargo, las cáscaras y bagazo de cítricos están compuestos por biomateriales tales como aceites, pectinas, proteínas, azúcares, por lo que pueden ser una fuente para la obtención de estos materiales (Ueno *et al.*, 2008).

### **2.6.1. Fuentes convencionales y no convencionales de extracción de pectina**

La materia prima más importante para la extracción de pectinas son los residuos de frutos cítricos y el bagazo de manzana debido a su alto rendimiento y calidad.

El rendimiento de pectinas en cítricos fue investigado por Rouse y otros que demostraron el potencial de producción de pectina cítrica de las diferentes partes de la fruta se encuentra en orden decreciente: membrana, cáscara y jugo (Vargas, 1983). La cáscara de cítricos de diferentes orígenes contiene de un 20 a un 50% de pectina en base seca.

Devia (2003) también estudio el rendimiento de extracción de las pectinas en cáscaras de cítricos, demostrando que es posible la extracción de pectinas de las cáscaras de naranjas valencia, con un rendimiento cercano al 10% y con buenas características de gelificación por una extracción en medio ácido, con un pH cercano a 2.0 y a tiempo de hidrólisis de unos 30 a 40 minutos. Además, la apariencia de esta pectina es diferente si se trata la cáscara completa o si se retira únicamente el albedo. En el primer caso resulta una pectina de color amarillo, mientras que en el otro caso se obtiene un material muy blanco. En cuanto a las características de pectinas cítricas. Yepes *et al.* (2008) investigó el flavedo y albedo para la extracción de pectinas, encontrando que el producto obtenido contiene aceites esenciales que confieren sabor amargo, además de impurezas y color blanco a los



productos que con ellos se elaboran. Por tal razón, en los procesos industriales, los aceites esenciales se extraen mecánicamente, mediante el rayado del fruto o por arrastre de vapor.

En cuanto a los rendimientos de pectina en residuos de manzana, Vargas demostró que el contenido de material péctico varía de 15 a 20% en base seca (Vargas, 1983). En un caso más específico, Untiveros (2003) caracterizó las pectinas de alto metoxilo extraíbles de manzanas de la variedad Pachacamac, encontrando que estas tienen buena calidad, ya que su contenido de metoxilos es de 11.59%, con un 76.30% de ácido anhidro galacturónico y 150° de gelificación.

Existe un interés general en el uso de desperdicios de productos obtenidos de bioindustrias, para minimizar los problemas ambientales y aprovechar las grandes cantidades de biomasa para elaborar productos con valor agregado. De este modo, se han considerado otras fuentes de extracción de pectina, como remolacha azucarera y girasol que se han usado en cantidades limitadas en Europa. En cuanto a los residuos de otros frutos, como el melocotón, la guayaba, el cacao entre otros, también se han estudiado como posibles fuentes de extracción. En la extracción de pectinas de bagazo de melocotón se ha encontrado el máximo rendimiento obtenido fue de 15.40%, lo cual se logra por el método de extracción ácida a temperaturas de 80°C, pH 1.2 por 60 min. Por otro lado, las pectinas con mejor calidad se obtienen a temperaturas de 60°C, pH 2.05 y 40 min, con un rendimiento de 5.59% (Pagan, 1998).

Chacín *et al.* (2009), han extraído pectinas a partir de la pulpa de guayaba. Encontraron que los frutos de guayaba ovoide y redonda presentaron contenidos de pectina entre 1.65% y 1.33% extraídos con hidrólisis ácida. En cuanto a los contenidos de metoxilo y ácido galacturónico, estos fueron de 9.40 y 51% respectivamente, indicando que sus propiedades gelificantes son deseables para la industria alimentaria.

En cuanto al cacao, Blakemore citado por Vargas (1983), se refiere a la cáscara del fruto de cacao como la fuente más barata de pectina ya que aproximadamente 10 millones de toneladas al año son desechadas. Respecto a esto, Barazarte *et al.* (2008) estudiaron la



extracción de pectinas en cáscara de fruto de cacao, encontrando que las mejores características químicas (6.57% de metoxilos, 48.26% de esterificación y 63% de contenido de ácido galacturónico) se obtienen a pH 4 y temperatura de 90°C.

## 2.7. Métodos de extracción de pectinas

La pectina extraída de los diferentes tejidos vegetales varía enormemente en sus propiedades físico-químicas y, por tanto, en su aplicación comercial. El método de extracción juega un papel muy importante en sus propiedades (Potter, 1966).

Muchas investigaciones en este campo se han dirigido a la elucidación de la estructura de las pectinas, pero este hecho no ha afectado el “arte” asociado con la extracción industrial de pectina a partir de desechos de frutas, principalmente cítricos (Figura 7) y de manzana (Pilnik y Voragen, 1970).



**Figura 7.** Pectina extraída de cáscaras de cítricos.

**Fuente:** UNAD (2013).

La extracción de pectina de un tejido vegetal para dar un producto uniforme y estandarizado es un problema mucho más complejo que la extracción de otros materiales vegetales en donde la sustancia es obtenida en la misma forma en que se encuentra naturalmente, como el azúcar de caña o el almidón de cereales por ejemplo (Potter, 1966).



Una complicación adicional para el productor de pectina es que la materia prima que utiliza es generalmente un subproducto de otros procesos como la fabricación de jugos cítricos o bebidas de sidra; debido a ello, la calidad de la materia prima estará determinada mayormente por los requerimientos del producto primario que es, frecuentemente, de mayor importancia económica. Por esto, es solo de importancia académica el apuntar que los frutos inmaduros contienen porcentaje de pectina ligeramente mayor que los totalmente maduros (Potter, 1966).

Estudios de Voragen y Pilnik (1970) se han orientado hacia la aclaración de la estructura de la pectina en relación a los cambios que pueda sufrir al ser extraída de los frutos, sobre todo de los cítricos para la producción comercial, pues se sabe que los diferentes métodos de extracción hacen variar las propiedades y características de las pectinas, sobre todo su capacidad de producir geles, que es la característica más importante.

Debido a que las pectinas son compuestos que generalmente se emplean en alimentos, es necesario extraerlas del tejido vegetal mediante el uso de reactivos, disolventes y equipos que no dejen residuos tóxicos en el producto final.

Por ello, el proceso de extracción debe cumplir con estas necesidades; además, las propiedades fisicoquímicas de la pectina extraída, tales como pH, porcentaje de cenizas, grado de gelificación y grado de esterificación entre otros, deben estar dentro del rango apropiado para que las cualidades de la pectina puedan aprovecharse (Jo *et al.*, 2005).

Las pectinas se han extraído y caracterizado de muchos frutos y vegetales, incluyendo durazno, manzana, limón y naranja. Sin embargo, las fuentes comerciales de pectina son casi exclusivamente a partir de pomaza de manzana (15-18% de peso seco) y de las cáscaras de cítricos (20-30% de peso seco) (Masmoudi *et al.*, 2008).

Para Schieber *et al.* (2003), desde un punto de vista económico y ecológico, la producción de pectinas es la manera más razonable de utilizar los subproductos de la industria de los jugos.



Existen diferentes técnicas para la extracción de pectina a partir de tejidos vegetales, en las cuales pueden utilizarse procedimientos físico-químicos, o enzimáticos (Zapata *et al.*, 2008). Con la finalidad de obtener un mayor rendimiento durante la extracción de sustancias pécticas, comúnmente se realizan pre-tratamientos al material vegetal para facilitar la extracción. Es imposible extraer pectina libre del tejido vegetal, porque existe en una forma insoluble conocida como protopectina (Mollea *et al.*, 2008).

### **2.7.1. Extracción de pectina por métodos fisicoquímicos**

Se han empleado dos métodos para extraer la protopectina de las plantas, uno es usando un agente quelante para remover los cationes que constituyen a los ácidos pécticos, y el otro mediante el uso de ácidos para romper los puentes de hidrógeno entre la celulosa y los ácidos pécticos (Ueno *et al.*, 2008).

El rendimiento de pectina también depende de las condiciones de operación como la temperatura, el tiempo de extracción, el pH, los tipos de solventes de extracción usados y el uso de agentes quelantes adicionados, como es el caso del ácido etilendiamino tetraacético (EDTA) y del ácido ciclo hexanodiamino tetraacético (CDTA) para ayudar a liberar pectina de la pared celular (Yeoh *et al.*, 2008).

#### **2.7.1.1. Extracción de pectinas por el método convencional**

La extracción de pectinas por métodos convencionales se lleva a cabo a temperaturas cerca de los 90 °C por al menos una hora (Fishman y Cooke, 2009).

Frecuentemente las pectinas se extraen y se separan de los desechos de diferentes frutos mediante la acidificación. Comercialmente las pectinas se extraen a altas temperaturas para hidrolizar la protopectina usando ácidos como el sulfúrico, fosfórico, nítrico, clorhídrico o cítrico.



Después de la concentración, la pectina se precipita con la adición de alcohol, se seca, se granula y finalmente se tamiza (Woo *et al.*, 2010). La extracción de pectina en soluciones acuosas ácidas es suficiente para extraer pectinas que no son sensibles al calcio. Además se emplea otra extracción bajo condiciones de ácidos fuertes para obtener la pectina restante, principalmente aquellas sensibles al calcio. Existen algunos datos experimentales sobre la extracción de pectinas con soluciones neutras o básicas, pero no se ha confirmado con certeza, la concentración adecuada de alcohol para la precipitación de la pectina (Yeoh *et al.*, 2008).

### **2.7.1.2. Extracción de pectinas asistida por microondas**

Las condiciones de extracción empleadas en el método convencional provocan la degradación térmica de proteínas, lo cual genera pérdidas de cantidad y calidad de la pectina extraída. Debido a esto, se han establecido nuevos métodos en donde la pectina puede extraerse en menores tiempos y con mejor calidad y rendimiento, como es el caso de la extracción asistida con microondas, que ha mostrado obtener mayor rendimiento y calidad de pectinas en menor tiempo (Fishman *et al.*, 2000; Fishman *et al.*, 2006).

Kratchanova *et al.* (1996) reportaron que el pre-tratamiento del material vegetal con calentamiento con microondas permitió incrementar el rendimiento de pectina durante su extracción. Fishman *et al.* (2000) confirmaron el efecto favorable del pretratamiento con microondas durante la extracción de pectina de cáscara de naranja. Dichos autores sugieren que el efecto del calentamiento con microondas sobre el rendimiento y la calidad de las pectinas extraídas, se debe primero a la desintegración parcial del tejido vegetal y a la hidrólisis de protopectina y en segundo lugar, a la rápida inactivación de enzimas pectolíticas.



### 2.7.1.3. Otros métodos de extracción de pectinas

En la Tabla 2 se muestran otros métodos de obtención de pectinas efectuados por diferentes autores:

Tabla 2. Otros métodos de obtención de pectina

Tratamientos	Detalles del tratamiento	Fuente
<b>Extrusión como pre-tratamiento</b>	La técnica de extrusión como pre-tratamiento para la extracción de pectina de lima. La cantidad de pectinas solubles en agua se incrementó después del pre-tratamiento de extrusión.	Ralet y Thibault (1994).
<b>Lavado con agua caliente</b>	Se utiliza un lavado con agua caliente antes del proceso de extracción de pectina de semilla de girasol para mejorar la calidad y cantidad de pectina; sin embargo, el pre-tratamiento incrementó la pérdida de pectina.	Shi <i>et al.</i> (1996).
<b>Pre-tratamiento termo-mecánico</b>	Obtuvieron un alto rendimiento de pectina en seis minutos, utilizando un pre-tratamiento termo-mecánico en el que sometieron cáscara de naranja a presión de vapor (100-700 kPa), seguido de una descompresión instantánea a vacío a 5 kPa.	Rezzoug <i>et al.</i> (2008).
<b>Agua supercrítica</b>	También se ha reportado la extracción de pectinas de un fruto cítrico japonés (yuzu) usando agua supercrítica a 160 °C y 20 MPa de presión, obteniendo de esta manera un rendimiento de pectina del 80%.	Ueno <i>et al.</i> (2008).



Tabla 2. Otros tratamientos. (Continuación de tabla 2)

Otros tratamientos	<p>-Precipitación de sal de calcio. Consiste en convertir la materia prima en una sal cálcica de la pectina en un medio líquido, para luego secarla, para así obtener un pectinato, que cuando se pone en agua se hidrata para formar partículas estables de un diámetro medio equivalente mayor de 100 <math>\mu\text{m}</math>.</p>	Glahn (2001).
	<p>-Temperaturas altas. La pectina puede hidrolizarse y extraerse del tejido vegetal, tal como la cáscara de naranja, sin adicionar un ácido, solo con uso de temperaturas altas. Así se logra solubilizar pectinas con alto contenido de metoxilos y luego recuperarlas por concentración y secado.</p>	Ehrlich (1997).
	<p>-Intercambio iónico. Consiste en hacer reaccionar una suspensión acuosa de una fibra comestible con una solución de un metal alcalino férrico y luego separar la suspensión resultante en una fracción sólida rica en pectina y la fracción líquida con menor contenido de ésta. El material obtenido se hace pasar por una columna de intercambio iónico para cambiar los iones <math>\text{H}^+</math> por los iones metálicos agregados previamente, y proceder a recuperar la pectina.</p>	Graves (1994).
	<p>-Proceso biotecnológico. Consiste en someter el tejido vegetal que contiene las sustancias pécticas a la acción de microorganismos del género <i>Bacillus</i>, cuya actividad permite la liberación y recuperación de las pectinas. Así se obtiene fácilmente una pectina de alto peso molecular con un buen rendimiento.</p>	Sakai (1989).
	<p>-Extracción con disolventes. Cáscaras de naranja se someten a una extracción en contracorriente con una solución que tenga un solvente inmiscible en agua, para extraer los azúcares, los aceites esenciales y los bioflavonoides. Las cáscaras tratadas con el solvente se secan para producir un material rico en celulosa y pectina. El extracto se diluye con una solución acuosa para hacer insolubles los aceites esenciales y lograr su recuperación. Los bioflavonoides precipitan y se separan por filtración. La porción restante del extracto puede tratarse para recuperar un jarabe azucarado.</p>	Bonnell (1985).
	<p>-Solubilización en agua. Se puede obtener un producto enriquecido en pectina, en forma granular, para usarlo en alimentos y bebidas, poniendo la materia prima en contacto con una proteína comestible, soluble en agua para solubilizar la pectina y luego precipitarla con ayuda de un solvente. En este caso se puede mejorar el rendimiento agregando un ácido.</p>	Cerda (1996).



## 2.7.2. Extracción enzimática de pectinas

Existen pocos trabajos sobre extracción enzimática de pectinas. El método enzimático emplea pectinesterasa o pectinmetilesterasa, la cual convierte a las pectinas de alto metoxilo en pectinas de bajo metoxilo sin la despolimerización de la molécula de pectina.

Correa *et al.* (1999) obtuvieron pectinas de bajo metoxilo vía enzimática (pectinesterasa de origen vegetal) con capacidad para formar geles de alta resistencia, y las compararon con geles obtenidos por vía química, encontraron que los geles obtenidos por vía enzimática eran más resistentes.

Contreras-Esquivel *et al.* (2006) extrajeron pectina de pomaza de limón utilizando endopoligalacturonasa de *Aspergillus niger* con objeto de comparar dicho proceso con la extracción convencional, encontrando un rendimiento menor en el método enzimático que en el método convencional. Ptichkina *et al.* (2008) utilizaron enzimas de *Aspergillus awamori* con la finalidad de degradar la celulosa y las sustancias insolubles de la pared vegetal de calabazas, y obtuvieron pectinas con un grado de esterificación del 53% en tres horas de procesamiento.

### 2.7.2.1. Principales enzimas pectolíticas para la obtención de pectina

Las enzimas pectolíticas o pécticas, llamadas comúnmente pectinasas, constituyen un complejo sistema de enzimas que incluye hidrolasas, liasas y oxidasas, que intervienen en la degradación o modificación de la pectina. En la mayoría de las plantas superiores se encuentran y son producidas también por hongos filamentosos (McFeeters *et al.*, 1992), bacterias (Collmer y Keen, 1986; Hugouvieux-Cotte-Pattat *et al.*, 1996) y algunas levaduras (Biely y Kremnický, 1998) e insectos (Pilnik y Voragen, 1970). Las pectinasas son en su mayor parte extracelulares, pero otras se localizan intracelularmente y son las responsables del metabolismo de los productos de degradación generados por la acción de las pectinasas extracelulares. Mucho se ha avanzado en el conocimiento de las enzimas involucradas en la



biosíntesis de la pectina. Estas incluyen las transferasas, que cumplen la función de unir las unidades monoméricas, incorporar los sustituyentes y generar la estructura final (Mohnen, 1999). El estudio de las sustancias pécticas y las pectinasas está indisolublemente ligado al avance y mejoramiento de los métodos analíticos usados para determinar estructuras complejas de carbohidratos (Voragen *et al.*, 2001).

### **2.7.2.2. Clasificación de las enzimas pectolíticas**

Hasta hace muy poco, las revisiones bibliográficas sobre enzimas pécticas solamente describían las enzimas que actuaban sobre el ácido galacturónico, pero recientemente se han descubierto varias enzimas que actúan sobre más regiones (Schols, 1995; Mutter, 1997; Vlugt-Bergmans *et al.*, 2000). En la Tabla 3 se presenta la clasificación de las pectinasas, y en a Figura 8 observamos la actividad de las enzimas pectolíticas y la degradación de la molécula.

Las enzimas que actúan sobre el HG y el RG pueden ser divididas en enzimas depolimerizantes y desesterificantes. Las enzimas depolimerizantes se clasifican de acuerdo a los siguientes criterios (Schols, 1995; Mutter, 1997):

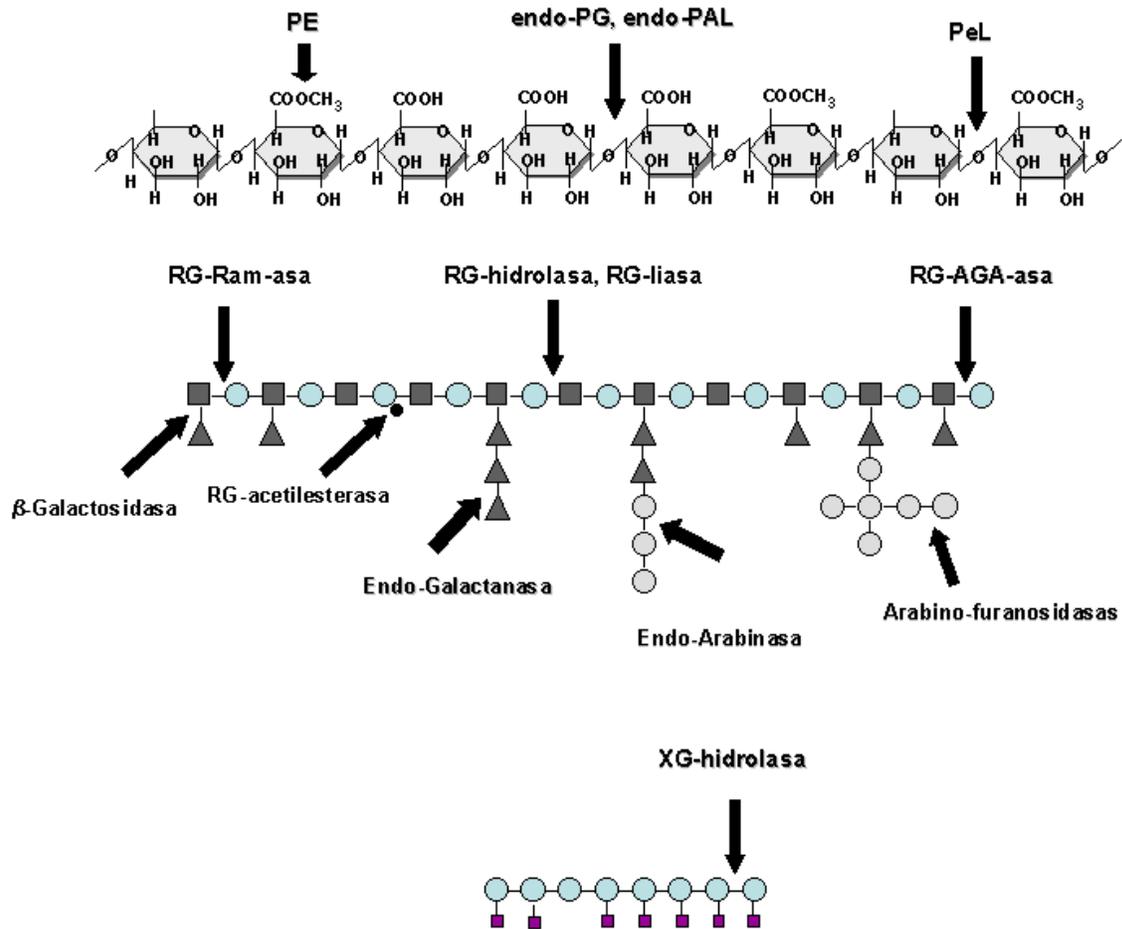
- 1) Tipo de ruptura de los enlaces glicosídicos: hidrolítico o transeliminativo.
- 2) Mecanismo de la reacción: tipo exo o endo.
- 3) Preferencia de actividad respecto del grado de esterificación metílica del sustrato (alto o bajo).



**Tabla 3. Clasificación de enzimas pécticas de acuerdo a los lineamientos de comisión de enzimas y asignación de la familia de hidrolasas**

Clasificación de enzimas pécticas.			
Clasificación	Enzima (nombre trivial).	Principales productos de la reacción.	
<b>Hidrolasas</b>	Esterasas	Pectin-metilesterasa	HG bajo metoxilo + metanol
		Pectin-acetilesterasa	HG desacetilado + ác. Acético
		Ramnogalacturonano-acetilesterasa	RGI desacetilado + ác. Acético
		Feruil-esterasa	RG + ác. Ferúlico
		Endo-poligalacturonasa	Oligogalacturonatos + AGA
		Exo-poligalacturonasa	AGA, digalacturonato
	Glicosidasas	Ramnogalacturonano-hidrolasa	Hidrólisis AGA-Ram en RGI
		Ramnogalacturonano-galacturónico hidrolasa	libera AGA terminal unido a RAM en RGI (hidrólisis exo)
		Ramnogalacturonano-ramnohidrolasa	libera RAM terminal unida a AGA en RGI (hidrólisis exo)
		Xilogalacturonano-hidrolasa	libera Xil del XG
		Endo-galactanasa	hidrólisis de galactanos
		$\alpha$ -Galactosidasa	remoción de residuos Gal
		$\beta$ -Galactosidasa	remoción de residuos Gal
		endo-Arabinasa	hidrólisis de arabanos
		$\alpha$ -L-arabinofuranosidasa	remoción de residuos Ara
<b>Liasas</b>	Pectin-liasa	oligogalacturonatos insaturados metilados	
	Pectato-liasa	oligogalacturonatos insaturados	
	Ramnogalacturonano-liasa	transeliminación Ram-AGA en RGI	
<b>Oxidasas</b>	Galactorónico-oxidasa	oxidación del AGA	

**Fuente:** Contreras-Esquivel (1995).



**Figura 8.** Degradación de fragmentos de sustancias pécticas por enzimas pectolíticas específicas

**Fuente:** Contreras-Esquivel (1995).

## 2.8. Usos y aplicaciones de la pectina

El estudio de las sustancias pécticas tiene interés en áreas de investigación muy diversas tales como: Fisiología Vegetal, Fitopatología (mecanismos de defensa), Ciencia de los Alimentos, en conexión con los cambios de textura que ocurren durante la maduración, el procesamiento de frutas y verduras (Pilnik y Voragen, 1992), y extracción de pectina (May, 1990; Contreras-Esquivel, 1995); Nutrición, en relación a su rol como fibra dietética (Baig y Cerda, 1980); Tecnología Farmacéutica e Industrial, como agente antidiarreico, en el recubrimiento de tabletas de fármacos de liberación prolongada (Rolin *et al.*, 1998), en la



preparación de películas biodegradables (Coffin y Fishman, 1994) y para síntesis como copolímero del poliuretano (Kennedy, 1985).

Las pectinas se usan principalmente en la elaboración de ates, jaleas y mermeladas, estimándose que a este fin se destinan entre 85 y 95% del total. Puesto que la pectina imparte viscosidad y cuerpo, se utilizan en la preparación de jugos de frutas, en leches, malteadas, en bebidas de chocolate y en la elaboración de productos tipo flan.

Las propiedades estabilizantes de la misma han permitido que sean utilizadas en la elaboración de mayonesa, salsas y aderezos y su poder estabilizante la han llevado a utilizarse en fresas congeladas, helados, merengues y productos de panificación y postres.

La industria farmacéutica la utiliza para el tratamiento de diarreas, como cicatrizante y como antídoto para algunos envenenamientos con metales tóxicos.

También se usa en la elaboración de medios de cultivo para microbiología como pectatos de sodio y amonio, en perfumería existen fórmulas de fabricación de jabones, lociones, fijadores del cabello y pastas dentífricas que tienen pectina, debido a esto, se mejoran las cualidades de tales productos en lo que se refiere al poder de adsorción, textura y efectividad del detergente.

La pectina se ha utilizado como recubrimiento de sacos para envasar asfalto u otras materias adhesivas y el pectato de nicotina tiene efecto tóxico en cierto tipo de larvas capaces de digerir de celulosa (Higareda, 1988).

Se estima que el consumo anual de pectina en el mundo es de aproximadamente 45 millones de kilogramos (Woo *et al.*, 2010).

La función comercial más importante de las pectinas en los alimentos es que actúa como gelificante, como agente de textura y espesante en alimentos procesados, y como emulsionante y estabilizante en productos lácteos y en helados (Rezzoug *et al.*, 2008).



El uso de pectina en mermeladas de alto contenido de azúcar es una de las aplicaciones más conocidas. Se ha descrito que las pectinas contienen cualidades terapéuticas (reductor de colesterol e inductor de apoptosis de células cancerígenas del colon), razón por la cual también se emplean en el área farmacéutica (Kumar y Chauhan 2010; Ele-Ekouna *et al.*, 2011).

### **2.8.1. Usos de las pectinas como material de empaque**

Actualmente se producen al año alrededor de 150 millones de toneladas de plásticos en todo el mundo, y esto sigue en aumento. Muchos de estos plásticos están hechos a base de petróleo, lo cual provoca serios problemas de contaminación ambiental, debido a que los polímeros formulados a partir de esta materia prima no son biodegradables (Zamudio-Flores *et al.*, 2007). Los empaques a base de biopolímeros son una alternativa al uso de empaques sintéticos (Bourtoom y Chinnan, 2008). Algunos estudios han demostrado que las películas biodegradables pueden conservar la calidad y extender la vida de anaquel de alimentos mínimamente procesados (Alves *et al.*, 2007; Chen y Lai, 2008).

Diversas investigaciones se han realizado sobre el uso de pectinas para la fabricación de empaques y recubrimientos comestibles. Algunas de ellas han usado mezclas de biomateriales para fabricar películas biodegradables comestibles, mezclando pectina, almidón y glicerol con buenas propiedades mecánicas, además de tener buenas propiedades de permeabilidad al oxígeno (Coffin *et al.*, 1995).

También se ha reportado que los recubrimientos a base de pectina tienen la habilidad de retardar la pérdida de humedad y la migración de lípidos (Sothornvit y Pitak, 2007).

Multon (1988) menciona que las pectinas se consideran legalmente como aditivos, que son añadidos intencionadamente a los alimentos para mejorar sus propiedades físicas, sabor, conservación, etc., pero no a aquellas añadidas con el objetivo de aumentar su valor nutritivo.



Rivadeneira y Cáceres (2010) señalan que la pectina es un producto tecnológicamente funcional de interés para la industria de alimentos en el desarrollo de productos por sus propiedades reológicas que son favorables para la elaboración de diferentes productos aportándoles textura y consistencia.

### **2.8.2. Aplicaciones en la Industria alimentaria**

El uso de pectina en mermeladas de alto contenido de azúcar es una de las más conocidas aplicaciones a uno de los mercados más grandes para la pectina (Multon 1988).

#### **a) Jaleas**

Las pectinas de alto metoxilo son usadas solamente en jaleas estándar por encima del 60% de sólidos solubles. Algunos países, ahora, permiten reducir el azúcar hasta el 30-55% de sólidos solubles o un porcentaje aún inferior. La selección de la pectina correcta es importante la que es efectiva al contenido de menor cantidad de sólidos solubles de sensibilidad al calcio, será la pectina que debe usarse pero el contenido en fruto es también importante (Multon 1988).

#### **b) Industria láctea**

La pectina también tiene otros usos en las industrias lácteas. La pectina de alto metoxilo preserva a los productos lácteos de la agregación de caseína cuando se calientan a valores de pH inferiores a este efecto se usa para estabilizar los yogurts bebidas y tratados con UHT y también para mezclas de leche y zumos de fruta. También estabilizar bebidas lácteas acidificadas con soja y productos basados en el trigo, donde evita la precipitación de proteínas.

El yogurt puede espesarse mediante la adición de niveles muy bajos de pectina de bajo metoxilo amidada (Multon 1988).



### **c) Bebidas y gelatinas**

La gelatina ha sido la base tradicional para los postres de jaleas. Se formulan con pectina amidadas de bajo metoxilo que proporciona la textura y el punto de congelación adecuados (Multon 1988).

Las bebidas de bajas calorías son muy claras de textura y tienen la falta característica de sensibilidad a la boca que proporciona el azúcar en los refrescos convencionales. Puede usarse pectina para mejorar la textura de tales productos y, así, reemplazar a la pulpa del fruto en tales productos (Multon 1988).

### **2.8.3. Aplicaciones en la Industria Farmacéutica**

La base de las aplicaciones farmacéuticas de la pectina son sus propiedades hidrocoloidales y terapéuticas. Además, frecuentemente produce un efecto de sinergia y aumenta la acción de otros principios activos componentes de la especialidad. El consumo de pectina por individuos normales y diabéticos produce disminución de la curva de respuesta de glucosa después de las comidas con dosis de pectina adicionada. La curva de respuesta de insulina también decrece de manera similar en respuesta a la pectina en, aproximadamente, dos tercios de los estudios en que se midió la insulina. La hipoglicemia y el síndrome de reflujo gástrico disminuyeron y mejoraron respectivamente cuando era consumida pectina con la comida (Askel, 1987).

La interacción de pectina en vitaminas ha sido estudiada muy poco en personas y animales. El consumo de vitamina C con pectina, puede ser beneficioso a las personas hipercolesterolémicas. La absorción de vitamina B12 parece reducirse con pectina mientras otras vitaminas estudiadas no muestran reducción en su biodisponibilidad (Askel, 1987).

Debido a la exploración y la utilización de las propiedades naturales de las pectinas, sus aplicaciones tienden a hacerse cada vez más variadas y sofisticadas, esto es mostrado en los campos de productos farmacéuticos y cosméticos. El efecto astringente y los efectos curativos de las pectinas son empleados en ungüentos. Además, las pectinas ayudan evitar



la elevación de los niveles de glucosa en la sangre y provocan la disminución del colesterol. Las medicinas son encapsuladas con una película de pectina para proteger la mucosa gástrica y permitir a la liberación sostenida de la sustancia activa en la circulación de sangre. En la industria de cosméticos, la pectina es usada como un proveedor de estructura natural para pastas. En desodorantes y pastas de dientes, la pectina cubre sustancias de sabor especiales, pero también es usada como un espesador (Bosquez, 2002).

#### **2.8.4. Otras Aplicaciones de la pectina**

En la industria tabacalera, especialmente la pectina es usada como un pegamento natural para los envoltorios de cigarrillos. Estos ejemplos demuestran el potencial de desarrollo de pectina y las posibilidades y ocasiones que esperan en el futuro.

Además de las aplicaciones expuestas anteriormente, puede citarse otras que también son importantes en otros campos así se utiliza pectina en (Bosquez, 2002):

- Medios de cultivo en microbiología
- Conservación del suelo
- Alimentación animal

La producción mundial de pectina se estima en unas 35.000 Ton anuales para el 2005. En Argentina se importan unas 400 Ton anualmente. En Venezuela, se reseña en la bibliografía que se importa toda la pectina que se utiliza en la industria de alimentos (Camejo *et al.*, 1990). Esto indica la importancia no solo a nivel de aditivo, si no a nivel económico con los costos que se podrían ahorrar si existiera la factibilidad de obtener pectinas de calidad para ser usadas en la industria mexicana.



## 2.9. Tejocote

### 2.9.1. Origen e importancia económica

El árbol de tejocote pertenece a la familia de las Dialipetalaceae género *Crataegus* y especie mexicana. El fruto (Figura 9) es de color anaranjado rojizo, que llega a alcanzar hasta los 3.5 cm de diámetro, es subgloboso o tendiente a periforme, en su interior, normalmente lleva de 3 a 5 semillas muy duras. La pulpa es de color amarillo y sabor agridulce, agradable al paladar, en algunas ocasiones es un poco ácido. La floración ocurre para los frutos tempranos desde el mes de enero y para los tardíos comienza en mayo, madurando los frutos para principios de septiembre y octubre, y los segundos en noviembre, diciembre y enero. Para los árboles que han sido mejorados con injertos, tienen mejores características, mayor tamaño, mejor color, presentación, sabor, entre otras. Estos florecen un poco más tarde presentándose la maduración en los meses de noviembre y a mediados de diciembre.



**Figura 9.** a) Árbol de tejocote; b) Fruto del árbol de Tejocote.

**Fuente:** Elaboración propia.

El fruto del tejocote ha sido empleado tradicionalmente en México desde tiempos prehispánicos y actualmente su cultivo, que es considerado de importancia económica menor, se encuentra distribuido principalmente en los estados de México, Puebla, Tlaxcala, Chiapas, Michoacán, Hidalgo y Morelos (Nieto y Borys, 2008). El estado de México es uno



de los tres principales productores de tejocote a nivel nacional, con una producción de 6 Ton/ha y 30 hectáreas de producción reportadas; en este estado, existe una vasta región con zonas templadas, las cuales han sido sugeridas como reserva de amplia variabilidad genética para el género *Crataegus* (Nieto y Borys, 2008).

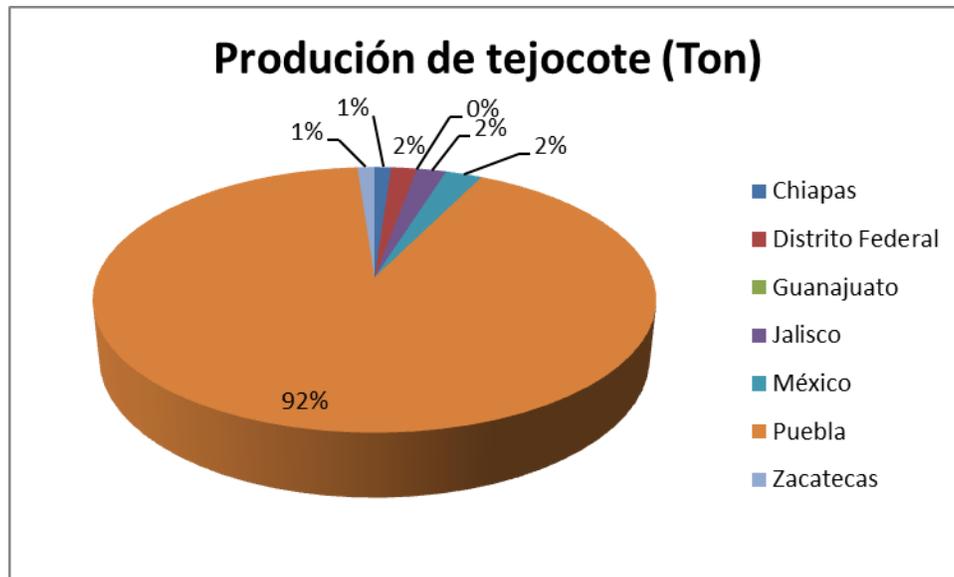
Puebla produce el 86% de la producción de tejocote nacional. El estado de Puebla continúa siendo el principal productor a nivel nacional de tejocote, le siguen estados como Oaxaca, Jalisco, Zacatecas y Estado de México. Según datos del SIAP (2012), que es el Servicio de Información Agropecuaria y Pesquera.

Según datos del SIAP, Puebla cuenta con una superficie cosechada de 556.45 mil hectáreas, obteniendo una producción de 3.057 toneladas distribuidas en 28 municipios productores principalmente en dos Distritos de Desarrollo Rural Cholula y Libres.

Los productores comercializan el fruto en mercados locales, centrales de abasto de ciudad de México, Hidalgo, Guerrero, el Norte del país y Sureste, de los cuales obtendrán ganancias por tres millones 675 mil pesos (SIAP, 2012).

Los municipios productores de este fruto son 28 y están ubicados principalmente en la región de la zona de las faldas del volcán Ixta-Popo, en donde predominan bajas temperaturas, que es la característica ideal para que se dé el producto y ello es en municipios como siendo entre los principales Chiautzingo, Calpan, Tochimilco, San Felipe Teotlalcingo, Tlahuapan y San Martín Texmelucan ellos en la región de Cholula y los Municipios de Chichiquila, Chilchotla, Quimixtlán, Saltillo lafragua, Soltepec y Tepeyahualco pertenecientes al DDR Libres (SIAP, 2012).

A nivel nacional la producción de tejocote es de 3 mil 455 toneladas, una superficie sembrada de 678 hectáreas; Puebla es el primer lugar con el 86.2% de la producción a nivel nacional, le sigue el Oaxaca con 5%, Chiapas con el 2.5%, Jalisco 2% Distrito Federal 1.7%, Estado de México 1.4% y Zacatecas con el 1.2% (Figura 10) (SIAP, 2012).



**Figura 10.** Producción de Tejocote en México.

**Fuente:** SIAP (2013).

El género *Crataegus*, conocido como tejocote, tiene una amplia variabilidad genética, con 140 especies en todo el mundo (Phipps *et al.*, 2003). Nueve de ellas son endémicas de México (Phipps, 1997) y 13 se distribuyen en al menos 20 de sus entidades (Núñez-Colín *et al.*, 2008 a), aunque es probable que existan más (Núñez-Colín *et al.*, 2004).

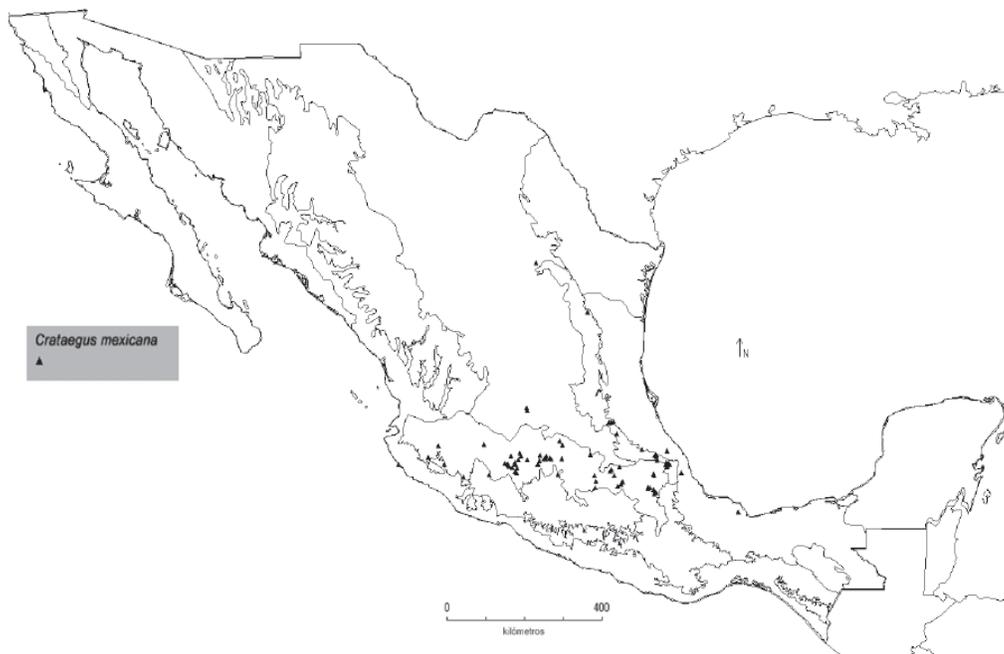
El género *Crataegus* está constituido por alrededor de 15 especies en México y está distribuido en la mayor parte de las zonas montañosas del país (Núñez-Colín *et al.*, 2008 b).

En México, el nombre más común con el que se les conoce a las especies del género *Crataegus* es el de “Tejocote” que se deriva del vocablo náhuatl “Texocotl” que literalmente significa fruta ácida y dura (Cabrera, 1992; Núñez-Colín 2009). Desde épocas prehispánicas el tejocote ha sido utilizado por distintos grupos indígenas en México, los cuales recolectaban sus frutos. Posteriormente, árboles de este tipo fueron plantados en sus jardines, y con la llegada de los españoles, los tejocotes fueron seleccionados y plantados en huertos comerciales (Núñez-Colín, 2009).



*Crataegus mexicana* está reportado como un frutal cultivado, no sólo en México, sino en diversas partes del mundo como: Guatemala, Honduras, Costa Rica, la región de los andes entre Perú y Ecuador, el sur de California, Arizona y Sudáfrica (Núñez- Colín *et al.* 2008 b). Actualmente en California ya se tienen huertas comerciales de esta especie, consumida principalmente por la gran población latina de Estados Unidos (Karp, 2010).

De acuerdo a las ubicaciones de las accesiones de tejocote mediante sus datos de pasaporte (Figura 11), la mayoría de ellas se distribuyen en la región que Morrone (2005) denominó como la región biogeográfica del Eje Volcánico Transmexicano. Aunque cabe mencionar que en las estadísticas oficiales no toman en cuenta producciones de huertos familiares ni recolección de manera natural donde, por ejemplo, en la reserva de la mariposa monarca se producen 1,82 Ton/ha de tejocote (Farfán *et al.*, 2007), los cuales son aprovechados por recolección. Sin embargo, sigue siendo en zonas de la región biogeográfica del Eje Volcánico Transmexicano.



**Figura 11.** Mapa de la república mexicana y estados principales productores de tejocote.

**Fuente:** Morrone (2005).



Aproximadamente el 40 % de la producción total de tejocote es la que se comercializa, especialmente el fruto de mayor tamaño. La mayor demanda de tejocote ocurre en el mes de diciembre durante la época de las posadas. Se elaboran compotas a nivel casero y ate de tejocote a nivel artesanal, sin embargo se pierde aproximadamente el 60% de la producción total porque el precio de éste es demasiado bajo (Aguilar, 1992).

En 1985 se produjeron en México 48000 toneladas de tejocote de las cuales se desperdició aproximadamente el 60% debido a una deficiente utilización, distribución y almacenamiento del mismo. La industrialización del tejocote es justificable económica y socialmente, por lo que se considera necesario buscar el desarrollo de tecnologías nacionales acordes a las necesidades prioritarias del país (Higareda *et al.*, 1995).

### **2.9.2. Composición química y valor nutritivo**

Frutos y flores del género *Crataegus* presentan constituyentes con potencialidad antioxidante, entre ellos los ácidos epicatequino y clorogénico (Özcan *et al.*, 2005; Peschel *et al.*, 2008).

Vale la pena mencionar que el consumo de este fruto agridulce tiene bastantes ventajas además de económicos, trae diversos beneficios nutricionales, ya que el alto contenido en hierro, vitamina C y B previene diversas enfermedades entre ellas las respiratorias, las cuales son comunes en la temporada de invierno (SIAP, 2012).

### **2.9.3. Usos y aplicaciones del tejocote**

Tal variabilidad confiere al tejocote un gran potencial para diversos usos, entre ellos industrial, alimenticio, hortícola, ecológico, pecuario, ornamental y medicinal (Nieto-Ángel, 2007; Nieto-Ángel *et al.*, 2009), sobresaliendo por su alto contenido de pectina de excelente calidad (Aguirre- Mandujano *et al.*, 2010; Franco-Mora *et al.*, 2010).



Este fruto, en la actualidad, está fuertemente ligado a la cultura tradicional mexicana; es usado principalmente en festividades como el día de muertos donde lo utilizan en la decoración de los altares y en navidad en la elaboración del tradicional ponche de navidad y dentro de las piñatas. También es utilizado para la elaboración de mermeladas, ates y otras conservas (Borys y Leszczyńska-Borys, 1994; Leszczyńska-Borys y Borys, 2004; Núñez-Colín 2009; Núñez-Colín y Sánchez-Vidaña, 2011).

El tejocote es apreciado preferentemente en épocas navideñas debido a su empleo en la elaboración del ponche (Figura 12), bebida tradicional asociada a las posadas mexicanas. Es un fruto rico en vitamina C, carotenos y sales minerales, entre ellas el calcio, fósforo, hierro, y presenta un alto contenido de pectina (Higareda *et al.*, 1995). Además del fruto, la raíz y las hojas del tejocotero se han empleado tradicionalmente para aliviar diversas enfermedades humanas, entre ellas, padecimientos del corazón, del sistema respiratorio y del urinario (Nieto y Borys, 1991; Özcan *et al.*, 2005).



**Figura 12.** Usos del tejocote, (tejocotes en almíbar y ponche).

**Fuente:** Morrone (2005).



# OBJETIVOS



**“LA PECTINA TAMBIÉN TIENE VARIAS PROPIEDADES ÚNICAS QUE LE HAN PERMITIDO SER USADO COMO UNA MATRIZ PARA EL ATRAPAMIENTO Y / O ENTREGA DE UNA VARIEDAD DE FÁRMACOS, PROTEÍNAS Y CÉLULAS”**



### **3. Objetivos**

- **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar diferentes procesos de extracción de pectina: ácido, asistido por microondas y enzimático a partir de tejocote y realizar una caracterización química y fisicoquímica para determinar que método proporcionará mayor rendimiento y mejor calidad de la pectina extraída.

- **OBJETIVOS PARTICULARES**

#### **OBJETIVO PARTICULAR 1**

Comparar el contenido de pectina del tejocote con diferentes frutos de la biodiversidad mexicana (naranja, limón, nopal, plátano y mango) en dos estados de madurez (inmaduro y maduro), que permita justificar el uso de este fruto como mejor materia prima para proporcionar una alternativa tecnológica a la industria de alimentos.

#### **OBJETIVO PARTICULAR 2**

Seleccionar las mejores condiciones de temperatura (70 y 90°C) y tiempo de extracción (90 y 120 min) de pectina de tejocote, por el método químico utilizado convencionalmente, para compararlo con los rendimientos y las propiedades fisicoquímicas y químicas (grado de esterificación, porcentaje de metoxilos, porcentaje ácido galacturónico y contenido de cenizas) de los diferentes productos obtenidos.

#### **OBJETIVO PARTICULAR 3**

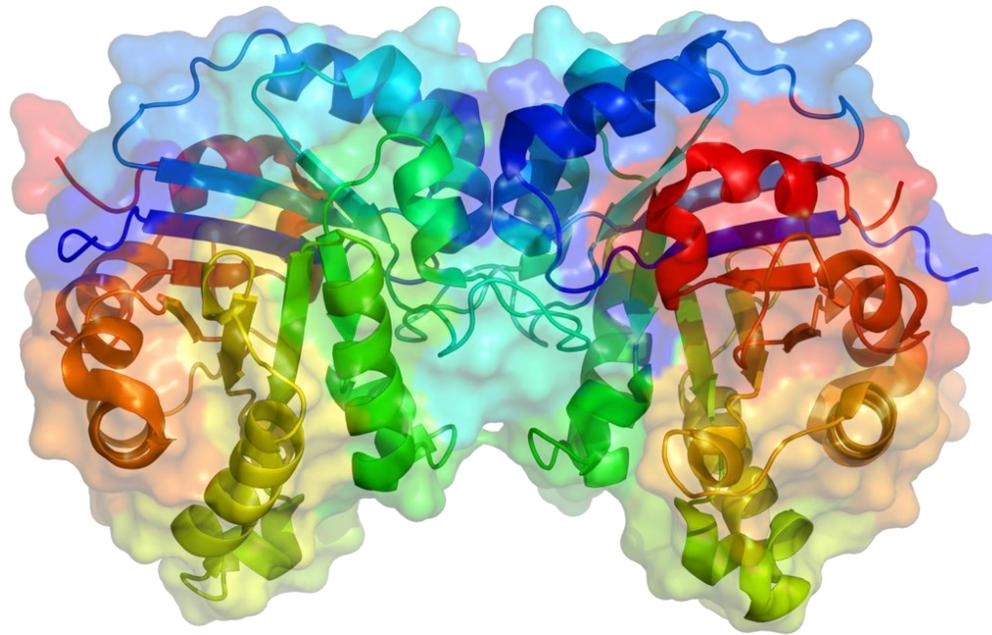
Establecer las condiciones del método asistido por microondas para la extracción de pectina de tejocote evaluando diferentes tiempos de pre-tratamiento (10, 15, y 20 min) y compararlo con los rendimientos y características fisicoquímicas y químicas (grado de esterificación, porcentaje de metoxilos, porcentaje ácido galacturónico y contenido de cenizas) de la pectina obtenida por el método químico.

#### **OBJETIVO PARTICULAR 4**

Determinar las condiciones para el método enzimático de extracción de pectina de tejocote, evaluando el tiempo de tratamiento (5, 10 y 15 min) y concentrados de enzimas (Macerex® y Zimapect®) y compararlo con el rendimiento y propiedades fisicoquímicas y químicas (grado de esterificación, porcentaje de metoxilos, porcentaje ácido galacturónico y contenido de cenizas) de la pectina obtenida por el método químico.



# METODOLOGIA

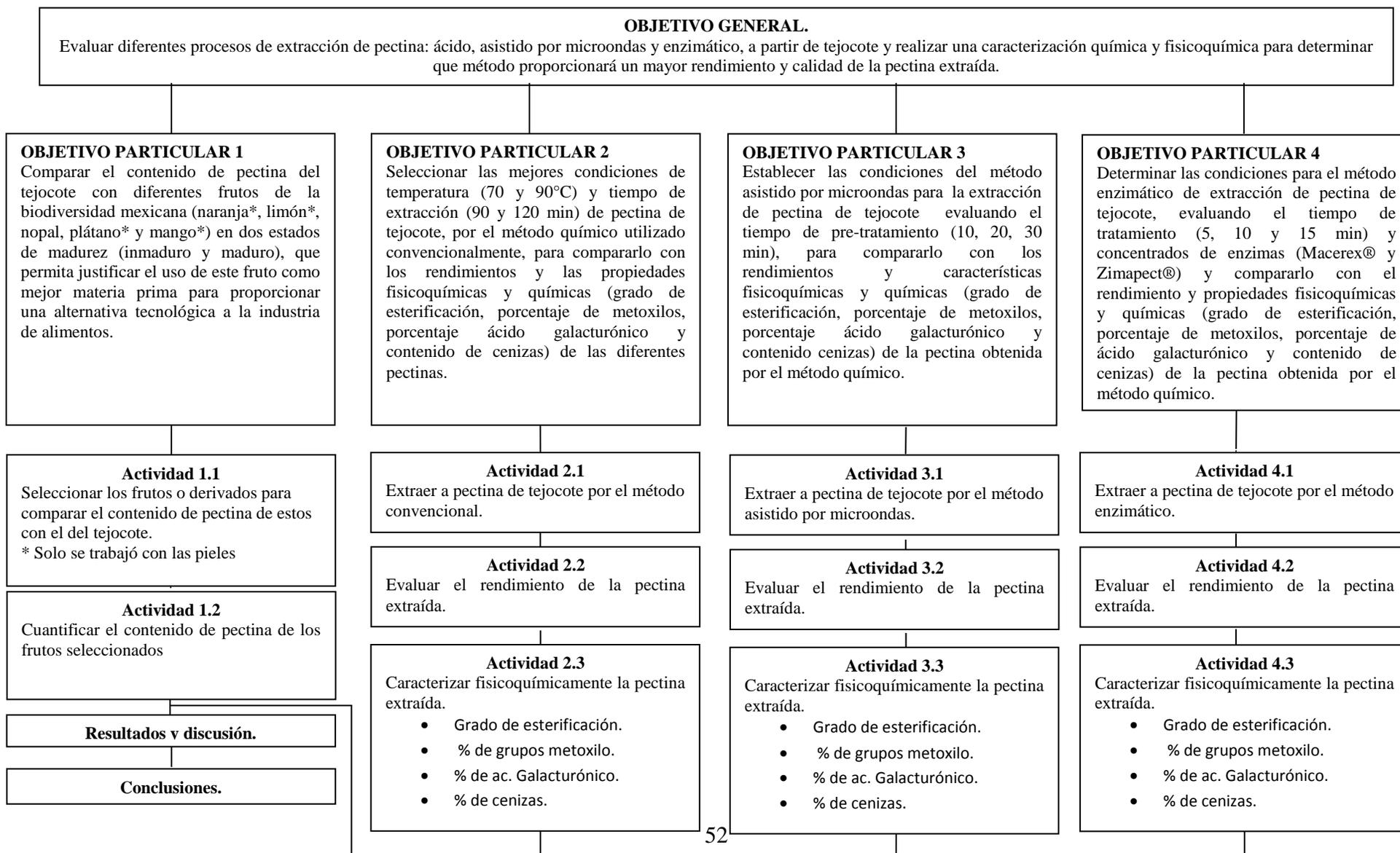


**“LOS COMPLEJOS ENZIMÁTICOS UTILIZADOS EN ESTE ESTUDIO SE UTILIZAN EN LA REDUCCIÓN DE VISCOSIDAD DE JUGOS, NÉCTARES ASÍ COMO EN CLARIFICACIÓN DE LOS ANTERIORES Y DE LOS VINOS”**



## 4. Materiales y métodos

### 4.1 Cuadro metodológico





## 4.2. Material biológico

Tejocotes (*Crataegus spp*) originarios del estado de Puebla (Figura 13) se adquirieron en la Central de Abastos de la ciudad de México, con una coloración de  $\frac{3}{4}$  de rojo. Los frutos se seleccionaron por tamaño y color para contar con frutos homogéneos; eliminando los frutos que presentaban algún daño.



**Figura 13.** Tejocote (*Crataegus spp.*)

**Fuente:** Elaboración propia.

Las enzimas empleadas para el estudio de extracción de pectina por el método enzimático fueron facilitadas gentilmente por la empresa ENMEX S.A. de C.V., las cuales muestran las siguientes características:

ZYMAPECT PR es un sistema de enzimas pectinolíticas grado alimenticio obtenido de la fermentación controlada de *Aspergillus niger*, especialmente para macerar la pulpa de fruta antes de la obtención de jugo. ZYMAPECT PR es una mezcla enzimática balanceada que contiene:



-Pectinoliasa

-Pectin metilestearasa

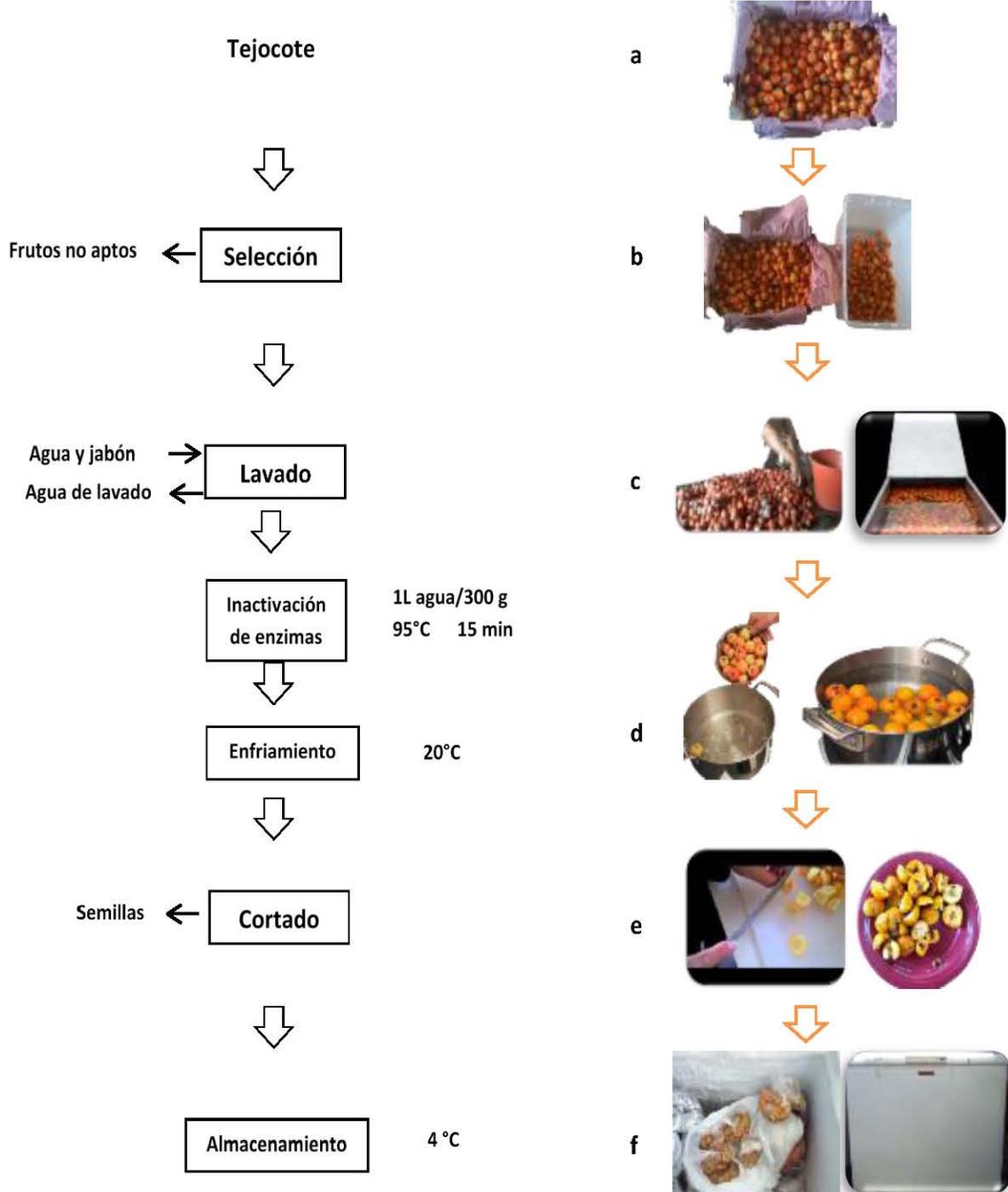
-Poligalacturonasa

MACEREX PM es un sistema enzimático estandarizado de actividades de pectinasa celulasa, obtenido por fermentación controlada de *Aspergillus niger* y *Trichoderma reesei*. Es un producto diseñado para maceración o licuefacción de fruta para maximizar la extracción de jugo y sólidos.

### **4.3 Tratamiento de las muestras**

Para iniciar el proceso se seleccionaron los tejocotes más rojos pertenecientes a la variedad *Crataegus spp.*, luego se procedió a lavar y separar manualmente la corteza y hojas que estuvieron presentes.

Con el propósito de hacer más eficiente el proceso de extracción fue necesario inactivar a las enzimas pectinesterasas que hidrolizan los grupos estermetílicos, formando metanol y por ende, pectinas de menor metoxilo; así como a la poligalacturonasa, que rompe los enlaces glucosídicos entre moléculas galactourónicas, despolimerizando la cadena a fracciones más cortas y, finalmente, llegando al monómero del ácido galactourónico. La materia prima se colocó en agua utilizando una relación 1:3 (100 g tejocote por 300 mL) y se calentó hasta ebullición (95°C) durante 15 min; posteriormente se enfrió rápidamente y se filtró a fin de retener los sólidos. Después se procedió a separar manualmente las semillas de la pulpa partiendo por la mitad a los frutos. Los trozos libres de semillas fueron pesados y almacenados a 4°C. (Figura 14)

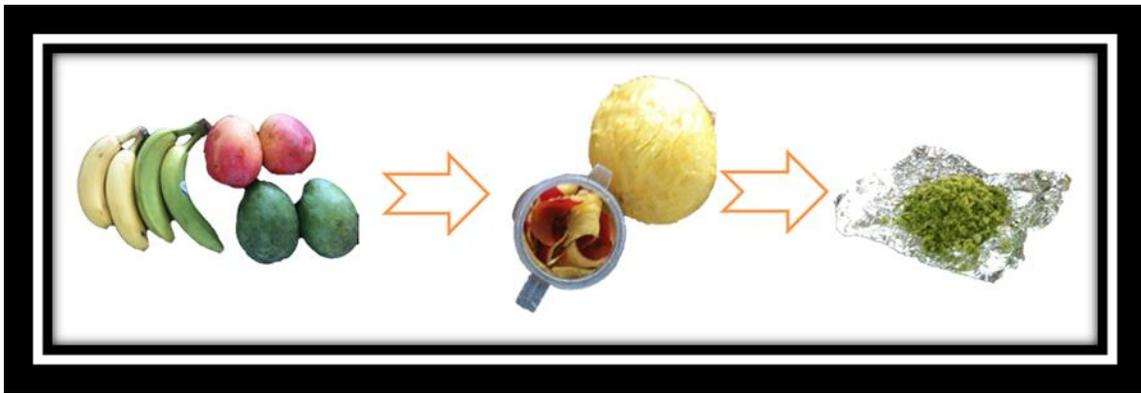


**Figura 14.** Diagrama de proceso para el acondicionamiento del tejacote: a) Recepción, b) selección, c) lavado, d) escaldado, e) cortado, f) almacenamiento.



#### 4.4. Cuantificación de pectina en diferentes frutos de la biodiversidad mexicana

La cuantificación de pectina del tejocote, nopal, mango, plátano, naranja y limón (de los cuatro últimos sólo se utilizaron sus pieles), se llevó a cabo bajo el procedimiento que se describe en la NMX-F-347-S-1980 (Determinación de pectina en frutas y derivados), el cual se describe en el apartado 4.8. El mango, la naranja, los limones y los plátanos se redujeron a pulpa fina aproximadamente entre 500 g de fruta o producto con ayuda de un homogeneizador o por el uso de un mortero y se mezcló bien, como se observa en la Figura 15. Cuando las frutas son de semillas grandes se eliminaron éstas.



**Figura 15.** Proceso de molienda del fruto o subproducto a analizar.

**Fuente:** Elaboración propia



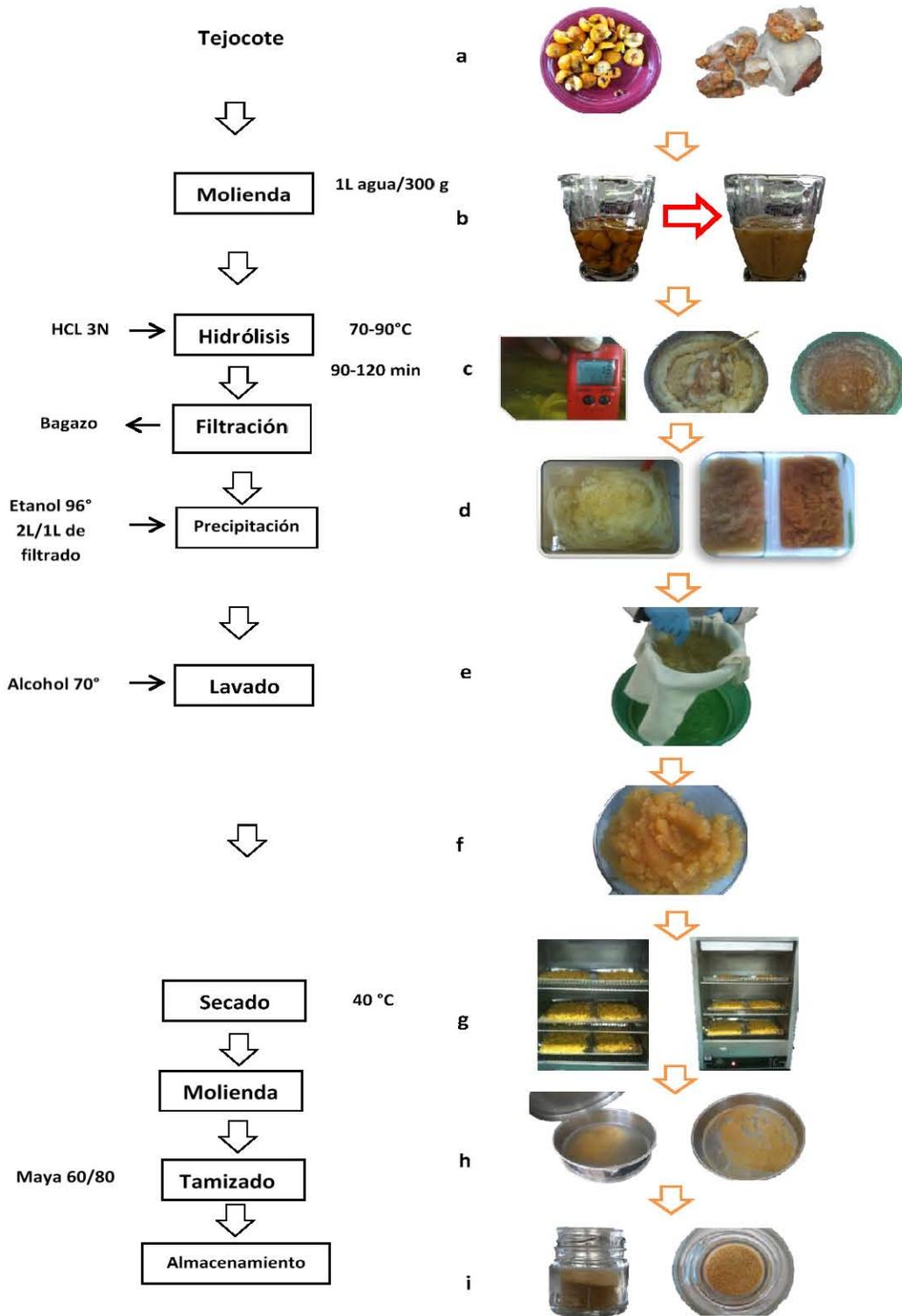
#### 4.5. Selección de condiciones de extracción de pectina de tejocote por el método ácido

Las condiciones de extracción para la investigación del efecto de la temperatura y tiempo de extracción se enlistan en la Tabla 4.

**Tabla 4. Condiciones de extracción de pectina de tejocote por el método ácido.**

Muestra	pH	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
Tejocote 70-90	Rango 1.5-3	70	90
Tejocote 70-120		70	120
Tejocote 90-90		90	90
Tejocote 90-120		90	120

La extracción de pectina por el método químico se muestra en la Figura 16 y el procedimiento se describe a continuación.



**Figura 16.** Diagrama de proceso para la extracción de pectina de tejocote por el método convencional. a) Recepción, b) molienda, c) hidrólisis ácida, d) precipitación, e) lavado, f) filtrado, g) secado, h) tamizado, i) almacenamiento.

**-Descripción del proceso**

- **Molienda:** Una vez descongelado el tejocote es reducido a pulpa por medio de una molienda en la cual se agregó la misma proporción de agua utilizada inicialmente en el proceso de inactivación de las enzimas, a partir de esta pulpa se extrajo la pectina, en presencia de ácidos a altas temperaturas, para disociar la protopectina a pectina soluble. A esta solución se le agregó ácido clorhídrico 3N, para mantener un pH entre 1.5 y 3.
- **Hidrólisis:** La mezcla se calentó usando dos temperaturas: 70 y 90°C, empleando de igual forma dos tiempos de extracción: 60 y 120 min. Toda esta operación unitaria se llevó a cabo en Baño María.
- **Filtración:** Se empleó un lienzo para el filtrado, recogiendo el líquido y enfriándolo hasta 25°C y se colocó en un recipiente.
- **Precipitación:** Se mezclaron en relación 1:2 de filtrado-alcohol de 96°. Se recogió el coágulo formado mediante filtrado.
- **Lavado:** Se realizaron lavados con alcohol de 70°, los suficientes para retirar las trazas del ácido en la muestra y también obtener pectinas más claras.
- **Secado:** Con la pectina en forma de gel obtenida de la extracción enunciada en el procedimiento anterior, se sometió al proceso de secado empleando una temperatura baja (40-50°C).
- **Molienda y tamizado:** La muestra seca se trituró, se tamizó y se almacenó en recipientes herméticos de vidrio para evitar que el producto capte humedad.

Una vez realizada la extracción en las diferentes condiciones de tiempo y temperatura se procedió a evaluar el rendimiento y las características de las pectinas obtenidas por este método por las técnicas descritas en el apartado 4.8.



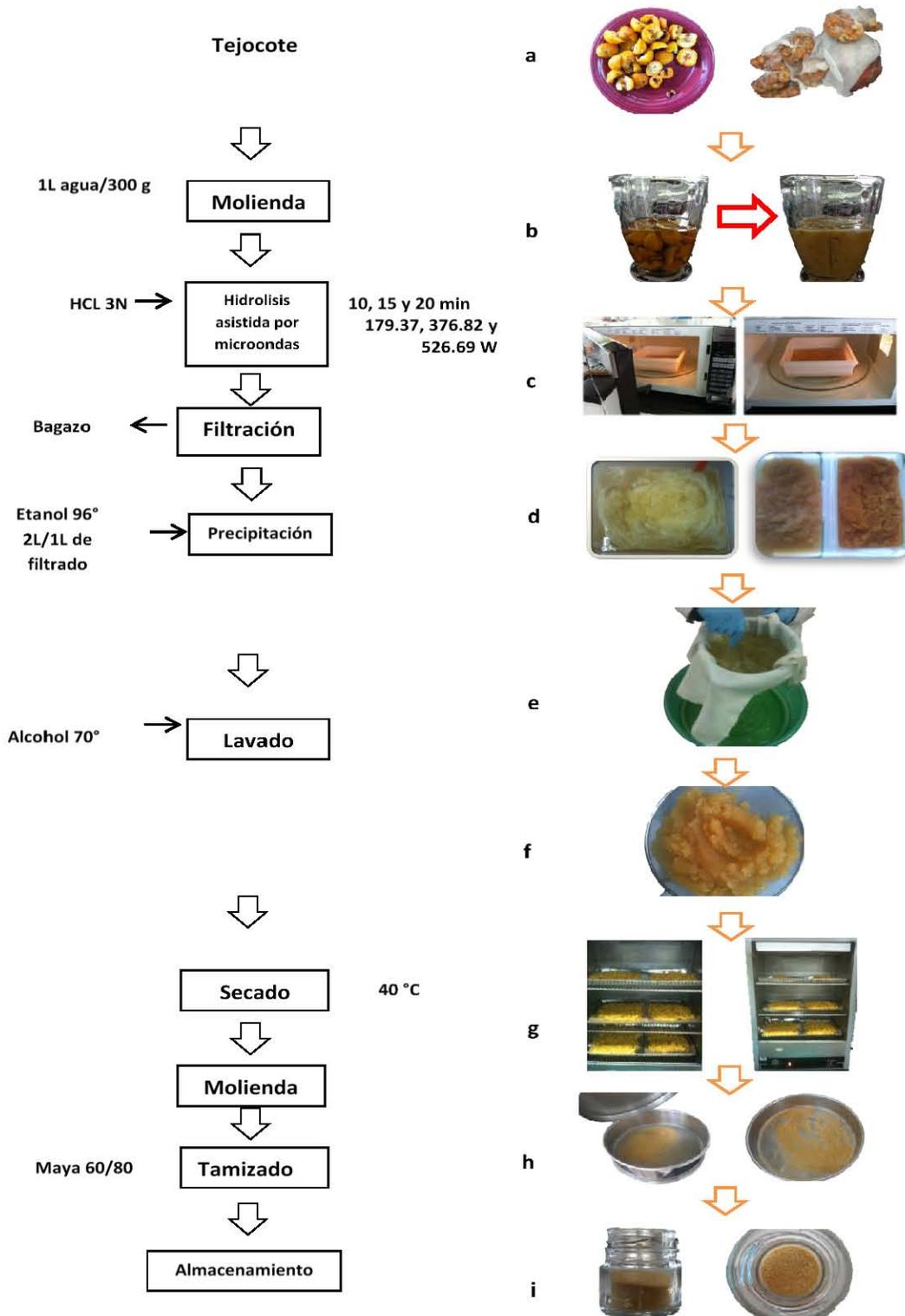
#### 4.6. Selección de condiciones de extracción de pectina por el método ácido asistido por microondas

Las condiciones de extracción para la investigación del efecto de la potencia del microondas y tiempo de extracción se enlistan en la Tabla 5.

**Tabla 5. Condiciones de extracción de pectina de tejocote por el método asistido por microondas**

Muestra	pH	Potencia (W)	Tiempo (min)
Tejocote 179-10	Rango: 1.5-3	179	10
Tejocote 179-15		179	15
Tejocote 179-20		179	20
Tejocote 376-10		377	10
Tejocote 376-15		377	15
Tejocote 376-20		377	20
Tejocote 526-10		527	10
Tejocote 526-15		527	15
Tejocote 526-20		527	20

El proceso de extracción de pectina por el método químico asistido por microondas se muestra en la Figura 17 y el procedimiento se describe a continuación.



**Figura 17.** Diagrama de proceso para la extracción de pectina de tejocote por el método asistido por microondas: a) Recepción , b) molienda, c) hidrólisis ácida asistida por microondas, d) precipitación, e) lavado, f) filtrado, g) secado, h) tamizado, i) almacenamiento.

**-Descripción del proceso.**

- **Molienda:** Una vez descongelado el tejocote es reducido a pulpa por medio de una molienda en la cual se agregó la misma proporción de agua utilizada inicialmente en el proceso de inactivación de los enzimas, a partir de esta pulpa se extrajo la pectina, en presencia de ácidos a altas temperaturas, para disociar la protopectina a pectina soluble. A esta solución se le agregó ácido clorhídrico 3N, para obtener un pH entre 1.5 y 3.
- **Hidrólisis:** La mezcla se calentó usando un equipo de microondas (Panasonic Inverter. 24000 Htz., 10 niveles de potencia) tres tiempos, 10, 15 y 20 min. Y se trabajó con tres niveles de potencia 179, 377, y 527 W, esta operación se llevó a cabo dentro del equipo.
- **Filtración:** Se empleó un lienzo para el filtrado, recogiendo el líquido y enfriándolo hasta 25°C y se colocó en un recipiente.
- **Precipitación:** Se mezcló en relación 1:2 de filtrado-alcohol de 98°. Recogió el coágulo formado mediante filtrado.
- **Lavado:** Se realizaron lavados con alcohol de 70°, los suficientes para retirar las trazas del ácido en la muestra y también obtener pectinas más claras.
- **Secado:** Con la pectina en forma de gel obtenida de la extracción enunciada en el procedimiento anterior, se sometió al proceso de secado empleando una temperatura baja 40-50°C.
- **Molienda y tamizado:** la muestra seca se trituró, se tamizó y se almacenó en recipientes herméticos de vidrio para evitar que el producto capte humedad.

Una vez realizada la extracción en las diferentes condiciones de tiempo y temperatura se procedió a evaluar el rendimiento y las características de las pectinas obtenidas por este método por las técnicas descritas en el apartado 4.8.



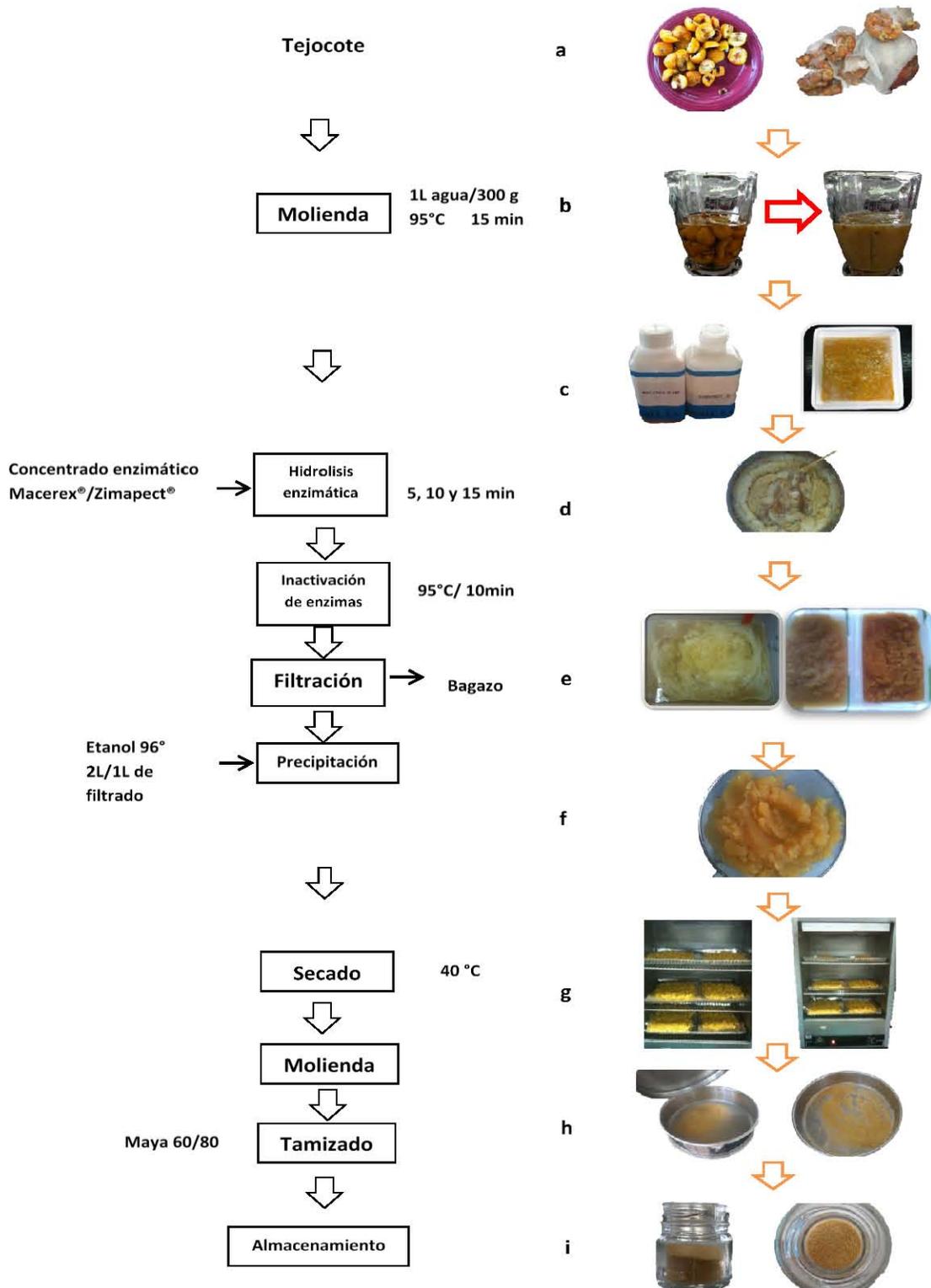
#### 4.7. Selección de condiciones para extracción de pectina por el método enzimático

Las condiciones de extracción para la investigación del efecto del tipo de complejo enzimático y tiempo de extracción se enlistan en la Tabla 6.

Tabla 6. Condiciones de extracción de pectina de tejocote por el método enzimático

Muestra	pH	Complejo enzimático	Tiempo (min)
Tejocote ma-5	pH óptimo: 4.5	Macerex	5
Tejocote ma-10		Macerex	10
Tejocote ma-15		Macerex	15
Tejocote zi-5	pH óptimo: 4.5	Zimapect	5
Tejocote zi-10		Zimapect	10
Tejocote zi-15		Zimapect	15

La extracción de pectina por el método enzimático se muestra en la Figura 18 y el procedimiento se describe a continuación.



**Figura 18.** Diagrama de proceso para la extracción de pectina de tejocote por el método enzimático. a) Recepción, b) molienda, c) hidrólisis enzimática, d) inactivación de enzimas, e) precipitación, f) filtrado, g) secado, h) tamizado, i) almacenamiento.

**-Descripción del proceso.**

- **Molienda:** Una vez descongelado el tejocote es reducido a pulpa por medio de una molienda en la cual se agregó la misma proporción de agua utilizada inicialmente en el proceso de inactivación de los enzimas, a partir de esta pulpa se extrajo la pectina, en presencia de los concentrados enzimáticos: Macerex y Zimapect, para disociar la protopectina a pectina soluble y degradar la hemicelulosa y celulosa de la pared celular, por la acción enzimática. La mezcla se mantuvo a un pH de 4 (pH óptimos de las mezclas enzimáticas).
- **Hidrólisis:** La mezcla se calentó hasta alcanzar la temperatura óptima de cada complejo enzimático (40°C), empleando 3 tiempos de tratamiento con las enzimas: 5, 10 y 15 min. Toda esta operación unitaria se llevó a cabo en Baño María con el fin de mantener la temperatura. Al final se aumenta la temperatura hasta los 90°C con la finalidad de desactivar las enzimas y no sigan degradando la pectina a lo largo del proceso.
- **Filtración:** Se empleó un lienzo para el filtrado, recogiendo el líquido y enfriándolo hasta 25°C y se colocó en un recipiente.
- **Precipitación:** Se mezcló en relación 1:2 de filtrado-alcohol de 98°. Recogió el coágulo formado mediante filtrado.
- **Secado:** Con la pectina en forma de gel obtenida de la extracción enunciada en el procedimiento anterior, se sometió al proceso de secado empleando una temperatura baja 40-50°C.
- **Molienda y tamizado:** La muestra seca se trituro, se tamizó y se almacenó en recipientes herméticos de vidrio para evitar que el producto capte humedad.

Una vez realizada la extracción en las diferentes condiciones de tiempo y temperatura se procedió a evaluar el rendimiento y las características de las pectinas obtenidas por este método por las técnicas descritas en el apartado 4.8.



Los diferentes métodos de extracción fueron evaluados en función al rendimiento de pectina obtenida con cada una de las condiciones trabajadas, de la misma manera las pectinas obtenidas por los diferentes métodos se evaluaron en sus propiedades fisicoquímicas de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 4.8.

El rendimiento es una proporción entre el peso obtenido y el peso inicial por cien, se determina mediante una balanza gravimétrica digital, con la finalidad de cuantificar el rendimiento de la pectina obtenida después de la molienda en base al peso de la materia prima esto se realizó para todos los tratamientos utilizando la siguiente expresión:

$$R = \frac{m}{M} * 100 \quad \text{.....Ecuación 1}$$

*Donde:*

*R=Rendimiento de pectina en base seca*

*m=Peso de la pectina obtenida, después del proceso de secado*

*M=Peso de la muestra de tejocote*

## **4.8. Métodos analíticos**

### **4.8.1. Determinación de pectina**

El contenido de pectina para cada material se calculó utilizando la metodología descrita en la NMX-F-347-S-1980:

De la fruta molida se pesaron 50 g de muestra en un vaso de precipitados de 600 mL y se añadió 400 mL de agua, hirviendo durante una hora manteniendo constante el volumen en 400 mL (Figura 19).



**Figura 19.** Muestra hirviendo.

**Fuente:** Elaboración propia

El contenido se transfirió a un matraz volumétrico de 500 mL y se diluyó hasta el aforo del mismo a 293 K (20°C). Posteriormente se filtró a través de papel Whatman número 4, como se muestra en la Figura 20 y se tomaron alícuotas de 100 mL de esta solución, y se añadieron 100 mL de agua y 10 mL de solución de hidróxido de sodio 1 N. Se dejó reposar durante toda la noche. Posteriormente se añadieron 50 mL de solución de ácido acético 1 N y se dejó reposar durante 5 minutos. Lentamente se añadieron 25 mL de solución de cloruro de calcio 1 N con agitación constante y se dejó reposar durante una hora (Figura 21).



**Figura 20.** Filtrado de la muestra.

**Fuente:** Elaboración propia



**Figura 21.** Alicuotas de muestra con hidróxido de sodio y ácido acético.

**Fuente:** Elaboración propia

La solución se calentó hasta ebullición y se filtró en caliente a través del papel filtro (con peso constante) como se muestra en la Figura 22.



**Figura 22.** Filtrado de las muestras hidrolizadas.

**Fuente:** Elaboración propia

El papel filtro se lavó con agua caliente hasta eliminar todas las trazas de cloruro (probar en las aguas de lavado hasta la ausencia del precipitado de cloruro de plata, el cual se obtiene por la adición de solución de nitrato de plata y solución de ácido nítrico).

El papel filtro y residuo se transfirió al pesa filtro y se desecó a 378 K (105°C) durante tres horas (Figura 23). Se enfrió y se determinó su masa hasta peso constante.



**Figura 23.** Papel filtro con la muestra seca.

**Fuente:** Elaboración propia

#### **4.8.2. Grado de esterificación**

El grado de esterificación es un factor importante que caracteriza las cadenas de las pectinas de los grupos carboxilos, se determinó usando el método de valoración de Schultz y Schweiger (1965). Este parámetro se determinó en la pectina obtenida después de la molienda con la finalidad de evaluar sus propiedades, el procedimiento se describe a continuación:

Una disolución de pectina (10 mL) al 1% se valoró con hidróxido de sodio 0,1N, usando fenolftaleína como indicador (valoración A) añadiendo 20 mL de hidróxido de sodio 0,5 N en un tiempo determinado con el fin de desterificar la pectina.

A continuación se añadieron 20 mL de ácido clorhídrico 0,5 N para neutralizar el hidróxido de sodio. Finalmente la disolución se valora con hidróxido de sodio 0,1 N (valoración B).

El grado de esterificación se calcula con la siguiente ecuación:

$$DE = \frac{B}{A + B} * 100 \quad \text{.....Ecuación 2}$$



*Donde:*

*DE= Grado de esterificación*

*A= Valoración A*

*B= Valoración B*

Los resultados se reportan en porcentaje, a su vez este porcentaje nos indica el grado de esterificación.

### **4.8.3. Determinación de grupos metoxílicos**

Los grupos metoxilos indican la propiedad química relacionada con la velocidad de gelificación y solidificación de las moléculas de pectina. El procedimiento fue el que a continuación se describe: Se transfirieron 5 gramos de pectina a un vaso de precipitados adecuado y se revolviaron por 10 minutos con una mezcla de 5 mL de ácido clorhídrico y 100 mL de alcohol al 60 %, se transfirieron a un embudo de Buchner (30-60 mL), y se lavaron con seis porciones de 15 mL de la solución de ácido clorhídrico y el alcohol al 60%. Finalmente, se lavaron con 20 mL de alcohol, se secaron por 1 hora a 105°F (40.5°C), se enfriaron, y pesaron. Posteriormente se transfirieron exactamente un décimo del total del peso neto de la muestra seca (representando 500 mg de la muestra original no lavada) y se mezclaron con 2 mL de alcohol. Se adicionaron 100 mL agua libre de dióxido de carbono, se insertó el tapón, y se agitó hasta que la pectina estuvo completamente disuelta. Se adicionaron 5 gotas del indicador fenolftaleína, se tituló con hidróxido de sodio 0.5 N, y se registró como titulación inicial. Se adicionó 20 mL de hidróxido de sodio 0.5 N, se insertó el tapón y se agitó vigorosamente, se dejó reposar durante 15 minutos. Se adicionó 20 mL de ácido clorhídrico 0.5 N y se agitó bien sin tapón hasta que el color rosa desapareció. Se adicionó fenolftaleína, y se tituló con hidróxido de sodio 0.5 N, hasta que un ligero color rosa persistió después de una agitación vigorosa, se registró ese valor como titulación de saponificación. Cada mililitro de hidróxido de sodio 0.5 N consumido en la titulación de saponificación es equivalente a 15.22 mg de -OCH<sub>3</sub> (Nacional Formulary USA, 2007).



El porcentaje de grupos metoxilo se obtiene con la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{titulación de saponificación} * 15.22 * 100}{\text{mg de muestra}} = \% \text{Metoxilos} \quad \text{.....Ecuación 3}$$

#### 4.8.4. Determinación de ácido galacturónico

El porcentaje de ácido galacturónico está relacionado con la pureza de la pectina obtenida por lo cual es de gran importancia cuantificarlo para la caracterización de los productos obtenidos. El procedimiento fue el que a continuación se describe: Cada mililitro consumido de hidróxido de sodio 0.5 N, en la titulación de la determinación de grupos metoxilo, es equivalente a 97.07 mg de  $C_6H_{10}O_7$  (Nacional Formulary USA, 2007).

El porcentaje de ácido galacturónico se obtiene con la siguiente ecuación:

$$\frac{(\text{titulación inicial} + \text{titulación final}) * 97.07 * 100}{\text{mg de muestra}} = \% \text{ de ácido Galacturónico} \quad \text{Ecuación 4}$$

#### 4.8.5. Determinación de contenido de cenizas

Las cenizas son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes. Las cenizas se determinaron por calcinación a 550°C según la NMX-F-066-S-1978. Los resultados se expresaron en porcentaje.



#### **4.9. Tratamiento estadístico de resultados**

Para el tratamiento de los resultados se realizó mediante análisis factorial para cada objetivo por separado, ya que no se cuenta con las mismas variables en todos los objetivos ni los mismos niveles de variación y se aplicaron pruebas de rango múltiple para establecer diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los diferentes tratamientos, utilizando el programa estadístico SPSS versión 18.



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN



**“LAS MICROONDAS SE HAN UTILIZADO DURANTE LOS ÚLTIMOS AÑOS EN APLICACIONES COMO EL PROCESO DE SECADO DURANTE LA FABRICACIÓN DE PASTA, EL ESCALDADO DE VEGETALES Y LA PASTEURIZACIÓN DE ALIMENTOS ENVASADOS”**



## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Comparación del contenido de pectina de diferentes frutos, con el contenido de pectina del tejocote

Los residuos vegetales (cáscaras y semillas) procedentes del procesamiento industrial de algunos frutos, se estima que pueden alcanzar hasta un 50% del volumen total del fruto procesado. En consecuencia, debido a estos grandes volúmenes que se generan se consideran diversas posibilidades para su uso. Por ello, uno de sus principales usos es para alimentación animal. En este trabajo se comparó el contenido de sustancias pécticas contenidas en diferentes frutos, así como, en diferentes desechos que genera la industria, con el contenido de pectina del tejocote (*Crataegus spp.*), y se evaluó la posibilidad de utilizar este último para la obtención de pectina por tres diferentes métodos de extracción. El proceso de selección de los diferentes frutos y cáscaras se realizó considerando cuáles de ellos se producían o procesaban en cantidades importantes en nuestro país, así como sus diferentes costos y disponibilidad en el mercado.

#### 5.1.1. Cuantificación de pectina de los diferentes frutos

La Tabla 7 muestra los valores obtenidos experimentalmente del contenido de pectina de cada una de las muestras de frutos que fueron evaluadas para cuantificar el porcentaje de este polisacárido, de la misma forma se observa una columna con los datos bibliográficos para comparar los datos experimentales, por otra parte algunos de los porcentajes de distintos trabajos fueron obtenidos a partir de la materia prima deshidratada mientras que en este estudio se trabajó con la materia prima húmeda.



**Tabla 7. Contenido de pectina en diferentes frutos.**

<b>Muestra</b>	<b>Pectina (%)</b>	<b>Dato bibliográfico (%)</b>	<b>Referencia</b>
<b>Cáscara de mango verde (CMV)</b>	4.57±0.27	**	---
<b>Cáscara de mango maduro (CMM)</b>	3.45±0.21	3.03	Ferreira <i>et al.</i> (1995).
<b>Cáscara de plátano verde (CPV)</b>	6.11±0.12	20.68*	Vásquez <i>et al.</i> (2008)
<b>Cáscara de plátano maduro (CPM)</b>	2.03±0.15	**	---
<b>Nopal tierno</b>	0.75±0.03	0.571	Espinoza <i>et al.</i> (2010).
<b>Nopal maduro</b>	0.56±0.02	0.507	Espinoza <i>et al.</i> (2010).
<b>Mucilago</b>	0.46±0.09	**	---
<b>Residuos de naranja</b>	3.64±0.08	6.0	Ferreira (1996).
<b>Cáscara de naranja</b>	4.62±0.12	2.92-4.57	Ferreira (1996).
<b>Limón</b>	1.57±0.03	2.53-2.62	Ferreira (1996).
<b>Tejocote verde</b>	2.74±0.35	**	---
<b>Tejocote maduro</b>	2.15±0.12	26-28*	Aceves <i>et al.</i> (1987)

\*El dato utilizado fue calculado en base a la materia prima seca, mientras que los experimentales se calcularon en base a material húmedo.

\*\* No se encontró dato bibliográfico.

Las muestras que contienen mayor cantidad de pectina fueron las cáscaras de plátano verde, las de naranja seguidas de las de mango verde, mientras que en el mango maduro se reduce alrededor de 1% el contenido de pectina. Esto debido a que en los frutos verdes hay mayor presencia de este compuesto por la fisiología de los frutos.

Salazar *et al.* (1987), reportó para las variedades de mango Haden rendimientos de 6.73%; de igual manera, Buitriago (1998), logró obtener para las variedades Haden y Bocado valores de 22.21 y 20.07% de rendimiento en extracción en caliente respectivamente, estos valores en base a materia prima seca. A su vez, Gaeta (1999), señala que para el mango ‘Smith’ pudo obtener un rendimiento de 33.04% en pectina purificada; Schieber *et al.* (2004), señalan que alcanzaron a obtener para los mangos variedades ‘Tommy Atkins’ y



‘Haden’ 19.2 y 17.6 % respectivamente; por su parte, Villalobos (1990), señala rendimientos que van de 1.85 a 3.58% de pectina en base a materia prima húmeda utilizando mangos de las variedades ‘Kent’, ‘Keitt’, ‘Smith’ y ‘Criollo’ Común. Pedroza *et al.* (1994), realizaron extracciones de pectina de la piel del mango considerando dos metodologías: a) pH: 2.5, tiempo de extracción de 30 minutos y una relación de sustrato: solución ácida de 30:70 respectivamente, con la que lograron obtener 4.26% de rendimiento y b) pH. 3.0, tiempo de extracción de 60 minutos y una relación sustrato: solución ácida de 20:80, reportando un rendimiento de pectina de 6.43%. Ferreira *et al.* (1995), consiguieron rendimientos de 3.03 a pH de extracción de 3.4. Comparando el valor obtenido en este proyecto (4.57%) con los datos de trabajos similares podemos decir que los valores son muy parecidos, incluso si observamos los valores que fueron calculados en base a materia húmeda y los comparamos con el valor obtenido en el presente estudio vemos que en la mayoría de los casos el rendimiento obtenido en esta experimentación es mayor. Las variaciones en el contenido de pectina pueden estar dadas por el estado de madurez del mango, a pesar de que todos los trabajos se basen en un estado de madurez comercial las enzimas propias del mango degradan día a día las sustancias pécticas que se encuentran en las mismas cáscaras, lo mismo ocurre con cualquier fruto con los que se trabajó en este proyecto, de tal manera que podemos encontrar variación incluso en un mismo estudio con las mismas muestras obtenidas en el mismo momento.

Por otra parte, para pieles de naranja se encontró que el rendimiento obtenido fue de 4.62% mientras que Ferreira (1996), extrajo pectina de naranja de variedad ‘Washington’ procedentes de Colombia. Trabajó utilizando el método ácido como base y extrajo la pectina utilizando tres diferentes condiciones de operación, encontrando que el rendimiento aumentó cuando las condiciones de extracción son más rígidas (pH, temperatura, etc.), obteniendo rendimientos de las pieles de naranja de esta variedad de 4.57, 3.70 y 2.92% utilizando las tres diferentes metodologías. Utilizando la misma variedad de naranja (Washington) con condiciones más rígidas Ferreira (1996), logró obtener rendimientos de hasta 7.16%, trabajó también con la pieles de naranja de variedad Lerma, en donde se obtuvo pectina con un rendimiento de 4.13%. Con excepción de la extracción de la pectina en pieles de naranja Washington por las condiciones más rígidas, los datos obtenidos de las



demás condiciones fueron muy parecidos al que obtuvimos en este trabajo (4.62 %), un valor que incluso es más alto que cualquiera de los valores que se encuentren en el rango de lo obtenido en el trabajo que se utilizó para su comparación. El estudio de Ferreira (1996), también contiene datos de rendimiento de pectina extraída de residuos de cáscaras de naranja desechados por una empresa dedicada a la elaboración de jugos llamada “Colcétricos”, de los cuales se obtuvo un rendimiento del 6%, este valor representa un mayor porcentaje de pectina si lo comparamos con el valor de rendimiento del presente trabajo en donde se obtuvo un rendimiento de extracción del 3.64% para residuos de naranja, lo que nos hace pensar que las máquinas utilizadas industrialmente para prensar las naranjas y así extraer su jugo desechan residuos más secos y libres de células de lo que las pudimos obtener con la ayuda de una prensa casera para hacer jugos que fue la que se utilizó en el laboratorio, es por lo anterior que el rendimiento de los desechos fue mayor en los residuos obtenidos de la industria.

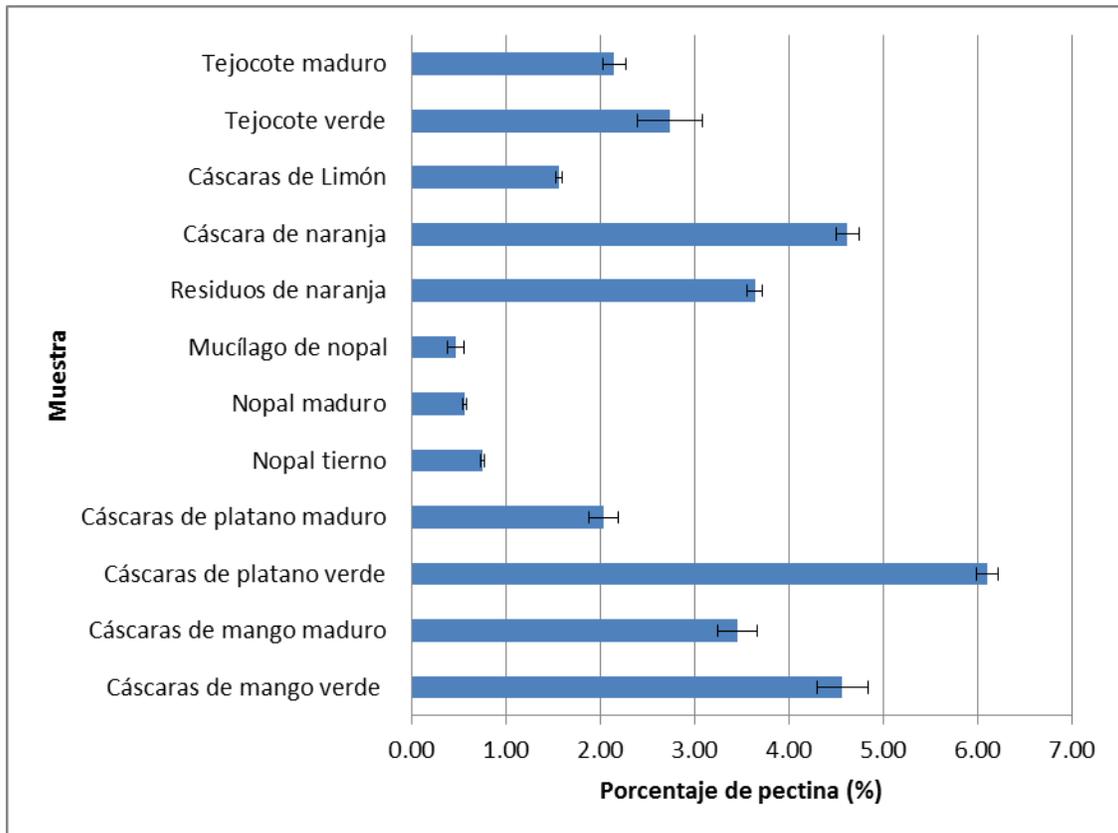
Para el caso del limón al comparar los resultados del presente trabajo con Ferreira (1996), quien trabajó con Limón Eureka extrayendo pectina de las pieles por las mismas tres metodologías utilizadas para la naranja de la variedad ‘Washington’, y los resultados de rendimiento obtenidos para este fruto fueron de 2.53, 2.54 y 2.62% con respecto a los diferentes métodos utilizados. En el presente estudio obtuvimos una valor de rendimiento de las pieles del limón de 1.57 %, valor que se encuentra por debajo de lo antes reportado, sin embargo de la misma forma que la naranja los valores fueron muy parecidos. En el caso de la pectina de limón en este estudio se presentó una problemática, la pectina extraída gelificaba antes del filtrado utilizado para separar las pieles de la solución de extracción, esto ocasionó pérdidas de pectina que se desechaba con las mismas pieles, la gelificación pudo deberse a que la pectina de limón que seguramente presentaba características de alto grado de esterificación y metoxilación se encontró en el medio las condiciones de temperatura y pH adecuadas para gelificar incluso antes de la precipitación con alcohol.

Los datos experimentales fueron calculados y determinados en base a materia prima húmeda, sin embargo algunos de los datos bibliográficos utilizados en la tabla se calcularon en base a materia prima seca como es el caso de las cáscaras de plátano verde, en donde



observamos valores lógicamente mayores en comparación con los datos calculados en base húmeda.

La Figura 24 se muestra de forma gráfica los resultados obtenidos del rendimiento de pectina para los diferentes productos.



**Figura 24.** Porcentaje de pectina de los diferentes frutos.

En la Figura 24 podemos observar que el mayor porcentaje de pectina como ya se mencionó lo encontramos en las cáscaras de plátano verde, lo que indicó que al utilizar este material como materia prima para extraer pectina obtendremos muy buenos rendimientos, de la misma manera observamos que los frutos en estado de madurez inmaduro presentan mayor contenido de pectina debido a la cantidad que está presente de protopectina en el material, sin embargo el plátano verde no es procesado a nivel nacional, ni común encontrar industrias que desechen cáscaras de plátano verde, por lo tanto no resultaría una fuente de pectina rentable. En segundo lugar encontramos las cáscaras de mango verde, que además de contar con menor contenido de pectina que las cáscaras de plátano presentan la misma



problemática, pues estos frutos no se procesan en este estado de madurez, por lo tanto sería difícil obtener las cáscaras de estos frutos como un residuo para extraer productos de valor añadido como es el caso de la pectina.

Aceves *et al.* (1987), obtuvieron rendimientos en la extracción de pectina de tejocote por el método ácido de 26% a 28%, estos valores en base a tejocote deshidratado, de la misma forma Vásquez *et al.* (2008), obtuvieron un rendimiento de 20.08% para cáscaras de plátano verde, en donde podemos observar que el rendimiento del tejocote según estos autores está por arriba del rendimiento incluso de las cáscaras de plátano inmaduro, sin embargo en los resultados del proyecto está claro que el rendimiento obtenido por el tejocote en el mismo estado de madurez no representa ni el 50% del valor obtenido con las cáscaras de plátano, como ya se mencionó los valores se ven muy afectados con la variedad del fruto con la que se esté trabajando y otros factores no menos importantes.

En este trabajo se decidió extraer pectina del tejocote por las siguientes razones:

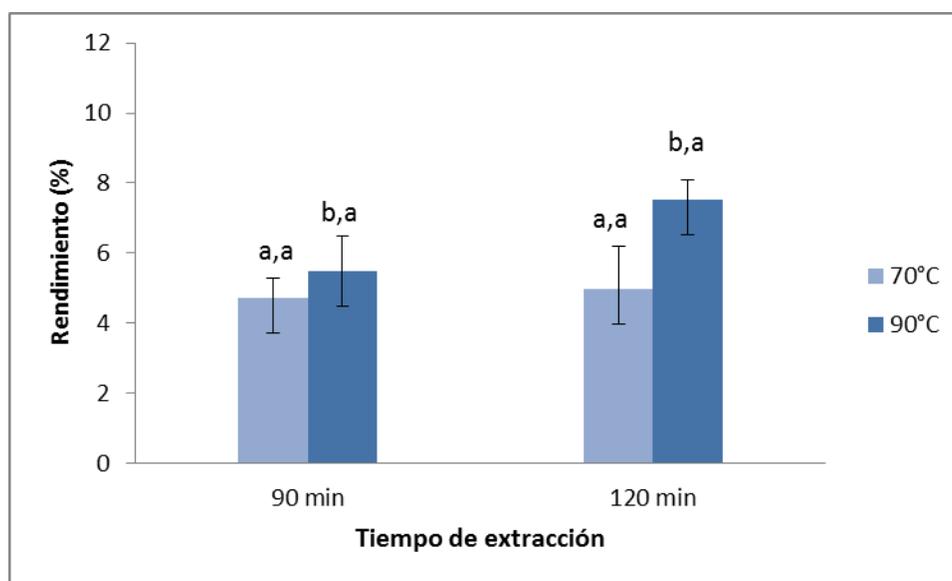
- \* El estudio plantea ofrecer una alternativa de materia prima para obtener pectina y comercializarla como se hace hoy en día a nivel nacional e internacional con ciertos frutos y subproductos, es por eso que el elegir una fuente convencional como los son los residuos de cítricos no apoyaría nuestro objetivo. Como observamos en los resultados anteriores la cantidad de pectina que se observa en la cuantificación hace al tejocote una fuente suficientemente potencial, como en el mismo caso de los cítricos, y esto a su vez demuestra lo importante de no sólo conocer la cantidad de este polisacárido que puede ser extraída por los diferentes métodos, sino de igual forma la calidad de la pectina que el tejocote nos puede brindar conociendo sus características fisicoquímicas.
- \* Es un fruto producido en el país en cantidades importantes.
- \* Su valor comercial, lo hace un fruto de muy fácil obtención.
- \* El tejocote solo es utilizado en su mayoría en las fiestas de fin de año, y en segundo lugar, algunas industrias principalmente de jugos lo utilizan para dar espesor a sus formulaciones.
- \* Se desperdicia hasta el 60% de su producción anual por falta de uso.



## 5.2. Extracción de pectina por el método ácido

### 5.2.1. Evaluación del rendimiento de pectina de tejocote extraída por método convencional

En la Figura 25 se observan los rendimientos obtenidos en la extracción de pectina de tejocote por el método ácido.



**Figura 25.** Rendimientos de las diferentes condiciones de extracción de pectina por el método ácido.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para temperatura y la segunda para tiempo de extracción.

El rendimiento aumentó conforme se incrementó la temperatura y el tiempo de extracción. La temperatura de 70°C proporcionó un rendimiento menor alrededor del 40% comparado con los tratamientos a 90 °C. Lo que indicó que a mayor tiempo de hidrólisis y temperatura se obtiene un mayor rendimiento, debido a que en los tiempos prolongados de extracción la pared celular y sus componentes sufren de una mayor descomposición, facilitando la exposición de las sustancias pécticas en el medio y su disolución. Las condiciones óptimas de extracción de pectina por el método ácido fueron de 90°C por 120 minutos, registrando



valores de 7.5%. Las temperaturas de extracción presentaron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), mientras que los tiempos de extracción no, lo que significa que la temperatura es un factor importante a considerar en el proceso. Al comparar los resultados de este proyecto con el trabajo de El-Nawawi y Shehata (1987), que estudiaron el efecto de las condiciones experimentales en el rendimiento de la extracción de pectina de naranja encontraron un rendimiento óptimo a 90 °C por 2 h a un pH de 1.7, se puede encontrar una importante similitud en las condiciones que brindan mayor rendimiento tanto en el presente trabajo como en el antes citado. Pagan e Ibarz (1999), extrajeron pectina de pomaza fresca de durazno bajo diferentes condiciones experimentales y encontraron que los mejores rendimientos se obtienen a altas temperaturas y bajos pH, lo que indica que utilizando una temperatura de 90°C se obtienen mejores resultados. A su vez Kalapathy y Proctor (2001), obtuvieron pectina por extracción ácida de cáscaras de cítricos seguido de una filtración y precipitación con alcohol 2-propanol, de la misma forma en este estudio se utilizó alcohol de 96° para lograr la precipitación de la pectina de las soluciones conseguidas del filtrado proveniente de la hidrólisis ácida; algunos de los coágulos de pectina que se obtuvieron eran poco firmes y al separarlos de sus soluciones se perdían aquellos conglomerados muy pequeños que pasaban por el filtro de liencillo, lo que pudo afectar al rendimiento e incluso aumentar la desviación estándar en algunas corridas. Además, el uso del alcohol como precipitante, incluyó algunos inconvenientes como pobre recuperación del mismo y alto consumo de alcohol para lograr la precipitación de la pectina y lavarla para conseguir pectinas más puras y claras. Sin embargo, es de fácil obtención y manejo.

Las muestras de tejocote fueron almacenadas a 4°C, de acuerdo a Pagán (1995), se extrajo mayor cantidad de pectina de muestras de bagazo de durazno almacenadas, debido a la hidrólisis que ocurre en los enlaces de protopectina y esto generó menos enlaces de unión al tejido vegetal que en el bagazo fresco, lo cual permitió que se separaran más fácilmente la pectina en las mismas condiciones de extracción. De lo anterior es importante señalar que entre más tiempo estén almacenadas las muestras que se utilizan como materia prima para la extracción, será más fácil la extracción de las sustancias pécticas, esto por lo antes mencionado: la degradación de los enlaces de protopectina. Sin embargo el tiempo de almacenamiento también puede afectar a los rendimientos obtenidos como se mencionó en



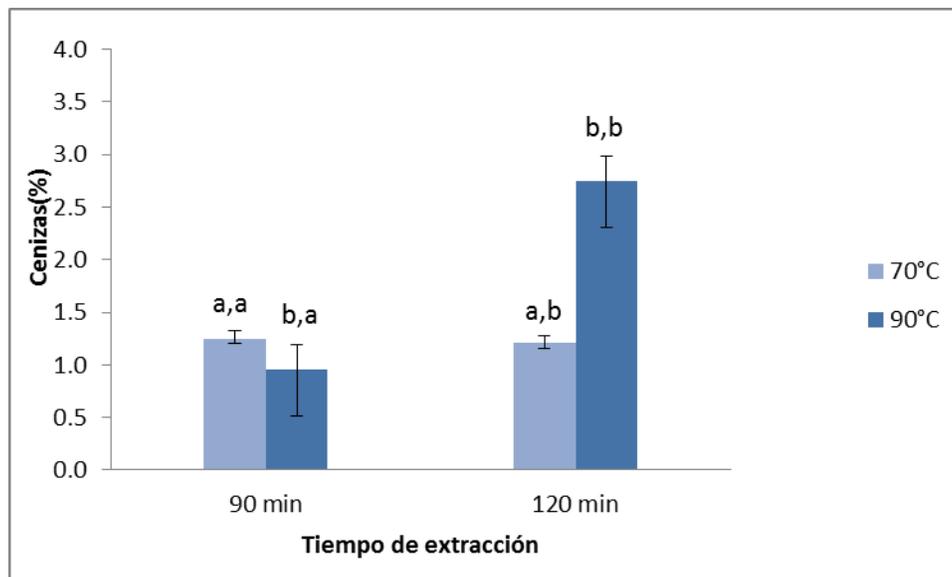
el apartado anterior, las enzimas propias de material nos pueden causar pérdidas por degradación de la misma pectina.

Las variaciones que se puedan presentar entre los resultados obtenidos para cada una de las condiciones de extracción suelen ser de menor importancia, se considera que tales discrepancias se pueden deber a las diferencias en las variedades de frutas evaluadas, estado de madurez, cantidades de muestra considerada, así como, los métodos de extracción, considerando tiempo de hidrólisis, pH, tipo de extractante, relación entre el sustrato y la solución ácida utilizada como extractante y el alcohol utilizado para la precipitación, así como el mismo tiempo de precipitación. Dentro de este estudio se observó que el rendimiento se vio afectado por las temperaturas de extracción y no así por el tiempo. Sin embargo, se lograron obtener valores muy cercanos a los reportados por algunos investigadores a las mismas condiciones como es el caso de Pagan (1995), que obtuvo un rendimiento de pectina de durazno de hasta 8.5%, lo que permite inferir que una adecuada relación entre los factores de extracción: temperatura, pH, tiempo de extracción y considerar la proporción adecuada de cada variedad y solución extractante; son fundamentales para obtener un buen rendimiento de pectina de tejocote.

### **5.2.2. Evaluación del contenido de cenizas en pectina de tejocote extraída por el método convencional**

El contenido de cenizas en las muestras de pectina es un parámetro que ayuda a conocer la pureza de las pectinas obtenidas. El contenido de cenizas totales, de acuerdo a las especificaciones del Food Chemicals Codex (FCC) para pectinas comerciales (National Reserch Council, 1991; citado por Kimball, 1999) debe oscilar en valores  $\leq 10\%$ .

En la Figura 26 se presentan los resultados obtenidos para el contenido de cenizas de las pectinas extraídas con las diferentes condiciones del método ácido.



**Figura 26.** Porcentaje de cenizas de las pectinas obtenidas de la extracción por el método ácido.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para temperatura y la segunda para tiempo de extracción.

La pectina extraída por el tratamiento a 90°C por 120 min presentó el mayor contenido de cenizas con un valor de 2.76% seguido de las pectinas extraídas a 70°C por 90 min con un valor de 1.25%, observando que este último representa una disminución de más del 50% en comparación con el valor más alto. Se obtuvo un intervalo del contenido de cenizas de 0.95 a 2.76%, donde se observó un efecto importante por temperatura y tiempo de extracción por lo que las diferentes condiciones de extracción presentan diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre sí, el valor más bajo de contenido de cenizas se presentó en las condiciones de 90 minutos y 90°C teniendo un valor de 0.95%. Ferreira *et al.* (1995), menciona valores de cenizas totales que van de 2.0 a 4.25% a un pH de precipitación de 3.2 y 3.6 en pectinas de residuos cítricos. Como ya se mencionó el valor más alto de contenido de cenizas fue de 2.76% lo que representa más del 50% de materia inorgánica que las demás pectinas extraídas por este método, un mayor porcentaje de materia inorgánica puede indicarnos que ésta no se solubilizó durante el proceso de hidrólisis ácida, probablemente debido a que la concentración y fuerza del ácido no fueron suficientes, y por ello al incinerar la muestra de



pectina obtenida (materia orgánica) resultan altos valores de cenizas lo que pudo afectar a la corrida en la que se obtuvo el contenido de cenizas más alto en este estudio.

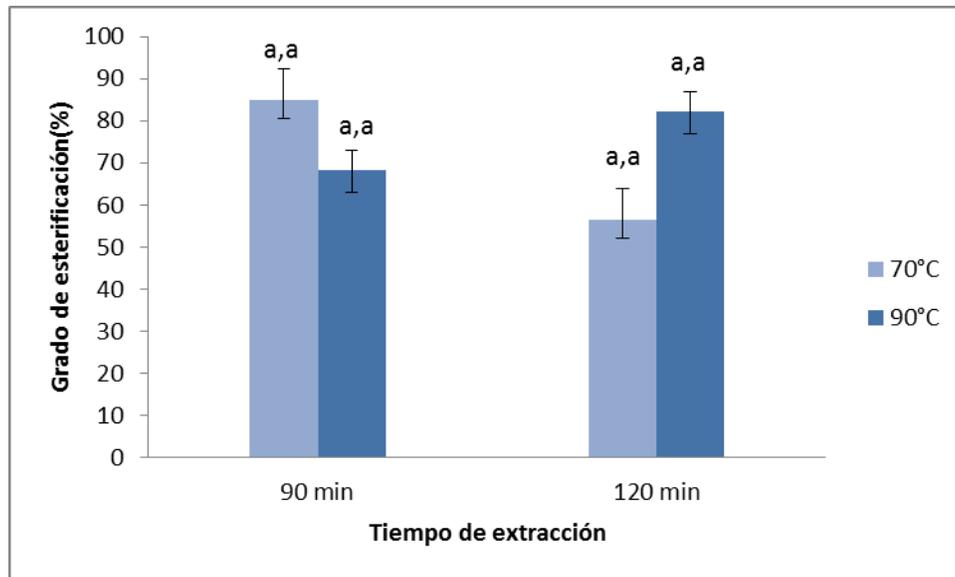
Además, un mayor tiempo de hidrólisis puede provocar que el ácido reaccione con los iones metálicos del recipiente (olla de aluminio) donde se llevó a cabo el proceso, produciendo citratos que probablemente serán sales, es por esto que a un tiempo de extracción de 120 minutos se obtienen mayores porcentajes de cenizas.

El contenido de cenizas totales deberá oscilar en  $\leq 10\%$  como ya se mencionó anteriormente, en todas las muestras ensayadas se obtuvieron valores menores al mencionado, de manera general se puede decir que las cenizas totales fueron menores y en valores constantes a pH y a menor tiempo de hidrólisis, lo que hace a las pectinas extraídas sean comercialmente aceptables.

### **5.2.3. Evaluación del grado de esterificación en pectina de tejocote extraída por el método convencional**

El grado de esterificación es una característica fisicoquímica de la pectina que está relacionada con la capacidad de gelificación. Si las pectinas presentan altos grados de esterificación indicarían que gelificaran con facilidad.

En la Figura 27 se observa que el grado de esterificación en todas las pectinas extraídas por el método ácido. En las diferentes condiciones se obtuvieron pectinas con alto grado de esterificación ( $\geq 50\%$ ), obteniendo así un intervalo del 55 al 85%.



**Figura 27.** Porcentaje del grado de esterificación de las pectinas extraídas por el método ácido.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para temperatura y la segunda para tiempo de extracción.

Las pectinas extraídas que presentaron mayores grados de esterificación fueron 70°C por 90 minutos (84.89%) y el tratamiento a 90°C y 120 minutos (82.20%), no registrándose diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en el tiempo de extracción ni en la temperatura, en este caso utilizando la temperatura de 70°C con un tiempo de extracción de 90 minutos obtenemos el valor más alto de grado de esterificación (84.89%), mientras que al utilizar esta misma temperatura por 120 minutos de tratamiento se obtiene el valor más bajo (56.44%), pasa lo mismo para la temperatura de 90°C a diferencia que esta muestra su valor más alto en el tiempo de 120 minutos de extracción y viceversa, lo que indicaría que en cada tiempo de extracción habría que buscar una temperatura óptima.

Uno de los factores que pueden modificar el grado de esterificación es el pH en la extracción, pues afecta los enlaces éster de la cadena favoreciendo su hidrólisis.

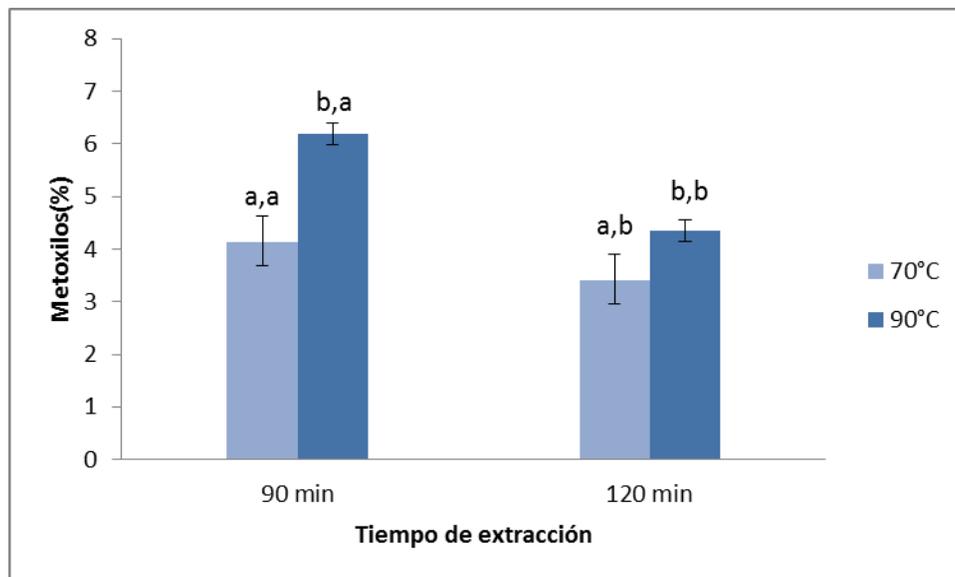


Las pectinas con alto grado de esterificación o metoxilación como las obtenidas en estas evaluaciones, generalmente presentan una alta solubilidad en agua y una rápida gelificación y solidificación de sus moléculas (Yúfera, 1980) y sus disoluciones son estables en medios ácidos (pH: 2.5 – 4.5) pero no en medio alcalino. Sin embargo, resultan más susceptibles a la degradación enzimática (Walter, 1991), por lo que se puede decir, que este parámetro permite determinar la aptitud tecnológica de la pectina (Kimball, 1999).

#### **5.2.4. Evaluación del porcentaje de grupos metoxilos presentes en pectina de tejocote extraída por el método convencional**

Los resultados obtenidos para las muestras de pectinas ensayadas de los parámetros de grado de esterificación y porcentaje de metoxilos resultan ser de carácter de suma importancia, los cuales constituyen una propiedad química relacionada con la velocidad de gelificación y solidificación de las moléculas de pectina, como se detalló en el marco teórico.

En la Figura 28 se muestran los porcentajes de grupos metoxilo presentes en las diferentes pectinas extraídas por el método convencional.



**Figura 28.** Porcentaje de grupos metoxilo en las pectinas extraídas por el método ácido.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para temperatura y la segunda para tiempo de extracción.

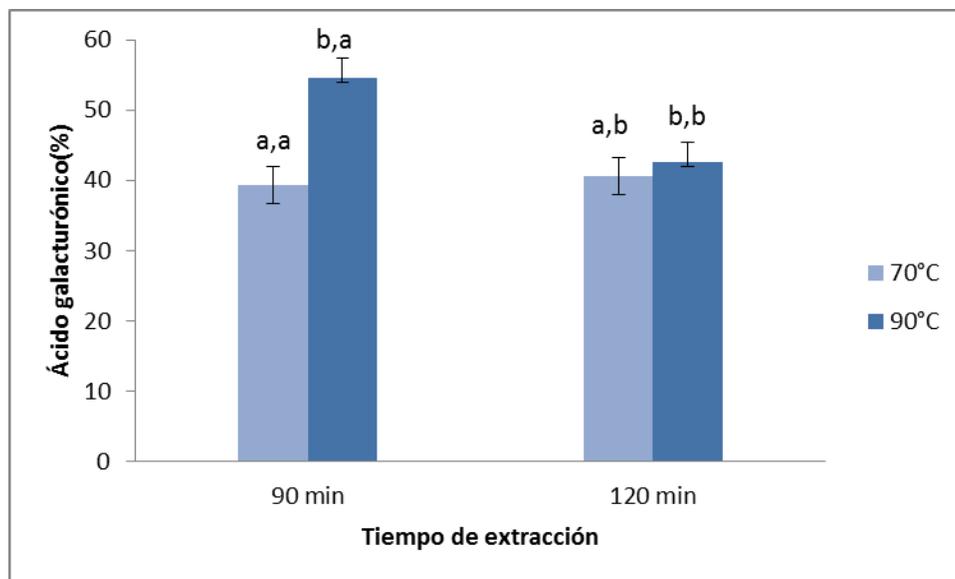
En la Figura 28 se observó que a mayor temperatura las pectinas presentaron un mayor porcentaje de grupos metoxilo; registrándose valores de hasta 6.19 y 4.35% para los tiempos de 90 y 120 minutos respectivamente, presentando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre temperaturas y entre tiempo de extracción. Al cotejar el contenido de metoxilos con los altos grados de esterificación obtenidos, Yúfera (1980), corroboró que intervienen en la esterificación con los grupos carboxilos de los ácidos anhidrogalacturónicos que conforman la cadena de pectina. Las cadenas de pectinas con alto porcentaje de metoxilos tenderán a presentar un grado de esterificación superior al 50%. Además, da un indicio de la proporción de los ácidos carboxílicos presentes que se encuentran metoxilados (esterificados con metanol), mientras que el grado de esterificación establece el porcentaje de ácidos carboxílicos que se han sintetizado para forma un éster – metoxílico. Como se mencionó, tiene relevancia su determinación, ya que generalmente los grupos éster tienden a ser menos hidrófilicos que los grupos ácidos, lo cual resulta de gran importancia al momento de establecer el uso de las pectinas.



### 5.2.5. Evaluación del porcentaje de ácido galacturónico en pectina de tejocote extraída por el método convencional

La riqueza de la pectina en ácido galacturónico, está relacionado con la pureza de la pectina obtenida, de allí la importancia de cuantificarlo.

Se estimó el contenido de ácido galacturónico, determinando el contenido de ácidos urónicos, los cuales se establecieron por el contenido de ácido anhidrouónico (AUA), un alto contenido de ácidos urónicos es indicativo de que la molécula de pectina se ha fragmentado, ya sea por acción enzimática o por la hidrólisis durante la extracción o antes en el almacenamiento (Link y Dickson, 1930). Es importante recalcar que los ácidos urónicos resultan algo inestables en ácidos minerales calientes, de allí que fue utilizado un ácido orgánico como el ácido clorhídrico en este estudio. En la Figura 29 se muestra el porcentaje de ácido galacturónico de las pectinas obtenidas por el método ácido.



**Figura 29.** Porcentaje de ácido galacturónico en las pectinas extraídas por el método ácido.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para temperatura y la segunda para tiempo de extracción.



Las condiciones que brindaron la mejor pureza de las pectinas fueron 90°C por 90 minutos de tratamiento obteniendo un valor de 54.65% de ácido galacturónico, seguida de las condiciones de 90°C y 120 minutos con 42.65%, mientras que el valor más bajo se obtuvo con la temperatura de 70°C y un tiempo de extracción de 90 minutos (39.29%), mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por temperatura y tiempo de tratamiento, lo que indicó que ambas condiciones así como su interacción tienen un efecto importante en la extracción del aditivo, se observa que al trabajar con la temperatura de 90°C se obtienen pectinas con mayor porcentaje de ácido galacturónico y a su vez pectinas con mayor pureza.

Es importante considerar que el ácido galacturónico es estable, es decir, no resulta alterado en los procesos de extracción de la pectina. Sin embargo, muchos de los carbohidratos que forman parte de la pectina pueden sufrir una hidrólisis parcial durante el proceso de extracción de la misma, es por esto que se observa cierta variación en los valores obtenidos (Link y Dickson, 1930).

Como se comentó la riqueza de la pectina en ácido galacturónico (AGA), está relacionada con la pureza de la pectina obtenida, de allí la importancia de cuantificarlo. Sin embargo, el ácido galacturónico por ser un azúcar, una forma oxidada de la D-galactosa, estará acompañado de azúcares neutros como, L-arabinosa, L-ramosa, D-galactosa y de algunas impurezas arrastradas en las extracciones (Pagán, 1995).

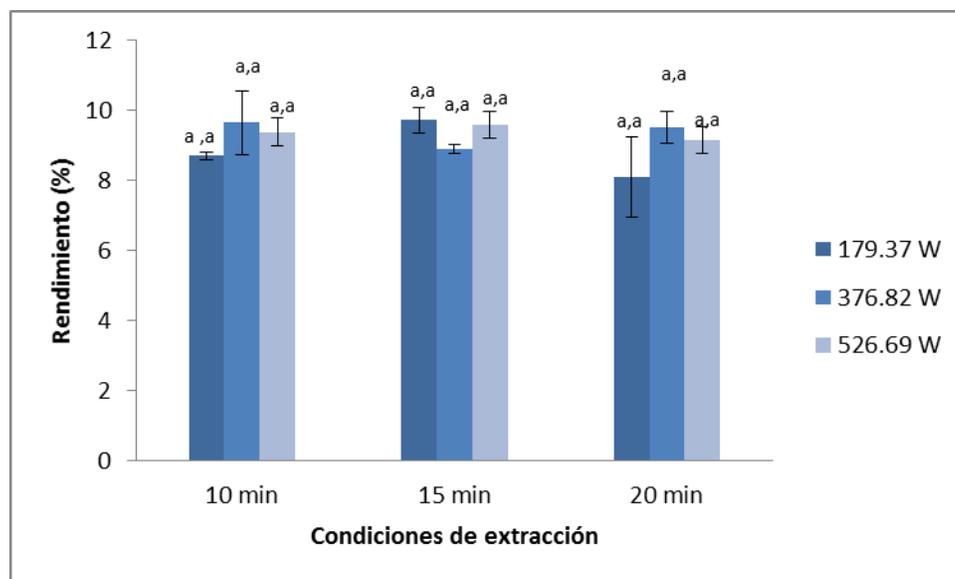
Revisando todas las características antes evaluadas de las pectinas obtenidas a partir del método convencional tenemos que en todos los casos a excepción del grado de esterificación la temperatura de 90°C nos ayuda a obtener los mejores resultados, de la misma forma trabajando con un tiempo de 90 minutos obtenemos los mejores valores de la experimentación, lo que nos indica que las condiciones óptimas para este método serán 90°C y 90 minutos para la extracción de pectina de tejocote.



### 5.3. Método asistido por microondas

#### 5.3.1. Evaluación del rendimiento de pectina de tejocote extraída por método de microondas

En la Figura 30 se observa que el rendimiento de extracción de pectina por el método asistido por microondas.



**Figura 30.** Rendimientos de las diferentes condiciones de extracción de pectina por el método asistido por microondas.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para potencia y la segunda para tiempo de extracción.

El método asistido por microondas presentó un rendimiento entre 8 y 10%, siendo el menor contenido el de la corrida a una potencia de 179 W y 20 minutos con 8.10%. Cabe mencionar que no hay diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) respecto a las demás potencias ni en tiempo de extracción. A pesar de no existir diferencias estadísticas se observó que en el tiempo de 15 min los valores fueron más homogéneos, dentro de esta condición de los 15 min a una potencia de 179 W se encontró el valor más alto de rendimiento (9.72%), sin



embargo al utilizar esta misma potencia en los tiempos de 10 y 20 min se obtuvieron los valores más bajos de la investigación, la potencia de 377 W también mostró valores de rendimiento importantes alcanzando así hasta un 9.65%, y utilizando una potencia de 527 W se obtuvieron valores de hasta un 9.59%, lo cual indicó que en la potencia de 179 W a 15 min de tratamiento se encontraron las condiciones que proporcionan mayor rendimiento en esta experimentación.

De la misma forma que en el presente estudio pero para otro material Zhongdong *et al.* (2006), confirmó que la liberación de pectina en pieles de naranja usando condiciones de microondas es más rápida por un proceso de desintegración. Después de haber absorbido la energía de las microondas, la temperatura de las células de la piel de naranjas aumentará drásticamente en un tiempo muy corto, y la presión en la célula será superior a la máxima, que la pared celular pueda soportar, por lo que la célula se divide y la pectina puede liberarse en sí. Los tejidos de la piel se abren rápida y extensamente por el efecto de las microondas.

En la Figura 30 se observa que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre las potencias utilizadas y en el tiempo de tratamiento, esto indicó que el efecto al usar una u otra condición es despreciable en función al rendimiento, sin embargo debemos tener en cuenta que una exposición prolongada a una potencia elevada puede llegar a degradar a la molécula de pectina y afectar a sus características fisicoquímicas.

Rungrodmitchai (2011), extrajo pectina por el método convencional y por el método de microondas para la pulpa de la palma de azúcar y a una potencia de 800 W durante tres minutos, obtuvo rendimientos de 19.6 y 23.5% de pectina, así mismo a una potencia de 600 W obtuvo rendimientos de 10 y 13%. Rungrodmitchai (2011), encontró que una temperatura de 90°C es la temperatura óptima para extraer pectina de la pulpa de la palma de azúcar, de la misma manera tres minutos de tratamiento son los óptimos para este trabajo, lo que indica que la combinación de ambas condiciones son las mejores para obtener los mejores rendimientos. Rungrodmitchai concluyó que utilizando un pH para precipitar la pectina de 7-8 es el óptimo para obtener los mejores rendimientos, también



se dio cuenta de que el tratamiento de microondas reduce hasta en dos horas el tiempo de extracción comparado con el método convencional. De la misma forma en este trabajo es evidente que la extracción de pectina de tejocote por el método de microondas se ve favorecida en función al rendimiento debido a que se disminuyó el tiempo de extracción pues se redujo más de una hora obteniendo mejores rendimientos que por el método convencional.

En otro estudio realizado por Bagherian *et al.* (2011), quien trabajó con pieles de toronja y tres diferentes potencias 450, 630 y 900 W, obteniendo rendimientos de extracción en base a materia prima seca de este material de 21.23, 22.71 y 26.26%, respectivamente, estos valores superaron al método convencional también estudiado por el mismo autor obteniendo un valor de 19.16%. Observamos que a mayor potencia mayor rendimiento. Reduciendo también el tiempo de extracción con el método asistido por microondas.

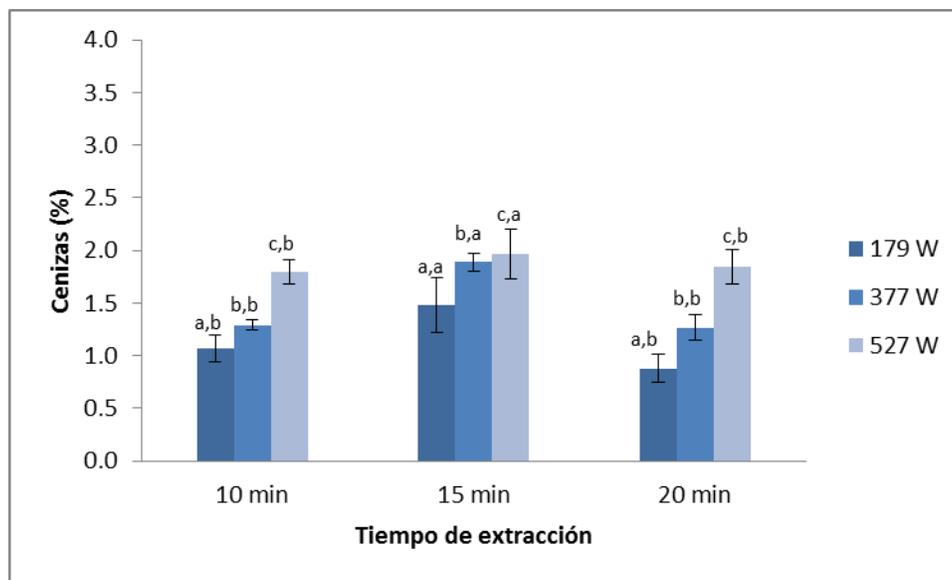
Como podemos observar en los trabajos antes mencionados el tratamiento asistido con microondas representa un ahorro importante de tiempo de extracción dado a que la radiación provoca una mayor degradación celular del material que se exponga a este tratamiento, esta degradación aumenta con la presencia del agente extractante y la temperatura que la radiación produce en el material, también el rendimiento se ve beneficiado pues utilizando un método asistido por microondas obtenemos mayor porcentaje de pectina.

Cabe mencionar que en el método ácido se obtuvo un rendimiento máximo de 7.52%, mientras que por el método ácido asistido por microondas se obtuvo rendimientos mínimos de 8.10% y valores de hasta 9.72 % de pectina extraída, a este incremento en el rendimiento se le suma la disminución en el tiempo de extracción haciendo así que la extracción asistida con microondas optimice el método mejorando los valores de rendimiento lo que puede significar grandes ahorros económicos y de energía.



### 5.3.2. Evaluación del contenido de cenizas en pectina de tejocote extraída por el método de microondas

En la Figura 31 se muestra el contenido de cenizas obtenido de las pectinas extraídas por el método ácido asistido por microondas.



**Figura 31.** Porcentaje de cenizas de las pectinas obtenidas de la extracción por el método asistido por microondas.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para potencia y la segunda para tiempo de extracción.

En todos los tratamientos se observa que al aumentar la potencia del microondas aumenta el contenido de cenizas siendo directamente proporcional sin estar influenciado por el tiempo de extracción. Existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre cada una de la potencias, lo cual indica que el efecto que esta condición es de suma importancia en la experimentación.

El tratamiento por 15 min es donde se obtuvieron valores de cenizas superiores mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) el tiempo de 15 min respecto a los tiempos de 10 y 20 min. De la misma forma existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre cada una de la potencias, lo cual indicó que el efecto que esta condición es de suma importancia en la experimentación como se mencionó anteriormente.

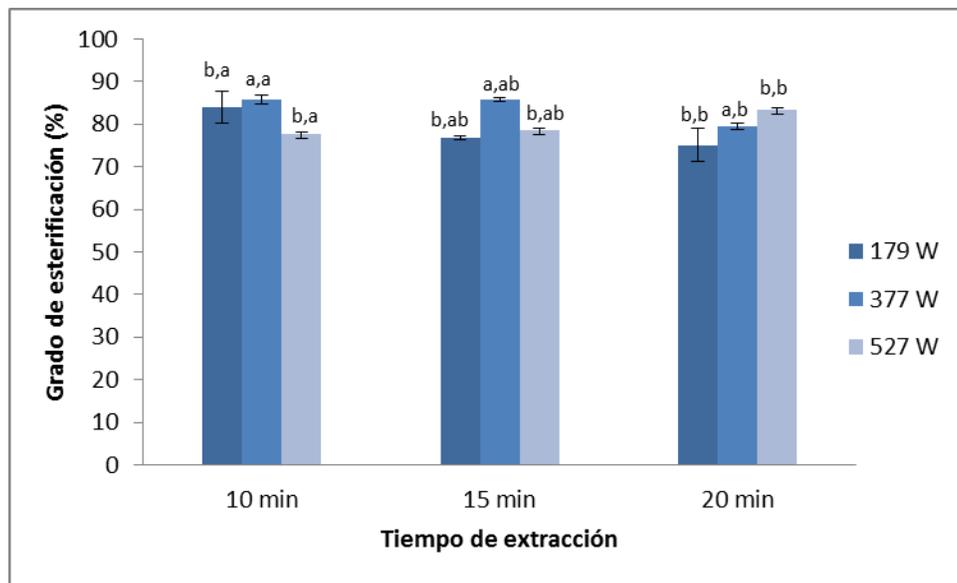


El tratamiento por 15 min fue en el que se obtuvo el valor más importante en cuestión al rendimiento (9.72 %), sin embargo a pesar de que los valores a este tiempo fueron los más altos, en general se tuvo un rango de porcentaje de materia inorgánica para el método de microondas de 0.88 al 1.96 % para las pectinas extraídas por el método de microondas, mientras que en el método ácido presentó un intervalo de 0.96 al 2.76%, lo que indicó que el método de microondas se obtienen pectinas con mayor grado de pureza y se asume que esto pasa por los tiempos más cortos de calentamiento en presencia de ácido, además de que los recipientes en los que se llevó a cabo la hidrólisis no fueron de un metal como en el caso del método ácido, aspecto importante por lo señalado anteriormente, es este caso el material del recipiente fue de plástico especial para microondas.

También es importante señalar que esta cantidad de cenizas en gran parte, por no decir en su totalidad depende directamente de la composición química del fruto en cuestión, es por ello que los valores entre uno y otro método no varían drásticamente.

### **5.3.3. Evaluación del grado de esterificación en pectina de tejocote extraída por el método de microondas**

En la Figura 32 se presentan los valores obtenidos para el grado de esterificación de las pectinas obtenidas por el método asistido por microondas.



**Figura 32.** Porcentaje del grado de esterificación de las pectinas extraídas por el método asistido por microondas.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para potencia y la segunda para tiempo de extracción.

Los porcentajes más altos de grado de esterificación se encontraron en la potencia de 377 W, de la misma manera se observó que el valor más alto de grado de esterificación se encontró en la corrida con las condiciones de 377 W con un tiempo de extracción de 10 minutos con un valor de 85.74%, presentando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), de esta potencia (377 W) respecto a las otras dos, al igual que en la potencia el tiempo de extracción de 10 min muestra diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), respecto a los tiempos de 15 y 20 min de tratamiento.

En general los grados de esterificación de estas pectinas obtenidas por el método asistido por microondas son elevados, en el sentido de que todas las pectinas obtenidas se encuentran ubicadas dentro de la clasificación de las pectinas de alto grado de esterificación (mayor al 50%), ubicándolas en un intervalo de 75 y 85.74%.

Bagherian *et al.* (2011), en su experimentación con pieles de toronja observó que el grado de esterificación aumenta conforme incrementa la potencia del equipo utilizado y con el

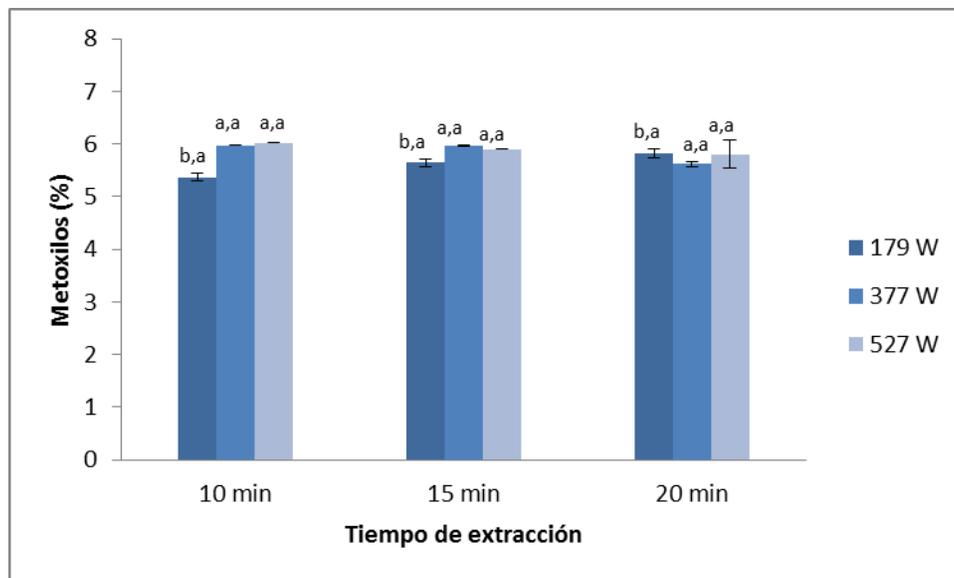


tiempo de calentamiento que éste produce. De igual forma concluyó que no existía diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre este método y el método convencional, en función a grado de esterificación.

De la misma manera en este estudio se llegó a la conclusión de que en función al grado de esterificación los métodos no presentaron una diferencia importante pues para el método de microondas obtuvimos un valor máximo de 85.74 % de GE (grado de esterificación), mientras que en el método convencional este valor fue de 84.89 %.

### 5.3.4. Evaluación del porcentaje de grupos metoxilos presentes en pectina de tejocote extraída por el método de microondas

En la Figura 33 se plasman los valores para el porcentaje de grupos metoxilo presentes en las pectinas de tejocote extraídas por el método de microondas.



**Figura 33.** Porcentaje de grupos metoxilo en las pectinas extraídas por el método asistido por microondas.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para potencia y la segunda para tiempo de extracción.

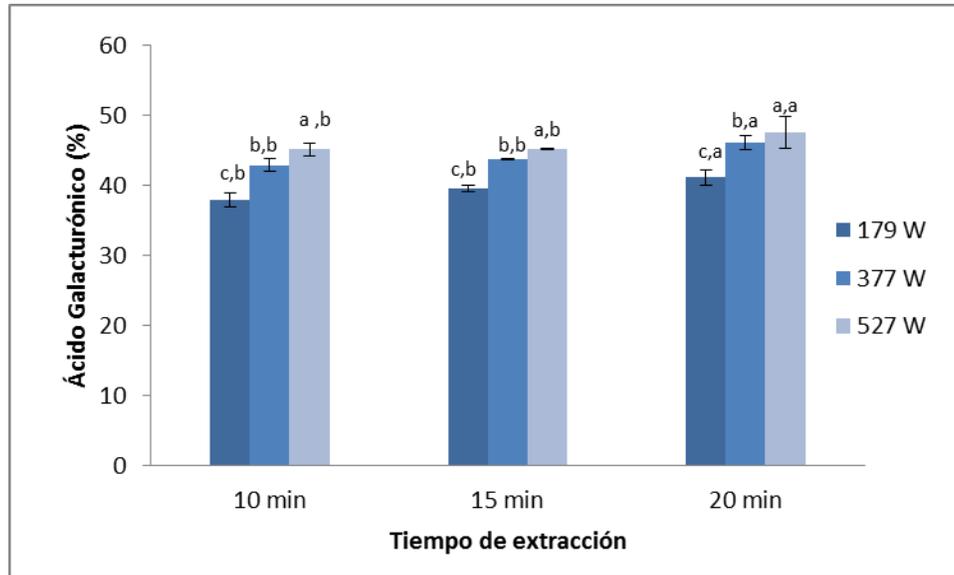


Los valores obtenidos presentaron una homogeneidad para cada una de las corridas, a excepción de la corrida a una potencia de 179 W por 10 min siendo la corrida que presenta el valor más bajo de grupos metoxilo (5.36%), mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto a las otras potencias, observándose un efecto por este factor pero no para el tiempo. De la misma manera podemos observar que las corridas de las potencias de 377 y 527 W a los tiempos de 15 y 20 minutos presentaron similitud en sus valores, dentro de estas condiciones el valor más alto de porcentaje de grupos metoxilo es 6.02%, en las condiciones de 10 minutos de tratamiento y una potencia de 527 W, sin embargo a la misma condición de tiempo pero con la potencia de 377 W obtenemos un valor de 5.97%, lo que indicó que es conveniente utilizar esta potencia en el menor tiempo (10 min) por cuestión de ahorro de energía y a la vez de costos de producción ya que no presenta diferencia significativa.

De la misma manera que para el grado de esterificación se observa que entre este método y el convencional no existe diferencia en función a este parámetro pues para microondas se obtuvo un valor de 6.02% y para el método ácido de 6.2%, lo que nos indicó que tanto como el GE como el porcentaje de grupos metoxilo son al igual que las cenizas una propiedad que le otorga el fruto en este caso el tejocote y que al no utilizar condiciones extremadamente rígidas no llegamos a una modificación a nivel estructural de la molécula de pectina.

### **5.3.5. Evaluación del porcentaje de ácido galacturónico en pectina de tejocote extraída por el método de microondas**

La Figura 34 muestra los resultados del porcentaje de ácido galacturónico presente en las pectinas extraídas por el método de microondas, se observó que muestra una tendencia similar a los resultados de cenizas del mismo método, en donde conforme aumenta la potencia de equipo, aumenta el valor de la variable.



**Figura 34.** Porcentaje de ácido Galacturónico en las pectinas extraídas por el método asistido por microondas.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para potencia y la segunda para tiempo de extracción.

Los valores más altos se obtuvieron en la potencia de 527 W, el valor más alto fue de 47.54% obtenido con las condiciones más rígidas de extracción: 527 W y 20 minutos de tratamiento, y el valor más bajo (37.94%) en las condiciones más nobles que fueron las de 179 W y 10 minutos de tratamiento obteniendo una diferencia de alrededor del 10% y presentando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), en cada una de las potencias utilizadas. Del mismo modo el tiempo de extracción de 20 minutos presenta diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), respecto a los otros dos tiempos.

Bagherian (2011), encontró que el porcentaje de ácido galacturónico incrementa conforme aumenta el nivel de potencia y el tiempo de tratamiento, encontrando valores para pectina de toronja de hasta 70%; los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por este autor, mostrando la misma tendencia.

En el método convencional se obtuvo un valor a 90°C y 90 min de 54.6% de ácido galacturónico, mientras que por el método de microondas el valor más alto fue de 47.54%,



sin embargo si se utilizaran potencias superiores se podría igualar el valor obtenido por el método convencional, recordando que el porcentaje de ácido galacturónico es un aspecto importante a cuidar pues este representa la pureza de la pectina extraída, de la misma forma y en función a lo que observó Bagherian (2011), podríamos incrementar el tiempo de tratamiento, siendo una opción para investigaciones futuras.

En función a los resultados obtenidos durante la experimentación por el método asistido por microondas se observó que las condiciones se comportan de la siguiente manera: para rendimiento cualquier condición puede ser buena opción dado que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre las diferentes corridas, es recomendable utilizar la potencia más baja y tiempo por cuestiones de costos, además de que es la potencia de 179 W la que nos brinda el mejor rendimiento, es la misma potencia la que nos da el menor valor de cenizas y la misma potencia que nos da buenos porcentajes de esterificación; características importantes en las pectinas, sin embargo otra característica importante es el porcentaje de ácido galacturónico y este se obtiene en sus mejores valores a la potencia más elevada (527 W) y a un tiempo de 20 minutos, aspecto importante dado que este tiempo presenta diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). Por lo que se concluye lo siguiente, podemos obtener los mayores porcentajes de rendimiento de pectina utilizando la potencia que involucra menores costos (179 W), además de que estas pectinas tendrán buen grado de esterificación y metoxilación, sin embargo para obtener pectinas más puras se tendrán que utilizar las condiciones de potencia más elevadas (527 W) y 20 minutos de tratamiento.

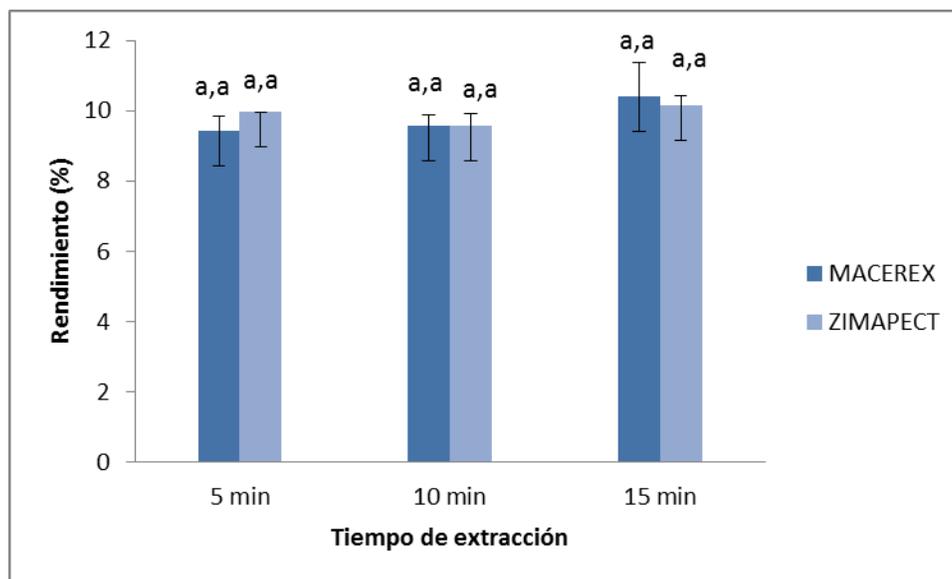


## 5.4. Método enzimático

### 5.4.1. Evaluación del rendimiento de pectina de tejocote extraída por método enzimático

La extracción de pectina por vía enzimática no necesariamente implica el uso exclusivo de enzimas pécticas, ya que se ha reportado el empleo conjunto de pectinasas con otras depolimerasas como celulasas o hemicelulasas, para potenciar el proceso extractivo. Los rendimientos de pectina extraída por vía enzimática son variables y dependen del sustrato y tipo de enzima empleados. Se han reportado valores entre 10 y 35%, para diferentes materiales.

En la Figura 35 se observa que los rendimientos registrados por el método enzimático estuvieron en un intervalo de 9 a 11%. El tipo de concentrado enzimático y sus diferentes tiempos de tratamiento no tuvieron efecto en el rendimiento puesto que no presentaron diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en la cantidad de pectina extraída.



**Figura 35.** Rendimientos de las diferentes condiciones de extracción de pectina por el método enzimático.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para el complejo enzimático y la segunda para tiempo de extracción.



El tratamiento de 15 minutos fue el que proporcionó el mayor rendimiento (10.4%) con el concentrado Macerex, seguido de la extracción con el concentrado Zimapect durante 15 minutos con un valor de 10.15%.

Contreras-Esquivel (1995), menciona que para extraer pectina eficientemente se necesitan rendimientos mayores que los que se obtienen vía ácida, además de asegurarse que el material extraído sea de alto peso molecular. Por lo tanto efectuó un estudio de extracción de pectina utilizando como sustrato cáscaras de limón. Como fuente enzimática utilizó un sistema pectolítico de *A. Kawachii*. El pH de la suspensión de cáscaras de limón fue de 3.2-3.5 que no se modificó (aunque no sea el óptimo). El rendimiento fue de 17.4% de pectina en base a cáscara seca. Demostró que *A. Kawachii* posee un sistema pectolítico constituido principalmente por Pectinmetilesterasa, Pectinliasa, Poligalacturonasa y diversas Glucosidasas pero no produce una actividad enzimática que degrade el esqueleto principal de ramnogalacturonano (RGI) así como la región del xilogalacturonano (XG) que se comentaron en el marco teórico.

Contreras-Esquivel (2003), llevó a cabo una extracción química y una enzimática con fines comparativos. El tratamiento enzimático se efectuó con poligalacturonasa de *A. niger*, a pH óptimo (4.5) con un tiempo de reacción de 2 horas. El rendimiento del proceso químico realizado a 90°C durante una hora en agua a pH 2.0 (ajustado con HCl) fue del 20%, mientras que utilizando la enzima de *A. niger* se obtuvo un rendimiento del 17% y al utilizar la enzima de *A. Kawachii* un rendimiento de 27%. El estudio demuestra que las pectinas extraídas enzimáticamente cuentan con mayor peso molecular. En el presente estudio se obtuvieron rendimientos en el método químico de hasta 7.52% y en el químico asistido por microondas rendimiento máximo de 9.72%, el valor más alto para este estudio en función al rendimiento fue de 10.4% para la extracción con enzimas, lo que indica una diferencia importante, pues por esta vía se obtuvieron mayores porcentajes de pectina en tiempos muy cortos y con muy buenas características fisicoquímicas.

Algunos otros trabajos como el de Contreras-Esquivel (1995), quien extrajo pectina de cáscaras de mango con la ayuda de una endo-poligalacturonasa de *Aspergillus niger*, la



endo-poligalacturonasa logró liberar un alto porcentaje de material péctico (32.5% en base seca). Los análisis de espectroscopia de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR) mostraron que la pectina extraída con la enzima corresponde a pectina de alto metoxilo.

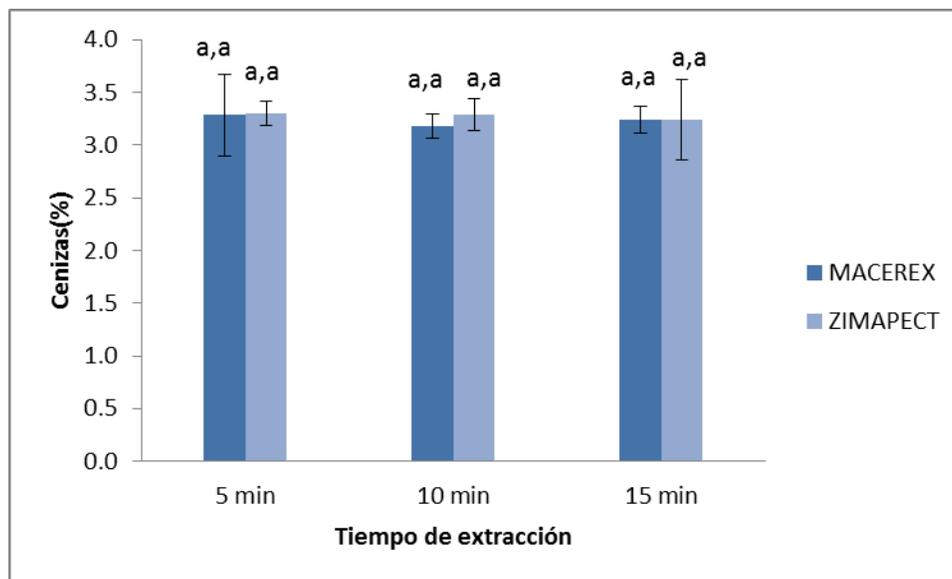
Ptichkina *et al.* (2008), comparó la actividad enzimática de tres diferentes microorganismos para la extracción de pectina de calabaza, *Trichoderma viride*, *Bacillus macerans* y *Aspergillus awamori* fueron los microorganismos de los que provenían los tres diferentes complejos enzimáticos; estos complejos estaban compuestos por: xilanasas, celulasas, glucosidasas, poligalacturonasas y pectinmetilesterasas en diferentes concentraciones según el microorganismo de procedencia. Ptichkina, *et al.* (2008) obtuvo el mayor porcentaje de rendimiento utilizando el preparado enzimático de *A. awamori* (14.0%), seguido de complejo de *B. macerans* (10.5%) y por último *T. viride* (9.8%). A su vez este autor comparó la eficiencia de la extracción enzimática con el mejor complejo (*Aspergillus awamori*), con la extracción convencional de pectina de calabaza obteniendo los siguientes resultados: un porcentaje de rendimiento para el método convencional del 7% en un tiempo de extracción de 2 horas, mientras que para la extracción con el complejo enzimático de *A. awamori* obtuvo el doble que por el método ácido (14%).

Los resultados del presente estudio demuestran que la extracción enzimática fue muy efectiva para degradar sustratos insolubles como es el caso de la pectina. La extracción enzimática de pectina como ya se mencionó es una reacción sobre sustratos insolubles y por lo tanto es de esperar que la macro y microestructura del sustrato condicionen su degradabilidad y determinen los rendimientos y propiedades del producto final. Sin embargo, hay que considerar que el sistema es más complejo que la celulosa, debido a la coexistencia de varios tipos de polisacáridos (incluyendo la celulosa), y la gran complejidad química de la pectina presente en materiales como lo es el tejocote. Estas variaciones incluso de niveles de porosidad de los diferentes materiales demuestran la necesidad de investigar sobre los métodos de análisis de porosidad de materiales como el tejocote, a fin de obtener información más precisa acerca de su microestructura, y así optimizar el proceso de extracción enzimática.



### 5.4.2. Evaluación del contenido de cenizas en pectina de tejocote extraída por el método enzimático

En la Figura 36 se muestran los valores del contenido de cenizas presentes para cada una de las corridas del método enzimático.



**Figura 36.** Porcentaje de cenizas de las pectinas obtenidas de la extracción por el método enzimático.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para el complejo enzimático y la segunda para el tiempo de extracción.

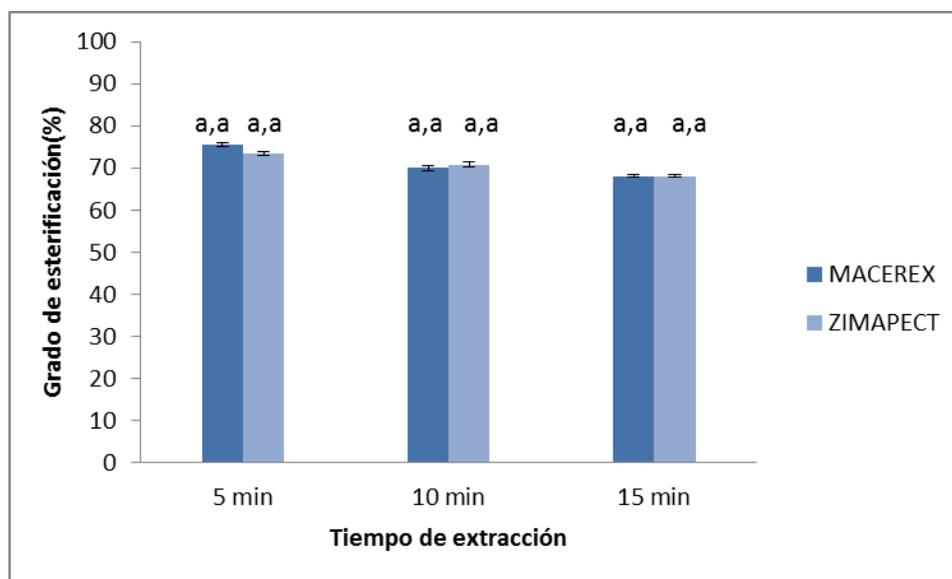
Los valores presentan homogeneidad para cada una de las condiciones utilizadas en este estudio, de la misma forma se observa que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ), con respecto al concentrado enzimático utilizado ni para los tiempos de tratamiento de extracción de pectina de tejocote. Sin embargo se obtuvo el valor más alto de cenizas (3.29%), en la corrida a 10 minutos de tratamiento con el concentrado denominado Zimapect® y el valor más bajo (3.18%), al mismo tiempo de extracción (10 min) y utilizando el concentrado Macerex®, sin embargo los valores obtenidos indican que el efecto tanto del tiempo de tratamiento, como del concentrado enzimático utilizado fue



despreciable, a su vez los valores que se encuentran en ese intervalo del estudio caen dentro de lo que especifica el Codex ( $\leq 10\%$ ), haciendo aceptables las pectinas para su comercialización.

#### 5.4.3. Evaluación del grado de esterificación en pectina de tejocote extraída por el método enzimático

Los valores de menor porcentaje de esterificación se obtuvieron con el método enzimático (Figura 37), siendo menores al 75% sin importar el tipo de concentrado enzimático, ni el tiempo de tratamiento no registrándose diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en tipo de concentrado enzimático ni tampoco en el tiempo de tratamiento.



**Figura 37.** Porcentaje del grado de esterificación de las pectinas extraídas por el método enzimático.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para el complejo enzimático y la segunda para el tiempo de extracción.

El valor de mayor porcentaje de esterificación lo presentó la pectina obtenida con la mezcla de enzimas denominada Macerex con un tiempo de tratamiento de 5 minutos con un valor de 75.5%. Se puede observar que entre mayor sea el tiempo de tratamiento el grado de



esterificación disminuye, teniendo así para 5 min un valor de 75.5 y 73.45 para Macerex y Zimapetc respectivamente, para 10 min 70 y 70.8% y para 15 min 67.98 y 68.10%.

Ptichkina *et al.* (2008), en su trabajo sobre extracción de pectina de calabaza utilizando tres complejos enzimáticos de tres diferentes microorganismos (*Trichoderma viride*, *Bacillus macerans* y *Aspergillus awamori*) observó que entre más contenido de pectinmetilesterasa se encontrara en el complejo enzimático menos porcentaje de grado de esterificación se obtenía en la pectina extraída, obteniendo para el complejo de *A. awamori* un valor de 53%, este complejo enzimático fue el que presentó mayor contenido de Pectinmetilesterasa (105 UI/g), para *B. macerans* (37 UI/g) obtuvo un valor de 60% y para *T. viride* (28 UI/g) se obtuvo un valor de 65%. En la figura 37 se hace evidente este comportamiento pues los concentrados enzimáticos utilizados para este proyecto que contienen Pectinmetilesterasa, se observa que entre mayor sea el tiempo de tratamiento el grado de esterificación disminuye, teniendo así para 5 min un valor de 75.5 y 73.45 para Macerex y Zimapetc respectivamente, para 10 min 70 y 70.8% y para 15 min 67.98 y 68.10%.

Ptichkina *et al.* (2008) utilizaron el concentrado enzimático de *Aspergillus awamori* (por ser el que proporcionó mayor rendimiento de extracción de pectina) para realizar una comparación entre el método enzimático y el método convencional en donde observó que los valores más altos de GE se obtenían por el método ácido (66%), mientras que por el método enzimático obtuvo un valor menor (53%), eso atribuible a la presencia de la pectinmetilesterasa en el complejo enzimático. Para el caso del presente estudio por el método convencional al igual que en el trabajo antes mencionado se obtuvo un valor por arriba del que obtuvimos por vía enzimática (84.89%), incluso el mismo método de microondas proporcionó valores superiores de hasta 85.74%, mientras que para este método los valores fueron de 75.5%, se hace evidente la actividad de la pectinmetilesterasa en el momento de extracción de la pectina por este método.

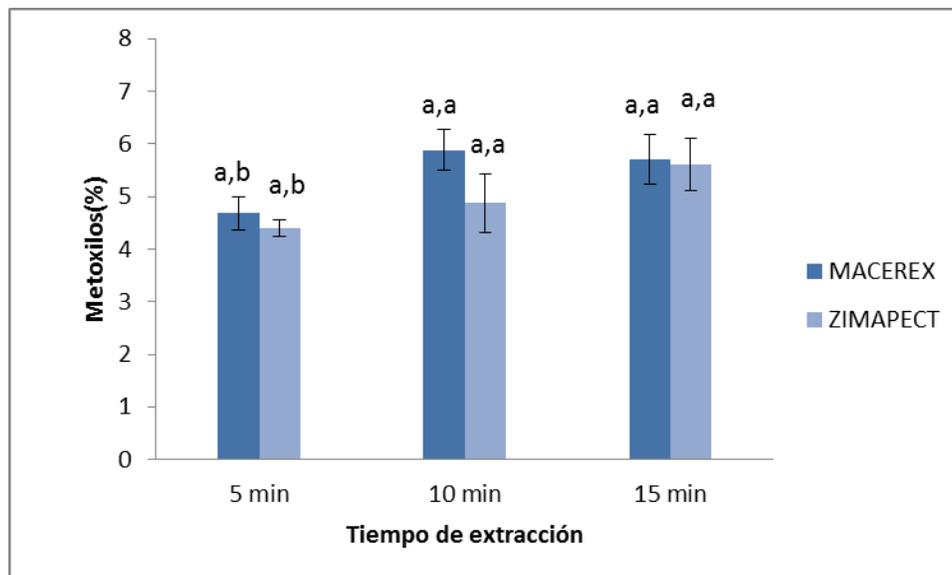
Las protopectinas liberan sustancias pécticas como consecuencia de reacciones de hidrólisis y beta eliminación. Estas reacciones pueden ser catalizadas química o enzimáticamente, pero por ser un sistema heterogéneo, la hidrólisis es afectada no sólo por las características



de la macro y microestructura del sustrato sino también por las características químicas de mismo. El grado de esterificación es una de las características propias del sustrato y es importante señalar que es una determinante importante de la actividad de las diferentes enzimas.

#### **5.4.4. Evaluación del porcentaje de grupos metoxilos presentes en pectina de tejocote extraída por el método enzimático**

En el caso de las pectinas extraídas enzimáticamente se observó mayor homogeneidad de valores en sus diferentes tratamientos (Figura 38), ubicando un intervalo de 4.4-5.9% de grupos metoxilo presentes en las pectinas finales. No habiendo diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) en el tipo de concentrado enzimático, sin embargo en la Figura 38 podemos observar que el sistema de Zimapect muestra los valores más altos de grado de metoxilación para la experimentación, por otro lado el tiempo de tratamiento de 5 min presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en comparación con los otros dos tiempos (10 y 15 min), sorpresivamente a este tiempo el grado de esterificación disminuyó contrario a lo esperado; pues a menor tiempo de tratamiento menos degradación química por parte de la pectinmetilesterasa presente en el concentrado Zimapect, y de la misma forma se obtuvo el valor mayor (5.9%) utilizando este sistema enzimático.



**Figura 38.** Porcentaje de grupos metoxilo en las pectinas extraídas por el método enzimático.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para el complejo enzimático y la segunda para el tiempo de extracción.

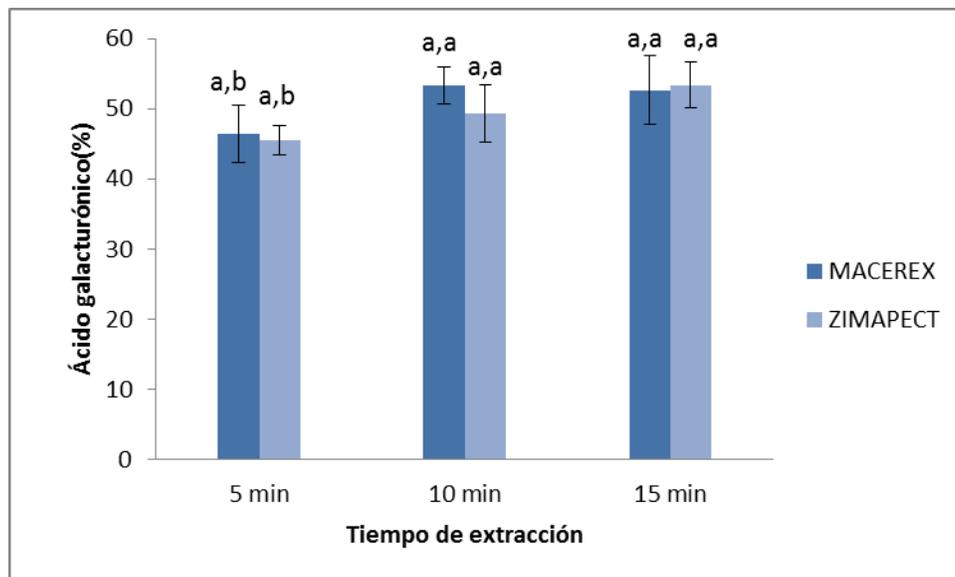
Un aspecto interesante a resaltar de este estudio es la presencia de pectinmetilesterasa no sólo en el sustrato para extraer la pectina (tejocote), sino también en uno de los concentrados enzimáticos (Zimapect). En la práctica industrial el control de la actividad de la pectinmetilesterasa es fundamental en las etapas previas al secado del material, ya que la desesterificación del sustrato daría lugar a pectinas sensibles al calcio o de baja metoxilación. Durante la extracción química, la pectinmetilesterasa se inactiva por las condiciones del mismo tratamiento y por lo tanto su efecto sobre la pectina sería nulo, en cambio en la extracción enzimática su actividad puede alterar el producto según el pH de la reacción. Esto se hace evidente al comparar la extracción química, microondas y enzimática, en las dos primeras metodologías obtenemos valores como 6.2 y 6.02% respectivamente en cuanto al contenido de grupos metoxilo presentes en las pectinas finales, mientras que para el método enzimático obtenemos un valor de 5.88% como máximo. Es importante recalcar que obtenemos una tendencia similar con el grado de esterificación, disminuyendo el GE utilizando un método enzimático.



#### **5.4.5. Evaluación del porcentaje de ácido galacturónico en pectina de tejocote extraída por el método enzimático**

Contreras-Esquivel (2003) realizó un ensayo para evaluar la extracción de pectina con poligalacturonasa de *A. Kawachii* pura. En ensayo de extracción se efectuó a pH de 2 y 37°C. En presencia de la enzima la liberación de ácido galacturónico se incrementó significativamente observándose una fase inicial rápida (hasta las 6 h) luego de la cual la velocidad de hidrólisis declina. A cabo de 12- 14 h de proceso, el ácido galacturónico soluble alcanzó una concentración de 3.5-3.8 g/L (50% del total) correspondiendo la mayor parte a material polimérico, lo cual confirma que la enzima es capaz de solubilizar sustancias pécticas altamente polimerizadas.

En general por el método enzimático (Figura 39) se obtuvieron pectinas con un mayor porcentaje de ácido galacturónico, teniendo como mínimo un valor de 45.51% con la mezcla de enzimas Zimapect con tiempo de extracción de 5 minutos, mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el tiempo de 5 min con el resto de los tiempos de tratamiento, y un valor máximo de 53.35%, lo que proporciona una mayor pureza a las pectinas extraídas por vía enzimática. Recordando que un alto contenido de ácidos urónicos es indicativo de que la molécula de pectina se ha fragmentado por acción enzimática o por la hidrólisis durante la extracción (Link y Dickson, 1930). La presencia de la poligalacturonasa en los concentrados enzimáticos proporcionó una mayor despolimerización de las cadenas de ácido galacturónico presentes en la materia prima, facilitando así la extracción del polisacárido en tiempos relativamente cortos.



**Figura 39.** Porcentaje de ácido galacturónico en las pectinas extraídas por el método enzimático.

Las letras diferentes de cada barra indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), la primera letra para el complejo enzimático y la segunda para el tiempo de extracción.

Contreras-Esquivel (1995), evaluó la propiedad de la endo-poligalacturonasa de *A. Kawachii* de extraer pectina de protopectina y pomaza de limón, y de macerar tejidos vegetales. Las protopectinas se prepararon por diversas metodologías y se caracterizaron física y químicamente. Los análisis químicos mostraron únicamente diferencias en el grado de esterificación. El análisis de la composición de la pectina extraída químicamente, indica la predominancia de galacturonanos, en particular homoalacturonanos, y una pequeña población neutra, probablemente derivada de la hidrólisis de las cadenas laterales presentes en la región pilosa. La endo-poligalacturonasa resultó altamente eficiente para macerar tejidos vegetales a un pH de 2.0, lo cual demuestra el potencial de la enzima de degradar sustratos insolubles a pH muy ácidos.

Ptichkina *et al.* (2008) en su trabajo sobre extracción de pectina de calabaza utilizando tres complejos enzimáticos de tres diferentes microorganismos (*Trichoderma viride*, *Bacillus macerens* y *Aspergillus awamori*), concluyó que no existe diferencia significativa al usar cualquiera de los tres preparados enzimáticos en función al contenido de Poligalacturonato,



pues con cualquiera de los concentrados provenientes de los diferentes microorganismos se obtuvo un valor de porcentaje de poligalacturonato de 64%. El mismo Ptichkina *et al.* (2008) compararon la extracción convencional con la enzimática observando que por medio de una hidrólisis ácida obtuvo un porcentaje de poligalacturonato del 79%, valor que representa mayor cantidad que la que se puede obtener vía enzimática, sin embargo en el presente estudio se observó la misma tendencia, mediante una extracción convencional se obtuvo un porcentaje de ácido galacturónico del 54.6%, mientras que vía enzimática el valor fue de 53.3%.

Es de hacer notar que la hidrólisis no enzimática coexiste con la enzimática y es difícil establecer la contribución de cada una de ellas en el rendimiento y las características finales de la pectina.

Para el método enzimático las condiciones de extracción de pectina resultaron ser indiferentes en el sentido de que no existe diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) para usar una u otra condición, sin embargo los mejores resultados se obtienen con el concentrado denominado Macerex y el mejor tiempo fue de 10 min, dado que a 5 min las pectinas presentan los valores más bajos de porcentaje de ácido galacturónico.



# CONCLUSIONES



**“EI NOMBRE GENÉRICO, CRATAEGUS, ES UN ANTIGUO NOMBRE GRIEGO QUE SIGNIFICA “FUERTE”; EN REFERENCIA A LA DUREZA DE SU MADERA. EL NOMBRE VULGAR, “TEJOCOTE”; VIENE DEL NÁHUATL TETL, “PIEDRA”: Y XOCOC, “FRUTO ÁCIDO”: “FRUTO ÁCIDO DE PIEDRA”: EN REFERENCIA AL ASPECTO Y EL SABOR DEL FRUTO”**



## 6. Conclusiones

Con base en los resultados anteriores, se concluye lo siguiente:

\* El tejocote es una alternativa de materia prima para obtener pectina ya que la cantidad que se obtiene de este fruto es mayor en comparación con otros vegetales, según el presente estudio el tejocote presenta una cantidad de pectina de 2.15% en estado de madurez comercial, mientras que materiales como el nopal en estado de madurez tierno y maduro presentaron valores de 0.75 y 0.56% respectivamente, de la misma forma el mucilago de nopal presentó un valor de 0.46%. El porcentaje de pectina de tejocote también presenta ventajas en comparación con algunos residuos de otros frutos como en el caso de las cáscaras de limón y las de plátano en estado de madurez verde pues estos presentan valores de 1.57 y 2.03%, respectivamente. Por otro lado algunos de los residuos de frutos en estado de madurez verde presentaron valores mayores a los del tejocote; sin embargo estos materiales como las cáscaras de plátano verde y las de mango verde con valores de 6.11 y 4.57% respectivamente, presentan una desventaja, pues son frutos que no se consumen ni procesan en ese estado de madurez. Lo anterior potencializa el uso de tejocote y su comercialización.

\* El método convencional presenta en todos los casos a excepción del grado de esterificación que la temperatura de 90°C ayuda a obtener los mejores resultados en función a sus características fisicoquímicas. Trabajando con un tiempo de 90 minutos obtenemos los mejores valores de la experimentación, lo que nos indica que las mejores condiciones para este método serán 90°C y 90 minutos, obteniendo así valores de rendimiento de 5.49%, de cenizas de 0.96%, grado de esterificación de 68.41%, grado de metoxilación de 6.2% y porcentaje de ácido galacturónico de 54.65%.

\* El método ácido presenta ciertas desventajas frente a las dos alternativas de extracción que se presentaron en el presente estudio, los tiempos de tratamiento son muy prolongados, aumentando así los costos de procesos, la calidad de pectina que se puede obtener con esta metodología de igual forma se puede obtener por una asistida por microondas.



\* En el método asistido por microondas se obtuvieron rendimientos altos (8.1 a 9.72%) con cualquier condición. Utilizar la potencia más baja (194.37W) y tiempo más cortos (10 y 15 min) representan una importante ventaja en cuanto a costos, además de que es la potencia de 179.37 W la que brinda el mejor rendimiento, es la misma potencia la que nos da el menor valor de cenizas y la misma potencia que da buenos porcentajes de esterificación. Podemos obtener los mayores porcentajes de rendimiento de pectina utilizando la potencia que involucra menores costos (179.37W), además de que estas pectinas tendrán buen grado de esterificación y metoxilación, sin embargo para obtener pectinas más puras se tendrán que utilizar las condiciones de potencia más elevadas (526.69W) y 20 minutos de tratamiento.

\* El método de extracción enzimática presentó los mayores rendimientos, siendo el valor más alto de 10.4%; y las pectinas, obtenidas por este método presentaron el mayor contenido de cenizas y de ácido galacturónico, en comparación con las obtenidas por el método ácido y el método de microondas, sin embargo presentaron el menor grado de esterificación y metoxilación, debido a la presencia de la enzima pectinmetilesterasa en los concentrados.

\* Se concluye que el método enzimático es una alternativa de obtención de pectina de alto metoxilo para la industria, ya que además presenta una ventaja a nivel ambiental, pues los efluentes de este proceso no presentan trazas de ácido, el uso de lavados con alcohol no son necesarios y el tratamiento con concentrados enzimáticos utiliza menos energía y tiempos de extracción, preservando la calidad de las pectinas finales.



# RECOMENDACIONES



**“LA PECTINA ES INSOLUBLE EN ALCOHOL, Y EL AGREGADO DE ESTE A LA SOLUCIÓN ACUOSA DONDE SE LLEVÓ A CABO LA HIDRÓLISIS PROVOCA LA PRECIPITACIÓN O GELIFICACIÓN DEBIDO A QUE EL ALCOHOL ES UN NO SOLVENTE O PRECIPITANTE QUE BAJA LA CONSTANTE DIELECTRICA DEL MEDIO, Y TIENDE A DESHIDRATAR AL SOLUTO HIDRÓFILO”**



## 7. Recomendaciones

- Evaluar en el proceso de secado reducir el tiempo del mismo y aumentar el flujo de aire en el equipo, pero considerando una temperatura adecuada que no aumente los cambios estructurales y composicionales; ya que temperaturas muy elevadas podrían afectar la solubilidad de las pectinas.
- Evaluar el rendimiento y las características físico - químicas de las pectinas extraídas con diferentes tipos de ácidos.
- Considerar para futuros ensayos las diferentes variedades de tejocote, así como las propiedades del producto que se pueda obtener.
- Considerar métodos para la recuperación del alcohol utilizado en el proceso de precipitación de las pectinas, con la finalidad de hacer más eficiente el mismo y disminuir costos.
- Utilizar alternativas de sustancia que ayuden a precipitar la pectina para sustituir a los alcoholes; y que esto permita hacer el proceso menos peligroso, más barato y más rentable.
- Realizar ensayos de extracción a partir de procesos que no involucren calentamiento, evaluar otros agentes extractantes y comparar las propiedades químicas de las pectinas obtenidas.
- Evaluar la variación de los rangos de temperatura en el rendimiento y características físico-químicas de las pectinas.



- Realizar los ensayos purificando o concentrando la pectina obtenida, a fin de obtener valores más adecuados para comparaciones.
- Realizar estudios de costo- beneficio para determinar la factibilidad de implementar tratamiento con microondas en una planta productora de pectina.
- Realizar estudios previos de la naturaleza estructural de las materias que servirán como fuentes de extracción de pectina para entender mejor el proceso mismo de extracción por cualquiera de los métodos.
- Aplicar las pectinas extraídas en productos alimenticios para evaluar su funcionalidad y posibles aplicaciones.



## 8. Referencias

- Aceves, J. L.; Ceja, M. G.; Argott, J.; Leon, M. J., (1987). Extracción y caracterización de pectina de tejocote (*Crataegus-mexicana*). Proyecto terminal. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa, México, D.F.
- Aguilar, E. (1992). Análisis comparativo de la obtención de pectina a partir de desechos agroindustriales y tejocote. Universidad veracruzana, Xalapa, Ver.
- Aguirre-Mandujano, E.; Nieto-Ángel, R.; Hernández-Rodríguez, L.; Sánchez-Guzmán, M.; Pérez-Alonso, C.; Cuevas-Bernardino, J.C. (2010). Caracterización de pectinas de tejocote (*Crataegus spp*). Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 69p.
- Alexander, M.M. Sulebele, G.A. (1980). Characterisation of Pectins From Indian Citrus Peels. *Journal Food Science and Technology* 17: 180-182.
- Alves, V.D., S. Mali, A. Beléia, y M.V.E. Grossmann. (2007). Effect of glycerol and amylase enrichment on cassava starch film. *Journal of Food Engineering* 78(3):941-946.
- American Chemical Society (1944). Report of Committee for revision of nomenclature of pectic substances. *Chem. Eng. News*, 22:105-106.
- Askel, G. (1987). "Pectin Studies Industrial and Engineering Chemistry".
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. Pearson educación; Mexico.
- Bagherian, H., Fouladitajar, A., Mohtashamy, M., Zokaei, F. (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound- assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50, 1237-1243.
- Baig, M.M. y Cerda, J.J. (1980). Studies on the role of citrus in health and disease. En: Nagy and J.A. Attaway (Eds.). *Citrus Nutrition and Quality*. S. ACS Symposium Series 143. American Chemical Society: Washington, D.C. pp:25-41.



- Barazarte, H.; Sangronis, E.; Unai, E. (2008). La cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.): Una posible fuente comercial de pectinas. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 58, (1): 64-70 pp.
- Biely, P. y Kremnický, L. (1998). Yeast and their enzyme systems degrading cellulose, hemicellulose and pectin. Food Technol. Biotechnology, 36:305-312.
- Bonnell, J. M. (1985). Process for the production of useful products from orange peel.
- Bonnin, E.; Renard, C.; Thibault, J.-F.; Ducroo, P. (1997). Les enzymes de dégradation des parois végétales: mode d'action et utilisations alimentaires. Dan: Laneta-Ganda, V. (Ed.). Enzyms an Aggro-Alimentaire. Tech et Doc Lavoisier: Paris. pp:167-200.
- Borys, MW; Leszczyńska-Borys, H. (1994). Tejocote (*Crataegus* spp.)—planta para solares, macetas e interiores. Revista Chapingo Serie Horticultura 1:95-107.
- Bosquez, M. E. (2002). Extracción de pectina de alto metoxilo a partir del nopal. Proyecto terminal. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa, México, D.F.
- Bourtoo, M, T. y M.S. Chinnan. (2008). Preparation and properties of rice starch-chitosan blend biodegradable film. Food Science and Technology 41(9):1633-1641.
- Braverman, J. B. (1980). Introducción a la bioquímica de los alimentos. Barcelona, Omega. Revista Alimentaria 31 (252): 355p.
- Buitriago, M. (1998). Aprovechamiento Integral del Mango (*Mangifera indica* L.). Utilización de la piel como fuente de pectina. Trabajo especial de grado para optar al título de Licenciado en Biología. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- Cabrera, LG. (1992). Diccionario de aztequismos. Ediciones Colofón, Ciudad de México, México. 166 p.
- Camejo, C., Ferrer, A., de Ferrer, B., Peña, J. y Cedeño, M. (1990). Extracción y caracterización de pectinas en toronjas injertados en la región zuliana. Rev. Fac. Agron. (Luz) 13: 647-652.



- Carpita, N.C. y Gibeaut, D.M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal*, 3:1-30.
- Carreto, V. (1984). “Estudios Preliminares para la Obtención de Pectina a partir de la Corteza de Naranja”. Tesis de Licenciatura. Universidad de las Américas, México.
- Cerda, J. (1996). Preparation and use of a protein-enriched pectin composition.
- Chacín, J., Marín, M, D’Addosio, R. (2009). Evaluación del contenido de pectina en diferentes genotipos de guayaba de la zona sur del lago de Maracaibo. *Multiciencias*.10 (1): 7-12.
- Chen, C.H. & L.S. Lai. (2008). Mechanical and water vapor barrier properties of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum films in the presence of plasticizer. *Food Hydrocolloids*, 22(8):1584-1595.
- Coffin, D. R. Fishman, M. L y P. H. Cooke. (1995). Mechanical and microstructural properties of pectin/starch lms. *Journal of Applied Polymer Science* 57(6):663–670.
- Coffin, D.R. y Fishman, M.L. (1994). Mechanical properties of pectin-starch films. En: *Polymers from Agricultural Coproducts*. ACS Symposium Series 575. Washington, D.C.: American Chemical Society, pp:82-91.
- Cohn, R. y Cohn, A.L. (1996). Subproductos del procesado de las frutas. En: Arthey, D. Ashusrt, P.R.(Eds.). *Fruit processing*, pp. 213-239. Chapman and Hall.
- Collmer, A. y Keen, N.T. (1986). The role of pectic enzymes in plant pathogenesis. *Annual Review Phytopathology*, 24:383-409.
- Contreras-Esquivel, J.C. (1995). Avances y perspectivas en la producción de pectina. En: *La Investigación y el Desarrollo Tecnológico*. México: SEP-CONACyT-Estado de Coahuila, México. pp. 30-43.
- Contreras-Esquivel, J.C. (2003). Purificación y caracterización de poligalacturonasas de *Aspergillus Kawachii*. Tesis. Facultad de ciencias exactas, UNLP, Argentina.



- Contreras-Esquivel, J.C., C.E. Voget, CC.E. Vita, J.D. Espinoza- Perez y C.M.G.C. Renard. (2006). Enzymatic Extraction of lemon pectin by endo-polygalacturonase from *Aspergillus niger*. *Food Science and Biotechnology* 15(2):163-167.
- Correa, C., Y. Garza, J. Rodríguez, C. N. Aguilar y J. C. Contreras- Esquivel. (1999). Geles de pectina de bajo metoxilo modificadas enzimáticamente. *Revista de la Sociedad Química de México* 43(1):15-17.
- Cubero, N.; Monferrer, A. y Villalta, J. (2002). Pectinas. Hidrocoloideos. Aditivos alimentarios. Madrid: Mundi-Prensa libros. pp. 140-145.
- Dalboge, (1997). Expression cloning of fungal enzyme genes; a novel approach for efficient isolation of enzyme genes of industrial relevance. *FEMS Microbiology Reviews*, 21:29-42.
- Deuel, (1954). Preparación de corteza seca de mandarina, toronja, naranja amarga y limón para la obtención de pectina a partir de variedades cultivadas en España. *Rev. Agroquim. y Tecnol. de Alim.* 20 (3):399-402.
- Devia, J. (2003). Proceso para producir pectinas cítricas. *Revista Universidad EAFIT*. 129, (1):21-30.
- Doesburg, J. J. (1965). Pectín substances in fresh and preserved fruits and vegetables. *Commun. No. 25. Inst. for Research on storage and process, of hort. Products. Wageningen. Holanda.*
- Ehrlich, R. (1997). *Methods for making pectin and pectocellulosic products.*
- Ele-Ekouna, J.P., C. Pau-Roblot, B. Courtois y J. Courtois. (2011). Chemical characterization of pectin from green tea (*Camellia sinensis*). *Carbohydrate Polymers* 83(3):1232–1239.
- El-Nawawi, S. A. y F. R. Shehata(1987). Extraction of pectin from Egyptian orange peel. Factors affecting the extraction. *Biological Wastes* 20(4):281–290.
- Espinoza A., 2010. Extracción de pectina de nopal (*opuntia ficus indica*) por medio ácido aplicando dos niveles de temperatura, tiempo y estados de madurez. Tesis previa a la obtención del título de ingeniero agroindustrial. Ibarra Ecuador



- Farfán, B; Casas, A; Ibarra-Manríquez, G; Pérez-Negrón, E. (2007). Mazahua ethnobotany and subsistence in the Monarch Butterfly Biosphere Reserve in Mexico. *Economic Botany* 61(2):173-191.
- Ferreira, S. (1990). Obtención y caracterización de pectina de concha de mango. *Food Technol.* 11(2):323-325.
- Ferreira, S., Peralta, A. y Rodríguez, G. (1995). Obtención y caracterización de pectina a partir de desechos industriales del mango (Cáscara). *Rev. Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas.* 24: 29-34.
- Ferreira, S., (1996). Aislamiento y caracterización de las pectinas de algunas variedades de frutos cítricos colombianos. *Rev. Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas.* 24: 05-25.
- Fishman, M. (2007). Extraction of pectin by microwave heating under pressure.
- Fishman, M. L., H. K. Chau, P. Hoagland y K. Ayyad. (2000). Characterization of pectin, ash extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure. *Carbohydrate Research* 323(1-4):126–138.
- Fishman, M. L., H. K. Chau, P. D. Hoagland y A. T. Hotchkiss. (2006). Microwave-assisted extraction of lime pectin. *Food Hydrocolloids* 20(8):1170-1177.
- Fishman, M. L. y P.H. Cooke. (2009). The structure of high-methoxyl sugar acid gels of citrus pectin as determined by AFM. *Carbohydrate Research* 344(14):1792–1797.
- Flores Duran, J. (1966). Mermeladas y Jaleas (II), las pectinas y el fenómeno de gelificación. *Rev. de Agroquin. y Tecnol. Aliment.* 6: 6-11.
- Flory, R. (1953). Extraction and determination of total pectin materials in fruits. *Anal. Chem.* 24: 1986 – 1988.
- Francis, B. J. y Bel, K. J. (1975). Commercial Pectin: A review. *Trop. Science. Alimentaria* 17: 25-43.
- Franco-Mora, O.; Aguirre-Ortega, S.; Morales-Rosales, E. J.; González-Huerta, A.; Gutiérrez-Rodríguez, F. (2010). Caracterización morfológica y bioquímica de frutos



- de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México. *CIENCIA Ergo Sum* 17(1): 61-66.
- Fry, S.C. (1995). Polysaccharide-modifying enzymes in the plant cell wall. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 46:497-520.
  - Gaeta, M. (1999). Aprovechamiento integral del mango (*Mangifera indica* L.). III. Evaluación de la pectina extraída de la piel de mango de las variedades Smith y Manzana y del injerto Smith / Manzana. Tesis para optar al título de Lic. En Biología. Fac. Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
  - Gaviria, N. y López, L. (2005). Extracción A Escala Laboratorio De La Pectina Del Maracuyá Y Escalado Preliminar A Planta Piloto. Proyecto de grado para optar el título de Ingeniero de Procesos, Medellín: Universidad EAFIT.
  - Genu Pectín Co. (1979). Kobenhavns Pektinfabrik. Manual técnico de la fábrica de pectinas Genu de Dinamarca. Alimentaria 65p.
  - Glahn, P. (2001). Pectin process and composition.
  - Graves, K. (1994). Pectin and pectin enzymes in fruit. *Vegetables technology*. 171 - 185 pp.
  - Guerritz, H. (1985). Extraction of Pectin from Apple and Orange Thinnings. *Industrial and Engineering Chemistry*.
  - Happi, T., C, Robert, S. Ronkart, B. Wathelet y M. Paquot. (2008). Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using and experimental design. *Food Chemistry* 108(2): 463-471.
  - Herstreith, G. (2001). Kinetic of the hydrolysis of pectin galacturonic acid chains and quantification by ionic chromatography. *Food chem.* 96(3): 477- 484.
  - Higareda, J. (1988) Cuantificación y extracción de pectinas a partir de cáscaras de manco de la variedad Kent. Tesis. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
  - Higareda, R. A.; M. J. A. Salazar-Montoya y E. G. Ramos-Ramírez (1995) “Conservación poscosecha del tejocote (*Crataegus mexicana*)”, *Revista Chapingo. Serie Horticultura*. 4.55.



- Hoondal, G.S.; Tiwari, R.P.; Tewari, R.; Dahiya, N. and Beg, Q. K. (2002). Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology Biotechnology*, 59:409-418.
- Hugouvieux-Cotte-Pattat, N.; Condemine, G.; Nasser, W. and Reverchon, S. (1996). Regulation of pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi*. *Annual Review Microbiology*, 50:213-257.
- Jarvis, M.C. (1984). Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. *Plant Cell Environ.*, 7:153-164.
- Jarvis, M.C. y McCann, M.C. (2000). Macromolecular biophysics of the plant cell wall: concepts and methodology. *Plant Physiology Biochemistry*, 38:1-13.
- Jo, C., Kang, H. Young Lee, N. Ho Kwon, J. y Woo Byuna, M. (2005). Pectin- and gelatin-based film: effect of gamma irradiation on the mechanical properties and biodegradation. *Radiation Physics and Chemistry* 72(6):745–750.
- Kalapathy, U. y A. Proctor. (2001). Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food Chemistry* 73(4):393-396.
- Karp, D. (2010). Once the most smuggled fruit from Mexico, Tejocote: No longer forbidden. *Fruit Gardener* 42 (6):10-14.
- Kennedy, R.B. (1985). Pectin and related carbohydrates for the preparation of polyurethane foams. US Patent 4,520,139.
- Kertesz, Z. I. (1951). The Pectic substances. New York, Interscience. *Alimentaria* 31 (252): 628.
- Kimball, D. (1999). *Procesado de Cítricos*. España: Acribia, S.A.
- Kratchanova, M., E. Pavlova, I. Panchev y C. Kratchanov. (1996). Influence of microwave pretreatment of fresh orange peels on pectin extraction. *Progress in Biotechnology* 14(1): 941- 946.
- Kumar, A. y Chauhan, G.S. (2010). Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor. *Carbohydrate Polymers* 82(2):454–459.



- Lawrence, E. D. (1976). Metodologías de extracción de pectinas en cítricos. *Alimentaria* 8: 24-25.
- Leszczyńska-Borys, H; Borys, MW. (2004). Horticulture in the Mexican culture. *Acta Horticulturae* 639:309-316.
- Link, M. y Dickson, M. (1930). The preparation of d-Galacturonic acid from lemon pectin acid. *Journal of Biological Chemistry*. 86 (2).
- Londoño-Londoño, J; Sierra, J.; Álvarez, R.; Restrepo, A.M.; Pássaro, C. P. (2012). Aprovechamiento de los subproductos cítricos. En: C. Pássaro, P. Catarina, J. Londoño-Londoño. *Industrialización de cítricos y valor agregado* pp. 343-367. Corporación Universitaria Lasallista. Colombia.
- Masmoudi, M.; S. Besbes, M.; Chaabouni, C.; Robert, M.; Paquot, C.; Blecker y H. Attia. (2008). Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidied date juice using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers* 74(2):185-192.
- May, C.D. (1990). Industrial pectins: sources, production and applications. *Carbohydrate Polymers* 12:79-99.
- McCleary, B.V. (1986) Enzymatic modification of plant polysaccharides. *International Journal Biol. Macromol.* 8:354-349.
- McCready, R. M. y McComb, E. A. (1952). Extraction and determination of total pectin materials in fruits. *Anal. Chem.* 5: 167-170.
- McFeeters, R.F.; Hankin, L. y Lacy, G.H. (1992). Pectinolytic and pectolytic microorganisms. En: C. Venderzant; D.F. Splittstoesser (Eds.). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. American Public Health Association: Washington, DC. pp:213-223.
- Mohnen, D. (1999). Biosynthesis of pectins and galactomannans. En: Barton, D.; Nakanishi, K. and Meth-Cohn, O. (Eds.). *Comprehensive Natural Products Chemistry*. Elsevier: Amsterdam. pp:497-527.
- Mollea, C., F. Chiampo y R. Conti. (2008). Extraction and characterization of pectins from cocoa husks: A preliminary study. *Food Chemistry* 107(3):1353–1356.



- Morrone, J.J. (2005). Hacia una síntesis biogeográfica de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 76:207- 252.
- Mueckay, M. (2006). Obtención de la pectina a partir de desechos industriales de maracuyá. Guayaquil:12 Universidad Agraria del Ecuador. Facultad de Ingeniería Agrícola.
- Multon, J. (1988). Aditivos Auxiliares de Fabricación en las Industrias Agroalimentarias. Zaragoza, España:Acribia.
- Mutter, M. (1997). New rhamnogalacturonan degrading enzymes from *Aspergillus aculeatus*. PhD Thesis. Wageningen Agricultural University. The Netherlands. pp:1-141.
- Nautraceutical. (2006). Producción de pectina orgánica. Consultada en Junio del 2013. Disponible en: [www.nautraceuticalgroup.com](http://www.nautraceuticalgroup.com).
- Nacional Research Council. (1931). Especificaciones del Food Chemicals Codex (FCC) para pectinas comerciales. En: Kimball, D. (1999). *Procesado de Cítricos*. España: Acribia, S.A.
- Nieto, A. R. y M. W. Borys (2008). “Germoplasma y usos del tejocote en México”, En:J. G. Cruz C. y P. A. Torres L. (Comps.). *Enfoques tecnológicos en la fruticultura. Un tributo a Raúl Mosqueda*. UACH, México.
- Nieto, A. R.; M. W. Borys (1991). “El tejocote (*Crataegus* spp.) en México”, En: R. Ortega (ed.). *Avances en el estudio de los recursos fitogenéticos de México*. UACH, México.
- Nieto-Ángel, R. (2007). Colección, conservación y caracterización del tejocote (*Crataegus* spp.). En: Nieto-Angel, R. (Ed.). *Frutales nativos, un recurso fitogenético de México*. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. pp. 25-118.
- Nieto-Ángel, R.; Pérez-Ortega, S. A.; Nuñez-Colín, C. A.; Martínez-Solís, J.; González-André, F. (2009). Seed and endocarp traits as markers of the biodiversity of regional sources of germplasm of tejocote (*Crataegus* spp.) from Central and Southern Mexico. *Scientia Horticulturae* 121: 166-170.



- NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- NMX-F-347-S-1980. Frutas y derivados. Determinación de pectina. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- Núñez-Colín, CA. (2009). The tejocote (*Crataegus* species): a Mexican plant genetic resource that is wasted, a review. *Acta Horticulturae* 806:339-346.
- Núñez-Colín, C. Pérez-Ortega, S. A.; Segura, S.; Nieto-Ángel, R.; Barrientos-Priego, A. F. (2004). Variabilidad morfológica del tejocote (*Crataegus* spp.) en México. *Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture* 48: 144-148.
- Núñez-Colín, C. A; Nieto-Ángel, R.; Barrientos-Priego, A. F.; Sahagún-Castellanos, J.; Segura, S.; González-Andrés, F. (2008a). Variability of three regional sources of germoplasm of tejocote (*Crataegus* spp.) from central and southern Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55: 1159-1165.
- Núñez-Colín, C. A; Nieto-Ángel, R.; Barrientos-Priego, A. F.; Segura, S.; Sahagún-Castellanos, J.; González-Andrés, F. (2008b). Distribución y caracterización ecoclimática del género *Crataegus* (Rosaceae subfam. Maloidea) en México. *Revista Chapingo serie Horticultura* 14: 177-184.
- Núñez-Colín, CA; Sánchez-Vidaña, DI. (2011). Ethnobotanical, cultural, and agricultural uses of tejocote (*Crataegus* species) in Mexico. *Acta Horticulturae* 918:901-910.
- Özcan, M.; Hacseferoğullari, H.; Marakoğlu, T. y D. Arslan (2005). “Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruit: Some Physical and Chemical Properties”, *J. Food Eng.* 69
- Pagán, J. (1995). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo del melocotón. Tesis Doctoral. Universidad de Lleida. Salamanca. 154 pp.
- Pagan J. (1996). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón. Consultado el 15 Septiembre de 2013. Disponible en: <http://descargascervantesvirtual.com>.



- Pagan J. (1998). Degradación enzimática y características físicas y químicas de la pectina del bagazo del melocotón. Tesis de Doctorado en Tecnología de Alimentos. Escuela Técnico Superior De Ingeniería Agraria de Lleida. 142 p.
- Pagan, J. y A. Ibarz. (1999). Extraction and rheological properties of pectin from fresh peach pomace. *Journal of Food Engineering* 39(2):193–201.
- Parenicová, L. (2000). Pectinases of *Aspergillus niger*: a molecular and biochemical characterisation. PhD Thesis. Wageningen Agricultural University. The Netherlands.
- Pedroza, R., Aguilar, E. y Vernon, E. (1994). Obtaining pectins from solids wasted derived from mango processing. *Aiche symposium series*, 90 (300): 36-41.
- Peschel, W.; C. Bohr y A. Plescher (2008). “Variability of Total Flavonoids in *Crataegus* – Factor Evaluation for the Monitored Production of Industrial Starting Material”, *Fitoterapia*. 79:55.
- Phipps, J. B. (1997). Monograph of Northern Mexican *Crataegus* (Rosaceae, subfam. Maloideae). *SIDA Botanical Miscellany* 15: 1-94.
- Phipps, J. B.; O’kennon, R. J.; Lance, R. W. (2003). Hawthorns and medlars. Royal
- Pilnik, W. y Voragen, A. G. (1970). Pectic substances and other uronides. En: Hulme, A. C. (ed). *The Biochemistry of Fruits and their products*. London, Academic Press. Vol. 1 pp. 53-80
- Pilnik, W. y Voragen, A.G.J. (1992). Gelling agents (pectins) from plants for the food industry. *Advances in Plant Cell Biochemistry and Biotechnology*, 1:219-270.
- Potter, R. S. (1966). Extracción of Pectin. *Process Biochem. Alimentaria* 373-384 pp.1. *Alimentaria* 53-80pp.
- Ptichkina, N.M., O.A. Markina y G.N. Rummyantseva. (2008). Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. *Food Hydrocolloids* 22(1):192–195.
- Quito-Vidal, M.; Zárate-Tacuri, L., (2011). Extracción y caracterización de pectina de alto metoxilo a partir de cascara de limon sutil (*citrus aurantifolia* swingle), Congreso Nacional de Investigación, Perú, Lima.



- Ralet, M. C. y J. F. Thibault. (1994). Extraction and characterization of very highly methylated pectins from lemon cell walls. *Carbohydrate Research* 260(2):283–296.
- Rättö, M y Viikari, L (1996). Pectinases in wood debarking. En: Voragen, A.G.J. and Visser, J. (Eds.) *Progress in Biotechnology* 14 (Pectins and Pectinases). Elsevier: The Netherlands, pp:979-982.
- Raven, (1999). “Biology of Plants”, 6th ed.; p.-. 40. W.H. Freeman and Company Worth Publishers.
- Rezzoug, S. A., Z. Maache-Rezzoug, F. Sannier y K. Allaf. (2008). A thermomechanical preprocessing for pectin extraction from orange peel. Optimization by response surface methodology. *International Journal of Food Engineering* 4(1):1-18.
- Ridley, B.L.; O’Neill, M.A. and Mohnen, D. (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonoide-related signaling. *Phytochemistry*, 57:929-967.
- Rivadeneira, M. y Cáceres, P. (2010). Extracción de pectina líquida a partir de cáscaras de Maracuyá (*Passiflora edulis*) y su aplicación en el desarrollo de un producto de humedad intermedia. Artículo de tesis de grado. Ecuador: Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción.
- Rolin, C.; Nielsen, B.U. y Glahn, P.-E. (1998). Pectin. En: S. Dumitriu (Ed.). *Polisaccharides. Structural diversity and function versatility*. MerceL Dekker: New York. pp: 377-431.
- Rombouts, F.M.; Pilnik, W. (1980). Pectic enzymes. En: A.H. Rose (Ed.). *Economic Microbiology. Microbial Enzymes and Conversions*. Vol. 5. Academic Press: New York. 227-282.
- Rouse, A. H. Atkins, C. D. y Moore, E. L. (1964). Evaluation of pectin in component parts of Pineapple oranges during maturation. *Proc. Fl. State Hortic. Alimentaria* 77: 221- 273.



- Rungrodnimitchai, S. (2011). Novel source of pectin from young sugar palm by microwave assisted extraction. *Procedia Food Science*, 1:1553-1559.
- Sakai, T. (1989). Process for preparing pectin. *Acribia*. España Zaragoza. pp. 200.
- Salazar, E., Paz, S. y Mata, M. (1987). Cuantificación y caracterización de pectinas en cáscaras de mango. *Gest. Tecnol*, 6: 53-58.
- Schieber, A., P. Hilt, P. Steker, H. U. Endre y C. Rentschler. (2003). A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 4(1): 99-107.
- Schieber, A., Berarchini, N. y Carle, R. (2004). Recovery of Pectin and Polyphenolics from Apple Pomace and Mango Peels. En: Keith Waldron (Ed.), Craing Faulds and Andrew Smith. *Total Food/ Exploiting Co-Products- Minimizing Waste*. Inglaterra. pp. 144 – 149.
- Schols, H.A. (1995). Structural characterization of pectic hairy regions isolated from apple cell walls. PhD Thesis. Wageningen Agricultural University. The Netherlands. pp:1-155.
- Schultz, T. y Schweiger, (1965). Determination of the degree of esterification of pectin, determination of the ester methoxyl content of pectin by saponification and titration. En: *Methods in carbohydrate chemistry*. Vol. 5: 189. New York.
- Shi , X. Q., K. C. Chang, J. G. Schwarz, D. P. Wiesenborn y M. C. Shih. (1996). Optimizing pectin extraction from sunflower heads by alkaline washing. *Bioresource Technology* 58(3):291-297.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). (2012). Anuario estadístico de la producción agrícola 2012. SAGARPA, Ciudad de México, México. Consultado Jun. 2013. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>
- Sothornvit, R. y N. Pitak. (2007). Oxygen permeability and mechanical properties of banana films. *Food Research International* 40(3):365-370.
- Tressler, M. A. y Joslyn. M. A. (1970). Fruit and Vegetable juice processing technology. Connecticut., AVI. *Aliment* 2: 33-37.



- Ueno, H., M. Tanak, M. Hosino, M. Sasaki y M. Goto. (2008). Extraction of valuable compounds from the rind of Citrus junos using subcritical water. *Separation and Purification Technology* 62(3):513–516.
- Ullman, F. (1950). *Enciclopedia de química Industrial*. Barcelona, Gustavo Gili, t. 11. Alimentaria 748pp.
- Untiveros, G. (2003). Obtención y caracterización de pectinas de alto y bajo metoxilo de la manzana variedad Pachacamac. *Rev. Soc. Quím. Perú.* 69(3): 155-162 .
- Van Buren, J.P. (1991). Function of pectin in plant tissue structure and firmness. En: Walter, R.H. (Ed.). *The Chemistry and Technology of Pectin*. San Diego:Academic Press, Inc. pp: 1-22.
- Vargas, P. (1983). Estudio preliminar del contenido de pectina en cítricos de la estación experimental Fabio Baudrit a diferentes estados de madurez. Tesis de grado en Tecnología de Alimentos Universidad de Costa Rica. 142 p
- Vasquez R., (2008). Extracción de pectina a partir de la cascara de plátano (Mussa AAB, subgrupo platano) clon Harton. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 2008, 25: 318-333
- Villalobos, D. (1990). Extracción de Pectina a partir de la Concha del Mango. Tesis para Optar al Título de Ingeniero químico de la Facultad de Ingeniería de la Universidad del Zulia.
- Vlugt-Bergmans, C.J.B.; Meeuwsen, P.J.A.; Voragen, A.G.J. y Ooyen, A.J.J. van (2000). Endo-xylogalacturonan hydrolase, a novel pectinolytic enzyme. *Applied Environmental Microbiology*, 66:36-41.
- Voragen, A.G.J. y Pilnik, W. (1988). Pectin-degrading enzymes in fruit and vegetable processing. En: Whitaker, J.R. y Sonnet, P.E. ACS (Eds.) *Biocatalysis in Agricultural Biotechnology*. Symp. Series 389. Washington, D.C.: Am. Chem. Soc. pp 93-114.
- Voragen, F.; Beldman, G.; y Schols, H. (2001). Chemistry and enzymology of pectins. In: B and Prosky, L. (Eds.) *Advanced Dietary Fibre Technology*. McCleary,. Blackwell Science: Ireland. pp:379-398.



- Walter, R. (1991). The chemistry and technology of pectin. Ed. Academic Press. USA. Cap. VIII. pp. 147:149.
- Wang, S., F. Chen, J. Wu, Z. Wang, X. Liao y X. Hu. (2007). Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 78(2):693–700.
- Willats, W.G.T.; Steele-King, C.G.; McCartney, L.; Orfila, C.; Marcus, S.E. and Knox, J.P. (2000). Making and using antibody probes to study plant cell walls. *Plant Physiology Biochemistry*, 38:27-36.
- Wong, D.W.S. (1995). Pectic Enzymes. En: D.W.S. Wong (Ed.). *Food Enzymes. Structure and Mechanism*. Capman & Hall: Mexico. pp:212-236.
- Woo, K.K., Y.Y. Chong, S.K. Li Hiong y P.Y. Tang. (2010). Pectin extraction and characterization from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): A preliminary study. *Journal of Biological Sciences* 10(7):631-636.
- Yamada, H. (1994). Pectic polysaccharides from chinese herbs: structure and biological activity. *Carbohydrate Polymers*, 25:269-276.
- Yeoh, S., J. Shi y T. A. G. Langrish. (2008). Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels. *Desalination* 218(1-3):229–237.
- Yepes, S.; Montoya, L.; Orozco, F. (2008). Valorización de residuos agroindustriales (frutas) en Medellín y el Sur del Valle de Aburrá, REDALYC. 61(1):4422-4431.
- Yoo, S., M. L. Fishman, A. T. Hotchkiss y H. G. Lee. (2006). Viscometric behavior of high-methoxy and low-methoxy pectin solutions. *Food Hydrocolloids* 20(1):62–67.
- Yúfera, E. (1998). *Química de los alimentos. Síntesis*. Madrid.
- Zamudio-Flores, P., L. Bello-Pérez, A. Vargas-Torres, J. Hernández- Uribe y C. Romero-Bastida. (2007). Caracterización parcial de películas preparadas con almidón oxidado de plátano. *Agrociencia* 41(8):837-844.



- Zapata, A. D., C. A. Escobar, S. F. Cavalitto y R. Hours. (2008). Evaluación de la capacidad de solubilización de pectina de cáscara de limón usando protopectinasa-se. *Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 1-67-74.
- Zhang, F. y Liu, M. (1997). Studies on extraction of pectin from *passifloraedulis* rind. *Natural Product Research and Development*, 9:970-973.
- Zhongdong, L.; Guohua, W.; Yunchang, G.; Kennedy, J. F. (2006). Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave. *Carbohydrate Polymers* 64:548–552.