



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EXTRACCIÓN DEL MATERIAL PÉCTICO EN RESIDUOS AGROINDUSTRIALES  
CÍTRICOS MEDIANTE UN REACTOR TERMO-MECANO-QUÍMICO.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**PRESENTA**

**ALDO DASSAEF CASTRO AGUILAR**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DR. EDUARDO BÁZRANA GARCÍA**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2018**



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.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesor: EDUARDO BÁRZANA GARCÍA  
**VOCAL:** Profesor: OSCAR JESUS RENDÓN GÓMEZ  
**SECRETARIO:** Profesor: SANDRA GUZMÁN AGUIRRE  
**1er. SUPLENTE:** Profesor: CARMINA MONTIEL PACHECO  
**2° SUPLENTE:** Profesor: OSCAR HERNÁNDEZ MELÉNDEZ

## **LUGAR DE REALIZACIÓN:**

Laboratorio de Ingeniería Química, Anexo: Laboratorio de Ingeniería Agroindustrial.

Facultad de Química, U.N.A.M

## **ASESOR DEL TEMA:**

DR. EDUARDO BÁRZANA GARCÍA

## **SUPERVISOR TÉCNICO:**

OSCAR HERNÁNDEZ MELÉNDEZ

## **SUSTENTANTE:**

ALDO DASSAEF CASTRO AGUILAR

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al proyecto PAPIIT 101615, por la beca otorgada para la realización y culminación de este proyecto

Aldo.

# Índice

.....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	6
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	6
<b>HIPÓTESIS</b> .....	7
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	7
<b>OBJETIVOS</b> .....	8
Objetivo general .....	8
Objetivos específicos .....	8
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	9
El género citrus .....	9
Toronja ( <i>Citrus paradisi</i> ).....	9
Producción de Toronja en México .....	10
Generalidades de la pectina.....	12
Estructura de la pectina.....	13
Clasificación de las pectinas .....	15
Propiedades de la pectina .....	16
Aplicaciones de la pectina en la industria .....	18
Extracción de pectinas.....	19
<b>DESARROLLO EXPERIMENTAL</b> .....	21
<b>METODOLOGÍA</b> .....	22
Recolección de Materia Prima .....	22
Determinación de Humedad por Termobalanza .....	23
Determinación de ceniza.....	23
Determinación de fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa y lignina) .....	23
Determinación de carbohidratos reductores (glucosa) por reactivo de DNS.....	24
Determinación de ácido galacturónico.....	24
Determinación de proteína por método Kjeldahl .....	25
Extracción de pectina .....	26
Determinación de la viscosidad dinámica de la pectina .....	28
Espectroscopía infrarroja (FT-IR) del material péctico.....	28
<b>ANÁLISIS DE RESULTADOS</b> .....	29
Resultados de análisis proximal.....	29

<b>Hidrólisis básica .....</b>	<b>30</b>
<b>Viscosidad dinámica .....</b>	<b>36</b>
<b>Espectroscopía FTIR .....</b>	<b>42</b>
<b>Determinación de fibra en material residual de hidrólisis.....</b>	<b>48</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>52</b>

## INTRODUCCIÓN

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Desde hace varias décadas los residuos agroindustriales han sido un foco de atención para varios investigadores a nivel mundial, debido a que parte de sus constituyentes pueden ser materia prima para generar diversos productos de interés. Esta situación sigue prevaleciendo en la actualidad y se prevé que continuará en el futuro (Saval, 2012).

México es líder en producción de cítricos, al ubicarse como el quinto productor a nivel mundial (4.6% del total) detrás de China (21%), Brasil (18%), Estados Unidos (8%) y la India (6%). La citricultura en México es una actividad de gran importancia económica y social. Se realiza en poco más de medio millón de hectáreas en regiones con clima tropical y sub-tropical en 23 entidades federativas. De esa superficie, aproximadamente 80% se destina a los denominados cítricos dulces, cuya producción es del orden de 4.9 millones de toneladas por cosecha, principalmente de naranja (83% del total), toronja (8%), mandarina (5%) y tangerina (4%) (SAGARPA, 2012).

Cabe señalar que el estado de Veracruz es líder en la producción de lima persa, naranja, mandarina y toronja, destinando 215 mil hectáreas al cultivo de los cítricos (CONCITVER, 2009).

El sureste de México es una de las principales regiones productoras de cítricos del país, donde se genera un gran volumen de desechos sólidos de cítricos (cáscaras y bagazo). Este desecho proviene de la obtención de jugos y, normalmente se envía a tiraderos a suelo abierto, por lo que genera un problema serio de contaminación. Esta situación hace deseable el aprovechamiento de los desechos agroindustriales cítricos para la generación de productos de alto valor agregado como la obtención de aceites esenciales que se extraen de las células localizadas en el flavedo de los frutos cítricos (Chávez, 2012).

El problema al que se enfrentan los residuos agroindustriales es que no existe una clara conciencia ambiental para su manejo, además de faltar capacidad tecnológica y recursos económicos para darles un destino final, así como una legislación específica para promover la gestión de este tipo de residuos y que asegure un buen manejo desde su generación hasta su disposición final (Saval, 2012).

## HIPÓTESIS

El rendimiento de extracción de pectina de residuos de cáscara de toronja por medio de una hidrólisis alcalina en un reactor termo-mecano-químico se verá afectado por la influencia simultánea de dos factores: la concentración (0.25 N, 0.5 N, 0.75N y 1N) de la base utilizada para la hidrólisis y la temperatura (50 °C, 70 °C y 90 °C) dentro del reactor.

## JUSTIFICACIÓN

Durante las últimas décadas ha aumentado la industrialización de subproductos de cítricos con los siguientes objetivos:

- Aprovechamiento de la pulpa para mejorar el aroma y la sensación bucal de zumos reconstituidos.
- Aprovechamiento de las cortezas de cítricos como ingredientes de piensos para alimentación animal.
- Extracción de aceites esenciales empleados como aromatizantes.
- Extracción de terpenos para aplicaciones en la industria química.
- Obtención de pectinas empleando como materia prima el albedo.
- Extracción de los flavonoides hesperidina y naringina presentes en la corteza, los cuales son empleados en la industria farmacéutica.
- Extracción de carotenoides como pigmentos naturales (Elías, 2012).

Las pectinas son en la actualidad ingredientes muy importantes en la industria de los alimentos, para hacer gelatinas, helados, salsa, queso, etc. También se emplean en otras industrias, como la farmacéutica, que requieren modificar la viscosidad de sus productos (Devia, 2002). Existen diversos procesos patentados para obtener pectinas; en cada uno de ellos se obtienen productos de diferente calidad; así sus aplicaciones dependen mucho del método de obtención (Guidi, 2010).

El proyecto comprende la extracción y caracterización del material péctico presente en la cáscara de toronja, misma que fue sometida a un tratamiento previo para la extracción del aceite esencial a través de un reactor termo-mecano-químico, tratando de aprovechar al máximo los compuestos de interés y de alto valor que los residuos agroindustriales nos pueden brindar, y al mismo tiempo minimizar el impacto ambiental que estos pueden ocasionar.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

- Determinar las condiciones de extracción óptimas para la extracción del material péctico presente en residuos agroindustriales de cáscara de toronja, sometida previamente a un tratamiento para extracción de aceite esencial.

### Objetivos específicos

- Llevar a cabo la caracterización de la matriz que presenta la materia prima (cáscara de toronja desengrasada).
- Establecer las condiciones óptimas de extracción del material péctico presente en la cáscara de toronja, tomando como factores la temperatura y la concentración de la base durante el tratamiento en el reactor termo-mecano-químico.
- Observar y comparar el comportamiento reológico de la pectina extraída de la cáscara de toronja contra una pectina comercial cítrica.
- Evaluar los residuos provenientes de la hidrólisis alcalina de la materia prima (determinación de fibra insoluble).

## MARCO TEÓRICO

### El género citrus

Se le da el nombre de cítricos a todas las especies de los géneros *Citrus*, *Fortunella* y *Poncirus*. De estos tres géneros, el que ha alcanzado más importancia comercial es el *Citrus* (Baraona, 1992).

Actualmente no hay acuerdo unánime sobre la taxonomía de los cítricos, aunque son dos las clasificaciones que más se utilizan, la de Swingle que considera 16 especies y la de Tanaka que contempla 162. La clasificación de Swingle se aproxima más a la realidad aunque a veces es insuficiente. La de Tanaka es en algún caso demasiado minuciosa y detallista, pero resulta más práctica desde el punto de vista de la taxonomía botánica y se utiliza con mayor frecuencia (Zaragoza, 2011).

Swingle dividió al género *Citrus* en dos subgéneros, *Papeda* y *Eucitrus* que presentan diferencias anatómicas, pero sobre todo se distinguen por la contestabilidad de sus frutos. Los del subgénero *Papeda* contienen agregados de aceites esenciales, que proporcionan al jugo un sabor amargo muy desagradable que los hace incomedibles, mientras que los del subgénero *Eucitrus* contienen en las vesículas de la pulpa un jugo más o menos agradable, exento de aceites esenciales, de sabor ligeramente amargo, ácido o dulce. En el subgénero *Eucitrus*, que engloba 10 especies, se encuentran las 8 más importantes desde el punto de vista comercial: *C. medica* (cidros), *C. aurantium* (naranjos amargos), *C. limón* (L.) Burm (limoneros), *C. auratifolia* (Christm.), Swing (limeros), *C. grandis* (pummelos o zamboas), *C. sinensis*, (naranjos dulces), *C. reticulata* (mandarinos) y *C. paradisi* (pomelos) (Zaragoza, 2011).

### Toronja (*Citrus paradisi*)

La toronja o pomelo es un árbol cultivado por su fruta. Es un híbrido, probablemente producido de forma espontánea entre la pampelmusa (*Citrus máxima*) y la naranja dulce (*Citrus sinensis*) (Escobedo, 2013).

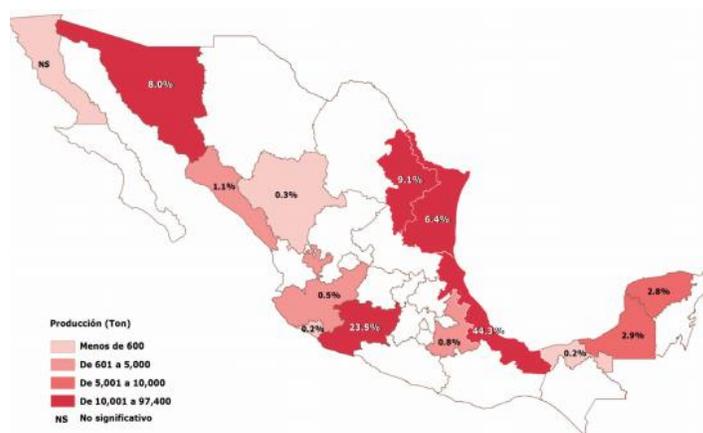
La toronja se distingue entre las frutas cítricas por: 1) fruto grande redondo de color amarillo pálido en la madurez, de 3.5-5 in de diámetro, liso, con pulpa generalmente de color amarillo claro, a veces rosada y de sabor que combina el dulce, el ácido y el amargo (Little, 2001).

### Producción de Toronja en México

La producción de toronja ha tenido un comportamiento de altas y bajas, pero sin representar tendencias importantes, su producción oscila entre 250 y 400 mil toneladas a nivel nacional. El consumo de toronja en fresco muestra un ligero comportamiento a la baja, sin embargo, el sector industrial está ganando terreno al suministrar mayor cantidad de toronjas para la extracción de jugo procesado, pudiendo mencionar que a partir del 2004 la toronja tiene mayor aceptación en la agroindustria superando las 100 mil toneladas de fruta procesada.

Se destina al cultivo de toronja una superficie de 7 mil hectáreas, las cuales generan una producción de 168 mil toneladas.

En la figura 1 se pueden apreciar los estados productores de toronja en México. El primer productor de toronja en el país es el estado de Veracruz con 168 mil toneladas, en segundo lugar se encuentra el estado de Michoacán con 52 mil toneladas, en tercer lugar el estado de Tamaulipas con 28 mil toneladas y en cuarto lugar el estado de Nuevo León con 24 mil toneladas (CONCIRVER., 2009).



**Figura 1. Principales estados productores de toronja en México (SIAP, 2010).**

México ha pertenecido tradicionalmente al grupo de los productores líderes. En la actualidad, nuestro país se ubica como el quinto productor de cítricos en el mundo. México al pertenecer al grupo de los países productores líderes en cuanto al cultivo de cítricos y teniendo en cuenta que una gran parte de su producción se destina a consumo interno (88%), lo convierte en un generador importante de desechos sólidos de cítricos (SIAP, 2012).

Este desecho proviene, principalmente del procesado de la fruta para la obtención de jugos. Dicho residuo normalmente se envía a tiraderos a suelo abierto, lo que genera un serio problema de contaminación. Esta situación hace deseable el aprovechamiento de los residuos citrícolas para la generación de cantidades abundantes de aceites cítricos a bajo costo, para ser usados en proceso biocatalíticos.

Del exocarpo (cáscara) puede extraerse hasta un 95% del aceite esencial, destacando el monoterpeno limoneno, componente principal del aceite esencial. Éste es ampliamente utilizado como sustrato puro para la síntesis química de otros compuestos ya que es susceptible a la oxidación, para generar compuestos de interés en la industria farmacéutica, de los alimentos y la agricultura (Chávez, 2012).

Los residuos provenientes de este tipo de agroindustria también pueden presentar un contenido importante y significativo de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina, que son sustratos atractivos para la producción de enzimas de aplicación industrial. O bien, ser utilizados con otras finalidades, como es el caso de la extracción de la pectina, un polisacárido ampliamente utilizado en distintas industrias tales como la alimentaria y la farmacéutica.

## Generalidades de la pectina

La pectina es un polisacárido de origen natural que en los últimos años ha ido ganando importancia. Los beneficios de la pectina natural son cada vez más apreciados por los científicos y los consumidores, debido a su biodegradabilidad. El éster metilado del ácido poligalacturónico se extrae comercialmente de cáscaras de cítricos y pulpa de manzanas en condiciones ligeramente ácidas. Son sustancias intersticiales, de efecto cementador intercelular en los vegetales. De ahí su principal propiedad la de formar con el agua geles elásticos, que es consecuente con su estructura, que responde a formas poliméricas del ácido galacturónico en parte salificado por calcio o magnesio, o esterificado por grupos  $CH_3$ . Las pectinas se dividen en dos grupos principales sobre la base de su grado de esterificación (Ortuño, 1994).

La asociación de cadenas de pectina con el agua conduce a la formación de las redes tridimensionales, que es la formación de un hidrogel (Sriamornsak, 2003).

La pectina fue aislada por primera vez por el químico francés Henri Braconnot en 1825, quien la designó como “pectina”, que deriva del griego *peptikos*, que significa congelar o solidificar. Forma coloides por excelencia, ya que tiene la propiedad de absorber una gran cantidad de agua, pertenece a la familia de los oligosacáridos y polisacáridos de alto peso molecular.

Estas sustancias tienen una gran importancia en sus aplicaciones biotecnológicas y en diversos campos de la industria agroalimentaria. Se usa como agente gelificante, espesante, emulgente y estabilizante, en la elaboración de mermeladas, jaleas y confituras, frutas en conserva, productos de panadería y pastelería, bebidas y otros alimentos, porque les confiere las características reológicas y la turbidez deseadas por el fabricante y el consumidor.

Así mismo, la pectina tiene efectos benéficos en la salud; por ello, tiene importantes aplicaciones en la industria farmacéutica y cosmética. Es empleada como ingrediente en preparaciones farmacéuticas como antidiarréicos, desintoxicantes. Algunos fármacos son encapsulados con una película de pectina para proteger la mucosa gástrica y permitir que el componente activo se libere en la circulación de la sangre.

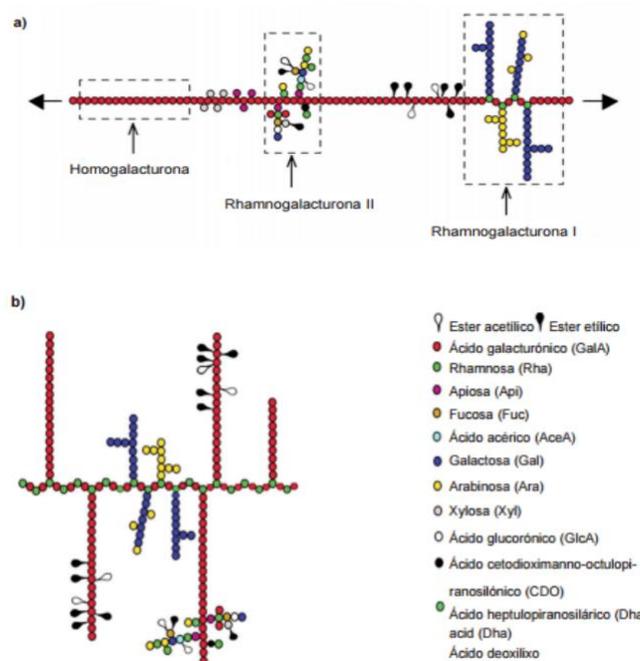
Para fines industriales, las fuentes de obtención de las pectinas se restringen principalmente a las cáscaras de los frutos cítricos (20-35%), infrutescencia del girasol (15-25%), remolacha (10-20%) y pulpa de manzana (10-15%) (Chasquibol, *et al*, 2008; Navarro, 1985).

Las sustancias pécticas son mezclas complejas de polisacáridos que constituyen alrededor de un tercio de la pared celular de las plantas dicotiledóneas y algunas plantas monocotiledóneas. Estas sustancias se encuentran en las paredes celulares de las gramíneas en proporciones mucho más pequeñas.

La pectina se localiza en la lámina media de la pared celular y dicha ubicación ha sido conocida desde los primeros trabajos sobre este polímero. Las concentraciones más altas se encuentran en la lámina media, con una disminución gradual a medida que se pasa a través de la pared primaria hacia la membrana plasmática. La digestión de los tejidos con enzimas pectinolíticas conduce a la disolución de la lámina y a la separación de la celda con el medio. (Van Buren, 1991).

### Estructura de la pectina

La pectina presenta una estructura complicada, que contiene al menos 65% de ácido galacturónico. Contiene largas cadenas formadas por unidades de 1,4- $\alpha$ -D-ácido galacturónico. Tres polisacáridos pécticos: homogalacturona, rhamnogalacturona-I y galacturonas sustituidas que han sido separadas y caracterizadas, todas contienen ácido galacturónico en mayor o menor cantidad (Guidi, 2010). Hasta hace poco se ha aceptado que los polisacáridos homogalacturona y rhamnogalacturona-I son los constituyentes principales de los polímeros pécticos, como se muestra en la figura 2a. Sin embargo, en una estructura alternativa propuesta recientemente, el polisacárido homogalacturona es una larga cadena de rhamnogalacturona-I (figura 2b) (Chasquibol, *et al*, 2008).

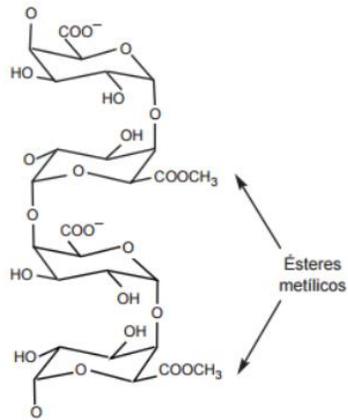


**Figura 2. Estructura básica de la pectina: (a) Representación esquemática convencional; (b) Representación nueva (Chasquibol, et al, 2008).**

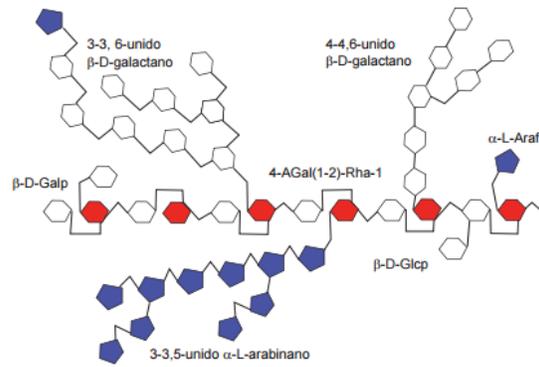
La homogalacturona es una cadena lineal de 1,4- $\alpha$ -D-ácido galacturónico, en el cual algunos de los grupos carboxilos están metil esterificados (figura 3).

La rhamnogalacturona-I (RG-I) es una familia de polisacáridos pécticos que contiene disacáridos con unidades repetidas de [ $\rightarrow$ 4- $\alpha$ -D-AGAL-( $\rightarrow$ 2)-L-Rhamnosil(Rhap)-(1 $\rightarrow$ )].

Los oligosacáridos lineales y ramificados están compuestos predominantemente de  $\alpha$ -L-Arabinofuranosilo (Araf) y B-D-Galactopiranosilo (AGAL) y están unidos al carbono C4 de algunos de los residuos de ramnosilo (figura 4) (Chasquibol, et al, 2008).



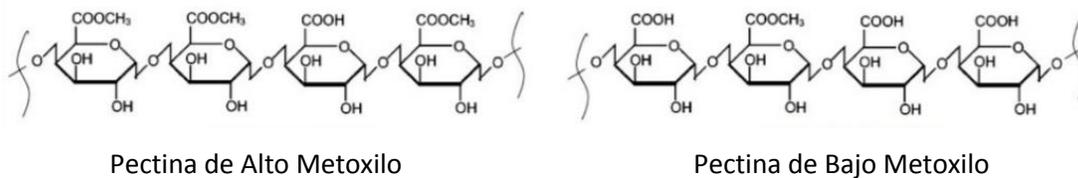
**Figura 3. Estructura primaria del polímero lineal homogalacturona unido con 1,4- $\alpha$ -ácido galacturónico (GalpA).**



**Figura 4. Estructura principal del polisacárido péctico de la rhamnogalacturona-I (RG-I).**

### Clasificación de las pectinas

Las pectinas se dividen en dos grupos principales, en función de su grado de esterificación, clasificándolas en: pectinas de alto grado de metoxilación (HM, por su siglas en inglés), pectinas de bajo grado de metoxilación (LM, por sus siglas en inglés) y otras sustancias pécticas desmetiladas. Las pectinas HM presentan valores de metoxilación comprendidos entre el 60 y 75%, mientras que este valor disminuye hasta en un 20-40% en las pectinas LM (figura 5). Esta diferencia en el grado de metoxilación influye directamente en la capacidad formadora de geles de cada pectina (Mamani, 2011).



**Figura 5. Estructuras de la pectina de alto metoxilo y bajo metoxilo respectivamente.**

(Serrano, 2015)

Con base en estos dos grupos y al número de grupos carboxílicos que se encuentran esterificados en la cadena del polímero, la pectina se dividen en:

**Protopectinas:** Si todos los grupos carboxilos están esterificados. Estas son insolubles en agua y se hallan en mayor cantidad en los tejidos de los frutos no maduros o verdes.

**Ácidos pectínicos:** Si la parte mayoritaria de los grupos carboxilos está esterificada. Estos compuestos son capaces de formar geles si las condiciones de sólidos solubles y el pH son adecuadas. A las sales de estos ácidos se llaman pectinatos.

**Pectinas:** Son los ácidos pectínicos solubles en agua caliente, con un contenido significativo de ésteres metílicos. La principal característica es su capacidad de formar geles en presencia de sólidos solubles suficientes, ácidos o iones polivalentes.

**Ácidos pécticos:** Estos compuestos no poseen grupos carboxílicos esterificados. Las sales de estos se denominan pectatos y reaccionan fácilmente con los iones calcio de las células para producir compuestos insolubles en jugos de fruta, dando un precipitado visible común en la separación de fases o mediante el ablandamiento de los néctares.

Así, existen dos características químicas fundamentales que definen las propiedades de las pectinas: 1) grado de esterificación, 2) longitud de la cadena. El comportamiento y las aplicaciones prácticas de los diferentes tipos de pectinas se explican según los valores de estas dos características (Londoño-Lonoño, 2012).

### **Propiedades de la pectina**

A valores de pH por encima del valor del pK de los grupos ácidos, la molécula de pectina posee carga negativa suficiente para evitar la gelificación bajo condiciones prácticas en los sistemas de agua y sacarosa. A medida que el pH se reduce gradualmente, la pectina es capaz de formar un gel con cantidades muy altas de azúcar (May, 1990).

En este caso, el azúcar deshidrata, mientras que la presencia de un ácido favorece la formación de puentes de hidrógeno, porque la acidez del medio evita la ionización de los grupos carboxilatos y reduce la repulsión electrostática entre las cadenas pécticas.

Se organiza así una red tridimensional, que se estabiliza gracias a las interacciones hidrofóbicas de los grupos éster metílicos.

Son varios los factores implicados en la fijación de las condiciones óptimas para una buena gelificación péctica:

- a) El porcentaje de pectina: la solidez del gel aumenta con la concentración de sustancia péctica.
- b) El pH de la solución: los geles de pectinas suelen ser estables en el intervalo de pH entre 2.5 y 5.0, según la naturaleza de la pectina. Sin embargo, una acidez extrema (pH inferiores a 2.5)) puede conducir a una sinéresis del gel.
- c) El peso molecular de la pectina: un peso molecular elevado favorece que las moléculas se puedan distribuir en una red tridimensional y atrapar en su interior a las moléculas que se encuentran en la disolución. Para la buena formación de un gel es necesario que las moléculas estén dispersas en forma coloidal.
- d) La temperatura: es un factor que influye en el tiempo de gelificación, que resulta lenta por debajo de los 55°C y muy rápida por encima de los 85°C.
- e) El grado de esterificación: las pectinas con un índice de metilación superior al 50% necesitan un medio ácido (pH entre 2.5 y 3.5) para gelificar, así como un contenido en sólidos solubles superior al 55%, generalmente de azúcar. Las pectinas escasamente metiladas exigen de la presencia de iones  $Ca^{2+}$  para gelificar, así como un 10-20% de sólidos solubles y un margen de acidez más amplio (pH entre 2.5 y 6.5).
- f) El porcentaje de sacarosa: el azúcar debe estar presente por encima de una concentración mínima, que viene determinada por la relación pectina/azúcar (Bello, 2000).

## Aplicaciones de la pectina en la industria

### ***Industria alimentaria***

Los productos alimenticios tienen contenido variable de humedad, y esto constituye uno de los factores esenciales de su consistencia y conservación. Uno de los papeles principales de la pectina es justamente mantener esta consistencia, fijando la humedad, es decir, uniéndola a los otros constituyentes, sea bajo la forma de un gel o un semigel. La tasa de humedad es por lo tanto uno de los parámetros que determinan el tipo de pectina a utilizar para obtener la textura deseada, más o menos gelificada según el caso.

La diversidad de los productos y la pluralidad de empleo hacen que las pectinas sean utilizadas en las diversas ramas de la industria agroalimentaria, y muy particularmente en confituras, jaleas y mermeladas, rellenos a base de frutas, postres variados, cremas heladas, productos dietéticos, bebidas, etc. (Navarro, 1985).

### ***Industria farmacéutica***

La pectina se encuentra inscrita en la Administración Federal de Fármacos de Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) como un aditivo seguro sin límites de consumo diario, por lo que ha sido ampliamente utilizada como excipiente en la formulación de comprimidos matriciales, geles, cubiertas de forma farmacéutica, etc.

Se han realizado investigaciones para el desarrollo de formulaciones de pectina, con capacidad de gelificar “*in-situ*”, con el objetivo de llevar a cabo una liberación sostenida de los fármacos administrados al organismo (Mamani, 2012).

### ***Empaques de alimentos***

Se han realizado investigaciones sobre el uso de las pectinas en 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; se obtienen buenas propiedades mecánicas, además de obtener buenas propiedades de permeabilidad al oxígeno (Coffin, 1995).

## Extracción de pectinas

Generalmente la extracción se lleva a cabo en reactores con agitación lenta seguida por separación usando filtración. El paso final de purificación consiste en precipitar y lavar las pectinas con alcohol, secado y pulverizado del precipitado. Actualmente se han reportado otros métodos alternativos para la extracción de pectina cítrica como: el uso de membranas, la extracción asistida por microondas, fluidos supercríticos, entre otros (Londoño, 2012).

### *Hidrólisis Ácida*

La pectina es extraída básicamente por una hidrólisis ácida caliente, Barazate y cols., (2008) comprobaron que 90°C es una temperatura adecuada para extraer pectinas de la cáscara de cacao. Comercialmente las pectinas se extraen a altas temperaturas para hidrolizar la protopectina usando ácidos como el sulfúrico, fosfórico, nítrico, clorhídrico o cítrico. En este proceso se ha observado que el pH más ácido produce una mayor extracción, pero también una menor metoxilación, debido a que en medio ácido la pectina puede hidrolizarse y se vuelve por tanto más hidrofílica y más soluble (Fredes, 2009).

### *Hidrólisis básica*

Proceso de extracción de pectina en un proceso alcalino empleando hexametáfosfato, hidróxido de sodio o hidróxido de amonio. La hidrólisis se lleva a cabo en la misma forma que en la hidrólisis ácida, en un reactor con una temperatura determinada y con agitación continua durante un lapso de tiempo determinado (Hoondal, 2002).

### *Métodos alternativos*

#### *- Intercambio iónico*

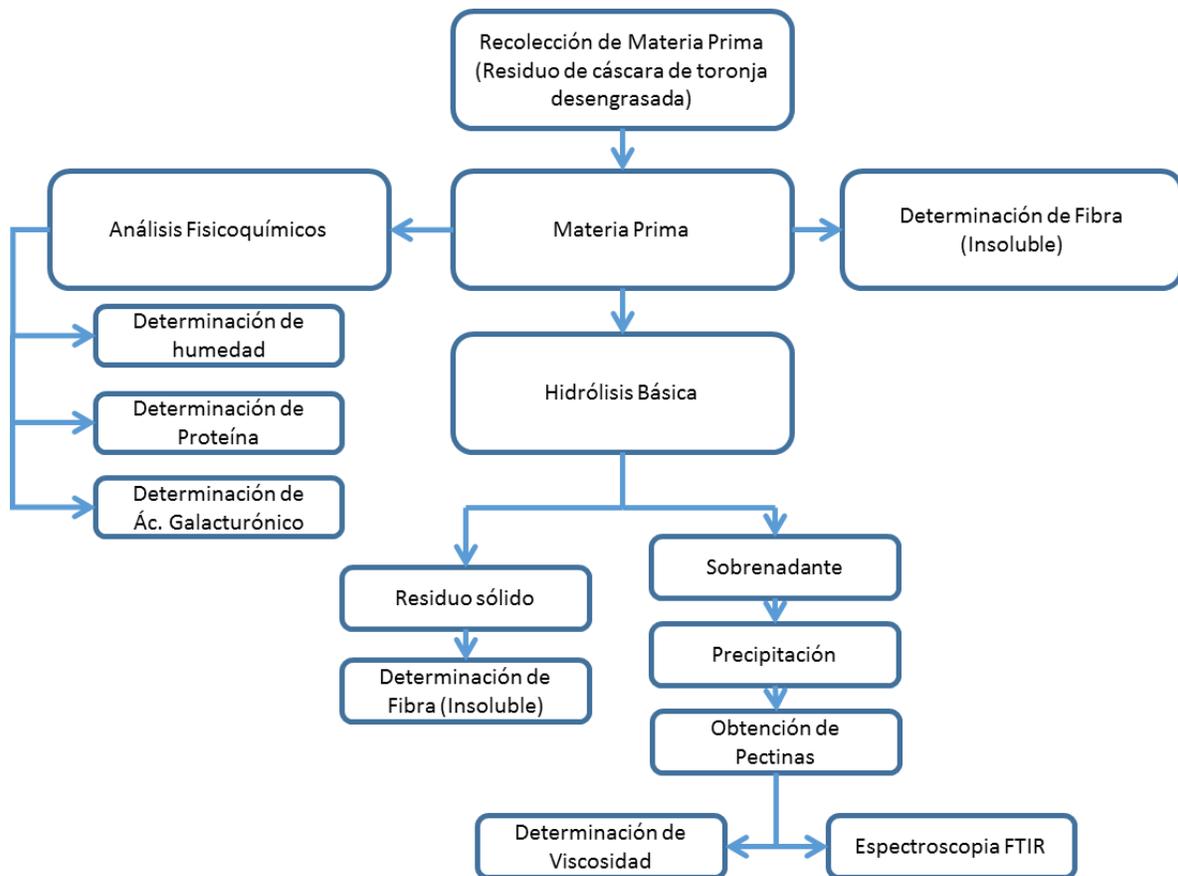
Es un proceso amigable con el medio ambiente, consiste en hacer reaccionar una suspensión acuosa de una fibra comestible con una disolución de metal alcalino-térreo y luego separar la suspensión resultante en una fracción sólida rica en pectina y la fracción líquida con menor cantidad de ésta. El material obtenido (suspensión) se hace pasar por una columna de intercambio iónico para cambiar los iones  $H^+$  por los iones metálicos agregados previamente y proceder a recuperar la pectina (Devia, 2003).

- *Extracción asistida por microondas*

Las condiciones de extracción convencional provocan la degradación térmica, lo cual genera pérdidas en la cantidad del polímero y en la 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 por microondas. Se sugiere que el efecto del calentamiento por microondas sobre el rendimiento y la calidad de las pectinas extraídas, produce una desintegración parcial del tejido vegetal y una hidrólisis de la protopectina y en segundo lugar, una rápida inactivación de las enzimas pectinolíticas (Fishman, 2006).

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

En la figura 6 se muestra el diagrama general del proceso; desde la recolección de la materia prima, hasta la obtención y caracterización de la pectina.



*Figura 6. Diagrama general del proceso*

## METODOLOGÍA

### Recolección de Materia Prima

La materia prima utilizada para la extracción del material péctico, es el residuo proveniente de un proceso de extracción de aceite esencial por medio de arrastre de vapor “*in-situ*” en un reactor termo-mecano-químico, proyecto en desarrollo en el laboratorio de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Química UNAM.

Este pretratamiento que sufre la cáscara de toronja, tiene un doble propósito, lograr la extracción de los aceites esenciales presentes y realizar una inactivación enzimática, evitando así la degradación del material péctico presente, a causa de las pectinasas.

El material semi-sólido obtenido a la salida del reactor se colocó en bolsas plásticas (figura 7), las cuales fueron confinadas en un congelador (Utech, USA) para su preservación a -4°C.

Para llevar a cabo los experimentos necesarios de extracción del material péctico la materia prima se retiraba de congelación cuando era requerida.



***Figura 7. Aspecto de la materia prima, cáscara de toronja (albedo y flabelo) libre de aceites, a la salida del reactor termo-mecano-químico.***

### **Determinación de Humedad por Termobalanza**

Para determinar la humedad presente en la materia prima, se pesaron entre 0.5 a 1 gramos de muestra y se colocaron en una charola de aluminio formando una capa homogénea del material. La lectura de porcentaje de humedad es determinada automáticamente por la termobalanza (AND, Japón) cuando se alcanza un peso constante de la muestra a una temperatura de 105°C (Kirk, 1996).

### **Determinación de ceniza**

Se acondicionaron crisoles de porcelana a peso constante. En cada crisol se pesaron de 2 a 2.5 gramos de muestra seca y se colcaron dentro de una mufla (Termo Scientific, USA) a 550°C por 3 horas, posteriormente fueron colocados en el desecador para que se enfriaran y se pesaron para registrar la perdida de peso durante el procedimiento. Los resultados obtenidos se reportaron en porcentaje de cenizas (AOAC, 1990).

### **Determinación de fibra insoluble (celulosa, hemicelulosa y lignina)**

Se colocaron crisoles de vidrio (porosidad intermedia) a peso constante y se pesaron 2 gramos de muestra seca en cada uno. Los crisoles se colocaron en un equipo analizador de fibra (Luzeren, China) y se procedió a realizar las hidrólisis correspondientes: primero una con detergente neutro y posteriormente otra con detergente ácido a temperatura de ebullición, con duración de 1 hora cada una. Después de cada hidrólisis se filtró el detergente sobrenadante y se realizaron 3 lavados con agua en ebullición. Los crisoles se secaron en un horno por convección (Lindberg/blue, USA) a 105°C por 4 horas, concluido el tiempo se retiraron y se dejaron enfriar en un desecador para determinar el peso de los mismos. Realizado lo anterior, se añadió permanganato de potasio y buffer de ácido acético en una proporción 2:1 a los crisoles y se dejaron reposar una noche, se filtró el sobrenadante y se realizaron 3 lavados con etanol al 80% v/v, y uno adicional con acetona. Los crisoles se colocaron en el horno por convección a 105 °C por 2 horas, hasta tener peso constante. El resultado se expresa en porcentaje de celulosa, hemicelulosa y lignina respectivamente (AOAC, 1990; FAO, 1993).

### **Determinación de carbohidratos reductores (glucosa) por reactivo de DNS**

Se tomó 1 gramo de la muestra y se colocó a reflujo con 100 mL etanol al 80% v/v durante 1 hora. Transcurrido el tiempo se filtró el sobrenadante y se tomó un 1 mL del mismo y se colocó en un tubo de ensayo, se adicionó 1 mL de reactivo de DNS (Nilsen, 2003), enseguida se llevó a un baño de agua en ebullición, y se dejó reaccionar durante 5 minutos. Se colocaron los tubos en hielo para detener la reacción y después se adicionaron 10 mL de agua destilada. Se leyó la absorbancia del color producido a 540 nm en un espectrofotómetro (Perkin Elmer, USA) y se incorporó un blanco o tubo testigo tratado de la misma forma que la muestra conteniendo los azúcares reductores. Se preparó una curva estándar de glucosa en concentraciones de 0.2 a 2 mg/mL usando el mismo procedimiento. Los resultados se expresaron en porcentaje de azúcares reductores (Nielsen,2003).

### **Determinación de ácido galacturónico**

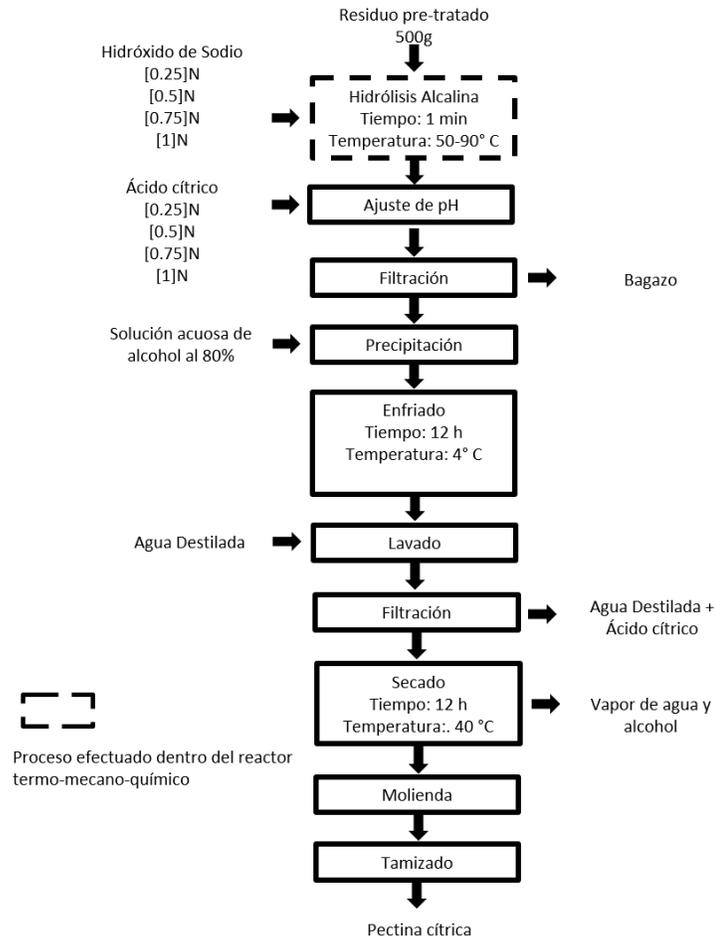
Del residuo sólido filtrado en la determinación de azúcares reductores, se pesaron 0.3 gramos y se colocaron en un vaso de precipitados, al cual se le agregaron 5 mL de HCl 0.25N y se introdujo en un baño María en ebullición durante 5 minutos. Al enfriarse el líquido se añadió NaOH 0.25N hasta neutralizar la disolución, se filtró con papel Whatman No.1 y finalmente se llevó a un aforo de 25 mL con agua destilada. Posteriormente se tomó 1 mL de la solución anterior y se colocó en un tubo de ensayo, se adicionaron 5 mL de tetraborato de sodio 0.025M, se mezclaron en el tubo durante un minuto, se calentó en un baño María en ebullición por 10 min. Concluido el tiempo se añadieron 0.2 mL de carbazol (0.125% m/v), se agitó para lograr la homogeneización de las sustancias en el tubo y se mantuvieron en el baño de agua durante 5 minutos y se dejó enfriar. Se leyó la absorbancia del color producido a 530 nm frente a un blanco de reactivos, tratado de igual forma que la muestra. El ácido galacturónico se cuantificó interpolando los valores de absorbancia obtenidos a partir de una curva estándar preparada con ácido galacturónico anhidro, en concentraciones de 0.4 a 40 µg/mL. Los resultados se expresaron en porcentaje de ácido galacturónico (Nielsen,2003).

### Determinación de proteína por método Kjeldahl

Se pesaron 0.2 g de muestra y se introdujeron en un tubo Buchi, posteriormente se agregaron 0.15 g de sulfato de cobre pentahidratado, 2.5 g de sulfato de potasio y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Los tubos se colocaron en el portatubos del equipo Kjeldahl (Thermo, USA) y éste se introdujo en el bloque de calentamiento. Se mantuvo una temperatura de 360°C durante 45 minutos hasta la total destrucción de la materia orgánica, es decir, hasta que el líquido quedara con una coloración azul verdosa. Posteriormente el tubo se colocó en un equipo analizador (Buchi, Suiza), para determinar la concentración de proteína, se adicionó NaOH al 40% hasta que el contenido del tubo virara a color azul, se inició la destilación y los gases fueron recibidos en un matraz Erlenmeyer de 250 mL con 50 mL de ácido bórico, la muestra se destiló hasta que el volumen del matraz fuera de aproximadamente 125 mL y el color fuera verde claro. Enseguida se llevó a cabo la titulación con HCl previamente valorado hasta que la disolución presentara una coloración rojo brillante. Los mililitros gastados fueron empleados para realizar el cálculo y determinar el porcentaje de nitrógeno, el cual fue multiplicado por un factor 6.25 para obtener la cantidad de proteína. Los resultados se expresaron en porcentaje de proteína (AOAC, 1990).

## Extracción de pectina

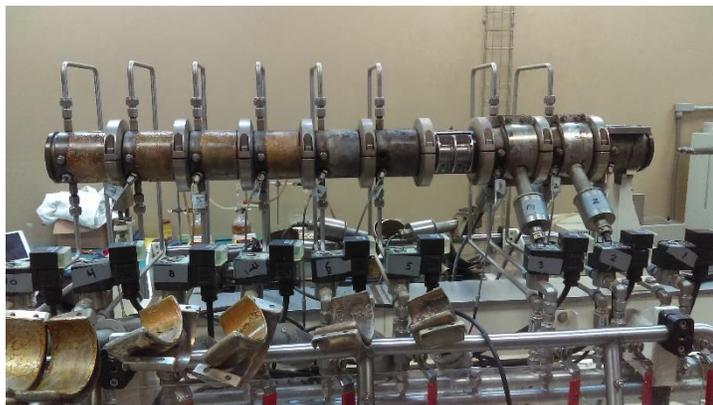
En la figura 8 se muestra tanto el proceso, como las condiciones con las cuales se llevó a cabo la extracción básica de la pectina a partir del residuo de toronja.



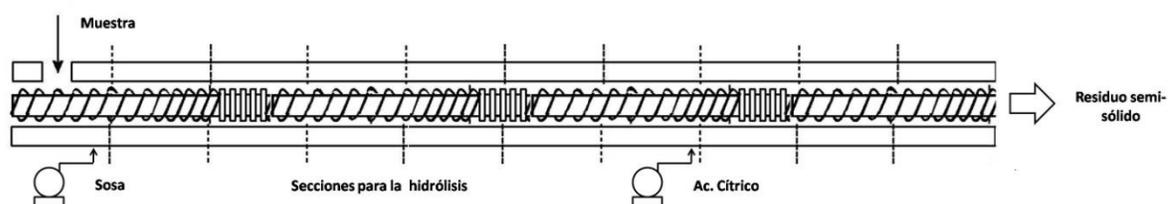
**Figura 8. Diagrama de flujo de proceso para obtención de pectina de cáscara de toronja por hidrólisis básica.**

La hidrólisis del residuo cítrico se llevó a cabo en un reactor termo-mecano-químico (Figura 9), dicho equipo constituye una plataforma tecnológica disponible en el laboratorio de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Química UNAM. Para poder llevar a cabo la hidrólisis y posterior extracción del material péctico fue necesario llevar a cabo el acondicionamiento de los módulos que éste presenta. Así mismo fue necesario acondicionar el doble husillo del reactor, en el cual se lleva a cabo la hidrólisis del material (Figura 10) con la finalidad de dar un adecuado tratamiento mecánico a la muestra.

La filosofía de diseño del doble husillo consiste en generar zonas de transporte, compresión y cizalla en repetidas ocasiones, estos dos últimos pasos fueron implementados con la finalidad de aumentar el área de contacto de la muestra con el hidróxido de sodio, durante la hidrólisis.



**Figura 9. Reactor termo-mecano-químico**



**Figura 10. Diseño del doble husillo del reactor termo-mecano-químico.**

Posterior al acondicionamiento del reactor y para llevar a cabo la hidrólisis del material, se prepararon 9 lotes de 500 gramos cada uno (cáscara de toronja en base húmeda) y se introdujeron al reactor. Las temperaturas utilizadas fueron de 50°C , 70°C y 90°C. La concentración del hidróxido de sodio utilizado para realizar la hidrólisis fue: 0.25 N, 0.50 N, 0.75 N y 1.0 N. Se empleó ácido cítrico acuoso en la misma concentración que la sosa, con el propósito de ajustar internamente el pH del material hidrolizado.

El material semisólido obtenido después del tratamiento en el reactor se colocó en recipientes de plástico con capacidad de un galón y se le adicionó 1 L de agua destilada. En caso de ser necesario se agregó ácido cítrico 0.5 N hasta tener un pH de 5, posteriormente se filtró y se desechó el sólido obtenido. Se recuperó el sobrenadante obtenido de la

filtración y al volumen total se adicionó alcohol etílico al 80% v/v. Esta nueva disolución se dejó reposar durante 12 horas en refrigeración a 4°C. Trascurrido el tiempo se recuperó el material precipitado a causa del etanol agregado. Se realizó un lavado a los precipitados obtenidos con 500 mL de agua destilada con la finalidad de disolver en ella los remanentes de ácido cítrico que pudieran encontrarse. Los sólidos recuperados se secaron en el horno por convección a un temperatura de 40 °C durante 12 horas. El material deshidratado se pulverizó en un molino de cuchillas (Krupps, USA) y se tamizó manualmente en una malla del No. 80 (U.S.A Standard Sieve Series) para homogeneizar el tamaño de las partículas. La pectina resultante se pesó para determinar el rendimiento. Los resultados se expresaron en unidades de porcentaje de pectina recuperada con respecto al material seco introducido al proceso de hidrólisis.

#### **Determinación de la viscosidad dinámica de la pectina**

La viscosidad se midió en un viscosímetro Brookfield (USA) modelo DV-II+ Pro a diferentes temperaturas: 30°C, 50°C y 70°C, las pruebas se realizaron con el husillo número 7 (para mezclas muy viscosas). Para poder realizar las pruebas se prepararon disoluciones de pectina en agua destilada al 20 % m/v. Las determinaciones se realizaron aumentando la velocidad de rotación de 1.5 a 100 rpm, luego se descendió ésta desde 100 rpm y hasta 1.5 rpm. Cada 30 segundos se registró el valor de la viscosidad medida por el equipo para cada una de las velocidades de rotación elegidas. Los resultados se expresaron en centipoises (Serrano, 2015).

#### **Espectroscopía infrarroja (FT-IR) del material péctico**

Para esta determinación experimental se utilizaron las muestras extraídas para los tratamientos que presentaron un rendimiento considerable, es decir: NaOH 0.5 N y las temperaturas de reacción 50, 70 y 90°C. También se analizaron las pectinas obtenidas bajo las condiciones: NaOH 0.75 N y las temperaturas de reacción 50, 70 y 90°C. Se agregó una muestra testigo de pectina comercial y una muestra de ácido cítrico, este último con la finalidad de observar si en el material extraído se encontraban remanentes de éste, a causa de la metodología usada.

Las muestras seleccionadas fueron llevadas a la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM para llevar a cabo los análisis de espectroscopía infrarroja en un equipo Perkin Elmer, USA.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

### Resultados de análisis proximal

Con el fin de caracterizar la materia prima y conocer el tipo de matriz que ésta presentaba, se realizó el análisis proximal correspondiente, obteniéndose los resultados mostrados en la Tabla 1.

**Tabla 1. Análisis proximal de residuo de toronja<sup>(a)</sup>**

<b><u>Determinación</u></b> <sup>(b)</sup>	<b><u>g/100g muestra</u></b>
Humedad	62.55
Cenizas <sup>(c)</sup>	5.09
Hemicelulosa <sup>(c)</sup>	0.69
Celulosa <sup>(c)</sup>	15.09
Lignina <sup>(c)</sup>	2.43
Solubles extraídos por el detergente neutro <sup>(c)</sup>	76.71

Detalle para la fase soluble:

Proteínas <sup>(c)</sup>	1.01
Carbohidratos reductores <sup>(c)</sup> (glucosa)	7.17
Ac. Galacturónico <sup>(c)</sup>	3.14

(a) Los datos se reportan en porcentaje (g/100g muestra)

(b) Resultados reportados como: promedio, n=2

(c) Muestra utilizada en base seca

En estos resultados se puede observar que la concentración de los compuestos solubles extraídos por el detergente neutro es muy alta. La composición mayoritaria en la muestra libre de compuestos solubles consta básicamente de celulosa, con un porcentaje de 15.09 %. Esto sería de esperarse pues se mencionó anteriormente que la muestra consta

básicamente del albedo y flavedo de la toronja, que en conjunto con la hemicelulosa y la lignina serían la parte de la fibra presente en la muestra.

Otro de los componentes mayoritarios en la muestra es el agua, con un 62.55% de humedad relativa, en la literatura se reporta un promedio de humedad de 75% en el albedo de toronja (CONCIRVER, 2009). Esta variación en la humedad puede deberse al paso de la muestra por el reactor durante la extracción del aceite, el cual trabaja en un intervalo de temperatura comprendido entre 120 y 160°C.

En cuanto al ácido galacturónico se observa que su contenido es de tan sólo 3.14%, porcentaje que se encuentra muy disminuido. En la literatura se reporta un contenido aproximado de 40% de este ácido (Escobedo, 2013). Una posible explicación a éste resultado es que la secuencia de etapas de hidrólisis del material durante la determinación analítica pudo no haberse efectuado al 100%, liberando una menor cantidad de ácido galacturónico cuantificable, afectando así el rendimiento obtenido. Cabe mencionar que la relevancia de esta determinación permite sustentar de forma cualitativa la presencia de pectina en la muestra.

### **Hidrólisis básica**

Se llevó a cabo un diseño experimental con la finalidad de determinar la combinación de los factores: concentración de hidróxido de sodio y temperatura de hidrólisis, y así evaluar la respuesta, que en este caso corresponde al rendimiento de extracción de la pectina (Tabla 2).

El tratamiento mecánico aplicado en el reactor, así como el tiempo de residencia dentro del mismo, fueron los factores que se mantuvieron constantes durante el tratamiento de los distintos lotes, al aplicar una velocidad de rotación de 180 rpm.

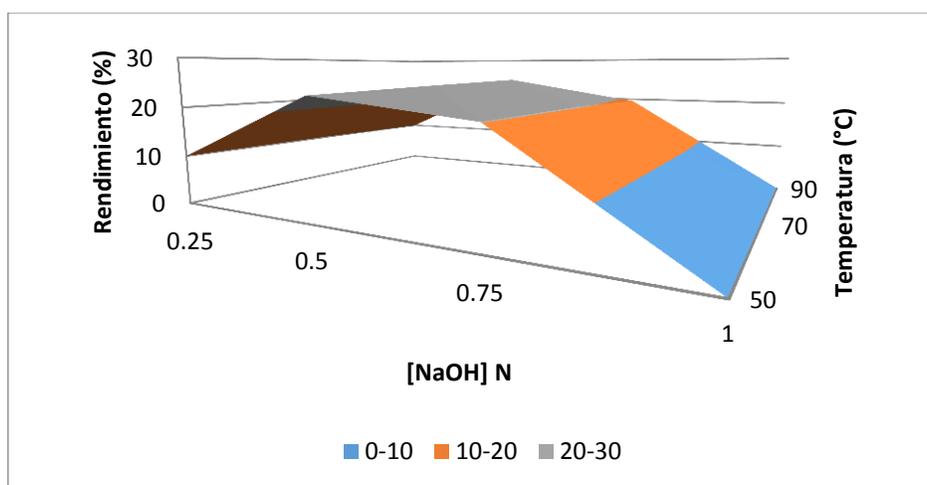
**Tabla 2. \*Rendimientos de extracción del material péctico de cáscara de toronja**

Concentración de NaOH	Temperatura (°C)		
	50	70	90
0.25 N	9.97	10.11	9.76
0.50 N	23.18	23.97	24.64
0.75 N	20.12	20.22	19.53
1.0 N	0	0	0

\*Resultado expresado en base seca (g/100g )

En la Tabla 2 se puede observar el efecto que tuvieron los distintos tratamientos sobre el rendimiento de la extracción. Se aprecia que los mayores rendimientos de pectina se obtuvieron con hidróxido de sodio 0.5N, seguidos del tratamiento con hidróxido de sodio 0.75 N y por último 0.25 N. Por otro lado se ve, que con cada tratamiento llevado a cabo a una misma concentración de hidróxido de sodio, los rendimientos obtenidos son muy similares entre sí, a pesar de haberse aplicado distintas temperaturas de procesamiento.

Con los resultados anteriores se puede intuir que, durante el proceso de extracción alcalino, la temperatura parece no tener un efecto directo sobre éste, comportamiento que se puede apreciar más claramente en la gráfica de superficie de respuesta y las dos variables independientes (Figura 11).



**Figura 11. Gráfica de superficie de respuesta de Rendimiento vs Concentración de NaOH y Temperatura.**

Con base en la figura anterior, se aprecia el rendimiento que se afecta en mayor medida de acuerdo a la concentración de hidróxido de sodio utilizada; ascendiendo entre 0.25 N y 0.5N para posteriormente descender entre 0.75 N y 1 N. La reducción en el % de rendimiento a partir de la concentración de 0.75 N y hasta 1 N, podría ser debida a una hidrólisis excesiva del material péctico.

Los resultados obtenidos en el análisis proximal demostraron que la materia prima presenta un contenido considerable de material lignocelulósico en el cual se sabe que funciona como un ancla que mantiene unida la pectina a la pared celular de los vegetales (Medina, 2011). Al llevar a cabo el tratamiento con hidróxido de sodio 0.25 N es probable que la hidrólisis entre el material lignocelulósico y la pectina no se haya llevado a cabo a profundidad, obteniéndose así rendimientos de extracción que oscilaron entre 9 y 10%. Mientras que al aumentar la concentración de la base (NaOH 0.5 N), se llevó a cabo una mejor liberación de la pectina del material lignocelulósico, aumentando los rendimientos de extracción hasta 23 y 24 %. Para los tratamientos con concentraciones de hidróxido de sodio 0.75 N y 1.0N, es posible que sumado al trabajo mecánico aplicado por las paletas presentes en los husillos haya propiciado una hidrólisis del material péctico extraído, manifestado como una degradación, explicándose así la nula extracción de pectina para el tratamiento con hidróxido de sodio 1.0 N.

En la literatura se encuentra reportado un estudio de extracción de pectina a partir de cáscara de toronja de la región de Zuliana (Camejo, 1996), a una temperatura de 90°C, utilizando ácido clorhídrico suficiente para tener dos valores de pH distintos (2.0 y 3.0) y dos tiempos de reacción (60 y 90 min). El mejor rendimiento (17.4%) se obtuvo con las condiciones de hidrólisis de pH 2 y 90 minutos de calentamiento.

Los rendimientos generados en el reactor termo-mecano-químico bajo los tratamientos con NaOH 0.5N y NaOH 0.75N (Tabla 2) superan a los valores reportados en la literatura.

Cómo ya se mencionó, el tiempo de hidrólisis reportado en la literatura es de 90 minutos, mientras en este trabajo el tiempo de hidrólisis dentro del reactor fue de tan solo 3 minutos (Figura 8). En un trabajo previo desarrollado en el Laboratorio de Ingeniería Química se estudiaron tiempos de hidrólisis típicos comprendidos entre 60 y 120 minutos, los

rendimientos de extracción de material péctico fueron del 12 al 37%, pero la purificación del carbohidrato obtenido no fue optimizada, existe sobre una estimación (Serrano, 2015).

Para comprobar el efecto de los tratamientos descritos en la tabla 2 (concentración de la base y temperatura de hidrólisis) y la interacción de éstos, sobre el rendimiento de extracción, se realizó un análisis de varianza de dos factores con una sola réplica. Posteriormente se realizó la prueba de hipótesis correspondiente para cada tratamiento así como para la interacción entre estos; para las cuales se definieron las siguientes hipótesis nulas ( $H_0$ ):

- **Concentración de NaOH**

$H_0^c$  = La concentración de la base, no tiene efecto significativo en el rendimiento de extracción.

$H_1^c$  = La concentración de la base, tiene efecto significativo en el rendimiento de extracción.

- **Temperatura**

$H_0^T$  = La temperatura, no tiene efecto significativo en el rendimiento de extracción.

$H_1^T$  = La temperatura, tiene efecto significativo en el rendimiento de extracción.

- **Interacción entre factores (Concentración de Base, Temperatura)**

$H_0^N$  = no hay interacción entre los factores.

$H_1^N$  = si ha interacción entre los factores.

Éste análisis se presenta en la tabla 3.

**Tabla 3. Resultados análisis de varianza y prueba de hipótesis; Rendimiento de extracción vs. Temperatura, Concentración NaOH**

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado medio	F	F crit
[NaOH] N	1036.028	3	345.3426	1523.8840	5.41
Temp (° C)	0.13610	2	0.0681	0.3002	5.79
Interacción	0.139	1	0.1390	0.6135	6.61
Error	1.1331	5	0.2266		
Total	1037.4362	11			
<b>α= 0.05</b>					
Concentración	$F^C > F_{crit}$		Se rechaza $H_0^c$		
Temperatura	$F^T < F_{crit}$		Se aprueba $H_0^t$		
Interacción	$F^I < F_{crit}$		No se rechaza $H_0^i$		

Como se puede apreciar en la tabla 3 el valor  $F^C$  presenta un valor mucho mayor a su  $F_{crit}$ , con lo cual se rechaza  $H_0^c$  es decir; la concentración de NaOH tiene un efecto significativo sobre el rendimiento de extracción de la pectina. Para el caso de la temperatura sucede lo contrario,  $F^T$  presenta un valor menor a su  $F_{crit}$ , con lo cual se aprueba  $H_0^t$  concluyendo que la temperatura no tiene efecto significativo sobre el rendimiento de extracción de la pectina.

Por otro lado, para la parte de la interacción de los factores sobre el rendimiento de extracción, se tiene que  $F^I$  obtuvo un valor inferior al  $F_{crit}$ , por lo cual no se rechaza  $H_0^i$  y se concluye que no hay evidencia de interacción en estos datos.

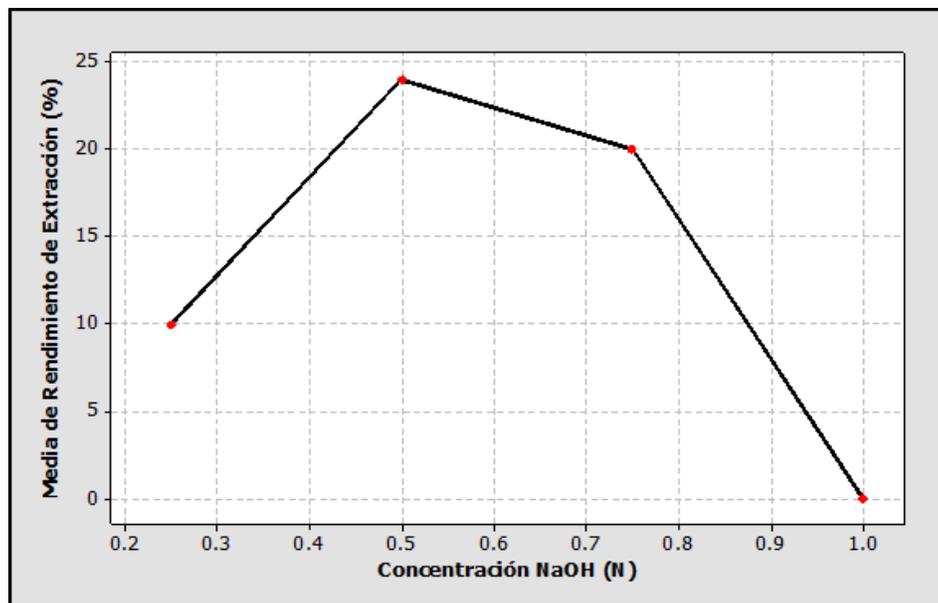
Para observar mejor este comportamiento que tiene la concentración se realizó la prueba de Tukey, de agrupación por pares, tabla 4.

**Tabla 4. Comparación de medias de Tukey, Rendimiento de Extracción/Concentración NaOH**

Concentración NaOH	Media	Agrupación
0.50 N	23.93	A
0.75 N	19.9567	B
0.25 N	9.94670	C
1.0 N	0	D

En la comparación de medias de la concentración de NaOH vs el rendimiento de extracción, cada una de las medias obtenidas presentan una agrupación distinta (A, B, C, D), indicando así que: existe una diferencia significativa entre éstas; es decir la respuesta en el rendimiento de extracción se ve afectada a causa de las distintas concentraciones de NaOH utilizadas durante la hidrólisis de la materia prima.

El comportamiento descrito anteriormente, se puede apreciar en la Figura 12.



**Figura 12. Gráfica de los efectos principales; Rendimiento de extracción vs Concentración NaOH (Medidas ajustadas)**

## Viscosidad dinámica

Con el fin de conocer si la pectina obtenida presentaba propiedades reológicas similares a una muestra representativa de pectina cítrica comercial (Farmacia París) se elaboraron las curvas de viscosidad. Se tomó el material péctico obtenido con el tratamiento con hidróxido de sodio 0.5 N, debido fue el que obtuvo un mayor rendimiento de extracción, obteniéndose los siguientes resultados.

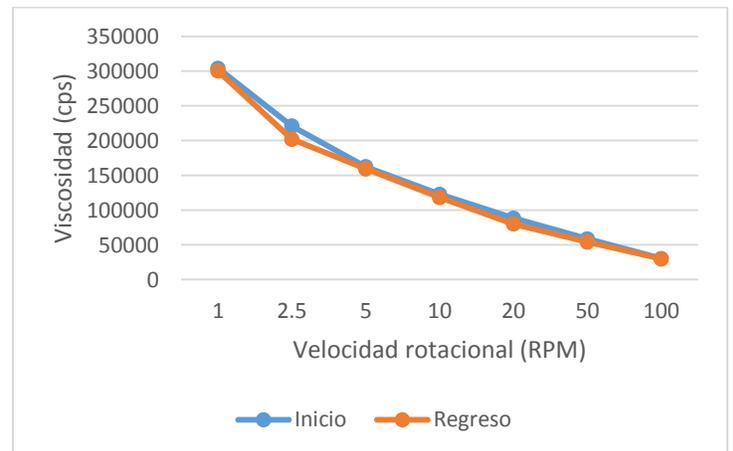
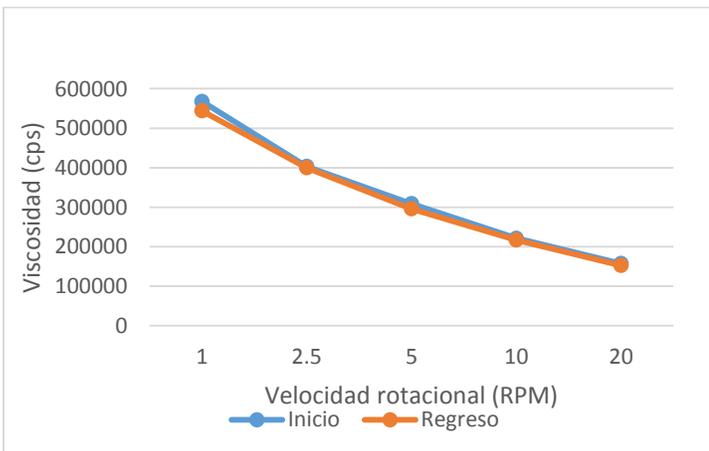
**Tabla 5. Comportamiento reológico de la pectina comercial<sup>(a)</sup>**

RPM	Temperatura 30°C		Temperatura 50°C		Temperatura 70°C	
	Inicio	Regreso	Inicio	Regreso	Inicio	Regreso
1	568000	544000	304000	300000	144000	112000
2.5	403200	400000	220800	202000	96000	91200
5	308800	296000	162400	159400	78400	74400
10	221600	217200	122800	118200	60000	61600
20	157400	152400	88400	80000	51000	51600
50	ND	ND	58560	54080	38000	38800
100	ND	ND	30200	29800	29880	29800

(a) Unidades de viscosidad reportadas en centipoises

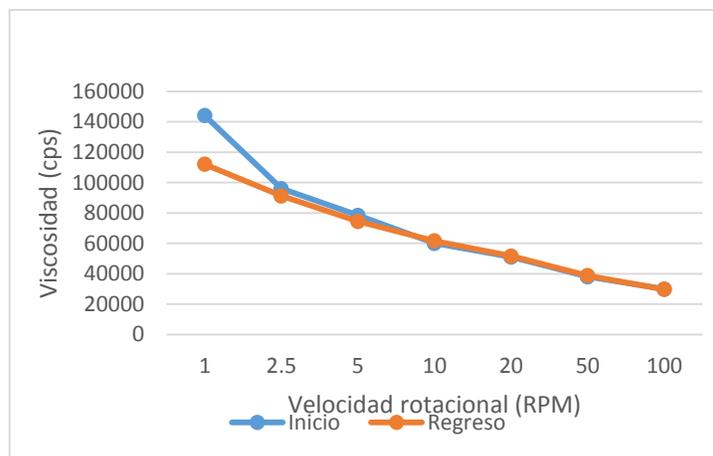
ND- No determinado

En la tabla 5. Se muestra el comportamiento reológico de la pectina cítrica comercial a diferentes temperaturas. Se observa la disminución de la viscosidad dinámica a medida que la velocidad rotacional aumenta.



**Figura 13. Viscosidad dinámica de la pectina comercial a temperatura de 30°C**

**Figura 14. Viscosidad dinámica de la pectina comercial a temperatura de 50°C**



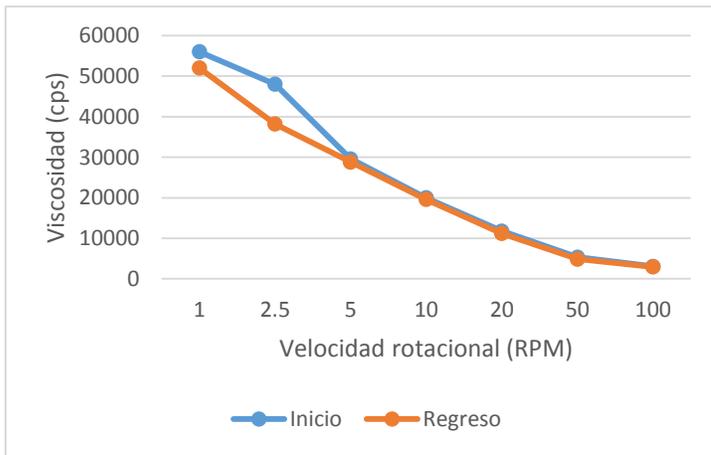
***Figura 15. Viscosidad dinámica de la pectina comercial a temperatura 70°C***

Las figuras 13 a 15 muestran que el sistema pectina/agua constituye un fluido no newtoniano, con tendencia a presentar un comportamiento fluidificante al corte de tipo pseudo-plástico. También se aprecia la influencia de la temperatura, a medida que ésta aumenta, la viscosidad dinámica disminuye, una característica típica de los fluidos pseudo-plásticos.

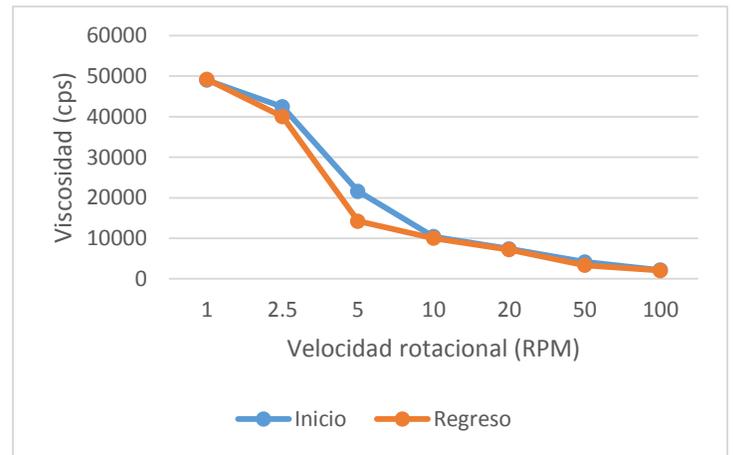
**Tabla 6. Propiedades reológicas del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5N y 90°C**

RPM	Temperatura 30°C		Temperatura 50°C		Temperatura 70°C	
	Inicio	Regreso	Inicio	Regreso	Inicio	Regreso
1	56000	52000	49000	49200	24000	20000
2.5	48000	38200	42400	40000	12800	11200
5	29600	28800	21600	14200	7200	6400
10	20000	19600	10400	10000	3200	3200
20	11800	11200	7400	7200	1800	1600
50	5360	4880	4160	3360	880	880
100	3080	2960	2160	2040	480	460

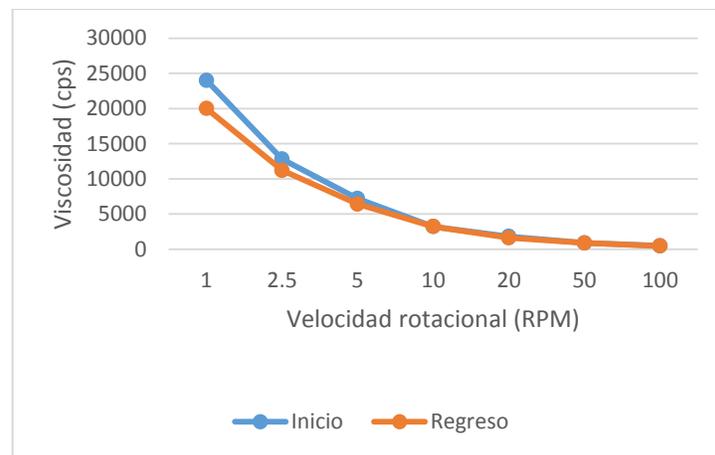
(a) Unidades de viscosidad reportadas en centipoises



**Figura 16. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5N y 90°C a 30°C**



**Figura 17. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5N y 90°C a 50°C**

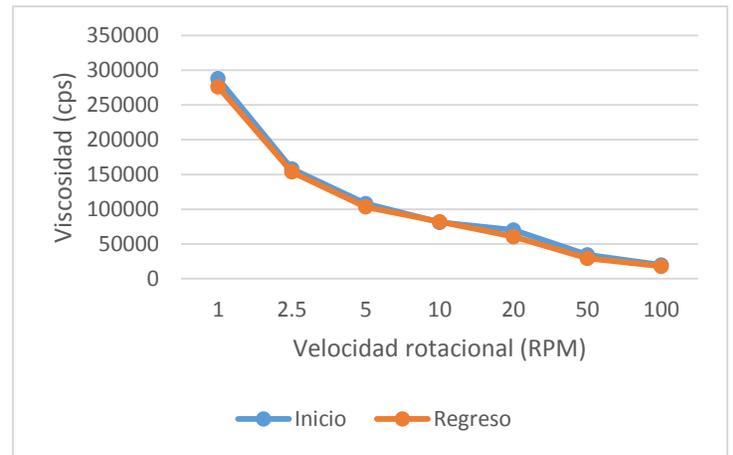
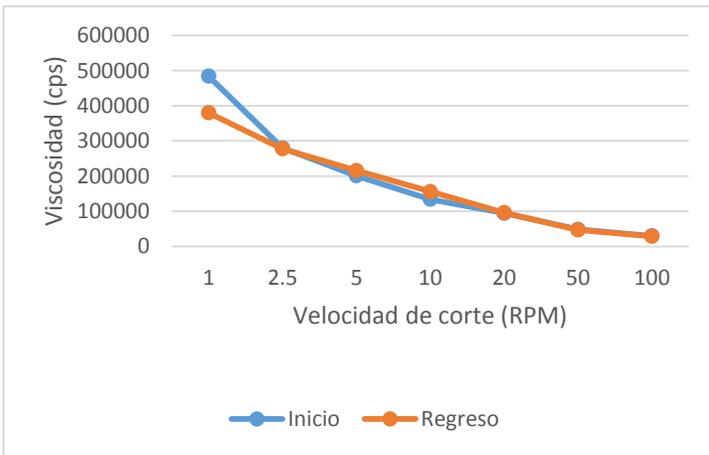


**Figura 18. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5N y 90°C a 70°C**

**Tabla 7. Propiedades reológicas del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5N y 70°C**

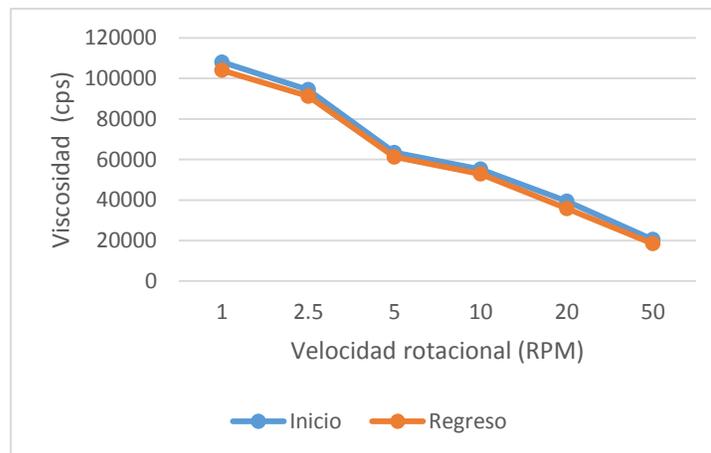
RPM	Temperatura 30°C		Temperatura 50°C		Temperatura 70°C	
	Inicio	Regreso	Inicio	Regreso	Inicio	Regreso
1	484000	380000	288000	276000	108000	104000
2.5	280000	278000	158000	153600	94400	91200
5	201000	216000	108000	103200	63400	61200
10	134000	156000	81200	82000	55200	52800
20	94600	96000	70200	60400	39400	35800
50	48560	47120	34480	29280	20480	18480
100	30000	28880	19840	18040	10160	9080

(a) Unidades de viscosidad reportadas en centipoises



**Figura 19. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5 N y 70 °C a 30 °C**

**Figura 20. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5 N y 70 °C a 50 °C**

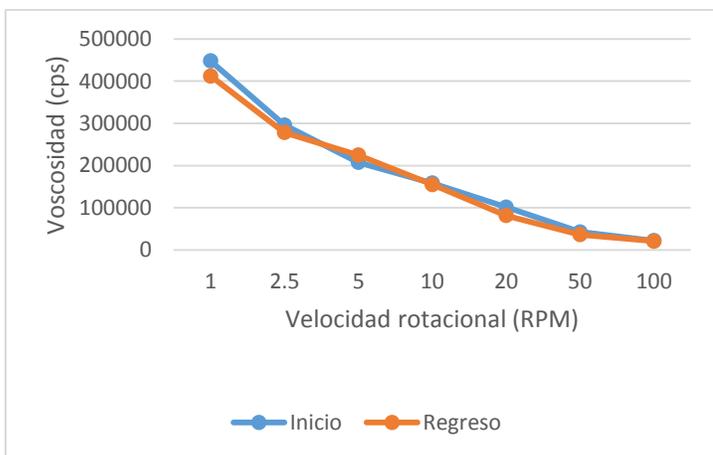


**Figura 21. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5 N y 70 °C a 70 °C**

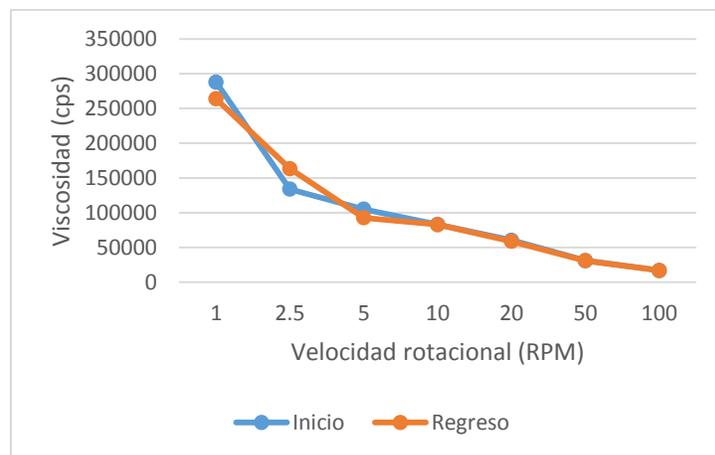
**Tabla 8. Propiedades reológicas del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5N y 50°C**

RPM	Temperatura 30°C		Temperatura 50°C		Temperatura 70°C	
	Inicio	Regreso	Inicio	Regreso	Inicio	Regreso
1	448000	412000	288000	264000	104000	100000
2.5	296000	278400	134000	163000	96000	88800
5	207200	224800	105200	92800	68800	68200
10	158400	154800	83200	83000	51800	50000
20	101400	81600	60600	58800	35200	31600
50	42400	36000	31200	31000	15040	13360
100	21920	20840	17080	16960	8200	7800

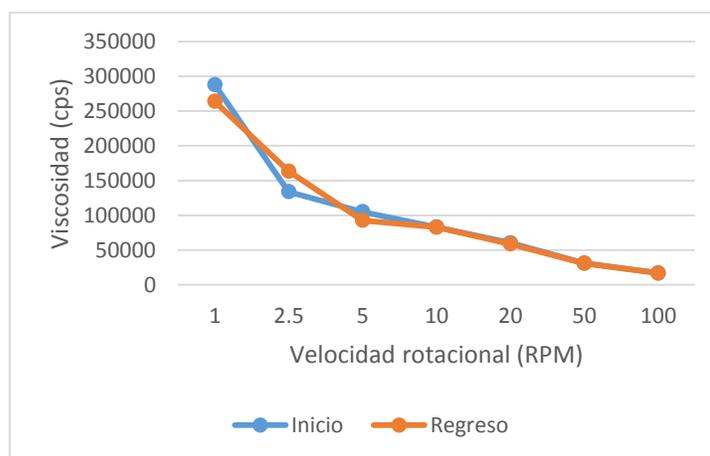
(a) Unidades de viscosidad reportadas en centipois



**Figura 22. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5 N y 50 °C a 30 °C**



**Figura 23. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5 N y 50 °C a 50 °C**



**Figura 24. Viscosidad dinámica del material péctico obtenido por hidrólisis alcalina 0.5 N y 50 °C a 70 °C**

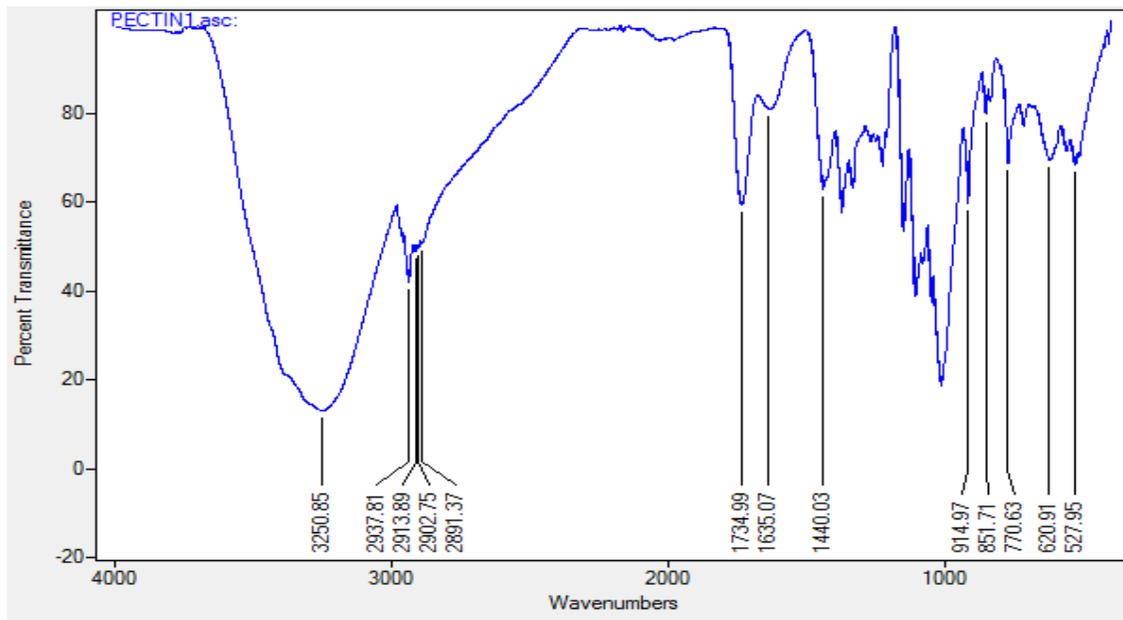
En las gráficas correspondientes a la viscosidad de la pectina extraída (Figuras 16-24), se aprecia que la pectina extraída de la cáscara de toronja presentó un comportamiento cualitativo muy parecido al de la pectina cítrica comercial. Las viscosidades determinadas en los tratamientos con hidrólisis alcalina usando NaOH 0.5N a 70°C y NaOH 0.5N a 50°C (Tablas 7 y 8 respectivamente), poseen valores de viscosidad muy similares a las presentadas por la pectina cítrica comercial (tabla 5). La viscosidad del tratamiento efectuado con NaOH 0.5N a temperaturas superiores a 90°C (tabla 6) presenta valores muy por debajo de todas las anteriores. Al utilizar una temperatura de 90°C para llevar a cabo la hidrólisis, pueden ocurrir reacciones de despolimerización de la pectina, que afectarían su estructura original, como por ejemplo, afectar el grado de esterificación de ésta. Esto será mostrado más adelante en la sección de espectroscopia FTIR.

De acuerdo con los resultados obtenidos y lo presentado en las figuras 16 a 24, se aprecia que el sistema pectina extraída/agua presenta un carácter pseudoplástico, y un ligero carácter tixotrópico (las curvas de viscosidad no se sobreponen) (Concari *et al*, 2001; Quintanis, 2008), lo cual pone en evidencia que las temperaturas de extracción implementadas no tienen un efecto significativo en términos de los rendimientos de extracción obtenidos, pero si lo tiene en términos del carácter reológico presentado por las mezclas pectina/agua.

Anteriormente se mencionó que la pectina es un polisacárido de estructura compleja, que presenta grupos hidrófilos que interaccionan con las moléculas del agua adyacente, y las inmovilizan. Si la calidad de estos biopolímeros ramificados es suficientemente alta pueden formar un gel.

## Espectroscopía FTIR

Con la finalidad de distinguir los diferentes grupos funcionales presentes en la pectina se llevó a cabo el análisis por espectroscopía FTIR, obteniéndose el espectro presente en la Figura 25.



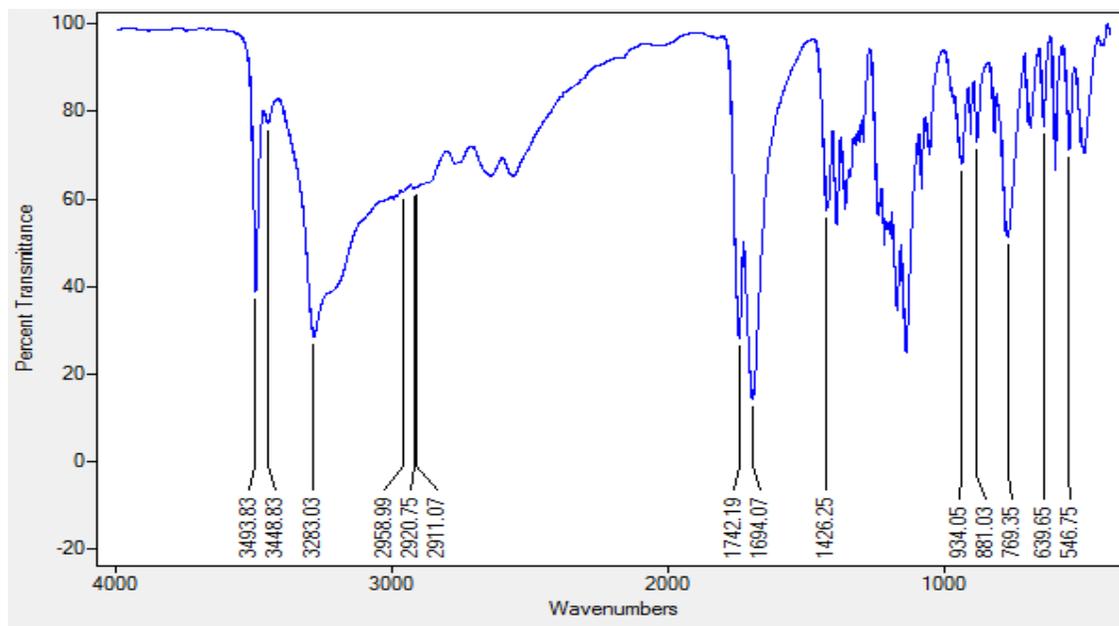
**Figura 25. Espectro infrarrojo de la pectina comercial para distinguir los distintos grupos funcionales.**

La banda de absorción cercana a  $3600$  y  $3200\text{cm}^{-1}$  indica las vibraciones de tensión del enlace O-H, con lo cual se confirma la existencia de múltiples grupos hidroxilos presentes en la molécula de las pectinas. En esta zona también debe encontrarse la banda que corresponde a la tensión del enlace C-H de los grupos  $\text{CH}_2$  ( $\sim 2900\text{ cm}^{-1}$ ).

Las bandas de particular importancia son aquellas que son características y presentan una intensidad fuerte entre  $1635\text{cm}^{-1}$  y  $1750\text{cm}^{-1}$ ; las cuales indican la absorbancia fuerte de los grupos carboxilos libres ( $\text{COO}^-$ ) y los esterificados ( $\text{COOCH}_3$ ) respectivamente. Estas bandas son útiles para determinar el grado de esterificación metílica. En la región comprendida entre  $1420$  y  $1200\text{ cm}^{-1}$  puede apreciarse las señales correspondientes a las vibraciones internas de los azúcares monoméricos que conforman al polisacárido. En la zona de  $950$  a  $500\text{ cm}^{-1}$  se encuentran señales de absorción de intensidad moderada

denominados como la “huella de impresión” que es única para cada compuesto (Chasquibol, 2008).

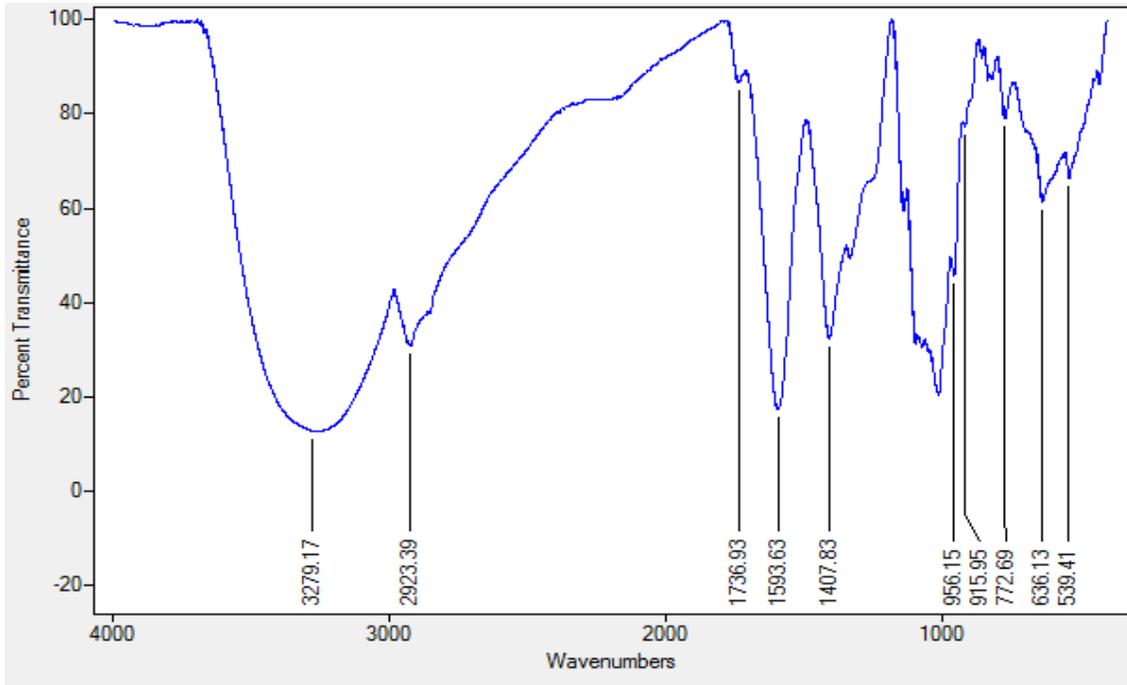
Debido a que se llevó a cabo una precipitación del material péctico en un pH ácido y posterior lavado del polisacárido con agua, se optó por realizar un análisis para el control interno del ácido cítrico (Figura 26), para observar si en la pectina obtenida se detectaba la presencia de éste compuesto orgánico empleado para ajustar el pH de las disoluciones.



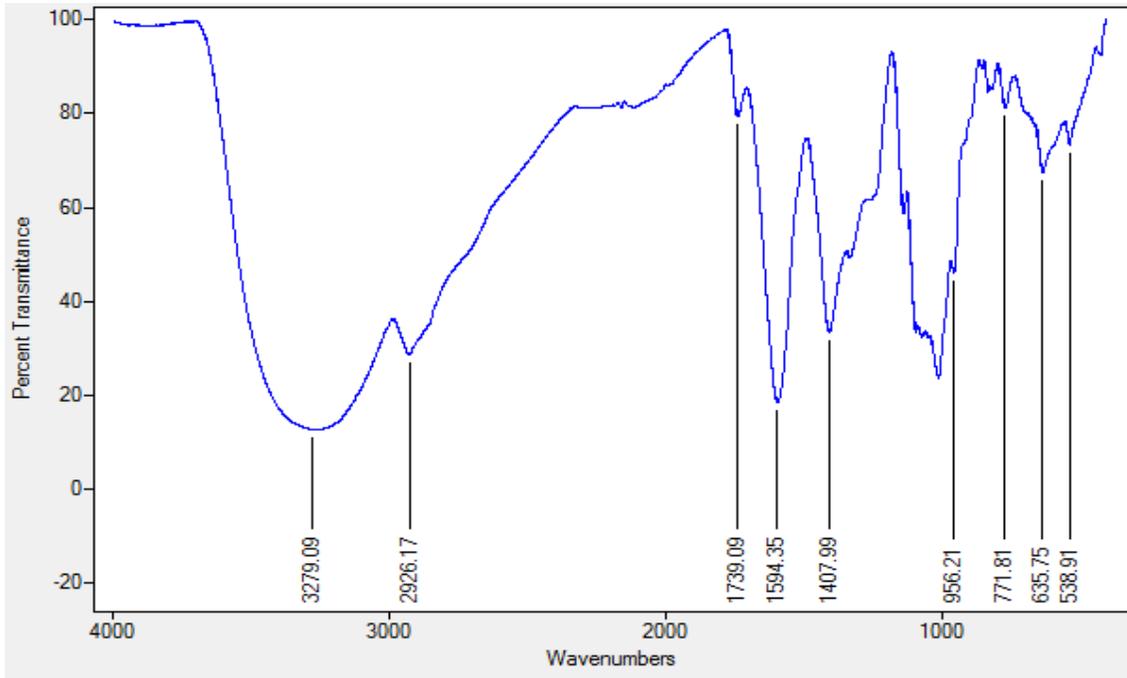
**Figura 26. Espectro infrarrojo del ácido cítrico para distinguir los distintos grupos funcionales.**

En este espectro se puede apreciar que en la región  $3493.8cm^{-1}$  se presenta una señal característica del ácido cítrico, la cual no se observa en el espectro de la pectina comercial. De igual manera, las señales comprendidas entre  $1635$  y  $1745cm^{-1}$  de cada espectro, presentan intensidades distintas. Finalmente en la región de la “huella de impresión” se observan señales muy diferentes entre ambos espectros.

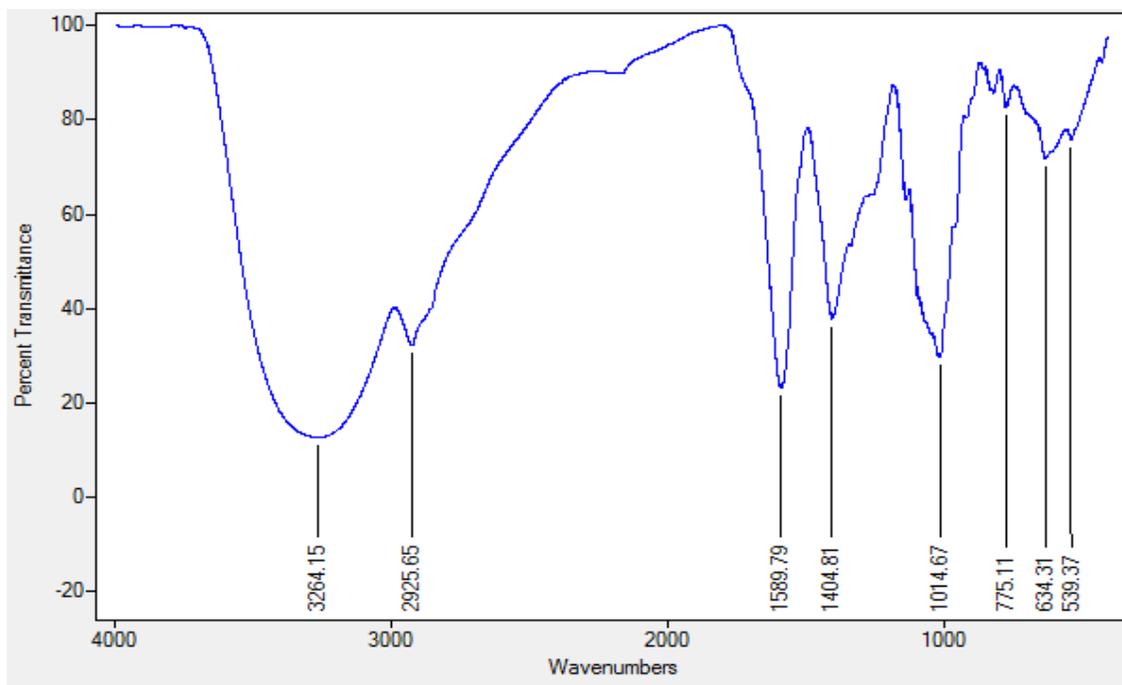
Al igual que en la determinación de la viscosidad dinámica, los espectros infrarrojos obtenidos fueron los correspondientes a los tratamientos con concentraciones  $0.5$  N de hidróxido de sodio, con sus respectivas temperaturas, obteniéndose los espectros correspondientes en las Figuras 27 a 29.



**Figura 27. Espectro infrarrojo del material péctico extraído mediante hidrólisis alcalina con NaOH 0.5 N a una temperatura de 50°C.**



**Figura 28. Espectro infrarrojo del material péctico extraído mediante hidrólisis alcalina con NaOH 0.5 N a una temperatura de 70 °C.**



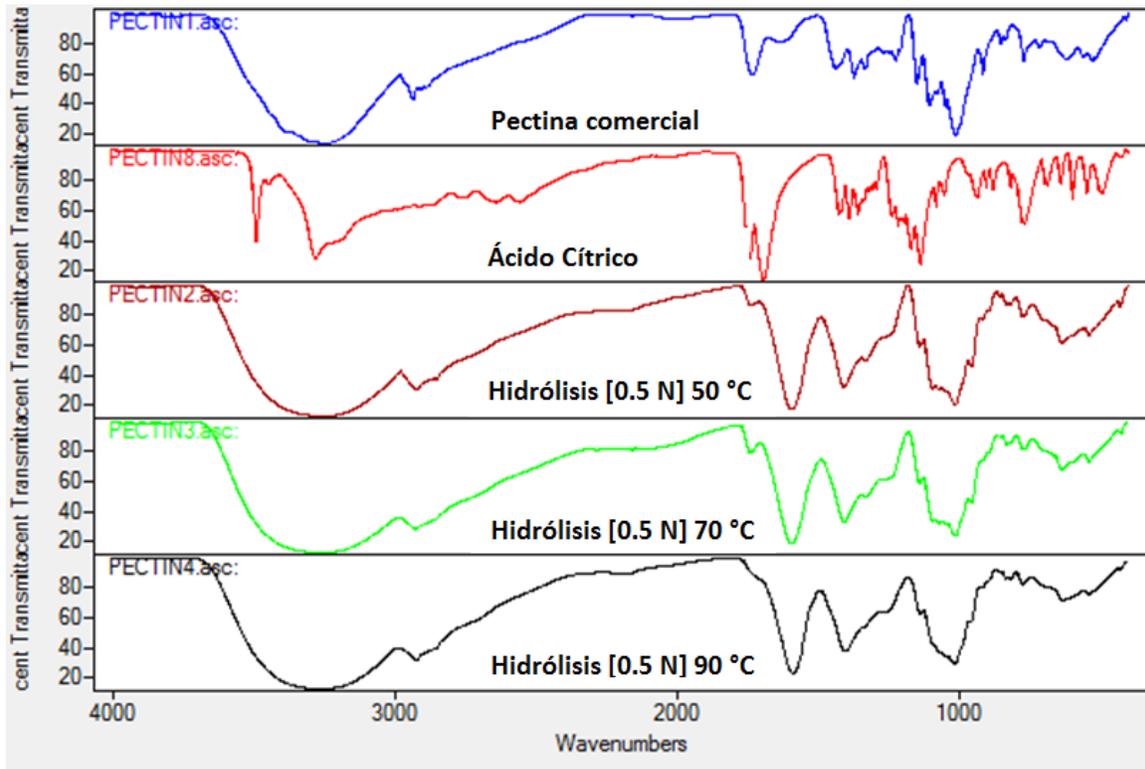
***Figura 29. Espectro infrarrojo del material péctico extraído mediante hidrólisis alcalina con NaOH 0.5 N a una temperatura de 90 °C.***

En los espectros anteriores, correspondientes a la pectina extraída en el laboratorio , se puede apreciar que en la zona de absorción comprendida entre  $3600$  y  $2400\text{cm}^{-1}$  no se presentan las bandas características del ácido cítrico, tampoco la región de  $3450\text{cm}^{-1}$ ; de igual manera en la región comprendida entre  $1800$  a  $1600\text{cm}^{-1}$  no se presentan las bandas que se observan en la figura 26, correspondientes al ácido cítrico. Realizando esta comparación se tuvo la certeza de que el ácido cítrico no se encontraba presente en la pectina extraída, como consecuencia de los lavados con agua destilada que se realizaron.

La mayor zona de absorción de los 3 espectros anteriores (Figura 27-29), es decir de los materiales pécticos obtenidos, se da en la zona comprendida entre  $3600$  y  $3200\text{cm}^{-1}$ , al igual que en la pectina comercial, esta absorción es la correspondiente a los enlaces O-H presentes. También se puede observar que los 3 espectros presentan una señal aproximadamente en  $2925\text{cm}^{-1}$  la cual, como ya se mencionó, se encuentra relacionada con la absorción del enlace C-H y la vibración del grupo metilo ( $\text{CH}_3$ ) propia del éster metílico.

En los espectros de las figuras 27 y 28 (temperaturas de 50 y 70°C) se aprecia una señal entre 1736.45 y 1739.14  $cm^{-1}$ , la cual corresponde a los grupos carboxilos esterificados ( $COOCH_3$ ) presentes en las moléculas de pectina. Por el contrario, esta señal no se distingue en la figura 29, expresándose así que este material presenta un menor grado de esterificación (temperatura de 90°C). Con lo anterior se puede dar explicación al comportamiento obtenido en la determinación de la viscosidad dinámica del tratamiento realizado con NaOH 0.5 N a una temperatura de 90°C, la cual resultó ser mucho menor para ésta muestra, en comparación con los otros dos tratamientos (50 y 70°C) y con la pectina comercial.

En las figuras 27 a 29 no se observa absorbancia en la región  $1635cm^{-1}$ , la cual correspondería a los iones carboxilato, esto no quiere decir que no se encuentren presentes, pues la señal puede encontrarse enmascarada en la señal comprendida entre 1600 y  $1500cm^{-1}$ , la cual es muy intensa e indica la presencia de ácidos carboxílicos. De acuerdo con la literatura los espectros FTIR de los ácidos carboxílicos presentan un par de bandas de fuerte intensidad entre 1410 y  $1300 cm^{-1}$ , correspondientes a las vibraciones de estiramiento asimétricas y simétricas del grupo carboxilo, mismas que se observan en los espectros del material péctico obtenido (Chasquibol, 2008; Chasquibol, 2010).



**Figura 30. Comparativo de los espectros de infrarrojo de diferentes materiales pécticos y ácido cítrico.**

En la figura 30 se puede observar el comparativo de la pectina comercial (color azul), el ácido cítrico (color rojo) las pectinas obtenidas en el laboratorio por hidrólisis básica 0.5N para las temperaturas 50°C (color vino), 70°C (color verde) y 90°C (color negro).

## Determinación de fibra en material residual de hidrólisis

Una vez realizada la extracción y la caracterización de la pectina, se optó por llevar a cabo un análisis proximal al residuo sólido post-hidrólisis, teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el análisis detallado de la materia prima y teniendo conocimiento de que la composición mayoritaria es del tipo lignocelulósico.

En la tabla 9 se puede apreciar que los porcentajes de celulosa, lignina y hemicelulosa son muy similares al aplicar un pre-tratamiento u otro, es decir; la temperatura de extracción y la concentración de la base utilizada para la hidrólisis.

**Tabla 9. Resultados de determinación de fibra, en el material residual de hidrólisis.**

Tratamiento	Determinación <sup>(a)</sup> <sup>(b)</sup> <sup>(c)</sup>				
	Celulosa	Lignina	Cenizas	Hemicelulosa	Solubles extraídos
NaOH [0.5] N 50 °C	21.5	6.5	8,9	0.0	63,1
NaOH [0.5] N 70 °C	21.7	7.6	8.7	0.0	62.0
NaOH [0.5] N 90 °C	23.2	6.6	8.8	0.0	61.4

(a) Los datos se reportan en porcentaje (g/100g de residuo de hidrólisis)

(b) Resultados reportados como: promedio , n=2

(c) Muestra utilizada en base seca

Al comparar estos resultados con los obtenidos para la caracterización de la materia prima (Tabla 1) puede observarse que hay un aumento relevante en el porcentaje tanto de celulosa (~45%) como de lignina (~270%), mientras que el porcentaje de hemicelulosa se mantuvo sin cambios. El aumento o ajuste en los porcentajes de celulosa y lignina en los residuos post-hidrólisis se debe a la extracción de pectina por la sosa, sin embargo, la cantidad de compuestos solubles sigue siendo elevada, dejando una interrogante interesante para un trabajo posterior, como llevar a cabo una segunda hidrólisis alcalina para removerlos y posiblemente extraer más pectina.

Actualmente se considera a los materiales lignocelulósicos como materia prima para la producción de distintos productos químicos, entre los que se encuentran: biocombustibles, etanol, xilosa, glucosa, etc., por lo tanto, el residuo post-hidrólisis obtenido presenta un contenido considerable de material lignocelulósico, el cual puede reprocesarse y aprovecharse para la obtención de los productos mencionados con anterioridad, permitiendo dejar a la celulosa más expuesta para ser hidrolizada (Medina, 2011).

## CONCLUSIONES

En esta investigación se logró determinar la composición química de la muestra cítrica mediante un análisis proximal. Así mismo se encontró el efecto de la interacción de las variables relevantes: concentración de la base y temperatura de procesamiento en la extracción del material péctico presente en los residuos de cáscara de toronja libres de aceites. Después de realizar las pruebas de hipótesis correspondientes, para determinar los factores que afectaron el rendimiento de extracción de la pectina, se encontró que la temperatura no tuvo un efecto significativo en el rendimiento de extracción, caso contrario a lo que ocurre con la concentración de la base utilizada para la hidrólisis. Por otro lado se también determinó que durante el proceso de extracción no hay interacción entre las temperatura y concentraciones de NaOH utilizadas sobre el rendimiento de extracción

Con los rendimientos de extracción obtenidos y haciendo uso de un gráfico de superficie de respuesta, se pudo observar que el rendimiento de extracción aumentó para una concentración de la base en un valor de 0.5N. Por otro lado, se apreció que una concentración mayor (0.7-1.0N) afectó el rendimiento de la extracción, haciendo que este disminuyera. Las condiciones óptimas seleccionadas fueron las efectuadas con un pretratamiento utilizando sosa 0.5N a 50, 70 y 90°C, obteniéndose rendimientos de extracción de 23.3, 24.0 y 24.6 % respectivamente.

A pesar de que se observó que las temperaturas utilizadas en la hidrólisis no tuvieron un efecto significativo en el rendimiento de la extracción de las pectinas, se observó que las temperaturas de 50 y 70°C produjeron una pectina de calidad similar a la muestra de pectina cítrica comercial. La pectina extraída con el tratamiento NaOH 0.5N y 90°C presentó una viscosidad inferior a las extraídas con los otros tratamientos menos intensivos. En este caso, la temperatura de hidrólisis alcalina si tuvo un efecto notable en términos de su capacidad de formar geles altamente viscosos, debido a una afectación en el grado de esterificación del material péctico.

Con los espectros de infrarrojo se comprobó que el material péctico extraído presentaba similitud con la muestra representativa de pectina comercial, y se pudo constatar que la pectina extraída con hidróxido de sodio 0.5 N y 90°C, presentaba un menor grado de esterificación, lo cual se relacionó con valores inferiores de viscosidad.

Con la caracterización del residuo sólido, obtenido posterior a la hidrólisis alcalina de la cáscara de la toronja, se comprobó que el material presentaba un contenido de material lignocelulósico enriquecido en celulosa, el cual puede ser aprovechable para la obtención de distintos compuestos químicos de interés, quedando como perspectiva averiguar si este residuo puede ser reprocesado.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Baraona Cockrell, M., Sancho Barrantes, E., 1991, Fruticultura Especial, Editorial Universidad Estatal a Distancia, Costa Rica, 14-16 pp.
2. Bello Gutiérrez, J., 2000, Ciencia Bromatológica; Principios Generales de los Alimentos, Editorial Díaz de Santos, Madrid, pp. 92-93.
3. Camejo de Aparicio, C., Ferrer, A., De Ferrer, B., Peña, J., Cedeño, M., 1996, Extracción de pectina en toronjas de la región Zuliana. Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia, V. 13: 647-652.
4. Chasquibol S., N., 2014, Aplicación de la espectroscopia FT-IR en la identificación de polisacáridos obtenidos de los frutos del “níspero de la sierra” y de la “granadilla”. Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, v. 13, No. 2: 12-21.
5. Chasquibol Silva, N., Arroyo Benites, E., Morales Gomero, J.C. 2008 Extracción Y Caracterización De Pectinas Obtenidas A Partir De Frutos De La Biodiversidad Peruana, Ingeniería Industrial, N°26: 175-199.
6. Chávez González, M., Aguilar, C., 2012, Aprovechamiento de la industria citrícola, Ciencia Cierta, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, No. 29.
7. Coffin, D.R., Fishman, M. L., Cooke, P. H., 1995, Mechanical and microstructural properties of pectin/starch films. Journal of Applied Polymer Science, 57, No. 6: 663-670.
8. Concari, S. B., Kofman, H. A., Cámara, C. N., Experiencias de laboratorio y simulaciones computacionales para la enseñanza de los fluidos, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina, 2001, pág 91.

9. CONCIERVER; Comité Sistema Producto Cítricos del Estado de Veracruz, 2009, Estudio de Mercado para identificación de necesidades de infraestructura logística para la comercialización de jugo de cítricos en Veracruz, pp. 26, 32.
10. Devia Pineda, J.E., 2003. Proceso para producir Pectinas Cítricas, Revista Universidad EAFIT, No.129, 22-26.
11. Elías Castells, X., Valoración de Residuos Procedentes de Grandes Industrias, Ed. Díaz de Santos, Madrid, España, 2012, 578-589pp.
12. Escobedo Álvarez, E.I., 2013. Desarrollo de un proceso para el aprovechamiento integral de la toronja, Ciencia y tecnología, 13, pp. 365-376.
13. Ferreira, S., (1976), Aislamiento y caracterización de las pectinas de lagunas variedades de frutos cítricos colombianos. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas, 13, No. 1, 5-25.
14. Fishman, M.L., Chau H.K., Hoagland P., Ayyad, K., (2000) Characterization of pectin, flash-extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure. Carbohydrate Research, 323 1: 126-138
15. Fredes Monsalves, C., Loyola López, N., Muñoz Cruz, J., C., (2009), Extracción de pectinas de Vitis lambrusca Cv. Concord para producir jaleas, IDESIA, 27, No.3: 9-14.
16. Guidi, A. & Arandia Quiroga, M. Z. (2010) Obtención de Pectina a Partir de la Cáscara e Maracuyá Mediante Hidrólisis Ácida. Journal Boliviano de Ciencias, Vol 7, N°21: 67- 71.

17. Herlich, K. (Editor).1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry published by AOAC. 15th edition vol. I. Arlington.
18. Hoondal, G., R. Tiwari, N. Dahiya y Q. Geb. 2002, Microbial alkaline pectinases and their industrial applications: review. Applied Microbiology and Biotechnology, Vol 59 No. 4, 409-410.
19. Kirk R. S., Sawyer R &Egan, H. 1996. Composición y análisis de alimentos de Pearson, segunda edición; Compañía editorial continental SA de CV, México.
20. Little, E. L., Wadsworth, F., Marrero, J., 2001, Árboles comunes de Puerto Rico y las Islas Virgenes, Editorial de La Universidad de Puerto Rico, 2ª Edición, Puerto Rico, pág. 266.
21. Londoño-Londoño, J., Sierra, R. Álvarez, A.M. et al. 2012. Aprovechamiento de los subproductos citrícolas.  
Disponible en: <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/handle/10567/560> [Último acceso 21 de Septiembre de 2016].
22. Mamani Crispín, L., Ruiz Caro, R., Veiga, M. D., 2012. Pectina: Usos Farmacéuticos y Aplicaciones Terapéuticas, Real Academia Nacional de Farmacia, Vol. 78, Núm 1: 83-90.
23. May, C.D., 1990. Industrial pectins: sources, production and applications. Carbohydrate Polymers, Vol 12 No.1 79-80.
24. Medina Morales, M.A., Lara Fernández, L., N. Aguilar, C., De la Garza, H., 2011. Aprovechamiento de materiales lignocelulósicos para la producción de etanol como carburante. Revista de divulgación científica, No.6: 35-41.
25. Montgomery Douglas C., 2015, Diseño de Experimentos, Editorial Limusa, 2ª edición, México, 191-194 pp.

26. Navarro García, G., Navarro García, S., 1985, Sustancias pécticas: química y aplicaciones, Secretariado de publicaciones e intercambio científico; Universidad de Murcia, Madrid, 63-64 pp.
27. Nielsen, S. (Editor), 2003. Food Analysis Laboratory Manual; Kluwer Academic Plenum Publishers, New York, USA.
28. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. FAO. 1993. Manual de Técnicas para Laboratorio de Nutrición de Peces y Crustáceos. [En línea].  
Disponible en:  
<http://www.fao.org/docrep/field/003/ab489s/AB489S00.htm#TOC> [Último acceso 29 de marzo de 2016]
29. Ortuño Vian A., 1994, Introducción a la química industrial, Editorial Reverté, España, p. 436.
30. SAGARPA; Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. México entre los líderes en producción de cítricos a nivel mundial, Disponible en:  
<http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/sanluispotosi/boletines/Paginas/BOL1301112.aspx>, consultado en México. D.F. el 5 de Junio de 2017.
31. Saval, Susan., 2012. Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. Biotecnología, Vol. 16, No.2: 14-46.
32. Serrano, G., 2015. Caracterización del material péctico obtenido de Residuos de Limón Persa (*Citrus latifolia* TANAKA) con un pretratamiento termo-mecano-químico. Tesis en colaboración UNAM-ITUG.
33. SIAP; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, 2010, Reporte Especial Cítricos, Disponible en:

[http://infosiap.siap.gob.mx/images/stories/infogramas/reporte\\_citricos.pdf](http://infosiap.siap.gob.mx/images/stories/infogramas/reporte_citricos.pdf) [Último acceso 24 de septiembre de 2016].

34. Sriamornsak, P. 2001. Pectin: the Role in Health. Journal of Silpakorn University, 22 (1); 60-77.
35. Quintains Riveiro, L., 2008. Reología de productos alimentarios, Tesis de doctorado, Universidad de Santiago de Compostela.
36. Van Buren, J.P. 1991. Function of Pectin in plant tissue structure and firmness pp.1-20. En: Walter R.H. (ed.) The chemistry and technology of pectin. Academic Press, Inc. 276 pp.
37. Zaragoza, S., Pina Lorca, J. A., Forner, M. A., Navarro, L., Medina, A., 2011. Las Variedades de Cítricos El Material Vegetal y el Registro de Variedades Comerciales de España, Ministerio de Medio ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid: 25-28 pp.